



Larvicide Effect of *Serratia marcescens* Strain MBC1 Extract Against Third Instar Larvae of *Aedes aegypti*
(Efek Larvasida Ekstrak *Serratia marcescens* strain MBC1 terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*)

Mutia Dinda Lestari*, Nismah Nukmal, Endah Setyaningrum, Salman Farisi, Achmad Arifiyanto

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
*Corresponding author: mutiadindalestari9@gmail.com

Abstrak	Abstract
<p>Bakteri merupakan kandidat yang berpotensi sebagai larvasida <i>Aedes aegypti</i>. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak <i>Serratia marcescens</i> strain MBC1 terhadap kematian larva instar III <i>Aedes aegypti</i>. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan dua macam bentuk pengujian, yaitu uji larvasida untuk menentukan mortalitas dan uji lanjut untuk melihat perkembangan larva setelah perlakuan larvasida. Larva instar III diberi perlakuan dengan konsentrasi 125, 250, 500, dan 1.000 ppm. Uji larvasida diamati selama 24-72 jam. Uji lanjut larva instar III diberi perlakuan dengan konsentrasi 500 dan 1.000 ppm serta diamati sampai semua larva mati. Kontrol positif menggunakan Abate® 1% dan kontrol negatif menggunakan air sumur. Hasil analisis probit didapatkan bahwa nilai LC50 dan LC90 ekstrak <i>S. marcescens</i> adalah 66.426,02 dan 749.001,41ppm. Larva instar III mati pada 18 hari setelah perlakuan ekstrak <i>S. marcescens</i> strain MBC1. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa larvasida ekstrak <i>S. marcescens</i> mempengaruhi lamanya siklus hidup dan mati sebelum mencapai stadium dewasa.</p> <p>Kata kunci: <i>Aedes aegypti</i>, efek, larvasida, <i>Serratia marcescens</i></p>	<p><i>Bacteria have potencial as larvicide of Aedes aegypti. The purpose of this study is to determine the effect of Serratia marcescens strain MBC1 against larval third instars of Aedes aegypti. This research was an experimental study with two kinds of testing. The larvicide test to determine the mortality of the larval and the continuous test to observe the development of the larval after treatment with the larvicide. The third instars of mosquito larval were given bacterial extract in four concentrations (125, 250, 500, and 1000 ppm), and observed mortality during 72 hours. The continuous larvicide test was observed at two concentrations (500 and 1,000 ppm). The observation is completed when all of the larvae died. The positive control used Abate® 1% and the negative control used natural water. The treatment was repeated 4 times. The results show that LC50 and LC90 of S. marcescens extract are 66,426.02 dan 749,001.41 ppm. All of the larvae in the continuous test die after 18 days have been givenan extract of S. marcescens strain MBC1. The experiment shows that the larvicide of extract of S. marcescens influences the length of the life cycle and larvae of Ae. aegypti die before reaching the adult.</i></p> <p>Keywords: <i>Aedes aegypti</i>, effect, larvicide, <i>Serratia marcescens</i></p>

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi permasalahan baik di wilayah perkotaan maupun semi perkotaan di Indonesia. Jumlah penderita DBD di Indonesia tahun 2020 yaitu sebanyak 95.893 orang dengan jumlah kematian 661 orang. Penyakit ini beresiko menyebabkan kematian dikarenakan *agent* penyakit ini berupa virus *dengue* yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui vektor utama, yaitu *Aedes aegypti*. Nyamuk ini memiliki habitat yang berada di sekitar lingkungan manusia yang menyebabkan penularan penyakit DBD sangat cepat (Kemenkes, 2020).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah penularan penyakit DBD adalah pengendalian vektor utama. Salah satunya dengan cara pemutusan rantai penyebaran *Aedes aegypti* melalui larvasida. Larvasida yang umumnya dipakai oleh masyarakat yaitu Abate®, dapat menyebabkan resistensi dikarenakan penggunaan dalam jangka waktu yang lama secara terus menerus (Yulidar & Hadifah, 2014).

Alternatif larvasida alami yang menggunakan tanaman sudah banyak digunakan seperti ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus arantifolia*) yang memiliki efek terhadap kematian larva *Aedes aegypti* (Muniandy et al., 2020). Buah aren (*Arenga pinata*) menunjukkan adanya aktivitas larvasida *Aedes* (Adelvia et al., 2020). Namun, masa produksi ekstrak tanaman sebagai larvasida relatif lama. Bakteri berpotensi sebagai larvasida dengan masa produksi yang lebih singkat dibandingkan tanaman.

Salah satu bakteri yang memiliki potensi untuk mematikan larva adalah *Serratia marcescens*. Bakteri ini merupakan bakteri berpigmen dan toksik terhadap nyamuk. Penelitian yang melaporkan bahwa *Serratia marcescens* strain NMCC46 menunjukkan aktivitas larvasida pada *Aedes aegypti* dan *Anopheles stephensi*

(Patil et al., 2011). Alkaloid prodigiosin yang terkandung dalam *Serratia marcescens* memiliki pengaruh terhadap larva *Aedes aegypti* (Suryawanshi et al., 2015).

Koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yaitu bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 memiliki senyawa yang berpotensi sebagai larvasida tetapi belum diketahui efeknya terhadap *Aedes aegypti*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan *Serratia marcescens* strain MBC1 sebagai larvasida *Aedes aegypti*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) pada bulan Januari sampai Maret 2021.

Alat yang digunakan adalah alat sentrifugasi, *rotary evaporator*, *shaker incubator*, nampan plastik, pipet tetes, gelas plastik, erlenmeyer dan gelas ukur. Sedangkan bahan yang digunakan adalah media *Tryptone Soy Agar* (TSA), *Tryptone Water* (TW), air sumur, telur *Ae. aegypti*, *dogfood*, dan bubuk hati sapi.

Subkultur *Serratia marcescens* strain MBC1

Isolat bakteri disubkultur pada media TSA di cawan petri dengan metode goresan (*streak*). Kemudian diinkubasi selama 72 jam di inkubator.

Fermentasi dan Produksi Ekstrak *Serratia marcescens* strain MBC1

Bakteri *S. marcescens* strain MBC1 diisolasi di Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA, Unila. Isolat bakteri difermentasi

pada media TW sebanyak 100 ml yang diinkubasi selama 7 hari di *shaker incubator*. Hasil fermentasi diproduksi pada media ISP1 sebanyak 1L dan diinkubasi kembali selama 7 hari. Setelah itu, diekstraksi dengan diberi etil asetat dan metanol (1:1). Hasil ekstraksi dilakukan sentrifugasi dan evaporasi.

Pemeliharaan Larva *Ae. aegypti*

Telur *Ae. Aegypti* berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Baturaja. Telur dimasukkan ke dalam 800 ml air fermentasi hati bubuk sapi. Setelah telur menetas, diberi makan *dogfood* 0,22 % (b/v) dan dipelihara sampai larva instar III selama 5 hari.

Uji Larvasida

Larva instar III sebanyak 25 ekor dimasukkan ke dalam 25 ml ekstrak bakteri pada masing-masing konsentrasi (125, 250, 500, dan 1000 ppm), kontrol negatif, dan kontrol positif dengan empat kali ulangan. Kemudian diamati selama 24-72 jam.

Uji Lanjut

Larva instar III sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam kontrol negatif menggunakan air sumur dan ekstrak *S. marcescens* dengan konsentrasi 500 ppm serta 1000 ppm sebanyak 10 ml. Kemudian diamati sampai total populasi larva di semua perlakuan mati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Larvasida

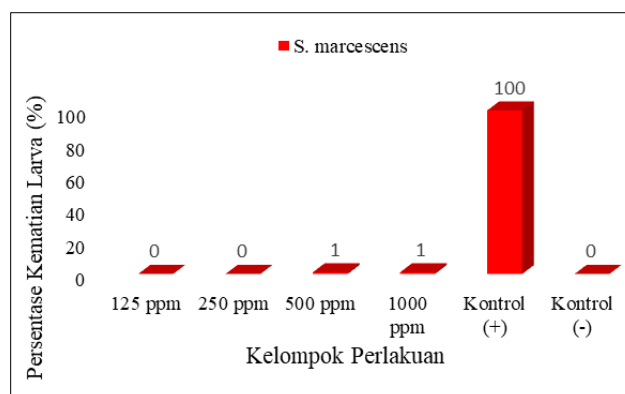
S. marcescens strain MBC1 yang disubkultur pada cawan petri menghasilkan pigmen merah (Gambar 1). Hasil analisis probit menyatakan nilai LC_{50} dan LC_{90} ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 yang sangat besar dibandingkan penelitian sebelumnya (Tabel 1). *S. marcescens* yang berasal dari tanah Tamilnadu, India memiliki nilai LC_{50} dan LC_{90} yaitu 44,77 dan 140,93 ppm pada uji larvasida *Aedes aegypti* (Naine & Devi, 2014). Nilai LC_{50} dan LC_{90} yang sangat berbeda ini diduga disebabkan oleh jenis strain bakteri yang berbeda sehingga senyawa toksik yang terkandung pada setiap bakteri juga berbeda. Jenis strain bakteridiisolasi dari tanah yang berbedamemiliki pengaruh larvasida *Aedes aegypti* sesuai dengan senyawa yang terkandung pada ekstrak bakteri tersebut. Pengaruh dari setiap senyawa ini akan memunculkan nilai LC yang bervariasi (Ragvendran & Natarajan, 2017).

Tabel 1. Nilai *Lethal Concentration* (LC) Ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 pada uji larvasida *Aedes aegypti*

Jenis Bakteri	Nilai LC	
	LC_{50} (ppm)	LC_{90} (ppm)
<i>Serratia marcescens</i> strain MBC1	66.426,02	749.001,41



Gambar 1. Hasil subkultur *S. marcescens* pada media TSA.



Gambar 2. Persentase kematian larva Instar III *Aedes aegypti* pada uji larvasida ekstrak *Serratia marcescens* strain MBC1.

Ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 tidak menunjukkan efek terhadap mortalitas larva dilihat dari persentase kematian hanya 1% (Gambar 2). Pada penelitian sebelumnya ekstrak *S. marcescens* strain VA dapat mematikan larva instar III *Aedes aegypti* sebesar 94% pada konsentrasi 400 ppm setelah 24 jam perlakuan (Naine & Devi, 2014). Perbedaan hasil dari uji larvasida ini diduga karena peran dari prodigiosin yang tinggi pada *S. marcescens* strain MBC1 memungkinkan terjadinya detoksifikasi pada larva. Peningkatan prodigiosin yang terkandung pada ekstrak metabolit *S. marcescens* memicu aktivitas enzim esterase. Enzim esterase memiliki peranan penting yang menyebabkan terjadinya detoksifikasi pada larvasida *Aedes aegypti* (Ebadollahi et al., 2013). Enzim ini berperan dalam proses detoksifikasi dengan cara menghantarkan sinyal pada sistem saraf sehingga larva dapat mengenali ekstrak bakteri ini sebagai senyawa toksik. Selain enzim esterase, prodigiosin juga menghasilkan enzim protease yang mungkin menyebabkan terjadinya detoksifikasi. Prodigiosin juga dapat memicu aktivitas protease yang berperan dalam perkembangan detoksifikasi larva instar III *Aedes aegypti* (Suryawanshi et al., 2015). Peranan kedua enzim ini dapat menyebabkan kematian larva instar III

Aedes aegypti hanya 1% setelah dan tidak ada penambahan sampai 72 jam pengamatan selesai dilakukan. Maka dari itu dilakukan uji lanjut untuk mengetahui efek dari ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 sebagai larvasida *Aedes aegypti*.

Uji Lanjut

Hasil uji lanjut larvasida didapat bahwa larva instar III tidak berkembang ke stadium berikutnya dikarenakan tidak mengalami pergantian kutikula (*molting*). Semua larva mati setelah 18 hari perlakuan pada konsentrasi 500 dan 1.000 ppm. Perbandingan siklus hidup *Aedes aegypti* antara perlakuan dan kontrol negatif yang disajikan pada Tabel 2. Alkaloid yang terkandung dalam ekstrak bakteri ini diduga menyebabkan metamorfosis pada larva tidak berlangsung secara normal. Sogandi & Gunarto, (2020) menjelaskan bahwa senyawa alkaloid yang tinggi dapat merangsang kelenjar endokrin untuk mensekresikan *Juvenile Hormone* (JH). Hormon ini berperan dalam mempengaruhi perkembangan larva dengan cara menekan proses molting sehingga larva akan berkembang secara abnormal atau mengalami kematian (Jindra et al., 2013).

Tabel 2. Perbandingan lama siklus hidup *Aedes aegypti* antara perlakuan dan kontrol

Hari ke-	Konsentrasi/Stadium		
	500 ppm	1000 ppm	Kontrol (-)
0	Telur	Telur	Telur
1	Larva Instar I	Larva Instar I	Larva Instar I
2	Larva Instar II	Larva Instar II	Larva Instar II
3	Larva Instar III	Larva Instar III	Larva Instar III
5	Larva Instar III	Larva Instar III	Larva Instar IV
7	Larva Instar III	Larva Instar III	Pupa
10	Larva Instar III	Larva Instar III	Nyamuk Dewasa
14	Larva Instar III	Larva Instar III	Nyamuk Dewasa
18	Mati	Mati	Nyamuk Dewasa

Larva instar III pada perlakuan konsentrasi 500 dan 1.000 ppm tidak berubah menjadi pupa dan mati sebelum mencapai dewasa. Sedangkan pada kontrol negatif larva instar III berubah menjadi pupa setelah 7 hari penetasan telur. Meskipun ekstrak *S. marcescens* tidak mempengaruhi kematian larva, tetapi ekstrak bakteri ini dapat bekerja sebagai larvasida dengan memperpanjang siklus hidup *Aedes aegypti* serta mematikan larva sebelum mencapai nyamuk dewasa.

Berdasarkan panduan uji larvasida oleh WHO, ekstrak larvasida dapat digunakan sebagai pengendalian vektor jika larva uji tidak berubah menjadi pupa (Organization, 2005)

Kerusakan morfologi larva instar III pada perlakuan konsentrasi 500 dan 1.000 ppm dapat dilihat pada Gambar 3a dan 3b. Sedangkan kontrol negatif tidak mengalami kerusakan dan morfologi yang masih lengkap (Gambar 4).



Gambar 3. Kerusakan morfologi larva instar III *Aedes aegypti* pada konsentrasi (a) 500 ppm dan (b) 1.000 ppm.



Gambar 4. Morfologi larva instar III pada kontrol negatif.

Larva instar III terlihat hanya memiliki abdomen dan sistem pencernaan saja dan bagian luar (kutikula) sudah terlepas dari tubuh larva serta warna yang transparan (Gambar 3a dan 3b). Kerusakan morfologi ini diduga karena senyawa yang terkandung pada ekstrak *S. marcescens*. Ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 mengandung alkaloid prodigiosin dan saponin (Variani et al., 2021). Alkaloid sebagai racun perut yang mengurangi nafsu makan (*antifeedant*) dan masuk melalui membran sel kutikula larva (Cania & Setyaningrum, 2013). Saponin yang bekerja sebagai racun kontak yang dapat mencuci lapisan lilin yang melindungi tubuh larva dan merusak bagian luar (kutikula) (Arimaswati et al., 2017).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak *Serratia marcescens* strain MBC1 tidak memiliki efek terhadap mortalitas larva. Namun memiliki efek terhadap lamanya siklus hidup *Aedes aegypti* dan mati sebelum mencapai dewasa.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada BLU Universitas Lampung atas dana hibah yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini. Ucapan terima kasih kepada para laboran di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung, yang berkenan membantu dalam penyediaan alat dan bahan. Ucapan terimakasih juga diberikan kepada rekan tim atas bantuan dan dukungan selama pengerjaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Adelvia, Mahmud, F. E., Armedina, R. N., N, R., & Muktarom, R. (2020). PENGARUH EKSTRAK BUAH AREN (*Arenga pinnata* M) TERHADAP TINGKAT

- MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti*. *Jurnal ABDI*, 2(1), 33–39.
- Arimaswati, Sawaluddin, L. O. M., & Sudrajat, H. W. (2017). Efek Larvasida Ekstrak Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti* L. *Medula*, 4(2), 332–343.
- Cania, E., & Setyaningrum, E. (2013). Uji Efektifitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University*, 2(4), 52–60.
- Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J. J., Honarmand, P., & Amini, R. M. (2013). Toxicity and Physiological Effects of Essential Oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze Against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae. *Research Article Annual Review & Research in Biology*, 3(4), 649–658. www.sciencedomain.org
- Jindra, M., Palli, S. R., & Riddiford, L. M. (2013). The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annual Review of Entomology*, 58, 181–204. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153700>
- Kemenkes. (2020). Profil Kesehatan Indonesia. In *IT - Information Technology* (Vol. 48, Issue 1). <https://doi.org/10.1524/itit.2006.48.1.6>
- Muniandy, P. D., Riswari, S. F., & Ruchiatan, K. (2020). Larvicidal Activity of Citrus aurantifolia Decoction against *Aedes aegypti* Larvae. *Althea Medical Journal*, 7(1), 35–39. <https://doi.org/10.15850/amj.v7n1.1814>
- Naine, S. J., & Devi, C. S. (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.
- Organization, W. H. (2005). *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides* (p.

- WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13). World Health Organization.
- Patil, C. D., Patil, S. V., Salunke, B. K., & Salunkhe, R. B. (2011). Prodigiosin produced by *Serratia marcescens* NMCC46 as a mosquito larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Parasitology Research*, 109(4), 1179–1187. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2365-9>
- Ragvendran, C., & Natarajan, D. (2017). *Serratia marcescens* (Enterobacteriaceae): An alternate biocontrol agent for mosquito vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinque-fasciatus* (Diptera: Culicidae) 1. *Original Article PTB Reports*, 3(1), 14–20. <https://doi.org/10.5530/PTB.2017.3.3>
- Sogandi, S., & Gunarto, F. (2020). Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *ASPIRATOR - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 12(1), 27–36. <https://doi.org/10.22435/asp.v12i1.1288>
- Suryawanshi, R. K., Patil, C. D., Borase, H. P., Narkhede, C. P., Salunke, B. K., & Patil, S. V. (2015). Mosquito larvicidal and pupaecidal potential of prodigiosin from *Serratia marcescens* and understanding its mechanism of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 123, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.01.018>
- Variani, Y. A., Setyaningrum, E., Handayani, K., Nukmal, N., & Arifiyanto, A. (2021). Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Metabolit Sekunder *Serratia marcescens* strain MBC1. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*, 4(2), 64–71. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol4.iss2.art3>
- Yulidar, & Hadifah, Z. (2014). The Abnormalities of Larvae's Morphology After Temefos Exposure in Phase Larvae Instar 3 (L3). *Loka Penelitian Dan Pengembangan Biomedis*, 5(1), 23–28.