

**AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER  
*Streptomyces* sp. STRAIN INACC A497 DAN *Serratia marcescens* STRAIN  
MBC1 TERHADAP MORTALITAS LARVA INSTAR III *Aedes aegypti***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**MUTIA DINDA LESTARI  
NPM. 1757021011**



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

**AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER  
*Streptomyces* sp. STRAIN INACC A497 DAN *Serratia marcescens* STRAIN  
MBC1 TERHADAP MORTALITAS LARVA INSTAR III *Aedes aegypti***

**Oleh**  
**MUTIA DINDA LESTARI**

**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**

## **ABSTRAK**

### **AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER *Streptomyces* sp. STRAIN INACC A497 DAN *Serratia marcescens* STRAIN MBC1 TERHADAP MORTALITAS LARVA INSTAR III *Aedes aegypti***

**Oleh**

**MUTIA DINDA LESTARI**

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan suatu penyakit yang setiap tahun masih menjadi masalah di Indonesia termasuk Lampung. Salah satu upaya pencegahan penularan penyakit ini adalah mengendalikan vektor utama, yaitu *Aedes aegypti* melalui penggunaan larvasida. Bakteri merupakan kandidat yang berpotensi menghasilkan metabolit sekunder sebagai larvasida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan efektivitas dari metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A479 dan *Serratia marcescens* strain MBC1 terhadap larva instar III *Ae. aegypti*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Faktorial (2x6) dengan dua faktor, yaitu 2 jenis ekstrak metabolit sekunder dan 6 perlakuan. Larva instar III *Ae. aegypti* diberi perlakuan ekstrak metabolit sekunder bakteri dengan konsentrasi 125, 250, 500, dan 1.000 ppm serta empat kali pengulangan. Kontrol positif dengan Abate® dan kontrol negatif dengan air sumur. Pengamatan dilakukan pada 3, 6, 12, 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan. Rata-rata kematian larva terbesar pada ekstrak *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 yaitu  $12,80 \pm 4,35$  ekor pada konsentrasi 500 ppm. Sedangkan pada ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 pada konsentrasi 500 dan 1.000 ppm yaitu  $0,25 \pm 0,5$  ekor. Nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> ekstrak *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 yaitu 933,46 dan 3.082,44 ppm. Sedangkan ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 yaitu 66.426,02 dan 749.001,41 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak sp. strain InaCC A497 memiliki pengaruh terhadap mortalitas larva sedangkan ekstrak *S. marcescens* mempengaruhi lamanya siklus hidup dan mati sebelum mencapai dewasa. Ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 lebih efektif sebagai larvasida larva instar III *Ae. aegypti* daripada *S. marcescens* strain MBC1.

Kata kunci: larvasida, *Streptomyces*, *S. marcescens*, mortalitas, *Ae. aegypti*

Judul Skripsi

: AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK  
METABOLIT SEKUNDER *Streptomyces* sp.  
STRAIN INACC A497 DAN *Serratia*  
*marcescens* STRAIN MBC1 TERHADAP  
MORTALITAS LARVA INSTAR III *Aedes*  
*aegypti*

Nama Mahasiswa

: Mutia Dinda Tlestari

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1757021011

Program Studi

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



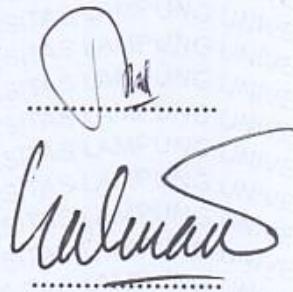
2. Ketua Jurusan Biologi

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

## **MENGESAHKAN**

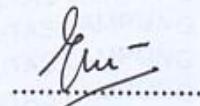
1. Tim Pengaji

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



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

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



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **30 September 2021**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mutia Dinda Lestari

Nomor Pokok Mahasiswa : 1757021011

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi saya merupakan bagian dari penelitian dosen yaitu,  
Endah Setyaningrum, Nismah Nukmal, dan Achmad Arifiyanto dengan judul:

**“AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER  
*Streptomyces* SP. STRAIN INACC A497 DAN *Serratia marcescens* STRAIN  
MBC1 TERHADAP MORTALITAS LARVA INSTAR III *Aedes aegypti*”**

Baik gagasan, data dan pembahasan adalah benar karya saya yang saya susun sendiri dengan mengikuti panduan penulisan yang berlaku. Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 19 Oktober 2021  
Yang Menyatakan,  
  
Mutia Dinda Lestari)  
NPM. 1757021011

## **RIWAYAT HIDUP**



Penulis dilahirkan di Baturaja, Ogan Komering Ulu (OKU), Sumatera Selatan pada tanggal 9 Juni 1999, sebagai anak terakhir dari empat bersaudara. Putri dari bapak Muhammad Mahtum dan Ibu Elas Fariani. Sekolah Dasar (SD) pada tahun 2005 hingga lulus pada tahun 2011 di SDN 8 OKU. Kemudian melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 OKU yang diselesaikan pada tahun 2014. Sekolah Menengah Atas yang diselesaikan pada tahun 2017 di SMAN 4 OKU. Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung (Unila) melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SMMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai ketua bidang sains dan teknologi periode 2019, sebagai anggota bidang akademik dan riset di Organisasi Rohani Islami (ROIS) periode 2019, penulis juga tercatat sebagai anggota pengurus English Society (ESo) Unila periode 2020. Selain aktif di organisasi, Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Struktur Perkembangan Tumbuhan pada tahun 2018, Mikrobiologi Pangan Industri, Mikrobiologi Bahan Pangan dan Entomologi pada tahun 2021.

Penulis pernah mengikuti kegiatan sosial seperti Karya Wisata Ilmiah (KWI) Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila pada tahun 2018, juga pernah menjadi panitia acara pada KWI pada tahun 2019. Kemudian ikut serta pada Bina

Desa Himbio di Pulau Pasaran. Pada bulan Juli 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Rajabasa, Bandar Lampung.

Pada bulan Januari 2020, penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan di Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Baturaja dengan judul “Pengamatan Perkembangan *Aedes aegypti* Stadium Larva Instar III sampai Stadium Pupa di Laboratorium Entomologi Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Baturaja”. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan September 2020 di Laboratorium Mikrobiologi dan Zoologi FMIPA Unila dan menyelesaikan tugas akhir pada bulan September 2021.

## MOTTO

*Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Ia mendapat pahala (dari kebaikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahanatan) yang dikerjakannya...*

(QS. Al-Baqarah: 286)

*Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui...*

(QS. Al-Baqarah: 216)

*Barangsiapa menempuh jalan menuntut ilmu, Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga*

(HR. Muslim)

*Suatu hal baik akan menantimu di masa depan, sehingga kamu pun akan lupa merasakan rasa sakit yang selama ini kamu jalani*

(Ali bin Abi Thalib)

*Akan selalu ada Alhamdulillah dibalik Astaghfirullah...*

(Penulis)

*Sebaik-baiknya diri adalah yang paling bermanfaat*

(Penulis)

## **PERSEMBAHAN**



Rasa syukur atas kekuatan dan bekal ilmu yang Allah SWT berikan,  
shalawat yang selalu tercurahkan pada Rasulullah Muhammad SAW serta  
doa orang tua yang dipanjatkan untuk kelancaran.

Kupersembahkan karya sederhanaku ini sebagai tanda baktiku kepada orang  
yang sangat kusayangi dan menyangku

### **Papa Muhammad Mahtum dan Mama Elas Fariani**

Yang telah memberikan kasih sayang tak terhingga yang tak mungkin dapat  
kubaras dengan setumpuk kertas yang bertuliskan skripsi. Semoga ini  
menjadi langkah awal dalam membahagiakan papa dan mama di dunia dan  
manfaatnya menjadi amalan di akhirat.

### **Kakak-kakak, Mbak, dan Ayuk Tersayang**

Sebagai tanda terimakasih, aku persembahkan karya sederhanaku ini untuk  
kakak (Miftahul Ilmi Mahardhika, Machlery Agung Pangestu, Tommy Jaya  
Setiawan), mbak (Marizka Putri Aftria), dan ayuk (Devy Octarina).  
Terimakasih telah memberikan semangat, motivasi, dan inspirasi selama  
mengerjakan skripsi.

Para Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing, mengarahkan, dan  
memberikan nilai kehidupan kepadaku.

Seluruh kerabat dan sahabat yang selalu memberikan semangat selama  
perjuanganku.

Dan Universitas Lampung yang memberikan kesempatan untukku belajar

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Alhamdulillah puji syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Larvasida Ekstrak Metabolit Sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 terhadap Mortalitas Larva Instar III *Ae. aegypti*”. Skripsi ini adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari rintangan dan kesulitan, namun berkat ridho dan perantara orang-orang yang Allah SWT beri, pada akhirnya telah terlewati dengan jalan kemudahan yang tidak disangka-sangka. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Nismah Nukmal, Ph.D. selaku pembimbing utama atas kesediannya untuk memberikan bimbingan dan arahan dengan sabar, saran serta kritik selama proses penggerjaan skripsi.
2. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik, saran, dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed., selaku penguji utama pada ujian skripsi yang telah memberikan masukan, kritik, dan saran pada seminar-seminar terdahulu.
4. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si, M.T., selaku dekan FMIPA Unila.
5. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

6. Bapak Ir. Zulkifli, M.Sc. selaku pembimbing akademik yang memberikan arahan dan bimbingan selama perkuliahan.
7. Bapak dan Ibu staf Jurusan Biologi yang telah membantu selama perkuliahan.
8. Kedua orang tua tercinta, Bapak Muhammad Mahtum dan Ibu Elas Fariani, Saudara-saudariku tersayang, Miftahul Ilmi Mahardhika, Marizka Putri Aftria, Machlery Agung Pangestu, Devy Octarina, Tommy Jaya Setiawan yang selalu memberikan semangat, dukungan, doa, dan kasih sayang kepada penulis.
9. Saudara sepupu, Bilkis, Nisa, Ara, mba Mila, Uni pungki yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama penelitian berlangsung.
10. Teman-teman seperjuangan tim penelitian antimalaria, Mesy Miranda AR, Jihan Fikra Angelia, Ulin Ni'mah Setiawati, dan Yusifa Arsy Variani yang sudah saling membantu dan memberikan dukungan hingga penggerjaan skripsi ini terselesaikan.
11. Teman-teman seperjuangan biologi angakatan 2017 terkhususnya Ayu Ismawanti, Anggun Legi Pratiwi, Anisa Danyatul Afifa yang telah berbagi kebahagiaan, dukungan dan semangat kepada penulis selama masa perkuliahan hingga penyelesaian skripsi.
12. Teman penyemangat hidup, Muhammad Rois Abdillah, Weny Natalia, Ade Amelia Aprilysani, dan Syahria Kirana yang tiada letihnya menjadi pendengar setia penulis.
13. Badan Layanan Umum (BLU) Unila atas dana hibah yang telah diberikan pada proses penggerjaan skripsi.
14. Diri sendiri yang telah berusaha keras menyelesaikan skripsi ini, belajar dan berjuang menempa diri, dan berkeluh tapi tidak menyerah.

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang dan Masalah .....	1
1.2 Tujuan .....	3
1.3 Kerangka Pikir .....	3
1.4 Hipotesis.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Streptomyces</i> sp.....	5
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Morfologi .....	5
2.1.3 Metabolit Sekunder .....	6
2.2 <i>Serratia marcescens</i> .....	6
2.2.1 Klasifikasi .....	6
2.2.2 Morfologi .....	6
2.2.3 Metabolit Sekunder .....	7
2.3 <i>Aedes aegypti</i> .....	7
2.3.1 Klasifikasi .....	7
2.3.2 Morfologi .....	7
2.3.3 Siklus Hidup.....	9
2.4 Larvasida .....	10
2.4.1 Larvasida Alami .....	10
2.4.3 Jenis Senyawa Larvasida Bakteri.....	11
2.5 Pengendalian Vektor .....	13
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.2.1 Alat.....	15
3.2.2 Bahan .....	16
3.3 Rancangan Penelitian .....	17
3.4 Prosedur Kerja.....	17
3.4.1 Pembuatan Media.....	17
3.4.2 Sub-kultur Isolat <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	18
3.4.3 Fermentasi <i>Streptomyces</i> sp. Strain InaCC A497 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	18

3.4.4 Produksi Metabolit Sekunder .....	19
3.4.5 Pemeliharaan Larva Instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	19
3.4.6 Uji Larvasida.....	20
3.4.6 Uji Lanjut .....	20
3.4.7 Analisis Data .....	21
3.5 Diagram Alir Penelitian .....	21
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>22</b>
4.1 Rata-rata Kematian Larva Instar III <i>Aedes aegypti</i> Berdasarkan Waktu Pengamatan .....	22
4.2 Presentase Kematian Larva Instar III <i>Ae. aegypti</i> setelah 72 Jam Perlakuan.....	24
4.3 Analisis Probit dan Efektivitas Ekstrak Larvasida terhadap Larva Instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	25
4.4 Pengaruh Ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 terhadap Kerusakan Larva Instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	26
4.5 Uji Lanjut Larvasida Ekstrak <i>S. marcescens</i> terhadap Larva Instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	28
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>30</b>
5.1 Kesimpulan .....	30
5.2 Saran.....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>36</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Uji kandungan kimia ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	11
2. Dosis <i>dogfood</i> untuk pemberian makan larva.....	20
3. Rata-rata kematian larva instar III <i>Ae. aegypti</i> pada uji larvasida <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 berdasarkan waktu pengamatan.....	22
4. Rata-rata kematian larva instar III <i>Ae. aegypti</i> pada uji larvasida <i>S. marcescens</i> strain MBC1 berdasarkan waktu pengamatan.....	23
5. Hasil uji probit larvasida setelah 72 jam perlakuan .....	25
6. Perbandingan lama siklus hidup <i>Ae. aegypti</i> antar perlakuan dan kontrol .....	28
7. Hasil pengamatan uji larvasida ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 pada waktu yang berbeda.....	37
8. Hasil pengamatan uji larvasida ekstrak <i>S. marcescens</i> strain MBC1 pada waktu yang berbeda.....	37
9. Hasil analisis probit setelah 72 jam perlakuan ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 .....	38
10. Hasil analisis probit setelah 72 jam perlakuan ekstrak <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	39

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi koloni <i>Streptomyces</i> sp. ....	6
2. Telur <i>Ae. aegypti</i> .....	8
3. Larva instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	9
4. Pupa <i>Ae. aegypti</i> .....	9
5. Siklus hidup <i>Ae. aegypti</i> .....	10
6. Diagram alir penelitian.....	21
7. Persentase kematian larva <i>Ae. aegypti</i> setelah 72 jam pemberian ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	24
8. Morfologi larva instar III <i>Ae. aegypti</i> setelah 72 jam pemberian (a) ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 (b) ekstrak <i>S.</i> <i>marcescens</i> strain MBC1, dan (c) kontrol negatif .....	26
9. Morfologi koloni <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 .....	40
10. Morfologi koloni <i>S. marcescens</i> sp. strain MBC1 .....	40
11. Starter fermentasi <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 pada media ISP1 ....	41
12. Produksi metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 .....	41
13. Fermentasi <i>S. marcescens</i> sp. strain MBC1 pada media TW .....	42
14. Produksi metabolit sekunder <i>S. marcescens</i> sp. strain MBC1 .....	42
15. Proses evaporasi ekstrak metabolit sekunder bakteri.....	43
16. Hasil evaporasi ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 .....	43
17. Hasil evaporasi ekstrak metabolit sekunder <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	44
18. Proses pemeliharaan larva instar III <i>Ae. aegypti</i> .....	44
19. Ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 pada berbagai konsentrasi.....	45
20. Ekstrak metabolit sekunder <i>S. marcescens</i> strain MBC1 pada berbagai konsentrasi.....	45

21. Uji larvasida pada perlakuan ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain InaCC A497 .....	46
22. Uji larvasida pada perlakuan ekstrak metabolit sekunder <i>S. marcescens</i> strain MBC1 .....	46
23. Uji larvasida pada kontrol positif menggunakan Abate® .....	47
24. Uji larvasida pada kontrol negatif menggunakan akuades.....	47

## **I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang dan Masalah**

Demam berdarah dengue (DBD) disebabkan oleh virus melalui gigitan nyamuk yang umumnya berada di daerah tropis dan subtropis (Baak-Baak *et al.*, 2019). Tersebarnya penyakit ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu meningkatnya kepadatan penduduk, perubahan iklim, dan urbanisasi (WHO, 2018). Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2012), jumlah penderita DBD di Indonesia pada tahun 2017 sebanyak 68.407 orang dengan jumlah kematian 493 orang. Berdasarkan data Dinas Kesehatan Provinsi Lampung (2019), jumlah penderita DBD di seluruh kabupaten/kota di Lampung sebanyak 1.061 orang hingga 29 Januari 2019.

Upaya penurunan jumlah penderita DBD dapat dilakukan dengan mengendalikan vektor penyebab penyakit. Vektor utama dari penyakit ini adalah *Aedes aegypti* (Mulyatno *et al.*, 2012). Nyamuk ini dapat dikendalikan dengan pemutusan rantai siklus hidup atau pengurangan populasi. Cara yang sering dilakukan adalah dengan penyemprotan pada nyamuk dewasa atau penggunaan larvasida pada stadium larva (Kemenkes RI, 2012). Larvasida sintetik Abate® dengan bahan aktif temefos 1 % biasa digunakan masyarakat umum sesuai dengan anjuran Kemenkes (Yulidar & Hadifah, 2014). Penggunaan larvasida sintetik berakibat pada serangga non-target, memicu resistensi, dan mengganggu kesehatan pada manusia (Hidayati, 2014).

Penelitian yang menggunakan larvasida bahan alami sudah banyak dilakukan, seperti ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) (Muniandy *et al.*, 2020)

dan kulit buah limau kuit (*Citrus amblycarpa*) (Ishak, 2019) dilaporkan menunjukkan aktivitas larvasida pada *Ae. aegypti*. Buah aren (*Arenga pinata*) memiliki pengaruh yang signifikan pada tingkat kematian larva *Ae. aegypti* (Adelvia *et al.*, 2020). Namun, pemanfaatan tanaman ini membutuhkan masa produksi yang relatif lama. Oleh karena itu, dicari alternatif lain yang lebih cepat produksinya yaitu metabolit sekunder bakteri yang berpotensi sebagai larvasida *Ae. aegypti*.

Peneliti sebelumnya melaporkan bahwa bakteri *Streptomyces* menunjukkan kemampuan mematikan terhadap berbagai larva nyamuk baik *Anopheles*, *Culex*, dan *Aedes*. Penelitian Shanmugasundaram & Balagurunathan (2015) mensistesis AgNP dari *Streptomyces* sp. yang menunjukkan aktivitas larvasida terhadap *An. subpictus*, *Cx. quinquefasciatus*, dan *Ae. aegypti*. Ekstrak kasar dari *Streptomyces* sp. (Naine & Devi, 2014) dan *Streptomyces* sp. yang diisolai dari lingkungan sekitar mangrove (Balarikhsan, 2017) memiliki potensi sebagai larvasida *An. Stephensii* dan *Ae. aegypti*.

Bakteri pigmentik *Serratia marcescens* juga diteliti memiliki toksisitas terhadap larva nyamuk. Prodigiosin dari *S. marcescens* berpotensi sebagai larvasida dan pupasida nyamuk (Suryawashi *et al.*, 2015). Protease dan kitinase yang disekresi dari *S. marcescens* memiliki sifat patogen terhadap *An. dirus* (Jupatanakul *et al.*, 2020). Menurut Patil *et al.*, (2011), *S. marcescens* menunjukkan aktivitas larvasida pada *An. stephensi* dan *Ae. aegypti*.

Koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) yaitu *S. marcescens* strain MBC1 dan *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dikoleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) belum diketahui potensinya untuk larvasida. Untuk itu perlu dilakukan penelitian menggunakan hasil ekstrak metabolit sekunder dari *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1, guna mengetahui potensinya sebagai larvasida *Ae. aegypti*.

## 1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh ekstrak metabolit *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 terhadap mortalitas larva instar III *Ae. aegypti*.
2. Mengetahui efektivitas ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 terhadap mortalitas larva instar III *Ae. aegypti*.

## 1.3 Kerangka Pikir

Banyak cara yang dilakukan untuk mencegah penularan penyakit demam berdarah dengue (DBD). Salah satunya adalah pengendalian vektor utama dari penyakit ini, yaitu *Aedes aegypti*. Upaya pengendalian vektor ini dapat dilakukan dengan memutus rantai siklus hidup, misalnya pada stadium larva. Abate® dengan 1 % temefos sebagai larvasida yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kepadatan populasi *Ae. aegypti*.

Larvasida sintetik yang digunakan secara terus-menerus akan menyebabkan terjadinya resistensi pada larva nyamuk dan menghasilkan residu bahan kimia yang berdampak buruk terhadap lingkungan. Larvasida alami atau biolarvasida merupakan cara lain untuk mengurangi populasi *Ae. aegypti*. Metabolit sekunder dari mikroorganisme memiliki kandungan yang dapat digunakan sebagai larvasida *Ae. aegypti*.

*Streptomyces* sp. strain InaCC A497 mengandung alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid dan *Serratia marcescens* strain MBC1 mengandung alkaloid dan saponin. Senyawa-senyawa ini bersifat toksik bagi serangga. Alkaloid dan triterpenoid dapat menurunkan atau mengganggu proses sistem pencernaan larva. Flavonoid masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan dan akan menimbulkan gangguan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan sehingga larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati. Selain itu,

senyawa saponin dapat menghambat dan mematikan larva dengan cara merusak membran sel.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Faktorial (2x6) yang terdiri dari dua faktor, yaitu 2 jenis ekstrak metabolit sekunder bakteri dan 6 perlakuan. Larva instar III *Ae. aegypti* diberi perlakuan dan konsentrasi ekstrak metabolit sekunder bakteri 125, 250, 500, dan 1.000 ppm dengan empat kali pengulangan. Kontrol positif dengan 1 % temefos dan kontrol negatif dengan air sumur. Pengamatan dilakukan hingga 3, 6, 12, 24, 48, dan 72 jam. Analisis data yang digunakan adalah Analisis Ragam (ANARA) untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak metabolit sekunder kedua bakteri serta digunakan analisis probit untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> ekstrak larvasida tersebut.

Diharapkan metabolit sekunder kedua mikroorganisme ini mampu mematikan larva instar III *Ae. aegypti* dalam waktu 72 jam. Ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 diduga lebih efektif sebagai larvasida daripada ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1. Karena ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 mengandung senyawa yang berpotensi sebagai larvasida lebih bervariasi dibandingkan daripada *S. marcescens*.

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 memiliki pengaruh terhadap mortalitas *Ae. aegypti*.
2. Metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 lebih efektif sebagai larvasida *Ae. aegypti* dibandingkan metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 *Streptomyces* sp.**

#### **2.1.1 Klasifikasi**

Klasifikasi *Streptomyces* sp. menurut Kampfer (2006) sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Actinobacteria
Classis	: Actinomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Familia	: Streptomycetaceae
Genus	: <i>Streptomyces</i> sp.
Spesies	: <i>Streptomyces</i> sp.

#### **2.1.2 Morfologi**

Bakteri *Streptomyces* sp. terlihat mirip jamur secara mikroskopik karena memiliki hifa dan konidia, meskipun ukuran hifanya kecil dan sebagian bercabang, menghasilkan konidia yang membentuk rantai dan berkelompok yang berada pada ujung hifa aerial (Raharini *et al.*, 2014). Kawuri (2016), menyatakan *Streptomyces* sp. memiliki hifa yang ramping, senositik, dan berdiameter 0,5-2,0  $\mu\text{m}$ .

Menurut Pelczar *et al.* (2003), isolat *Streptomyces* sp. memiliki koloni berbentuk bulat, tidak teratur dengan warna yang bervariasi. Adanya pola seperti bintang atau pola guratan pada koloni *Streptomyces* sp. dan berwarna putih pada media *Starch Nitrate Agar* (Gambar 1).



Gambar 1. Morfologi koloni *Streptomyces* sp. (Ali, 2017)

### 2.1.3 Metabolit Sekunder

Pada fase stasioner, *Streptomyces* sp. akan menghasilkan produk metabolit sekunder. Secara struktur kimiawi, metabolit sekunder memiliki berbagai jenis. Beberapa produk metabolit sekunder berperan sebagai antibiotik, antikanker, antivirus, antiparasit, dan insektisida. Metabolit sekunder yang diproduksi setelah fase eksponensial mengalami penurunan karena adanya salah satu nutrien yang terbatas seperti karbon, nitrogen, atau fosfat (Maheshwari *et al.*, 2013).

## 2.2 *Serratia marcescens*

### 2.2.1 Klasifikasi

*S. marcescens* menurut Bergey *et al.* (2012) diklasifikasikan sebagai berikut.

- Kingdom : Bacteria
- Phylum : Proteobacteria
- Classis : Gamma Proteobacteria
- Ordo : Enterobacteriales
- Familia : Enterobactericeae
- Genus : *Serratia*
- Spesies : *S. marcescens*

### **2.2.2 Morfologi**

Menurut Manzila *et al.* (2016), *S. marcescens* merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pengecatan Gram menunjukkan sel bakteri berbentuk batang dan berwarna merah. Markey *et al.* (2013), koloni bakteri *S. marcescens* berbentuk cembung dan berwarna merah karena adanya produksi pigmen prodigiosin.

### **2.2.3 Metabolit Sekunder**

Bakteri *S. marcescens* memproduksi metabolit sekunder yaitu prodigiosin yang memiliki banyak fungsi sebagai larvasida, antifungi, antibakteri, antiprotozoal, aktivitas antimalaria, dan antikanker. Selain itu, *S. marcescens* juga dapat menghasilkan enzim kitinase yang efektif untuk mendegradasi kitin. Oleh karena itu, *S. marcescens* memiliki potensi sebagai bioinsektisida yang dapat mengendalikan serangga karena komposisi pada tubuh serangga yang mengandung kitin (Samrot *et al.*, 2011).

## **2.3 *Aedes aegypti***

### **2.3.1 Klasifikasi**

*Ae. aegypti* diklasifikasikan menurut Womack (1993) sebagai berikut.

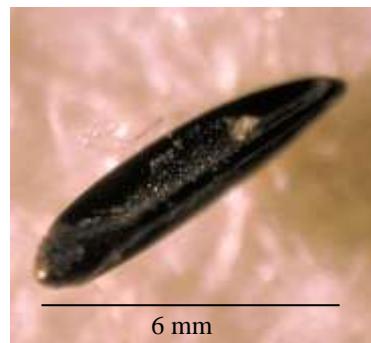
Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Classis	: Insekta
Ordo	: Diptera
Familia	: Culicidae
Genus	: <i>Aedes</i>
Spesies	: <i>Ae. aegypti</i>

### **2.3.2 Morfologi**

#### 1. Telur

*Ae. aegypti* betina meletakkan sekitar 80-100 butir telur setiap kali bertelur. Telurnya berbentuk lonjong, berukuran kecil

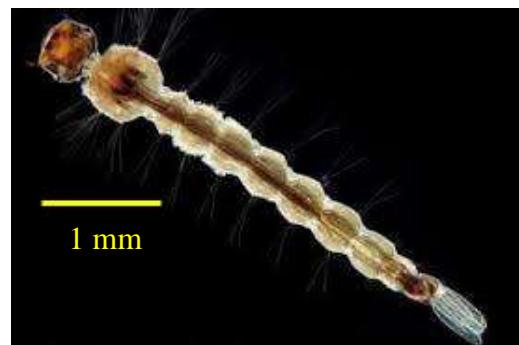
dengan panjang sekitar 6,6 mm dan berat 0,0113 mg, mempunyai torpedo, dan ujung telurnya meruncing (Gama *et al.*, 2013). Telur *Ae. aegypti* berwarna putih dan berubah menjadi hitam dalam waktu 30 menit (Gambar 2).



Gambar 2. Telur *Ae. aegypti* (Centers for Disease Control, 2012)

## 2. Larva

Menurut Gama *et al.* (2013), telur nyamuk *Ae. aegypti* yang menetas akan berkembang menjadi larva. Larva akan tumbuh menjadi larva instar I, II, III, dan IV secara berturut-turut. Larva instar I memiliki tubuh yang sangat kecil dengan panjang 1-2 mm, transparan, duri-duri pada dada belum begitu jelas dan sifon belum menghitam. Larva instar II, tubuhnya lebih besar dengan Panjang 2,5-3,9 mm, duri pada dada belum begitu jelas, dan sifon telah menghitam. Larva instar III, duri-duri sudah mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman dengan panjang 4-5 mm (Gambar 3). Larva instar IV dengan panjang 5-7 mm, tubuhnya telah lengkap yang terdiri dari kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat antena dan mata sedangkan pada bagian perut terdapat rambut-rambut lateral, pada segmen kedelapan pada bagian perut terdapat sifon dan insang.



Gambar 3. Larva instar III *Ae. aegypti* (Catherine & Phillip, 2008)

### 3. Pupa

Menurut Hadi dan Koesharto (2006), pupa nyamuk berbentuk koma. Kepala dan dada menyatu serta dilengkapi dengan sepasang terompet penapasan. Bagian ujung tidak meluas dan ruas abdomen kedua sampai tujuh tidak mempunyai spina (Gambar 4).

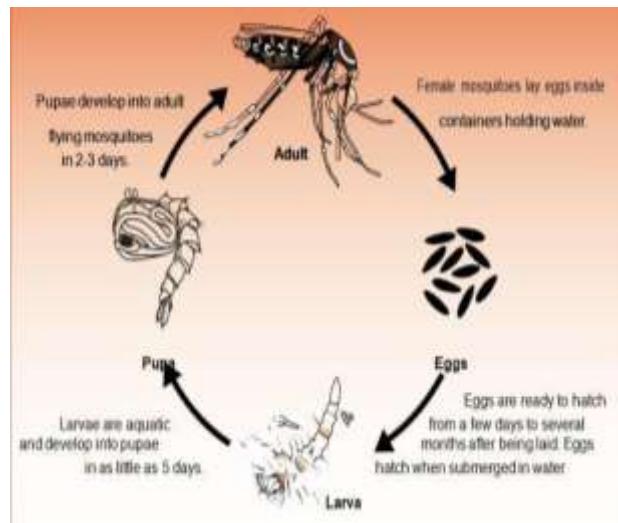


Gambar 4. Pupa *Ae. aegypti* (Catherine & Phillip, 2008)

#### 2.3.3 Siklus Hidup

Menurut Sutanto *et al.* (2009), nyamuk *Ae. aegypti* mengalami siklus hidup yaitu metamorfosis sempurna yang terdiri dari empat stadium, yaitu telur-larva-pupa-nyamuk dewasa. Nyamuk ini akan meletakkan telurnya di atas permukaan air satu persatu. Telur akan menetas dalam waktu 12 hari dan menjadi larva. Terdapat empat tingkatan (instar) pada larva *Ae. aegypti* yang dimulai dari larva instar I hingga instar IV yang membutuhkan waktu sekitar 5 hari.

Setelah mencapai instar IV, larva akan berubah menjadi pupa. Perkembangan pupa berlangsung selama 2 hari dan kemudian menjadi nyamuk dewasa. Pertumbuhan dari telur menjadi nyamuk dewasa membutuhkan waktu berkisar 9 hari (Gambar 5).



Gambar 5. Siklus hidup *Ae. aegypti* (CDC, 2012)

## 2.4 Larvasida

### 2.4.1 Larvasida Alami

Larvasida alami relatif mudah dibuat dengan kemampuan dan pengetahuan yang terbatas. Oleh karena terbuat dari bahan alami, maka jenis larvasida ini mudah terurai karena residunya mudah hilang. Larvasida alami memiliki sifat *hit and run*, yaitu apabila diaplikasikan akan membunuh larva pada waktu itu dan setelah terbunuh larva akan cepat menghilang di alam (Pratiwi, 2012).

Penggunaan larvasida alami memiliki beberapa keuntungan antara lain penguraian yang cepat oleh sinar matahari, udara, kelembaban, dan komponen alam lainnya, sehingga mengurangi risiko pencemaran tanah dan air. Selain itu, umumnya larvasida alami memiliki toksisitas yang rendah pada mamalia karena sifat inilah yang menyebabkan larvasida alami memungkinkan untuk diterapkan pada kehidupan manusia (Novizan, 2012).

#### **2.4.2 Mekanisme Masuknya Larvasida ke dalam Larva Serangga**

Menurut Wudianto (2008), untuk dapat memberikan efek racun kepada larva serangga, larvasida masuk ke dalam tubuh larva melalui beberapa cara, diantaranya yaitu:

1. Racun kontak, merupakan larvasida yang masuk ke dalam tubuh larva melalui kutikula. Larvasida ini biasanya bersentuhan langsung pada badan larva disaat sedang beristirahat.
2. Racun perut, merupakan larvasida yang masuk ke dalam badan larva melalui mulut, sehingga larvasida ini masuk bersama makanan yang kemudian meracuni lambung dan mengakibatkan alat pencernaannya terganggu.
3. Racun pernapasan, merupakan larvasida yang masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang selanjutnya akan ditransportasikan ke tempat racun tersebut bekerja.

#### **2.4.3 Jenis Senyawa Larvasida Bakteri**

Uji kandungan senyawa kimia ekstrak *Streptomyces* sp. strain InaCC dan *S. marcescens* strain MBC1 yang dilakukan oleh Angelia (2021) dan Variani (2021) didapatkan 5 golongan senyawa kimia (Tabel 1).

Tabel 1. Uji kandungan kimia ekstrak *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1

Jenis Senyawa	Hasil	
	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>S. marcescens</i>
Alkaloid	+	+
Triterpenoid	+	-
Flavonoid	+	-
Saponin	-	+
Tanin	-	-

Keterangan: (+) : terdeteksi  
(-) : tidak terdeteksi

Senyawa kimia di atas memiliki potensi dan peranan sebagai larvasida golongan berikut yaitu:

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang paling banyak di alam. Peran alkaloid sebagai larvasida adalah racun perut yang dapat menghambat sistem pencernaan dan menganggu sistem saraf larva. Alkaloid berperan sebagai racun kontak berupa garam yang masuk ke dalam sel dengan menghancurkan membran sel saluran pencernaan dan mengganggu sistem saraf dengan menghambat kerja enzim (Purwaningsih *et al.*, 2015).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa larvasida sebagai racun pernapasan. Senyawa ini akan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan dan menyebabkan kelayuan saraf serta kerusakan pada sistem pernapasan. Kemudian larva tidak bisa bernafas dan akhirnya mati (Cania & Setyaningrum 2013).

3. Saponin

Saponin adalah senyawa yang memiliki daya larvasida dengan mengganggu proses metabolisme larva. Senyawa saponin akan masuk ke dalam tubuh larva dengan cara menghambat enzim protease sehingga nutrisi yang diperoleh larva akan menurun (Purwaningsih *et al.*, 2015).

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang dapat larut di dalam air dan dapat menggumpalkan protein. Senyawa tanin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan menganggu aktivitas protein pada larva. Senyawa ini akan mengendapkan protein yang diperlukan untuk pertumbuhan larva dan menganggu proses penyerapan protein. Tanin dapat menyebabkan iritasi pada lambung apabila dimakan oleh larva (Yunita *et al.*, 2009).

## 5. Triterpenoid

Peran triterpenoid dalam mematikan larva dengan bekerja sebagai *antifeedant*. Mekanisme *antifeedant* yaitu menghambat aktivitas makan larva dengan mengurangi nafsu makan. Pengaruh senyawa ini dapat terjadi secara tidak langsung dan mematikan larva dalam waktu singkat (Dono & Sujana, 2008).

## 2.5 Pengendalian Vektor

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan faktor risiko penularan penyakit DBD yaitu dengan pengendalian vektor nyamuk *Ae. aegypti*. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011), metode pengendalian vektor dapat dilakukan dengan cara berikut.

### 1. Pengendalian Vektor Secara Biologi

Pengendalian vektor secara biologi merupakan suatu upaya pemanfaatan agen biologi untuk mengendalikan vektor DBD. Beberapa agen biologi yang dapat mengendalikan populasi larva vektor DBD diantaranya yaitu kelompok bakteri dan predator. Terdapat dua spesies bakteri yang mampu membunuh larva yaitu *B. thuringiensis* serotype H-14 (Bt. H-14) dan *B. spaericus* (BS). Predator larva di alam yang paling mudah digunakan oleh masyarakat untuk mengendalikan larva vektor DBD adalah ikan pemakan jentik. Beberapa ikan yang berkembang biak secara alami dan dapat digunakan sebagai pengendalian larva yaitu ikan kepala timah dan ikan cetul (Sukowati, 2010).

### 2. Pengendalian Vektor Secara Kimia

Pengendalian vektor secara kimia yang dapat dilakukan untuk menurunkan populasi nyamuk yaitu dengan cara pengabutan. Insektisida yang digunakan dalam proses ini berupa malathion. Pengendalian vektor secara kimia juga dapat dilakukan pada stadium larva yaitu menggunakan larvasida kimia berupa temefos (Sembel, 2009).

### 3. Pengendalian Vektor dengan Manajemen Lingkungan

Pengendalian vektor dengan manajemen lingkungan merupakan suatu upaya pengelolaan lingkungan untuk mengurangi bahkan menghilangkan

habitat perkembangbiakan nyamuk sebagai vektor, sehingga kepadatan populasi nyamuk berkurang. Manajemen lingkungan ini akan berhasil dengan baik apabila dilakukan oleh masyarakat, lintas sektor, para pemegang kebijakan, dan lembaga swadaya masyarakat melalui program kemitraan (Sukowati, 2010).

#### 4. Pengendalian Vektor dengan Pemberantasan Sarang Nyamuk

Pengendalian terhadap penularan penyakit DBD dapat dilakukan dengan cara memutus rantai penularan melalui pemberantasan sarang nyamuk. Pemberantasan Sarang Nyamuk/PSN-DBD dapat dilakukan melalui kegiatan 3M plus yaitu menguras penampungan air minimal seminggu sekali, menutup dengan rapat tempat penampungan air, dan mengubur barang bekas di sekitar rumah, serta ditambah (*plus*) dengan cara lainnya, seperti memeriksa jentik secara berkala, memasang obat nyamuk, dan menggunakan lotion anti nyamuk (Zulkoni, 2010).

#### 5. Pengendalian Vektor Terpadu (*Integrated Vector Management*)

Pengendalian vektor terpadu merupakan konsep pengendalian vektor yang diusulkan oleh WHO dengan tujuan untuk mengefektifkan berbagai kegiatan pemberantasan vektor yang melibatkan peran serta berbagai institusi. Kegiatan tersebut lebih difokuskan melalui kegiatan penyuluhan terkait DBD, kegiatan di sekolah, dan lain sebagainya (Kemenkes RI, 2012).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 sampai Februari 2021 di Laboratorium Mikrobiologi dan Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian Setyaningrum *et al.* (2020), yang didanai oleh BLU Unila tahun anggaran 2020/2021 dengan judul Uji Fraksi Metabolit *Streptomyces* sebagai Antimalaria secara In Vivo.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

###### **1. Pembuatan Media**

Alat yang digunakan untuk membuat media pertumbuhan bakteri adalah *beaker glass*, neraca analitik, sendok, gelas ukur, erlenmeyer 250 ml, *hot plate*, lemari pendingin dan autoklaf.

###### **2. Subkultur Bakteri**

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

###### **3. Fermentasi dan Produksi Metabolit Sekunder Bakteri**

Alat yang digunakan untuk fermentasi dan produksi metabolit sekunder adalah erlenmeyer 50 ml, 500 ml, dan 1000 ml, *shaker incubator*, corong, cawan penguap, *beaker glass*, *rotary evaporator*, *sentrifuge* dan *hotplate*.

4. Pemeliharaan Larva instar III *Aedes aegypti*

Alat yang digunakan untuk memelihara larva adalah nampan plastik (20 cm × 15 cm × 5 cm).

5. Uji Larvasida

Alat yang digunakan untuk uji larvasida adalah gelas plastik 300 ml, pipet tetes, dan mikroskop digital IMSO.

6. Uji lanjut

Alat yang digunakan untuk uji lanjut adalah gelas ukur, gelas plastik, dan pipet tetes.

### **3.2.2 Bahan**

1. Pembuatan Media

Bahan yang digunakan untuk membuat media pertumbuhan Bahan yang digunakan untuk subkultur adalah *Tryptic Soy Agar (TSA)*, *Tryptone Water (TW)*, *Extract Yeast, Starch*, agar, dan akuades.

2. Subkultur Bakteri

Bahan yang digunakan untuk subkultur adalah bakteri *Streptomyces* sp strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1, media *Yeast Starch Agar (YSA)* dan *Tryptone Soy Agar (TSA)*, alkohol 70%, *tissue paper*, dan *plastic wrap*.

3. Fermentasi dan Produksi Metabolit Sekunder Bakteri

Bahan yang digunakan untuk fermentasi dan produksi metabolit sekunder adalah bakteri *Streptomyces* sp strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1, media *International Streptomyces Project (ISP) I*, media *Tryptone Water (TW)*, akuades, etil asetat, metanol, dan kertas saring *whatman* nomor 40.

4. Pemeliharaan Larva instar III *Aedes aegypti*

Bahan yang digunakan untuk memelihara larva adalah telur *Ae. aegypti* yang berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Baturaja, air sumur, hati sapi, dan *dogfood*.

### 5. Uji Larvasida

Bahan-bahan yang digunakan pada uji larvasida adalah larva instar III *Ae. aegypti*, ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1, dan air sumur.

### 6. Uji lanjut

Bahan-bahan yang digunakan pada uji lanjut adalah larva instar III *Ae. aegypti*, ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1, dan air sumur.

## 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Faktorial (2x6) yang terdiri dari dua faktor yaitu 2 jenis ekstrak metabolit sekunder bakteri dan 6 perlakuan. Bakteri yang digunakan adalah *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *Serratia marcescens* strain MBC1. Konsentrasi ekstrak metabolit sekunder bakteri yang digunakan adalah 125, 250, 500, 1.000 ppm. Kontrol positif menggunakan Abate® dengan temefos 1 % dan kontrol negatif menggunakan air sumur. Setiap perlakuan menggunakan 25 ekor larva instar III *Ae. aegypti* sebagai target uji dengan empat kali pengulangan.

## 3.4 Prosedur Kerja

### 3.4.1 Pembuatan Media

Media YSA digunakan sebagai media pertumbuhan *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dibuat dengan memasukkan 1 g *Yeast extract*, 5 g *Starch* dan 7,5 g agar ke dalam *beaker glass* yang berisi 500 ml akuades. Selain itu, digunakan media TSA sebagai media pertumbuhan *S. marcescens* strain MBC1. Media ini dibuat dengan memasukkan TSA sebanyak 7,5 g ke dalam *beaker glass* yang berisi 500 ml akuades. Masing-masing media dihomogenkan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu

121 °C selama 15 menit.

### **3.4.2 Sub-kultur Isolat *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1**

Isolat *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 berasal dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dan *S. marcescens* diisolasi dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Kedua bakteri ini disubkultur dengan menggunakan metode *streak* pada cawan petri. Metode *streak* digunakan untuk melihat morfologi koloni dari bakteri. Media YSA dan TSA dituang sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri. Setelah media padat, ambil masing-masing 1 ose isolat *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1. Kemudian gores isolat pada permukaan secara berliku-liku (metode *streak*). Tepi cawan petri dilapisi dengan *plastic wrap* dan dibungkus dengan kertas.

### **3.4.3 Fermentasi *Streptomyces* sp. Strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1**

*Streptomyces* sp. Strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 difermentasi terlebih dahulu sebelum diproduksi metabolit sekundernya. Starter fermentasi untuk *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 menggunakan media ISP1. Media dibuat dengan ditimbang 0,5 g TW dan 0,3 g *Yeast extract* dan dimasukkan kedalam *beaker glass* yang berisi 10 ml akuades. Starter fermentasi untuk *S. marcescens* menggunakan media TW dibuat dengan ditimbang 1,5 g TW dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 100 ml akuades. Media dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Diambil masing-masing 1 ose isolat *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1. Permukaan atas erlenmeyer dilapisi dengan *plastic wrap* dan dibungkus dengan kertas. Starter fermentasi kedua bakteri diinkubasi di dalam *shaker incubator* selama 5-7 hari.

#### 3.4.4 Produksi Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder diproduksi dalam 1 L media. Media ISP1 dibuat dengan ditimbang 5 g TW dan 3 g *Yeast extract* dan dimasukkan kedalam *beaker glass* yang berisi 1 L akuades. Media TW juga dibuat dengan ditimbang 15 g TW dan dimasukkan kedalam *beaker glass* yang berisi 1 L akuades. Masing-masing media dimasukkan kedalam erlenmeyer 1 L dan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Starter fermentasi kedua bakteri dituang kedalam 1 L media yang telah dibuat dan diinkubasi pada *shaker incubator* selama 5-7 hari.

Setelah 5-7 hari, hasil dari produksi metabolit sekunder tersebut disaring menggunakan kertas saring *whatman* nomor 40 serta dipisahkan supernatan dan natan menggunakan *sentrifuge* 6000 rppm selama 5 menit. Supernatan dilarutkan dalam 500 ml etil asetat dan 500 ml metanol. Pelarut etil asetat dan metanol dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah mendapatkan ekstrak berupa cairan lalu diuapkan dengan menggunakan *beaker glass* berisi air yang di atasnya diletakkan cawan penguap dan dipanaskan menggunakan *hotplate*. Hasil evaporasi disimpan di lemari pendingin.

#### 3.4.5 Pemeliharaan Larva Instar III *Ae. aegypti*

Nampan plastik diisi air sumur sebanyak 1 L kemudian diberi bubuk hati sapi yang telah dilarutkan sebanyak 1 g dalam 25 ml (4 %b/v) dan difermentasi selama 24 jam. Kertas yang berisi telur dimasukkan ke dalam nampan tersebut dan direndam selama 24 jam. Menurut Imam *et al.* (2014), telur yang telah menetas diberi makan *dogfood* setiap sore hari dengan dosis 0,22 %b/v sebagai berikut (Tabel 2).

Tabel 2. Dosis *dogfood* untuk pemberian makan larva

Hari ke-	<i>Dogfood</i> (g)	Air (ml)
1	0,11	50
2	0,22	100
3	0,44	200

Kemudian dipelihara hingga menjadi larva instar III dalam 3 hari dan diambil untuk selanjutnya dilakukan uji larvasida.

#### 3.4.6 Uji Larvasida

Berdasarkan hasil dari penelitian Rajesh *et al.* (2015), tingkat 50% mortalitas larva ditunjukkan pada konsentrasi 250 ppm sehingga penelitian ini menggunakan konsentrasi metabolit sekunder yaitu 125, 250, 500, dan 1000 ppm. Kontrol positif digunakan Abate® dengan 1 % temefos dan kontrol negatif menggunakan air sumur. Pada setiap konsentrasi dan kontrol dilakukan empat kali pengulangan sehingga pada penelitian ini terdiri dari 40 unit percobaan. Ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 dan *S. marcescens* strain MBC1 dimasukkan ke dalam gelas plastik sebanyak 25 ml sesuai dengan konsentrasi. Larva instar III *Ae. aegypti* sebanyak 25 ekor dimasukkan kedalam masing-masing gelas. Kemudian diamati selama 3, 6, 12, 24, 48, dan 72 jam.

#### 3.4.6 Uji Lanjut

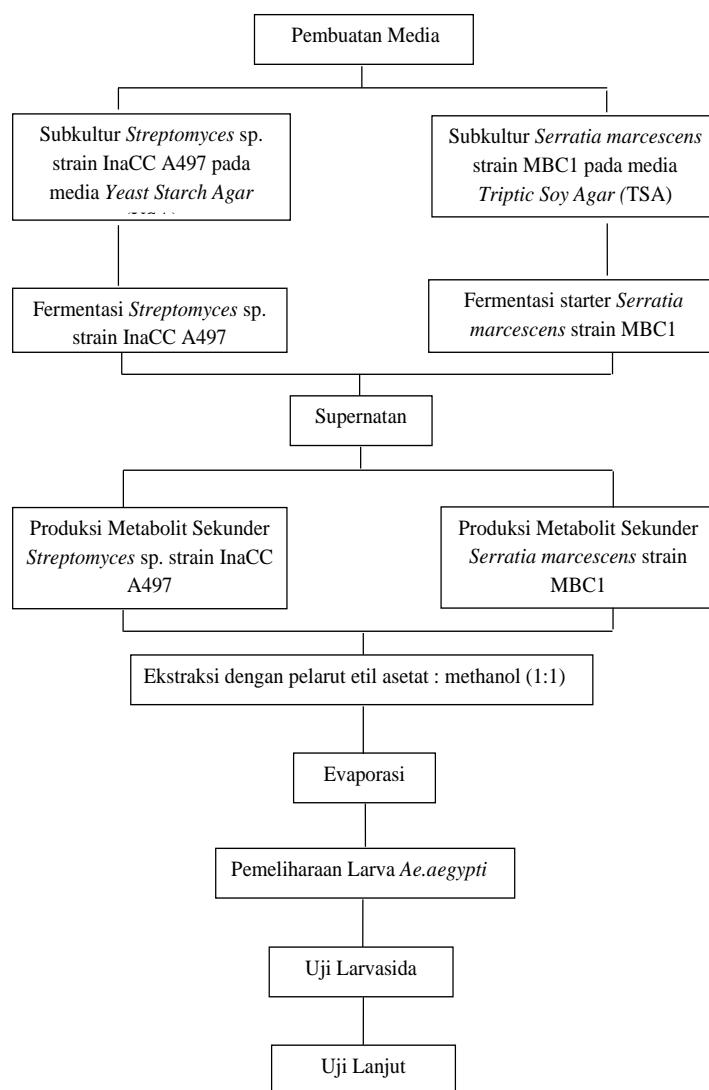
Uji lanjut larvasida dilakukan pada perlakuan ekstrak *S. marcescens* strain MBC1. Kontrol negatif menggunakan air sumur dan ekstrak bakteri dengan konsentrasi 500 serta 1.000 ppm masing-masing sebanyak 10 ml dan 10 ekor larva instar III *Ae. aegypti* dimasukkan ke dalam gelas plastik. Kemudian diamati sampai semua larva di perlakuan mengalami kematian dan dibandingkan siklus hidup di kontrol negatif.

### 3.4.7 Analisis Data

Data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen sehingga tidak dapat dianalisis dengan Analisis Ragam (ANARA). Data dianalisis dengan Analisis Probit untuk menghitung *Lethal Concentration* (LC) yang dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub>.

### 3.5 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir penelitian

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 memiliki pengaruh terhadap mortalitas larva instar III *Ae. aegypti* sedangkan *S. marcescens* mempengaruhi lamanya siklus hidup larva dan tidak mencapai dewasa.
2. Ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain InaCC A497 lebih efektif sebagai larvasida daripada *S. marcescens* strain MBC1.

### **5.2 Saran**

Adapun saran dari penelitian ini yaitu dilakukan uji lanjut larvasida pada ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 terhadap larva instar III *Ae. aegypti*

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Adelvia, F. E. Mahmud, & R. N. Armedina, R. Muktarom. 2020. Pengaruh ekstrak buah aren (*Arenga pinnata*) terhadap tingkat mortalitas larva *Ae.aegypti*. *Jurnal ABDI*. 2(1): 33–39.
- Ali, A. 2017. *Keragaman Actinobacteria di Sulawesi Selatan dan Aplikasinya dalam Bioteknologi Tanaman*. Global-RCI. Makassar.
- Angelia, J. F. 2021. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder yang Terkandung dalam Streptomyces sp. strain InaCC A497 dan Ab8 sebagai Kandidat Antimalaria* (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Arismawati, L. M. Sawaluddin, & H.W Sudrajat. 2017. Efek larvasida biji buah pepaya (*Carica papaya* L) terhadap larva instar III *Ae. aegypti* L. Medula. 4(2): 332-343.
- Baak-Baak, C. Marcial, Cigarroa-Toledo, Nohemi, A. May-Pech, G. A. Cruzescalona, R. C. Cetina-trejo, C. Machain-williams, & O. M. Torreschable. 2019. Entomological and virological surveillance for dengue virus in churches in Merida, Mexico. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 14(61): 1–9.
- Balakrishnan, S., P. Santhanam, & M. Srinivasan. 2017. Larvacidal potency of marine actinobacteria isolated from mangrove environment against *Ae. aegypti* and *An. stephensi*. *Journal of Parasitic Diseases*. 41(2): 387-394.
- Bergey, D.H., B. W. William, M. Goodfellow, P. Kämpfer, & H. J. Busse. 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Vol. 5, the actinobacteria*. Springer. New York.
- Bureni E. Y. N., I. N. Sasputra, M. A. E. Dedy. 2018. Uji efektivitas ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) terhadap larva nyamuk *Ae aegypti*. *Cendana Medical Journal*. 15(3): 1-12.
- Cania, E. & E. Setyaningrum. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Ae. aegypti*. *Medical Journal of Lampung University*. 52(4).: 52-60.

- Catherine, Z. & K. Phillip. 2008. Yellow Fever Mosquito *Ae. aegypti* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Culicidae). Department Ufl Edu. [http://Entnemdept.Ufl.Edu/Creatures/Aquatic/Aedes\\_aegypti.Htm](http://Entnemdept.Ufl.Edu/Creatures/Aquatic/Aedes_aegypti.Htm) Diakses pada 1 November 2020.
- CDC. 2012. *Mosquito Life Cycle Ae. aegypti*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Disease. Amerika Serikat.
- Dinkes Provinsi Lampung. 2019. *Profil Data Kesehatan Provinsi Lampung*. Dinas Kesehatan. Bandar Lampung.
- Dono, D. & N. Sujana. 2008. Aktivitas insektisida ekstrak *Barringtonia asiatica* (Lecythidaceae) terhadap larva *Crocidolomia pavonana* (Lepidoptera: Pyralidae) dan fitotoksitasnya pada tanaman sawi. *Prosiding*. 273-285.
- Ebadollahi, A., J. J. Sendi, R. Khosravi, & P. Honarmand. 2013. Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae. *Annual Review and Research in Biology*. 3(4): 649-658.
- Gama, Z. P., N. Nakagoshi, Suharjono, F. Setyowati. 2013. Toxicity studies for indigenous *Bacillus thuringiensis* isolates from Malang city, East Java on *Ae. aegypti* larvae. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(2): 111-117.
- Hadi, U. K. & F. X. Koesharto. 2006. *Hama Pemukiman Indonesia Pengenalan Biologi dan Pengendalian*. Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.
- Hidayati, K. N. 2014. Penggunaan Insektisida Rumah Tangga Antinyamuk. Widyariset LIPI. <http://widyariset.pusbindiklat.;ipi.go.id/index.php/widyariset/article/viewFile/286/274>. Diakses pada 5 November 2020.
- Imam, H., G. Sofi, Zarnigar, & S. Aziz. 2014. The basic rules and methods of mosquito rearing (*Ae. aegypti*). *Tropical Parasitology*. 4(1): 53.
- Ishak, N. I. 2019. Efektivitas ekstrak kulit buah limau kuit (*Citrus ambylycarpa*) sebagai larvasida *Ae. aegypti* iInstar III. *Jurnal MKMI*. 15(3): 302–310.
- Jindra, M., S. R. Pallo, & L. M. Riddiford. 2012. The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annu. Rev. Entmol.* 58(1): 181-204.
- Jupatanakul, N., J. Pengon, S. M. G. Selisana, W. Choksaengkarn, N. Jaito, A. Saeung, R. Bunyong, N. Posayapisit, K. Thammatinna, N. Kalpongnekul, K. Aupalee, T. Pisitkun, & S. Kamchonwongpaisan. 2020. *S. marcescens* secretes proteases and chitinases with larvicidal activity against *Anopheles dirus*. *Acta Tropica*. 212.

- Kämpfer, P. 2006. The Family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy BT – The Prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Kawuri, R. 2016. Isolasi dan identifikasi *Streptomyces* sp. pada rhizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) di desa pendem jembrana bali. *METAMORFOSA*. 3(2): 140-148.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta.
- Kemenkes RI. 2012. *Profil Kesehatan Indonesia 2011*. Kementrian Kesehatan RI. Jakarta.
- Lapenda, J. C., P. A. Silva, M. C. Vicalvi, K. X. F. R. Sena, & S. C. Nascimento. 2015. Antimicrobial activity of prodigiosin isolated from *S. marcescens* UFPEDA 398. *World J Microbiol Biotechnol*. 31(1): 399-406.
- Maheshwari, D. K., A. Aeron, & M. Saraf. 2013. Bacteria in agrobiology: Crop productivity. *Springer Science & Business Media*.
- Manzila, I., T. P. Priyatno, R. Herlis, I. Rusmana, I. M. Samudra, & Y. Suryadi. 2016. Pengaruh Media terhadap Produksi Prodigiosin Isolat Bakteri Entomopatogen *S. marcescens* Asal Wereng Batang Cokelat. *Jurnal AgroBiogen*. 10(22): 77-84.
- Markey, B., F. Leonard, M. Archambault, A. Cullinane, & D. Maguire. 2013. *Clinical Veterinary Microbiology 2<sup>nd</sup> edition*. Elsevier. Amsterdam.
- Matsumura, F. 1985. *Toxicology of Insecticide*. Pesticide Research Center, Michigan State University. East Lansing.
- Mulyatno, K. C., A. Yamanaka, Ngadino, & E. Konishi. 2012. Resistance of *Ae. Aegypti* (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 43(1): 29–33.
- Muniandy, P. D., S. F. Riswari, & K. Ruchiatan. 2020. Larvicidal Activity of *Citrus aurantifolia* Decoction against *Ae. aegypti* Larvae. *Althea Medical Journal*. 7(1): 35–39.
- Naine, S. J. & C. S. Devi. 2014. Larvicidal and repellent properties of *Streptomyces* sp. VITJS4 crude extract against *Anopheles stephensi*, *Ae. aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Microbiology*. 63(3): 341–348.
- Novizan. 2012. *Membuat Dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Agro Media Pustaka. Jakarta.

- Patil, C. D., S. V. Patil, B. K. Salunke, & R. B. Salunkhe. 2011. Prodigiosin produced by *S. marcescens* NMCC46 as a mosquito larvicidal agent against *Ae. aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Parasitology Research* 109(4): 1179-1187
- Pelczar, J. R., M.J. Chan, & N.R. Krieg. 2003. *Microbiology Concepts and Applications*. McGraw-Hill Higher Education. New York.
- Pratiwi, A. 2012. Penerimaan masyarakat terhadap larvasida alami. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 8(1): 254-267.
- Purwaningsih N.V., M.P. Kardiwinata, & N.W.A. Utami. 2015. Daya bunuh ekstrak daun srikaya (*Annona Squamosa L.*) terhadap telur dan larva *Ae. aegypti*. *E-Journal of Applied Chemistry*.
- Ragvendran, C & D. Natarajan. 2017. *S. marcescens* (Enterobacteriaceae): An alternate biocontrol agent for mosquito vectors *Ae. aegypti* and *Cx. quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Pharmacology, Toxicology, and Biomedical Journal*. 3(1): 14-20.
- Raharini, A. O., R. Kawuri, & D. A. Khalimi. 2014. Penggunaan *Streptomyces* sp. Sebagai Biokontrol Penyakit Layu Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum L.*) yang Disebabkan Oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. capsici. *Journal on Agriculture Science*. 2(2): 151-159.
- Rajesh, K., D. Dhanasekaran, & 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*. 4(2): 1135-1143.
- Revathi, K., R. Chandrasekaran, A. Thanigaivel, S. A. Kirubakaran, S. Sathish-Narayanan, & S. Senthil-Nathan. 2013. Effects of *Bacillus subtilis* metabolites on larval *Aedes aegypti* L. *Pesticide biochemistry and physiology*. 107 (3): 369–376.
- Samrot, A. V., K. Chandana, & P. Senthilkumar. 2011. Optimization of prodigiosin production by *S. marcescens* SU-10 and evaluation of its bioactivity. *International Research Journal of Biotechnology*. 2(1): 171-179.
- Sembel, D. T. 2009. *Entomologi Kedokteran*. CV Andi. Yogyakarta.
- Shanmugasundaram, T., R. Balagurunathan. 2015. Mosquito larvicidal activity of silver nanoparticles synthesised using actinobacterium, *Streptomyces* sp. M25 against *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Ae. aegypti*. *Journal of Parasitic Diseases*. 39(4): 677-684.
- Sogandi, G., Fadhli. 2020. Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator*. 12(1): 209-217.

- Sukowati, S. 2010. *Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia*. Buletin Jendela Epidemiologi. Jakarta.
- Suryawanshi, R. K., C. D. Patil, H. P. Borase, C. P. Narkhede, B. K. Salunke, S. V. Patil. 2015. Mosquito larvicidal and pupaecdial potential of prodigiosin from *S. marcescens* and understanding its mechanism of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 12(3): 49-55.
- Sutanto, I., I. S. Ismid, P. K. Sjarifuddin, S. Sungkar. 2009. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat*. FKUI. Jakarta.
- Taufiq, Yuniarni, Hazar. 2015. Uji Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Prosiding Penelitian Spesia Unisba*.
- Variani, Y. A. 2021. *Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Isolat Bakteri Streptomyces higroscopicus strain I18 dan S. marcescens strain MBC1 yang Berpotensi sebagai Kandidat Antimalaria* (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- World Health Organization. 2005. *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. World Health Organization. Geneva.
- World Health Organization. 2018. *Dengue and severe dengue key facts*. World Health Organization. Geneva.
- Widawati, M., P. Heni. 2013. Efektivitas Ekstrak Buah *Beta vulgaris* L. (Buah Bit) Dengan Berbagai Fraksi Pelarut Terhadap Mortalitas Larva *Ae. aegypti*. *Aspirator*. 5(1): 46-53.
- Womack, M. 1993. The Yellow Fever Mosquito, *Ae. aegypti*. *Wing Bets*. 5(4): 4-12.
- Wudianto, R. 2008. *Petunjuk Penggunaan Pestisida*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Yulidar, Z. Hadifah. 2014. The abnormalities of larvae ' s morphology after temefos exposure in phase larvae instar 3 ( L 3 ) Kerusakan larva *Ae. aegypti* ( Linn . ) setelah terpapar temefos pada fase larva instar 3 ( L 3 ). *Epidemiology and Zoonosis Journal*. 5(1): 23-28.
- Yunita, E.A, Suorapti, N.H. & Hidayat, J.W. 2009. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Ae. aegypti*. *Bioma*. 11(2): 26-33.
- Zulkoni, A. 2010. *Parasitologi*. Nuha Medika. Yogyakarta.