

## Efek Larvasida Bakteri Kitinolitik dari Limbah Kulit Udang terhadap Larva *Aedes aegypti*

*Larvicidal effect of chitinolytic bacteria from shrimp's waste against Aedes aegypti larvae.*

Dyah Widiastuti<sup>1</sup>, Dewi Marbawati<sup>1</sup>

Balai Litbang P2B2 Banjarnegara, Jl Selamanik No 16A Banjarnegara Jawa Tengah

**Abstract.** *Aedes aegypti* is a major vector for Dengue, a deadly disease causing death of millions of people in developing countries both in urban and rural populations. *Ae. aegypti* control using chemical insecticide was always carried out and lead to a widespread insecticide resistance. Therefore, mosquito biological control is needed to replace the usage of chemical insecticide. A chitinolytic bacteria, was isolated from shrimp's waste (head and shell). The isolate showed chitinolytic activity as a transparent zone in colony inside the synthetic media, containing (w/v)- 0,3 % colloidal chitin, 1% pepton, 0,5% yeast extract, 0,1% NaCl, 0,1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, and each of 0,0001% CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>.nH<sub>2</sub>O and CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O at pH 7 and 30°C after 72 h of incubation. The isolate was identified as gram positive group based on gram staining. In the experimental method, four concentrations of chitinolytic bacteria (4%, 8%, 16% and 32%) was exposed to *Ae. aegypti* larvae. The result showed that chitinolytic bacterium degrades exoskeleton of third instar larvae of *Ae. aegypti*. Degradation of exoskeleton started on the 2<sup>nd</sup> days and occurred in thorax region. Probit analysis showed LC<sub>50</sub> value was obtained at concentration of 2%.

**Keywords:** *chitinolytic bacteria, shrimp's waste, Aedes aegypti*

**Abstrak.** *Aedes aegypti* merupakan vektor utama Dengue, penyakit yang menyebabkan kematian jutaan orang di negara-negara berkembang baik pada populasi perkotaan dan pedesaan. Pengendalian *Ae. aegypti* menggunakan insektisida kimia selalu dilakukan dan menyebabkan resistensi insektisida secara luas. Oleh karena itu, pengendalian nyamuk secara biologis diperlukan untuk menggantikan penggunaan insektisida kimia. Bakteri kitinolitik telah diisolasi dari limbah udang (kepala dan cangkang). Isolat menunjukkan aktivitas kitinolitik berupa zona bening di sekitar koloni dalam media sintetik yang mengandung (w/v) - 0,3% koloidal kitin, 1% pepton, ekstrak ragi 0,5%, 0,1% NaCl, 0,1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,001% ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, dan masing-masing 0,0001% CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>.nH<sub>2</sub>O dan CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O pada pH 7 dan suhu 30°C setelah 72 jam inkubasi. Isolat diidentifikasi sebagai kelompok positif gram berdasarkan pewarnaan gram. Dalam metode eksperimen, empat konsentrasi bakteri kitinolitik (4%, 8%, 16% dan 32%) dipaparkan pada larva *Ae. aegypti*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri kitinolitik mendegradasi eksoskeleton larva instar ketiga *Ae. aegypti*. Degradasi eksoskeleton dimulai pada hari ke-2 dan terjadi di wilayah dada. Hasil analisa probit menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> pada konsentrasi 2%.

**Kata Kunci:** bakteri kitinolitik, limbah udang, *Aedes aegypti*

Naskah masuk: 08 Januari 2016 | Revisi: 23 Februari 2016 | Layak terbit: 08 Maret 2016

<sup>1</sup> Korespondensi: umi.azki@gmail.com | Telp :0286 594972

## LATAR BELAKANG

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus Dengue. Penyakit DBD masih menjadi masalah kesehatan penting di negara-negara tropis dan sub tropis, karena perjalanan penyakit ini sangat cepat sehingga jika tidak segera ditangani dapat berakibat fatal. Virus Dengue yang merupakan penyebab DBD ini masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus*. Nyamuk ini membawa virus Dengue dan siap mengisap darah penderita Dengue. Setelah membawa virus ini, nyamuk *Aedes sp* dapat menularkan virus Dengue kepada siapa saja sepanjang siklus hidupnya melalui gigitan sewaktu mengisap darah manusia.<sup>1</sup>

Prevalensi global infeksi Dengue telah meningkat dengan dramatis pada beberapa dekade terakhir. Infeksi Dengue saat ini telah menjadi endemis di lebih dari 112 negara di Afrika, Amerika, bagian timur Mediterania, Asia Tenggara dan bagian barat Pasifik. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan 40 % populasi dunia atau 2,5 milyar orang yang tinggal di daerah tropis dan subtropis mempunyai risiko untuk terjangkit infeksi Dengue.<sup>2,3</sup> Seluruh wilayah di Indonesia mempunyai risiko untuk terjangkit penyakit DBD sebab baik virus penyebab maupun nyamuk penularnya sudah tersebar luas di seluruh Indonesia.

Pengendalian populasi nyamuk *Ae. aegypti* sangat penting dalam rangka pengendalian penyakit DBD. Berbagai tindakan telah dilakukan masyarakat antara lain melalui pengasapan (*fogging*), gerakan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN) maupun abatisasi. Namun demikian, sampai saat ini permasalahan DBD belum juga dapat teratasi. Bahkan muncul permasalahan baru berupa meluasnya fenomena resistensi nyamuk terhadap berbagai jenis insektisida. Beberapa penelitian telah melaporkan adanya resistensi nyamuk *Ae. aegypti* terhadap berbagai insektisida.<sup>4,5,6</sup>

Satu diantara cara pengendalian nyamuk dapat dilakukan pada tahap larva. Pengendalian larva nyamuk yang selama ini sering digunakan adalah pengendalian secara kimiawi, hal ini dapat menekan populasi vektor secara cepat. Namun, pengendalian dengan cara ini bila dilakukan secara berulang-ulang kurang efektif karena dapat menyebabkan resistensi bagi larva, kematian bagi hewan predator larva dan pencemaran lingkungan.<sup>7</sup> Resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap larvasida Temephos telah dilaporkan di beberapa penelitian di berbagai tempat.<sup>4,5,6</sup> Untuk itu diperlukan alternatif metode pengendalian nyamuk *Ae. aegypti* dengan metode yang ramah lingkungan yaitu

pengendalian hayati menggunakan musuh alami nyamuk tersebut.<sup>8</sup>

Potensi pemanfaatan bakteri kitinolitik sebagai agen pengendali hayati nyamuk *Ae. aegypti* memerlukan penelitian awal tentang kemampuan bakteri kitinolitik isolat lokal. Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati terhadap nyamuk vektor penyakit. Contoh bakteri kitinolitik yang sudah berhasil diidentifikasi adalah *Bacillus circulans*, *Streptomyces lividans*, *Aeromonas sp.* dan *Serratia marcescens*,<sup>9</sup> yang memiliki gen enzim kitinase yang berbeda.<sup>10</sup>

Penelitian dari Thamthiankul menyebutkan kitinase (chiA71) dari *Bacillus thuringiensis* diidentifikasi sebagai exochitinase dilaporkan dapat menyebabkan kematian larva *Ae. aegypti*.<sup>11</sup> Hal ini didasarkan pada komponen eksoskeleton dari nyamuk yang tersusun dari bahan kitin yang secara logika dapat didegradasi oleh kitinase. Kerusakan struktur eksoskeleton larva nyamuk dapat berakibat pada gangguan pertumbuhan.

Penelitian yang dilakukan menggunakan bakteri kitinolitik sebagai pengendali hayati terhadap serangga telah banyak dilakukan, hal ini tidak menutup kemungkinan untuk memanfaatkan bakteri kitinolitik sebagai larvasida hayati bagi nyamuk. Menurut Suryanto et al.<sup>12</sup> penggunaan bakteri sebagai larvasida nyamuk karena bakteri ini mampu mendegradasi kitin menjadi derivat kitin. Kitin berfungsi untuk morfogenesis dinding sel dan pembangun eksoskeleton nyamuk. Bakteri kitinolitik dapat diisolasi dari air, tanah serta tempat-tempat dimana senyawa kitin bisa ditemukan.

Udang merupakan komoditas sektor perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan menjadi komoditas unggulan. Pada umumnya, limbah berupa kulit dan kepala udang kurang dimanfaatkan dan cenderung menjadi limbah yang dapat menyebabkan terjadinya masalah lingkungan.<sup>13</sup> Maka dari itu diharapkan limbah udang ini dapat didaur ulang menjadi sesuatu yang bermanfaat. Melalui berbagai penelitian yang telah dilakukan limbah kulit udang ini memiliki potensi yang besar sebagai penghasil kitin. Kitin merupakan polisakarida utama yang terdapat pada kulit udang dan cangkang kepiting, selain itu kitin juga terdapat pada fungi dan kerangka luar serangga.<sup>14</sup> Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri kitinolitik dari substrat limbah kulit udang. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri kitinolitik yang dapat digunakan sebagai agen bioinsektisida untuk mengendalikan larva *Ae. aegypti*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Instalasi Bakteriologi dan Entomologi Balai Litbang P2B2 Banjarnegara pada bulan Mei-Agustus 2015.

### Bahan dan Isolat

Bahan penelitian meliputi: air rendaman kulit udang, media agar kitin (0,5% koloid kitin, 0,1%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,02%  $K_2HPO_4$ , 0,1% ekstrak yeast, 1,5% agar), Media kitin cair (0,3% koloid kitin, 1% pepton, 0,5% ekstrak yeast, 0,1% NaCl, 0,1%  $K_2HPO_4$ , 0,05%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,001%  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,001%  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , dan masing-masing 0,0001%  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ,  $MnSO_4 \cdot nH_2O$  dan  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  pH 7), larva nyamuk *Ae. aegypti* instar 3 (koleksi Balai Litbang P2B2 Banjarnegara).

### Pembuatan Media Agar Kitin

Bahan untuk membuat agar kitin dan media kitin cair disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media agar kitin steril dituang ke dalam cawan petri steril dan siap digunakan. Media kitin cair dituang dalam tabung kultur bakteri untuk memperbanyak bakteri kitinolitik.

### Isolasi Bakteri Kitinolitik

Bakteri kitinolitik diisolasi dari substrat berupa air rendaman kulit udang yang telah direndam di suhu ruang selama 1 minggu. Sebanyak 1 ml sampel substrat dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar kitin dan diinkubasi selama 72-96 jam pada suhu 30°C. Setelah bakteri tumbuh, dilakukan seleksi dengan melihat zona bening (daerah halo) yang dihasilkan. Purifikasi isolat dilakukan untuk mendapatkan isolat murni. Isolat murni yang didapatkan kemudian ditumbuhkan dalam media kitin cair sampai mencapai OD 0,5 pada panjang gelombang 600 nm.<sup>15</sup>

### Karakterisasi Bakteri dengan Pengecatan Gram

Akuades diteteskan 1-2 tetes pada kaca objek, ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi di atas api. Pewarna kristal violet diteteskan pada sediaan dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, kemudian ditetesi lugol dan dibiarkan selama satu menit lalu kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya sediaan ditetesi alkohol 96% dan dibiarkan selama 10-20 detik, sediaan dicuci dengan air mengalir dan ditambahkan safranin lalu dibiarkan selama 20-30 detik kemudian dicuci lagi dengan air mengalir. Tahap selanjutnya sediaan dikeringkan dengan menggunakan kertas serap dan ditambahkan minyak emersi dan diamati di bawah mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah

maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif.

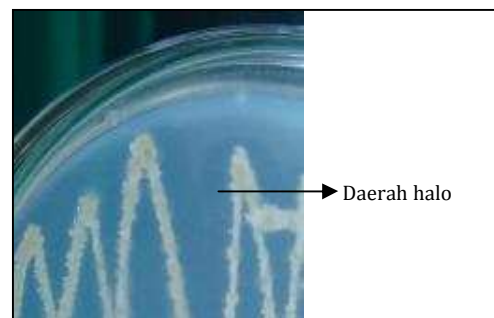
### Pengamatan Efek Larvasida

Biakan bakteri yang ditumbuhkan dalam media kitin cair dengan nilai OD<sub>600</sub> sebesar 0,5 dimasukkan sebanyak 8 ml (4%), 16 ml (8%), 32 ml (16%) dan 64 ml (32%) ke dalam wadah uji lalu ditambahkan aquadest hingga 200 mL. Masing-masing konsentrasi dibuat perulangan sebanyak 3 kali. 10 ekor larva *Ae. aegypti* instar tiga awal dimasukkan ke masing-masing wadah dan diamati jumlah larva yang mati selama 8 hari pengamatan. Sebagai kontrol digunakan 10 ekor larva *Ae. aegypti* instar tiga awal yang dimasukkan dalam wadah berisi 200 mL aquadest dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dengan melakukan perhitungan menggunakan analisis probit dengan penghitungan manual.

## HASIL

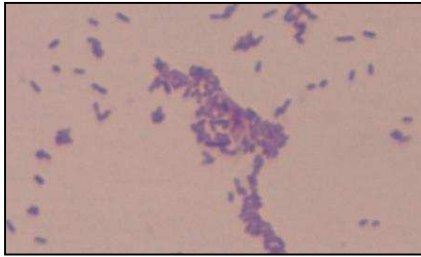
### Isolasi bakteri kitinolitik

Dari substrat berupa rendaman kulit udang diperoleh isolat bakteri kitinolitik yang tumbuh di media kitin. Pertumbuhan bakteri kitinolitik diamati dari adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Gambar 1 menunjukkan bahwa di sekitar koloni bakteri yang tumbuh di medium kitin terbentuk zona bening (daerah halo). Hal ini merupakan indikasi bahwa isolat yang diperoleh merupakan jenis bakteri kitinolitik (Isolat BKUd01).



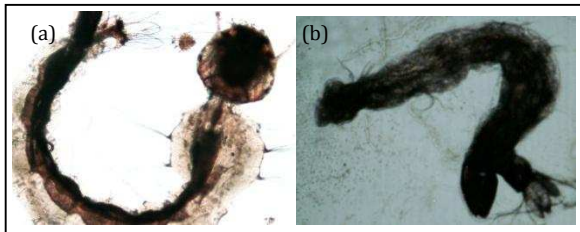
**Gambar 1.** Isolat bakteri kitinolitik pada medium kitin

Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat BKUd01 memiliki morfologi bentuk batang. Pengecatan gram menunjukkan bakteri berwarna biru yang menandakan isolat BKUd01 termasuk dalam kelompok gram positif. Bakteri gram positif memiliki selapis dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Setelah pewarnaan dengan kristal violet, pori-pori dinding sel menyempit akibat dekolorisasi oleh alkohol sehingga dinding sel tetap menahan warna biru.



**Gambar 2.** Hasil pewarnaan gram isolat bakteri kitinolitik

Paparan isolat murni bakteri kitinolitik dengan konsentrasi 4%, 8%, 16% dan 32% pada larva *Ae. aegypti* instar ketiga menimbulkan kerusakan eksoskeleton yang menyebabkan kematian larva. Larva yang mati pada hari ke-2 secara morfologi berbeda dengan larva yang mati pada hari ke-8. Kerusakan tubuh larva *Ae. aegypti* pada hari ke-2 terjadi terutama di bagian thoraks, sedangkan pada hari ke-8 kerusakan terjadi di seluruh bagian tubuh larva.

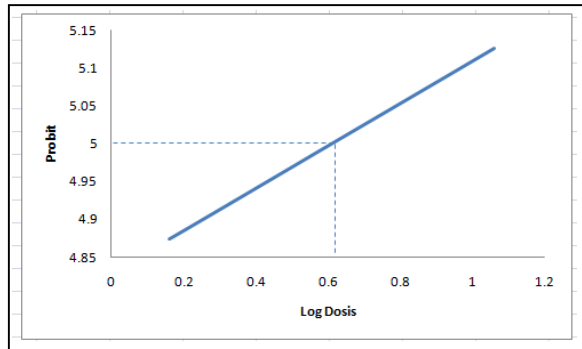


**Gambar 3.** Larva *Ae. aegypti* yang mati pada paparan hari ke-2 (a) dan hari ke-8 (b)

Hasil pengamatan selama penelitian diketahui kematian larva *Aedes aegypti* pada masing-masing konsentrasi sudah dimulai pada hari kedua. Rata-rata kematian larva *Ae. aegypti* semakin meningkat pada konsentrasi bakteri kitinolitik meningkat. Sampai hari ke-delapan rata-rata kematian paling tinggi adalah 76,6% pada konsentrasi 64 mL. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa nilai a adalah 0,278 dan nilai b adalah 4,83, sehingga persamaan regresi probit adalah  $y = 0,278 + 4,83 \log c$ .

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada nilai probit sebesar 5 (kematian 50%) log konsentrasi menunjukkan nilai sebesar 0,61 sehingga akan diperoleh nilai konsentrasi sebesar 4,093 ml. dari perhitungan tersebut didapatkan bahwa nilai

LC<sub>50</sub> setelah 8 hari perlakuan adalah 2% atau 20000 ppm.



**Gambar 4.** Grafik regresi linear persamaan probit

**PEMBAHASAN**

Hasil pengamatan menunjukkan diperolehnya isolat bakteri yang memiliki aktivitas kitinolitik dari substrat rendaman kulit udang. Beberapa penelitian telah melaporkan diperolehnya isolat bakteri kitinolitik dari berbagai sampel. Pujiyanto *et al.*<sup>15</sup> melaporkan telah mengisolasi bakteri kitinolitik dari berbagai sampel air di beberapa daerah di Jawa Tengah dan Jawa Barat. Fauziah dan Herdyastuti<sup>16</sup> menyatakan berhasil mengisolasi bakteri kitinolitik dari tambak udang di Lamongan dan Sidoarjo. Dewi<sup>17</sup> berhasil mengisolasi bakteri kitinolitik termofil dari sumber air panas di Simalungun, Sumatera Utara. Anuradha dan Revathi<sup>18</sup> melaporkan diperolehnya isolat bakteri kitinolitik dari limbah udang.<sup>18</sup>

Zona bening pada medium kitin dapat terbentuk apabila senyawa kitin yang terkandung dalam medium selektif tersebut terurai oleh enzim kitinase yang hanya dimiliki oleh kelompok bakteri kitinolitik. Kuddus<sup>19</sup> menjelaskan bahwa kitin adalah nitrogen yang mengandung polisakarida terdiri dari  $\beta$ -1,4-linked N-asetil-d-glukosamin yang secara kimiawi analog dengan selulosa, kecuali pada salah satu kelompok hidroksil dari setiap residu glukosida digantikan oleh gugus amino asetat atau deasetilasi. Kitin adalah polimer alami yang paling melimpah kedua dan didistribusikan secara luas sebagai komponen struktural krustasea, serangga, dan arthropoda lainnya, serta komponen dari dinding sel jamur dan

**Tabel 1.** Persentase Kematian Larva *Aedes aegypti* pada Setiap Konsentrasi

No	Konsentrasi	Rata-rata Kematian Larva <i>Aedes aegypti</i> (%)							
		Hari-1	Hari-2	Hari-3	Hari-4	Hari-5	Hari-6	Hari-7	Hari-8
1	0 (kontrol)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2	8 mL (4%)	0%	10%	20%	26,7%	33,4%	36,7%	43,4%	53,4%
3	16 mL (8%)	0%	3,3%	6,6%	13,3%	26,6%	39,9%	46,6%	56,6%
4	32 mL (16%)	0%	13,3%	23,3%	30%	40%	50%	66,7%	70%
5	64 mL (32%)	0%	40 %	46,7%	46,7%	46,7%	60%	73,3%	76,6%

beberapa ganggang. Sedangkan kitinase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis kitin menjadi komponen monomer. Enzim ini ditemukan di berbagai organisme termasuk virus, bakteri, serangga jamur, tumbuhan tingkat tinggi maupun hewan dan berperan penting secara fisiologis.<sup>19</sup>

Hasil pengecatan gram menunjukkan bahwa isolat BKUd01 yang diperoleh merupakan kelompok bakteri gram positif yang berbentuk batang. Beberapa penelitian melaporkan bahwa bakteri kitinolitik yang berhasil diisolasi dari berbagai substrat adalah *Bacillus thuringiensis* yang merupakan bakteri gram positif berbentuk batang.<sup>20,21</sup> Sedangkan Khan menyatakan bahwa enzim kitinase lebih banyak ditemukan pada kelompok bakteri gram positif karena sifat bakteri tersebut cenderung termostabil.<sup>21</sup>

Hasil uji larvasida menggunakan isolat BKUd01 terhadap larva *Ae. aegypti* menunjukkan bahwa kematian larva terjadi mulai hari ke-2 pengamatan. Morfologi larva yang mati pada hari ke-2 berbeda dengan larva yang mati pada hari ke-8. Kerusakan tubuh larva *Ae. aegypti* pada hari ke-2 terjadi terutama di bagian thoraks, sedangkan pada hari ke-8 kerusakan terjadi di seluruh bagian tubuh larva (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan penelitian Yasmin dan Fitri<sup>22</sup> yang menunjukkan bahwa semakin lama larva terpapar oleh bakteri kitinolitik maka struktur eksoskeleton di tubuh larva akan semakin rusak. Eksoskeleton adalah dinding tubuh yang berfungsi sebagai kerangka luar serangga. Kerusakan eksoskeleton larva ini diduga karena bakteri kitinolitik telah mendegradasi kitin yang merupakan penyusun eksoskeleton larva nyamuk.

Bakteri kitinolitik juga berpengaruh terhadap perubahan morfologi larva yaitu terbentuknya pupa dan imago.<sup>23,24</sup> Pada penelitian ini sebagian sampel larva yang hidup tetap menjadi pupa (data tidak ditampilkan). Hal ini kurang sejalan dengan penelitian Pujiyanto<sup>23</sup> yang menyebutkan perlakuan bakteri isolat B6 sampai akhir penelitian tidak ada satu ekorpun larva yang dapat berubah menjadi pupa dan imago. Pada penelitian ini pengamatan hanya dilakukan hingga hari kedelapan sehingga tidak dapat melihat dampak paparan isolat BKUd01 terhadap perkembangan hingga ke stadium dewasa. Dari pengamatan yang dilakukan, terlihat bahwa kondisi air dalam kontainer setelah pemberian isolat bakteri kitinolitik mengalami perubahan, terutama pada konsentrasi 16%. Perubahan yang terjadi adalah air menjadi keruh dan berbau. Hal ini perlu diperhatikan karena untuk aplikasi larvasida di masyarakat, terutama untuk kontainer yang berisi air konsumsi harus diupayakan tidak menimbulkan perubahan pada

air. Larvasida yang merubah kondisi air dalam kontainer akan cenderung tidak disukai oleh masyarakat.

Penelitian yang dilakukan Pratiwi,<sup>25</sup> menyebutkan bahwa penerapan larvasida dalam bak mandi masih dapat ditoleransi oleh responden jika larvasida tersebut tidak menimbulkan perubahan warna dan perubahan bau pada air. Salah satu hal yang menghalangi persepsi masyarakat untuk menerima larvasida adalah karena proses penggunaannya berkaitan dengan penggunaan air bersih untuk keperluan sehari-hari. Sehingga mengurangi minat masyarakat dan lebih cenderung untuk lebih memilih mengurus bak mandi daripada menggunakan larvasida.<sup>25</sup>

Konsentrasi bakteri kitinolitik yang lebih tinggi menunjukkan rata-rata kematian larva *Ae. aegypti* lebih tinggi. Penelitian yang dilakukan Ardani *et al.*,<sup>24</sup> menunjukkan isolat IS2 telah dapat menyebabkan mortalitas 82,1% pada hari ke lima. Isolat bakteri kitinolitik lainnya juga menyebabkan kematian larva *Ae. aegypti* sebesar 86,7% selama tujuh hari pengamatan.<sup>15</sup>

Kitin pada larva berfungsi sebagai pelindung tubuh dan mekanisme utama dalam membatasi kehilangan air melalui dinding tubuh.<sup>11</sup> Menurut Pujiyanto *et al.*<sup>15</sup> kerusakan eksoskeleton pada larva diakibatkan oleh terdegradasinya kitin yang merupakan polimer utama eksoskeleton oleh aktivitas kitinase yang dihasilkan bakteri kitinolitik. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Gooday<sup>26</sup> bahwa degradasi kitin terutama dilakukan oleh mikroorganisme, dimana kitin dapat merupakan sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC<sub>50</sub> diperoleh pada konsentrasi 20000 ppm. Semakin kecil nilai LC<sub>50</sub> suatu insektisida menunjukkan nilai toksisitas yang semakin tinggi. Nilai LC<sub>50</sub> isolat BKUd01 terhadap *Ae. aegypti* lebih tinggi bila dibandingkan dengan beberapa penelitian lain. Bramachary and Paily<sup>27</sup> melaporkan produk metabolit yang mirip dengan enzim kitinase yang diproduksi oleh *Pseudomonas fluorescens* memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 2,29 ug/mL atau 2,29 ppm terhadap larva *Culex quinquefasciatus*. Sedangkan Bucker *et al.*<sup>28</sup> melaporkan bahwa ekstrak fungi endofitik dan ekstrak basidiomiset menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 101,8 ppm dan 156,8 ppm terhadap larva *Ae. aegypti*. Perbedaan nilai LC<sub>50</sub> ini kemungkinan dikarenakan isolat BKUd01 diaplikasikan dalam bentuk bakteri hidup, sedangkan penelitian oleh Bramachary and Paily serta Bucker *et al.* mengaplikasikan dalam bentuk ekstrak.<sup>27, 28</sup>

Penelitian ini merupakan tahap awal dari pengembangan larvasida hayati sebagai

alternatif dalam kegiatan pengendalian vektor. Beberapa kelemahan yang ditemukan dalam aplikasi pemaparan isolat BKUd01 pada larva *Ae. aegypti* menunjukkan bahwa pengembangan isolat tersebut sebagai larvasida hayati masih memerlukan proses pengolahan lebih lanjut. Namun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat BKUd01 memiliki efek larvasida terhadap larva *Ae. aegypti* dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai biolarvasida.

## KESIMPULAN

Isolat bakteri kitinolitik dari rendaman kulit udang termasuk dalam kelompok gram positif memiliki potensi sebagai agen hayati dalam pengendalian vektor DBD karena dapat menyebabkan kematian larva *Ae. aegypti* dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 2% atau 20000 ppm.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui toksisitas isolat BKUd01 terhadap organisme non target, serta mengisolasi enzim kitinase murni sebagai upaya mencari bahan aktif insektisida nabati yang lebih efektif.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Litbang P2B2 Banjarnegara atas ijin dan dukungannya hingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik, serta rekan-rekan teknis di Instalasi Bakteriologi dan Entomologi Balai Litbang P2B2 Banjarnegara atas bantuannya selama pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- SDNBD. Dengue the deadly killer. [Cited 2015 Aug 15]. Available from: [http://www.sdnbd.org/dengue\\_fever.htm](http://www.sdnbd.org/dengue_fever.htm).
- Singhi S, Kisson N, Bansai A. Dengue and dengue hemorrhagic fever: management issue in an intensive care unit. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83:522-35.
- WHO. Dengue and severe Dengue. 2013. [Cited 2015 Aug 15]. Available from; [www.who.int/media centre/factsheets/fs117/en/](http://www.who.int/media centre/factsheets/fs117/en/).
- Sunaryo, Ikawati B, Rahmawati, Widiastuti D. Status resistensi vektor resistensi vektor demam berdarah Dengue (*Aedes aegypti*) terhadap malathion 0,8% dan permethrin 0,25% di Provinsi Jawa tengah. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 2014;No 2 Juni
- Ikawati B, Sunaryo, Widiastuti D. Peta status kerentanan *Aedes aegypti* (Linn.) terhadap insektisida cypermethrin dan malathion di Jawa Tengah. *Aspirator*.2015;7(1).
- Sunaryo. Pemetaan Status Kerentanan *Aedes aegypti* terhadap Insektisida di Indonesia. Laporan Penelitian. Balai Litbang P2B2 Banjarnegara. 2015
- Yunita EA, Suprapti NH, Hidayat JW. Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Bioma*. 2009;11:11-17.
- Axtell RC, Guzman DR. Encapsulation of the mosquito fungal pathogen *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) in calcium alginate. *J of American Mosq Cntrl Ass*. 1987;3:450-9.
- Liu P, Cheng D and Miao L, Characterization of thermotolerant chitinases encoded by a *Brevibacillus laterosporus* strain isolated from a suburban wetland. *Genes*. 2015;6:1268-82
- Dahiya N, Tewari R, Hoondal GS. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: A review. *Appl. Microbiol Biotechnol*. 2006;71:773-82.
- Thamthiankul S, Suan-Ngay S, Tantimavanich S, Panbangred W. Chitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Pakistani*. *Appl Micro Biotec*. 2001;56(3-4):395-401.
- Suryanto D, Munir E, Yurnaliza. Eksplorasi Bakteri Kitinolitik: Keragaman genetik gen penyandi kitinase pada berbagai jenis bakteri dan pemanfaatannya. Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing Perguruan Tinggi Tahun Anggaran. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2005.
- Arif AR, Ischaidar, Natsir H, Dali S. Isolasi kitin dari limbah udang putih (*Penaeus merguensis*) secara enzimatis. Seminar Nasional Kimia. Peran Sains dan Teknologi Dalam Mendukung Ketahanan Pangan dan Energi Nasional; 2013.
- Savitri E, Soeseno N, Adiarto T. Sintesis Kitosan, poli (2-amino-2-deoksi-D-Glukosa), skala pilot project dari limbah kulit udang sebagai bahan baku alternatif pembuatan biopolimer. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia Yogyakarta; 26 Januari 2010.
- Pujiyanto S, Kusdiyantini E, Hadi M. Isolasi dan seleksi bakteri kitinolitik isolat lokal yang berpotensi untuk mengendalikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L. *Biodiversitas*. 2008;9(1):5-8.
- Fauziah, Herdyastuti N. Uji aktivitas bakteri kitinolitik dari tambak udang di Lamongan Sidoarjo. *UNESA Journal of Chemistry*. 2013;2(1):36-9.
- Dewi IM. Isolasi bakteri dan uji aktivitas kitinase termofilik kasar dari sumber air panas tinggi raja, Simalungun, Sumatera Utara. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana. Universitas Sumatera Utara; 2008.
- Anuradha V, Revathi K. Purification and characterization of chitinase from two *Bacillus* sp isolated from crustacean shells. *J. Microbiol. Biotech. Res*. 2013;3(3):160-7.
- Kuddus SM, Ahmad RIS. Isolation of novel chitinolytic bacteria and production optimization of extracellular chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2013;11(1): 39-46.

20. Zhong WF, Fang JC, Cai PZ, Yan WZ, Wu J, Guo HF. Cloning of the *Bacillus thuringiensis* serovar sotto chitinase (Schi) gene and characterization of its protein. *Genetics and Molecular Biology*. 2005;28(4):821-6.
21. Khan RS, Khan ZH. Studies on spil with respect to chitinolytic *Bacillus* from aurangabad and akola district India. *Bioscience Discovery*, 2011;2(3):328-32.
22. Yasmin Y, Fitri L. Perubahan morfologi larva nyamuk akibat pemberian larvasida bakteri kitinolitik. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 2013;10(1):18-23.
23. Pujiyanto S, Ferniah FS dan Rahardian R. Aktivitas bakteri kitinolitik akuatik isolat lokal terhadap perkembangan dan mortalitas larva nyamuk *Aedes Aegypti* L. *Jurnal Sains dan Matematika*. 2011;19(2):54-59.
24. Ardani F, Yasmin Y, Fitri L. Potensi bakteri kitinolitik sumber air panas sebagai pengendali hayati larva *Aedes aegypti* L.. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. 2012;4(2):77-81 Nomor 2, Desember 2012, hlm 77-81.
25. Pratiwi, A. Studi Deskriptif Penerimaan Masyarakat terhadap Larvasida Alami. Skripsi. Universitas Negeri Semarang; 2014.
26. Gooday, G.W. Physiology of Microbial Degradation of Chitin and Chitosan. *Biodegradation* 1990. 1 (2-3): 177-190.
27. Brammacharry, U. and Paily, K. Chitinase like activity of metabolites of *Pseudomonas fluorescens* Migula on immature stages of the mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *African Journal of Microbiology Research*. 2012;6(11): 2718-2726
28. Bucker, A., et al. Larvicidal effects of endophytic and basidiomycete fungus extracts on *Aedes* and *Anopheles* larvae (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013; 46(4):411-19.

