

**MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* DALAM KONDENSAT AIR
CONDITIONER (AC) DENGAN PEMBERIAN VARIASI SUSPENSI
BAKTERI (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, DAN
Pseudomonas aeruginosa)**

(Skripsi)

Oleh

**SITI ZALMA
NPM 2057021009**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRACT

MORTALITY OF *Aedes aegypti* LARVAE IN AIR CONDITIONER (AC) CONDENSATE WATER BY PROVIDING VARIOUS BACTERIA SUSPENSION (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, AND *Pseudomonas aeruginosa*)

By

SITI ZALMA

AC condensate water has the potential to become a breeding place for mosquitoes if it is contaminated by microorganism, especially bacteria. However, several types of bacteria found in the waters where the *Aedes aegypti* mosquito breeds have entomopathogenic properties. The bacteria *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* are types of bacteria that are thought to have entomopathogenic properties when consumed by *Aedes aegypti* mosquito larvae. This study aims to determine the effect of suspension of *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* bacterial extracts in suppressing the population of *Aedes aegypti* mosquito larvae (L3). This study used a Completely Randomized Design (CRD) with controls using Tetrabits suspension (C), and various type of treatment, including; *Enterobacter cloacae* bacterial extract suspension (T1), *Klebsiella pneumoniae* extract suspension (T2), and *Pseudomonas aeruginosa* extract suspension (T3). Each treatment used 25 *Aedes aegypti* larvae (L3) with 6 repetitions. The results showed that each of suspension of *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* bacterial extracts was able to kill the *Aedes aegypti* larvae, with mortality values of 53.3%, 12.6%, and 25.3% respectively. Results of the Kruskal-Wallis test showed that all treatments were significantly different (sig. = 0.000), the results of the Mann-Whitney test showed that in all treatments the bacterial suspension was significantly different from the control (p value < 0.05). However, treatments T2 (*Klebsiella pneumoniae*) and T3 (*Pseudomonas aeruginosa*) did not show significant differences (P value = 0.100). The lowest LT50 value was obtained from treatment T1 (*Enterobacter cloacae*) of 36.10 hours.

Keywords : *Aedes aegypti*, Air Conditioner (AC) Condensate Water, Entomopathogenic Bacteria, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRAK

MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* DALAM KONDENSAT AIR CONDITIONER (AC) DENGAN PEMBERIAN VARIASI SUSPENSII BAKTERI (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, DAN *Pseudomonas aeruginosa*)

Oleh

SITI ZALMA

Air kondensat AC memiliki potensi untuk menjadi tempat perindukan nyamuk jika terkontaminasi oleh mikroorganisme, salah satunya bakteri. Tetapi, beberapa jenis bakteri yang ditemukan pada perairan tempat perindukan nyamuk *Aedes aegypti* memiliki sifat entomopatogen. Bakteri *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, merupakan jenis-jenis bakteri yang diduga memiliki sifat entomopatogen apabila dikonsumsi oleh larva nyamuk *Aedes aegypti*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suspensi ekstrak bakteri *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam menekan populasi larva nyamuk *Aedes aegypti* instar 3. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kontrol menggunakan suspensi pelet Tetrabits (K), dan berbagai jenis perlakuan, di antaranya; suspensi ekstrak bakteri *Enterobacter cloacae* (P1), suspensi ekstrak *Klebsiella pneumoniae* (P2), dan suspensi ekstrak *Pseudomonas aeruginosa* (P3). Setiap perlakuan menggunakan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar 3 dengan 6 pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa masing-masing pemberian suspensi ekstrak bakteri *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* mampu membunuh populasi larva *Aedes aegypti* instar 3, dengan nilai mortalitas berturut-turut sebesar 53,3%, 12,6%, dan 25,3%. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berbeda secara signifikan ($sig. = 0,000$), hasil uji Mann-Whitney menunjukkan di seluruh perlakuan suspensi bakteri berbeda nyata dengan kontrol ($p\ value < 0,05$). Namun, perlakuan P2 (*Klebsiella pneumoniae*) dan P3 (*Pseudomonas aeruginosa*) tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P\ value = 0,100$). Nilai LT50 terendah diperoleh dari perlakuan P1 (*Enterobacter cloacae*) sebesar 36,10 jam.

**Kata Kunci : *Aedes aegypti*, Air Kondensat Air Conditioner (AC), Bakteri
Entomopatogen, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*,
dan *Pseudomonas aeruginosa***

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* DALAM KONDENSAT AIR CONDITIONER (AC) DENGAN PEMBERIAN VARIASI SUSPENSI BAKTERI (*E. cloacae*, *K. pneumoniae*, DAN *P. aeruginosa*)

Nama Mahasiswa : Siti Zalma

NPM : 2057021009

Program Studi : Biologi

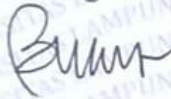
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Bandar Lampung, 20 Mei 2024

Menyetujui

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed
NIP. 195901011987031001

Pembimbing II



Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc.
NIP. 1991052120190322020

2. Kepala Jurusan Biologi FMIPA Unila



Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 19830112008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua Penguji : Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. 

Anggota Penguji : Dzul Fithria Mumtazah, S.Pd., M.Sc. 

Penguji Utama : Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. 

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Mei 2024

**SURAT PERNYATAAN
KASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Zalma
NPM : 2057021009

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kekurangan dalam karya ilmiah, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 2024



Siti Zalma
NPM. 2057021009

**MORTALITAS LARVA *Aedes aegypti* DALAM KONDENSAT AIR
CONDITIONER (AC) DENGAN PEMBERIAN VARIASI SUSPENSI
BAKTERI (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, DAN
Pseudomonas aeruginosa)**

Oleh:

SITI ZALMA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA BIOLOGI

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung



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

2024

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Jakarta, pada tanggal 21 Oktober 2001. Penulis merupakan anak pertama dari Bapak Mohamad Rizal BJ. dan Ibu Maria Ulfah, sekaligus kakak dari dua orang adik, Siti Rifa dan Mohamad Aqilah Jaya. Penulis beralamat di Taman Meruya Ilir H2/19, Jakarta Barat, DKI Jakarta.

Penulis menempuh pendidikan pertama di SD Negeri 08 Jakarta Barat pada tahun 2008. Kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 215 Jakarta Barat pada tahun 2014. Pada tahun 2017, SMA Negeri 112 Jakarta Barat. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMMPTN) Barat pada tahun 2020.

Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung, penulis memiliki sejumlah pengalaman, diantaranya, pernah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung (LABKESDA). Pada tahun 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Wak Kepayang, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Penulis pernah menjadi asisten praktikum pada beberapa mata kuliah, diantaranya, Mikroteknik, Mikroteknik Hewan, Fisiologi Hewan, dan Biologi Pertumbuhan Hewan.

Penulis juga pernah aktif dan menjabat dalam dua organisasi kemahasiswaan, diantaranya, Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai

Anggota Bidang Sains dan Teknologi (SAINTEK) di tahun 2020 dan Biology English Club (BEC) sebagai The Head of Biology English Club (Ketua BEC). Penulis aktif berpartisipasi dalam acara internasional, diantaranya, menjadi peserta *International Accreditation ASIIN* di tahun 2023, mewakili Jurusan Biologi dalam Program “*Student Mobility Goes to Universiti Malaya*” di Malaysia pada tahun 2023, dan menjadi Moderator pada webinar internasional berbahasa Inggris “*BEC-International Sharing Session 2024*”.

MOTTO

“Don’t be sad, Allah is always with us.”
(QS At-Taubah: 40)

“If it’s meant to be, it will be.”
(QS Yasin: 82)

“Per aspera ad astra”
(Virgil, 1st Century CE)

PERSEMBAHAN



Puji syukur kupanjatkan Kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya. Sholawat dan salam tak lupa kuhantarkan kepada Baginda Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya yang telah kukerjakan dengan sepenuh hati kepada mereka yang menyayangiku.

Kedua orang tuaku, Bapak Mohamad Rizal BJ. dan Ibu Maria Ulfah yang selalu mengerahkan segala daya dan upaya untuk kehidupanku, mendukung setiap keputusanku, dan menguatkaniku dalam menghadapi kehidupan.

Kedua adikku, Siti Rifa dan Mohamad Aqilah Jaya yang selalu mendoakan, terus memberi semangat untuk berjuang, dan menghibur disaat sedih.

Sahabat, terkhusus kepada Yolande Cathleya dan Nabilah Balqis, kerabat dekat, dan teman-teman yang selalu mendoakan dan menemaniku dikala sulit dan sepi.

*Serta
Program Studi S1 Biologi dan almamaterku,
Universitas Lampung.*

SANWACANA

Puji syukur Kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam kita hantarkan kepada Nabi Muhammad SAW, sebagai sebaik-baiknya suri tauladan, dan pemberi syafa'at di hari akhir nanti.

Skripsi berjudul “**MORTALITAS LARVA *Ae. aegypti* DALAM KONDENSAT AIR CONDITIONER (AC) DENGAN PEMBERIAN VARIASI SUSPENSI BAKTERI (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, DAN *Pseudomonas aeruginosa*)**” disusun sebagai salah satu syarat meraih gelar sarjana sains (S.Si.) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Saya meyakini bahwa skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa adanya doa, dukungan, dan bantuan dari banyak pihak. Maka dengan selesainya pengerjaan skripsi ini, saya ucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN.Eng. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
3. Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
4. Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Kepala Program Studi S1 Biologi FMIPA Universitas Lampung dan Dosen Pembimbing Akademik.
5. Prof. Dr. Hendri Busman, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing dalam proses penyusunan skripsi.
6. Ibu Dzul Fithria Mummtazah, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing dalam proses penyusunan skripsi.

7. Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran dan masukan untuk penyempurnaan skripsi.
8. Segenap Keluarga Besar Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Lampung atas berbagai jenis ilmu yang telah diajarkan.
9. Seluruh Staf Administrasi dan Pegawai, Biologi, FMIPA Universitas Lampung.
10. Orang tuaku tercinta, Bapak Mohamad Rizal BJ. dan Ibu Maria Ulfah yang selalu mendoakan, mengupayakan, dan mendukung setiap keputusan dalam proses penyusunan skripsi.
11. Kedua adikku, Siti Rifa dan Mohamad Aqilah Jaya yang turut mendoakan dan menghibur serta memberikan dukungan selama proses penyusunan skripsi.
12. Sahabat terkhusus Yolande Cathleya dan Nabilah Balqis, kerabat, dan teman-teman Biologi Angkatan 2020 yang terus mendoakan, menyemangati, dan membantu selama proses penyusunan skripsi.
13. Almamaterku, Universitas Lampung.

Saya menyadari bahwa di dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun, saya berharap skripsi ini mampu membantu dan bermanfaat bagi pembaca sebagai referensi perkembangan studi dalam bidang ilmu biologi.

Bandar Lampung, 17 Mei 2024

Penulis

Siti Zalma

2057021009

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| LEMBAR PENGESAHAN | i |
| MENGESAHKAN | ii |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | iii |
| RIWAYAT HIDUP | iv |
| MOTTO | vi |
| PERSEMBAHAN | vii |
| SANWACANA | viii |
| DAFTAR ISI | 14 |
| DAFTAR TABEL | 16 |
| DAFTAR GAMBAR | 17 |
| I. PENDAHULUAN | 18 |
| 1.1 Latar Belakang dan Masalah | 18 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 22 |
| 1.3 Kerangka Pemikiran | 22 |
| 1.4 Hipotesis | 24 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 25 |
| 2.1 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> | 25 |
| 2.2 Siklus Hidup dan Habitat Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> | 27 |
| 2.3 Air Kondensat Air Conditioner (AC) | 29 |
| 2.4 Bakteri Entomopatogen | 30 |
| 2.5 Bakteri <i>Enterobacter cloacae</i> | 31 |
| 2.6 Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 32 |
| 2.7 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 33 |
| III. METODE PENELITIAN | 35 |
| 3.1 Waktu dan Tempat..... | 35 |
| 3.2 Alat dan Bahan | 35 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.3 | Rancangan Penelitian..... | 36 |
| 3.4 | Peremajaan Stok dan Pengembangbiakkan Bakteri | 37 |
| 3.4.1 | Peremajaan Stok dan Pengembangbiakkan Bakteri <i>E. cloacae</i> | 37 |
| 3.4.2 | Peremajaan Stok dan Pengembangbiakkan Bakteri <i>K. pneumoniae</i> . | 39 |
| 3.4.3 | Peremajaan Stok dan Pengembangbiakkan Bakteri <i>P. aeruginosa</i> ... | 40 |
| 3.5 | Pembuatan Suspensi Berbasis Bakteri..... | 42 |
| 3.6 | Pembuatan Suspensi Pakan Kontrol | 43 |
| 3.7 | Aklimatisasi dan Penetasan Telur Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> dalam media Air Sumur..... | 45 |
| 3.8 | Perlakuan Pemberian Pakan | 45 |
| 3.8.1 | Pemberian Pakan Kontrol dengan Suspensi Tetrabits | 45 |
| 3.8.2 | Perlakuan dengan Suspensi Bakteri | 45 |
| 3.9 | Perhitungan Tingkat Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> | 46 |
| 3.10 | Perhitungan <i>Lethal Time</i> 50% Larva <i>Ae. aegypti</i> | 46 |
| 3.11 | Analisis Data..... | 47 |
| 3.12 | Diagram Alir..... | 48 |
| IV. | HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 49 |
| 4.1 | Hasil Penelitian..... | 49 |
| 4.1.1 | Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> dalam Waktu Pengamatan 48 Jam ... | 49 |
| 4.1.2 | Analisis Probit Terhadap <i>Lethal Time</i> 50% (LT50) Larva <i>Ae. aegypti</i> dalam Waktu Pengamatan 48 Jam..... | 51 |
| 4.2 | Pembahasan | 52 |
| V. | SIMPULAN DAN SARAN..... | 58 |
| 5.1 | Simpulan..... | 58 |
| 5.2 | Saran | 58 |
| | DAFTAR PUSTAKA | 59 |
| | LAMPIRAN..... | 66 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Perlakuan Tiap Uji | 37 |
| Tabel 2. Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> yang Diberikan Suspensi Bakteri <i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , dan <i>P. aeruginosa</i> Setelah 48 Jam Pengamatan | 49 |
| Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> Perlakuan Suspensi Pakan Ekstrak Bakteri Setelah 48 Jam Pengamatan | 50 |
| Tabel 4. Nilai LT50 Larva Instar 3 <i>Ae. aegypti</i> Perlakuan Suspensi Ekstrak Bakteri <i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , dan <i>P. aeruginosa</i> | 51 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> Betina..... | 26 |
| 2. Morfologi Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> | 26 |
| 3. Fase Pertumbuhan Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> | 28 |

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Pengendalian vektor pembawa penyakit masih menjadi salah satu hal yang krusial dalam menekan angka kasus penyakit akibat arbovirus yang ditimbulkan oleh vektor nyamuk *Aedes aegypti* (PAHO, 2019). Indonesia merupakan salah satu negara terdampak penyakit DBD tahunan yang ditularkan oleh virus dengue melalui vektor nyamuk *Ae. aegypti* (Kemenkes, 2021). Hasil penelitian Ismah, dkk. (2021), menunjukkan bahwa faktor terbesar yang menyumbang peningkatan jumlah penyakit DBD di Indonesia adalah faktor lingkungan (77,8%) dan iklim (72,2%). Salah satu faktor penyebab kelimpahan nyamuk di alam adalah banyaknya genangan air yang berpotensi menjadi tempat perindukan (*breeding zone*) yang efektif bagi nyamuk, seperti genangan air dalam kontainer plastik, genangan air dalam pot bunga setelah hujan, dan penampungan air, menjadi tempat-tempat yang digemari oleh nyamuk betina untuk bertelur (Rahim, *et al.*, 2022).

Air kondensat AC dapat memenuhi kriteria tempat perindukan nyamuk yang efektif. Hal ini berdasarkan hasil pengujian Permenkes tahun 2022 yang menunjukkan bahwa air kondensat AC merupakan air bersih yang memiliki kadar pH normal, tidak bersifat korosif, dan dapat digunakan kembali untuk keperluan rumah tangga (Akram, *et al.*, 2018). Air kondensat AC merupakan air hasil kerja mesin kondensor pendingin ruangan melalui penyerapan kelembaban udara (*air humidity*) di atmosfer sekitar ruangan, sehingga menyebabkan uap-uap air di ruangan terserap dan terkondensasi (Sabnis, *et al.*, 2020).

Berbagai upaya untuk memanfaatkan air kondensat AC tengah menjadi tren penelitian di berbagai bidang, seperti bidang industri, lingkungan, dan domestik (Mushtaq, *et.al.*, 2020). Hal ini disebabkan oleh keberadaan mesin pendingin ruangan yang sangat diperlukan untuk menurunkan suhu ruangan, sehingga menyebabkan produksi air kondensat AC turut melimpah (Mushtaq, *et.al.*, 2020). Hasil survei Karkour, *et al.* (2021), menunjukkan bahwa diperkirakan terdapat 1,6 miliar mesin pendingin ruangan (*air conditioner*) yang beroperasi di seluruh dunia. Keberadaan mesin pendingin ruangan sangat diperlukan untuk menurunkan suhu ruangan, terutama di negara beriklim tropis seperti Indonesia (Karkour, *et.al.*, 2021). Keberadaan air kondensat AC yang melimpah dan sifatnya yang memenuhi kriteria air bersih (Mushtaq, *et.al.*, 2020), menjadikan air kondensat AC diduga dapat menjadi media pertumbuhan nyamuk *Ae. aegypti* dan meningkatkan persebarannya.

Nyamuk memiliki berbagai simbiosis dengan aneka mikroorganisme di sekitar habitat hidupnya (Guégan, *et al.*, 2018). salah satu mikroorganisme yang dapat bersimbiosis dengan nyamuk adalah bakteri (Caragata, *et.al.*, 2019). Tetapi, hubungan simbiosis yang diketahui dan dibuktikan secara ilmiah masih terbatas pada penyebaran penyakit arbovirus (Caragata, *et al.*, 2019). Simbiosis antara nyamuk, dapat terjadi pada fase dewasa ataupun pada fase pradewasa (Huang, *et al.*, 2020). Simbiosis antara bakteri dan nyamuk dewasa dimulai ketika nyamuk mengonsumsi darah. Mikroorganisme, seperti bakteri, dapat masuk ke dalam tubuh nyamuk melalui darah yang dikonsumsi oleh nyamuk (Huang, *et al.*, 2020).

Pada fase pradewasa, simbiosis antara bakteri dan nyamuk terjadi ketika larva nyamuk mengonsumsi bakteri yang ada di sekitar habitat hidupnya untuk memenuhi nutrisi pertumbuhannya (Martinson dan Strand, 2021). Kemudian, bakteri yang tidak tercerna oleh enzim pencernaan nyamuk, seperti enzim

tripsin, chymotrypsins, aminopeptidase, dan karboksipeptidase (Li, et al., 2019), memperbanyak diri pada bagian midgut dan tersalurkan oleh hemolymph (Huang, et al., 2020).

Bakteri yang hidup dalam tubuh nyamuk melakukan metabolisme eksternal dengan cara menghasilkan enzim ekstraseluler (Martinson dan Strand, 2021). Enzim ekstraseluler mengandung berbagai macam senyawa yang bersifat *amylolytic*, lipolitik, dan selulolitik (Ojovan, et al., 2021). Beberapa senyawa yang dihasilkan melalui enzim ekstraseluler bakteri justru bersifat toksin bagi nyamuk, seperti senyawa *crystal toxins* yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus thuringiensis*, mampu membunuh larva nyamuk (Zaki, et al., 2020, Adepeju, et al. 2023, dan Alba-Tercedor dan Vilchez, 2023). Jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan toksin dan menimbulkan kerusakan jaringan tubuh serangga dikenal dengan istilah bakteri entomopatogen (Glare, et al., 2017).

Ketika bakteri entomopatogen menginvasi tubuh serangga dan tidak tercerna sempurna oleh enzim pencernaan nyamuk, bakteri entomopatogen dapat menyebabkan sepsis pada bagian *midgut* bahkan kematian nyamuk (Glare, et al., 2017). Penelitian terkait potensi bakteri dalam menekan vektor nyamuk merupakan topik yang potensial untuk dikembangkan, namun masih sedikit dijumpai penelitian yang menggunakan jenis bakteri lain untuk menekan populasi nyamuk. *Bacillus thuringiensis* dan *Lysinibacillus sphaericus* merupakan dua contoh bakteri yang sering menjadi model penelitian untuk menangkali populasi nyamuk (Glare, et al., 2017), tetapi kedua bakteri tersebut merupakan kelompok *soil bacteria* yang hidup bebas di tanah (Astuti, et al. 2018). Sedangkan, nyamuk menyukai lingkungan perairan yang bersih dan tidak terkontak langsung dengan tanah (Shalihat, et al., 2021).

Mikroorganisme yang dominan hidup di dalam air bersih, sesuai dengan kriteria pertumbuhan nyamuk adalah golongan bakteri *coliform* (Tominaga dan Ishii, 2020). Bakteri *coliform* seperti *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, merupakan anggota bakteri *coliform* yang menjadi indikator pencemaran air di lingkungan (Liu, *et al.*, 2018). Bakteri *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa* mampu menekan populasi serangga dengan cara menghasilkan senyawa entomopatogen bagi serangga, seperti *E. cloacae* mampu menghasilkan senyawa *rhamnolipid* yang bersifat larvasida dan anti-rayap menyebabkan kematian nyamuk *Culex quinquefasciatus* dan *Odontotermes obesus* (Harikrishnan, *et al.*, 2023), genus bakteri *Pseudomonas* terkenal mampu menghasilkan senyawa proteinase dan *metalloprotease* yang mampu menyebabkan kematian pada berbagai macam larva serangga, salah satunya *Galleria mellonella* (Devi, *et al.*, 2022). Bakteri *K. pneumoniae* mampu menghasilkan enzim lisozim melebihi 5 U/ μ l yang mampu menghentikan produksi sel *hemocytes* pada *hemolymph* serangga *G. Mellonella* (Loulou, *et al.*, 2023).

Berdasarkan hal tersebut, bakteri *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa* memiliki potensi dalam membunuh larva nyamuk *Ae. aegypti*. Oleh sebab itu, dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mengungkap, bagaimana hubungan mikroorganisme yang sering dijumpai di dalam air bersih terhadap mortalitas nyamuk *Ae. aegypti*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui nilai mortalitas larva *Ae. aegypti* tertinggi dengan pemberian pakan suspensi bakteri *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa*, dalam waktu pengamatan 48 jam.
2. Mengetahui nilai *Lethal Time* 50% (LT50) dari pemberian ketiga jenis suspensi bakteri, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa* terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Nyamuk *Ae. aegypti* dikelompokkan dalam Filum Arthropoda yang merupakan filum terbesar dalam *Kingdom* Animalia. Nyamuk *Ae. aegypti* masih menjadi vektor penyebaran penyakit arbovirus secara global dan belum dapat diatasi secara optimal, baik dalam skala global dan nasional. Di Indonesia, nyamuk *Ae. aegypti* merupakan vektor utama virus dengue penyebab penyakit demam berdarah (DBD). Akibat jumlahnya yang melimpah dan sering menjadi penyebab wabah DBD tahunan, dilakukan banyak upaya pemberantasan nyamuk, salah satunya dengan memanfaatkan mikroba pada tahap pradewasa dalam media air. Sebab, fase telur, larva (instar 1, instar 2, dan instar 3), hingga pupa dari nyamuk *Ae. aegypti* tumbuh dan berkembang di dalam air. Kriteria air yang digemari nyamuk untuk meletakkan telurnya adalah air yang bersih dan tidak terkontak langsung dengan tanah. Pada proses pertumbuhan dan perkembangannya, larva *Ae. aegypti* mengandalkan keberadaan nutrisi yang berasal dari detritus ataupun mikroorganisme, seperti bakteri, fungi, ataupun virus yang ada di sekitar habitat hidupnya, untuk membantu proses metabolisme dan pertahanan tubuhnya.

Air hasil kondensasi mesin AC memiliki profil pH normal, tidak bersifat korosif, dan dapat didaur ulang. Air kondensat AC dapat terkontaminasi akibat detritus dan bakteri, seperti bakteri *coliform*. Walaupun kondensat AC merupakan air yang steril, air kondensat AC masih dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme di sekitar tempat penampungan, serta dapat menjadi tempat yang efektif untuk nyamuk bertelur di dalamnya. Berdasarkan keberadaannya yang melimpah, serta sifatnya yang memenuhi kriteria air bersih yang layak untuk didaur ulang, air kondensat AC memenuhi kriteria tempat bertelur yang digemari nyamuk *Ae. aegypti* dan layak digunakan untuk dilakukan pengujian terkait hubungan antara daya hidup nyamuk *Ae. aegypti* dalam air kondensat AC.

Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang umum ditemui di daerah perairan. Salah satu jenis kelompok bakteri yang sangat umum dijumpai dalam air bersih adalah bakteri *coliform*, seperti *Enterobacter*, *Klasiella*, dan *Pseudomonas* yang sering menjadi mikroba penyebab kontaminasi air. Jenis-jenis mikroba tersebut dijumpai dalam air bersih yang tidak terkontak langsung dengan tanah yang memenuhi syarat *breeding zone* untuk nyamuk *Ae. aegypti* yang optimal. Meskipun penelitian serupa telah dilakukan, tetapi mikroba yang digunakan bukanlah mikroba yang secara bebas dapat dijumpai dalam media optimal pertumbuhan nyamuk, yaitu air bersih yang tidak terkontak langsung dengan tanah. Jenis mikroba yang sering digunakan berasal dari golongan *soil microbes*, seperti *Bacillus thuringiensis* dan *Lysinibacillus sphaericus* memiliki habitat alami di dalam tanah.

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian suspensi bakteri *E. cloacae* dapat meningkatkan mortalitas *Ae. aegypti* dalam waktu pengamatan 48 jam.
2. Pemberian suspensi bakteri *E. cloacae* dapat menurunkan nilai *Lethal Time 50%* (LT50) *Ae. aegypti*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyamuk *Aedes aegypti*

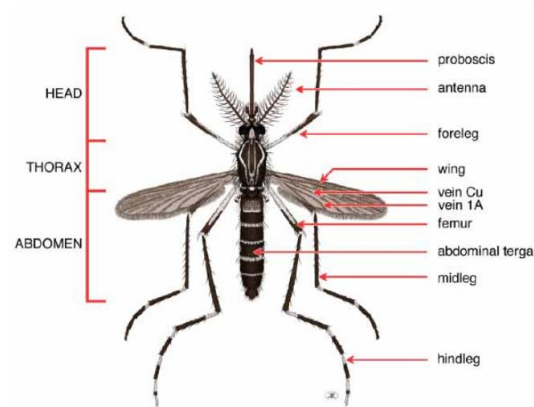
Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan spesies nyamuk yang berasal dari negara Afrika, tetapi saat ini nyamuk *Ae. aegypti* dapat dijumpai hampir di seluruh belahan dunia, terutama di negara tropis seperti Indonesia (Dueñas-López, 2022). Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan vektor virus dengue penyebab wabah demam berdarah dengue (DBD) (Zettel dan Kaufman, 2019). Tubuh nyamuk *Ae. aegypti* terdiri atas 3 segmen tubuh berupa kepala (*caput*), dada (*thorax*), dan (*abdomen*). Nyamuk *Ae. aegypti* dapat tumbuh hingga mencapai ukuran 4–7 mm. Nyamuk *Ae. aegypti* memiliki ciri morfologi yang mencolok berupa corak garis-garis putih yang kontras dengan warna tubuh hitam pada bagian punggung dan kakinya (Delita dan Nurhayati, 2022). Merujuk kepada Linneaus (1762) dalam Dueñas-López (2022), nyamuk *Ae. aegypti* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

| | |
|------------------|------------------------|
| <i>Kingdom</i> | : Animalia |
| <i>Phylum</i> | : Arthropoda |
| <i>Subphylum</i> | : Hexapoda |
| <i>Class</i> | : Insecta |
| <i>Order</i> | : Diptera |
| <i>Family</i> | : Culicidae |
| <i>Genus</i> | : <i>Aedes</i> |
| <i>Species</i> | : <i>Aedes aegypti</i> |



Gambar 1. Nyamuk *Ae. aegypti* betina (Dueñas-López, 2022)

Istilah nyamuk penyebab demam berdarah sebenarnya diasosiasikan dengan kemampuan nyamuk *Ae. aegypti* betina yang mentransmisikan virus dengue, penyebab penyakit DBD, ketika menghisap darah manusia (Delita dan Nurhayati, 2022). Tidak seperti *Ae. aegypti* betina, nyamuk *Ae. aegypti* jantan justru mengisap nektar untuk memenuhi kebutuhan nutrisi hidupnya (Dinkes NTB, 2021). Alat pengisap pada nyamuk *Ae. aegypti* dinamakan *proboscis* yang berfungsi untuk menghisap darah ataupun nektar (Dinkes NTB, 2021). *Proboscis* tetap tajam, seperti jarum suntik, walaupun sedang tidak digunakan untuk menghisap darah dan sari buah (Prawesty, 2007; Delita and Nurhayati, 2022). Nyamuk *Ae. aegypti* aktif melakukan pengisapan saat pagi hari, setelah matahari terbit pada pukul 08.00–10.00, dan petang hari, sebelum matahari terbenam pada pukul 15.00–17.00 buah (Prawesty, 2007; Delita and Nurhayati, 2022).



Gambar 2. Morfologi Nyamuk *Ae. aegypti* (Rueda, 2004)

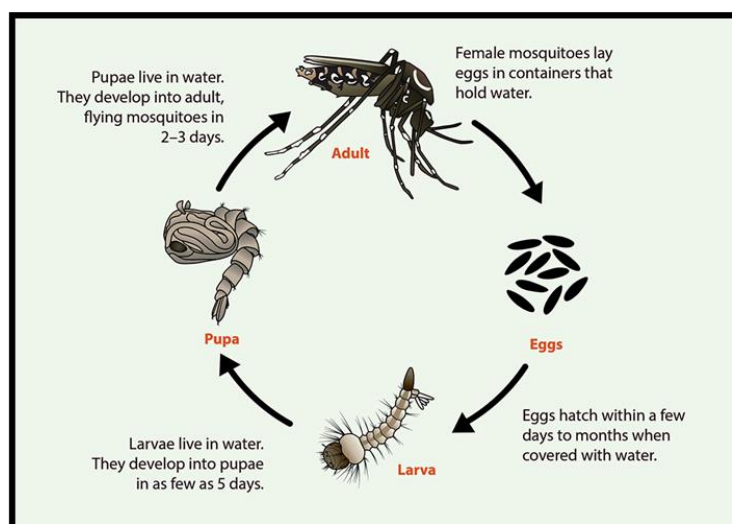
2.2 Siklus Hidup dan Habitat Nyamuk *Aedes aegypti*

Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan jenis serangga yang bersifat invasif dan sangat umum dijumpai pada daerah perumahan. Nyamuk *Ae. aegypti* berasosiasi dekat dengan kehidupan manusia serta mudah dijumpai dalam radius 100 m di pemukiman warga (Dueñas-López, 2022). Guna mempertahankan keberadaannya, nyamuk *Ae. aegypti* betina akan melakukan perkawinan dengan nyamuk *Ae. aegypti* jantan. Nyamuk jantan mengisap nektar bunga untuk memenuhi asupan nutrisi hidupnya, tidak seperti nyamuk betina yang mengisap darah manusia sebagai nutrisi untuk pematangan telur (Wohl dan McMeniman, 2023). Setelah kedua asupan nutrisi terpenuhi, proses kawin akan terjadi dalam beberapa hari. Satu induk nyamuk betina mampu menghasilkan 100–200 telur dalam satu siklus perkawinan (Dueñas-López, 2022).

Nyamuk *Ae. aegypti* betina mampu melakukan 1–5 kali siklus kawin semasa hidupnya (Dueñas-López, 2022). Induk nyamuk akan bertelur pada genangan air yang tidak terkontak langsung dengan tanah pada berbagai jenis *breeding site* atau tempat perindukan (Shalihat, *et al.*, 2021). Genangan air yang jernih dan tidak terkontak langsung dengan tanah merupakan *breeding site* yang digemari oleh induk nyamuk (Shalihat, *et al.*, 2021). Beberapa contoh dari *breeding site* yang umum dijumpai adalah genangan air pada berbagai perabotan rumah tangga (Shalihat, *et al.*, 2021), seperti ember air, tanki air, dan vas bunga (Delita dan Nurhayati, 2022). Selain itu genangan air pada perabotan rumah tangga, genangan air hujan pada lubang pohon dan ban bekas dapat menjadi *breeding site* yang optimal bagi nyamuk (Dueñas-López, 2022), bahkan tanaman hias jenis *Phytotelmata* menjadi salah satu *breeding site* yang efektif bagi nyamuk *Ae. aegypti* (Rosa, dkk., 2023).

Fase pertumbuhan nyamuk *Ae. aegypti* pradewasa dipengaruhi oleh berbagai hal, seperti sifat fisika dan kimiawi air; sifat biologis perairan yang mencakup; keberadaan patogen, kepadatan larva, keberadaan makanan bagi larva

nyamuk, serta keberadaan organisme lain dalam habitat perairan pertumbuhan jentik nyamuk (Arévalo-Cortés, *et al.*, 2022). Pertumbuhan nyamuk *Ae. aegypti* diawali dari penetasan telur dalam *breeding site*. Telur nyamuk *Ae. aegypti* bewarna hitam dan berbentuk lonjong dengan kedua ujung yang lancip (Prawesty, 2007, Delita and Nurhayati, 2022). Penetasan telur berlangsung selama 2 hari menjadi larva (*wriggler*) yang akan mengalami pergantian kulit (*moulting*) sebanyak 4 kali hingga menjadi (Prawesty, 2007, Delita and Nurhayati, 2022). Fase telur menjadi dewasa berlangsung selama 7–10 hari (CDC, 2022). Berikut merupakan ilustrasi fase pertumbuhan nyamuk *Ae. aegypti*:



Gambar 3. Fase Pertumbuhan Nyamuk *Ae. aegypti* (CDC, 2022)

Kondisi lingkungan dapat mempengaruhi laju penetasan telur nyamuk, suhu negara tropis yang berkisar antara 25–30°C merupakan rentang suhu yang optimal untuk penetasan dan pertumbuhan telur nyamuk *Ae. aegypti* (Shalihat, *et al.*, 2021). Suhu pada 14°C dan 38°C merupakan suhu minimum dan maksimum yang mampu dihadapi larva *Ae. aegypti* dalam masa pertumbuhannya (Dueñas-López, 2022). *Ae. aegypti* merupakan jenis serangga dengan metamorfosis sempurna (holometabola) yang terdiri atas 4 fase kehidupan, yaitu telur, larva, pupa, dan imago (CDC, 2022).

2.3 Air Kondensat Air Conditioner (AC)

Air kondensat AC adalah air yang dihasilkan dari mesin pendingin ruangan (AC) dalam menyerap uap panas di lingkungan, sehingga suhu ruangan sesuai dengan suhu yang diinginkan. Mesin pendingin ruangan memiliki prinsip kerja menyerap kelembaban udara (*air humidity*) di atmosfer. Ketika suhu meningkat, kelembaban udara di atmosfer ruangan turut meningkat.

Kelembaban udara yang tinggi disebabkan oleh melimpahnya kadar uap air di atmosfer, molekul-molekul air tersebut akan terserap oleh mesin udara saat mesin udara dihidupkan dan terkondensasi, sehingga kelembaban dan suhu ruangan menurun (Sabnis, *et al.*, 2020). Air hasil kondensasi tersebut akan dikeluarkan melalui pipa pembuangan. Suhu ruangan berada dalam rentang 23,2–27,3°C dengan nilai kelembaban rata-rata 33,1–45,5°C, ketika mesin pendingin ruangan dinyalakan, kelembaban ruangan dapat berkurang hingga 30% dan suhu rata-rata ruangan menurun hingga 16°C (Sari, *et al.*, 2023). Satu unit mesin pendingin ruangan mampu menghasilkan 10 L air kondensat AC dalam 7-8 jam pengoperasian (Sabnis, *et al.*, 2020).

Air kondensat AC yang berasal dari hasil penarikan uap air di udara, dinilai sebagai air yang bersih dan dapat digunakan jika ditampung dan disimpan secara benar, tertutup dan tidak terbuka begitu saja (Sabnis, *et al.*, 2020). Hasil penelitian Sulistiono, dkk. (2021), menunjukkan bahwa air kondensat AC memiliki sifat fisika, tidak memiliki warna, bau, dan rasa, serta memiliki rentang nilai TDS (*Total Dissolved Solids*) diantara 20–24 mg/L. Hasil pengujian parameter kimia menunjukkan, nilai DO (*Dissolved Oxygen*) sebesar 7,16 mg/L, pH 6,93, kadar nitrat (NO_3^-) sebesar 3,56 mg/L, kadar zat besi 0,01 mg/L, kadar COD (*Chemical Oxygen Demand*) sebesar 313,3 mg/L, dan kadar BOD (*Biological Oxygen Demand*) sebesar 23,6 mg/L, serta hasil pengujian biologi menunjukkan keberadaan bakteri *coliform* sebesar 7,66 CFU/100 mL (Sulistiono, 2021).

Hasil penelitian Sulistiono (2021), menunjukkan bahwa walaupun air kondensat AC merupakan air murni, seperti layaknya akuades, air kondensat AC masih dapat terkontaminasi, ditandai dengan keberadaan bakteri *coliform* pada uji biologis. Penelitian Okeyinka, *et al.* (2021), turut menunjukkan bahwa air kondensat AC masih dapat terkontaminasi dengan bakteri *E. coli* dengan kadar hasil pengujian MPN kurang dari 2 MPN/100 mL. Kontaminasi pada air kondensat AC dapat berasal dari hasil penyerapan uap air di atmosfer yang masuk ke dalam mesin pendingin. Selain berasal dari hasil penyerapan uap air, kontaminasi air kondensat AC dapat disebabkan dari lingkungan tempat pembuangan air kondensat atau terpapar oleh udara luar.

Selain bakteri *coliform*, *faecal coliform*, dan *E. coli*, ditemukan pula bakteri *Legionella* dan *Mycrobacterium* spp. dalam air kondensat AC (Jahne, *et al.*, 2022).

2.4 Bakteri Entomopatogen

Bakteri entomopatogen merupakan jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa toksin, serta menimbulkan kerusakan pada jaringan ataupun kematian pada serangga, apabila tidak sengaja termakan dan masuk ke dalam sistem pencernaan insekta (Glare, *et al.*, 2017). Bakteri entomopatogen sebenarnya merupakan bakteri oportunistik yang menjadikan serangga sebagai *host* untuk melaksanakan fungsi kehidupannya, seperti membelah diri atau ploriferasi sel. Umumnya, bakteri entomopatogen tidak sengaja masuk ke dalam tubuh serangga melalui tanaman ataupun makanan tertentu yang menjadi sumber nutrisi utama bagi serangga. Bakteri entomopatogen biasanya akan menetap di saluran pencernaan, tepatnya jaringan epitel *midgut*, kemudian memperbanyak diri dan menyebabkan *septicemia* (sepsis), dimana cairan *midgut* masuk ke dalam rongga tubuh serangga (*hemocoel*) akibat invasi bakteri entomopatogen, sehingga cairan *hemolymph* serangga dipenuhi oleh bakteri entomopatogen (Glare, *et al.*, 2017).

Senyawa yang bersifat toksin hasil produksi bakteri entomopatogen, umumnya diproduksi dalam bentuk enzim dan memiliki sifat proteolitik, sehingga produksinya yang melimpah dapat mengganggu permeabilitas membran sel serangga. Endotoksin umumnya menargetkan jaringan dan sel pencernaan pada bagian *midgut*, sehingga sel-sel pada bagian tersebut mengalami lisis, dan serangga mati akibat disrupsi usus, kelaparan, atau *septicemia*. Selain itu, bakteri entomopatogen yang menginvasi tubuh serangga dapat menyebabkan toxemia atau kematian akibat produksi toksin berlebih dalam tubuh serangga. *Bacillus thuringiensis* merupakan contoh bakteri entomopatogen yang mampu menghasilkan senyawa *crystal protein* (*Cry*) saat melakukan sporulasi yang bersifat toksin pada epitel usus, dengan menargetkan lisis jaringan *midgut* melalui mekanisme *Bt delta-endotoxin*, sehingga menyebabkan kelumpuhan sistem pencernaan (Kumar, *et al.*, 2020).

Keberadaan populasi bakteri entomopatogen dalam media pertumbuhan larva nyamuk mampu menekan populasi dan meningkatkan nilai mortalitas nyamuk. Mortalitas diartikan sebagai ukuran frekuensi terjadinya kematian pada suatu populasi tertentu dalam selang waktu tertentu (Tripathi, *et al.*, 2019). Mortalitas nyamuk dapat dilihat dengan mengamati efikasi dan menghitung nilai mortalitas larva nyamuk dengan pemberian perlakuan pakan berbasis suspensi bakteri (Tripathi, *et al.*, 2019).

2.5 Bakteri *Enterobacter cloacae*

Bakteri *E. cloacae* dicirikan sebagai bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak memiliki spora, memiliki alat gerak berupa flagel, dan merupakan keluarga bakteri *coliform* (Tominaga and Ishii, 2020). Bakteri *E. cloacae* mampu menghasilkan protein efektor (*effector proteins*) berupa *defensin* dan *scorpine* yang dapat menyebabkan infeksi dan menghambat produksi *ookinete* sehingga meniadakan produksi oosit pada nyamuk *Anopheles stephensi* betina, melalui mekanisme penghambatan *Plasmodium berghei* sebagai mikroorganisme yang mendukung fekunditas nyamuk *Anopheles stephensi*

(Dehghan, *et al.*, 2022). Meningkatnya keberadaan bakteri *Enterobacteriaceae*, turut meningkatkan produksi protein *defensin* dan *scorpine* mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* (mikroorganisme yang umum dijumpai dalam tubuh nyamuk *An. stephensi*) sehingga mampu mengurangi laju pertumbuhan dan *larval survival* larva nyamuk *An. stephensi* (Linenberg, *et al.*, 2016).

Bakteri *E. cloacae* mampu mempengaruhi sistem imun larva ataupun nyamuk dewasa dan mengakibatkan disrupsi pada jaringan epitel *midgut* dan meningkatkan tekanan oksidatif dalam tubuh larva ataupun nyamuk dewasa *An. stephensi*, melalui sekresi molekul anti parasit sehingga melemahkan imunitas larva nyamuk *An. stephensi*. Hal ini dibuktikan dari uji selama 14 hari pasca pemberian pakan darah, dimana bakteri *E. cloacae* meningkatkan tingkat mortalitas larva secara berkala dan menyisakan 15% larva nyamuk *An. stephensi* pada hari ke 20 pengujian pada tahap larva nyamuk instar 1 hingga dewasa (Ezemuoka, *et al.*, 2020).

2.6 Bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Bakteri *K. pneumoniae* termasuk ke dalam bakteri Enterobacter yang memiliki ciri morfologis berbentuk basil pendek, tidak memiliki spora, tidak memiliki alat gerak, dengan koloni berbentuk bulat, cembung, berair, serta bewarna putih (Putra, *et al.*, 2022). *K. pneumoniae* termasuk ke dalam jenis bakteri *coliform*, seperti halnya *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai bakteri yang umum hidup dibagian pencernaan hewan homoioterm, terutama mamalia, serta mampu mengontaminasi air (Tominaga dan Ishii, 2020). *K. pneumoniae* sebenarnya merupakan flora normal pada saluran pencernaan, tetapi dapat menjadi bakteri parasit oportunistik apabila dijumpai bukan pada usus dan saluran pencernaan.

Bakteri *K. pneumoniae* berpindah dengan mengandalkan dorongan fisik, melalui batuk ataupun terbawa oleh feses (Putra, dkk., 2022). Kelimpahan

bakteri *K. pneumoniae* menyebabkan feses tanpa berlendir dan berbau tajam (Putra, dkk., 2022). Bakteri *K. pneumoniae* mampu bersimbiosis dengan larva nyamuk *Ae. aegypti* (Mosquera, *et al.*, 2021), tetapi beberapa hasil penelitian Loulou, *et al.* (2023) dan Devi, *et al.* (2023) menunjukkan bahwa bakteri *K. pneumoniae* menghasilkan senyawa larvasida untuk beberapa jenis serangga.

Kemampuan bakteri *K.pneumoniae* sebagai biolarvasida ditunjukkan dari hasil penelitian Loulou, *et al.* (2023) yang menunjukkan bahwa bakteri *K. pneumoniae* memiliki potensi untuk menjadi agen insektisida melalui produksi enzim lisozim mencapai lebih dari 5 U/ μ L dalam *hemolymph* ngengat *G. mellonella* setelah injeksi 48 jam. Produksi enzim fenoloksidase juga ditunjukkan meningkat setelah injeksi 24 jam pada ngengat *G. mellonella*. Produksi kedua enzim tersebut hampir berhasil meniadakan produksi *hemocytes*, sel *hemolymph* yang hampir menyentuh angka 0 *hemocytes*/mL pada ngengat *G. Mellonella*. Selain itu, bakteri *K. pneumoniae* menyebabkan penurunan daya reproduksi dan kelangsungan hidup serangga jenis *Spodoptera litura* dan merupakan bakteri yang menyebabkan kematian tertinggi pada dosis 1.2×10^9 cfu / mL terhadap daun jarak, dimana larva yang terinfeksi mengalami perubahan warna menjadi kehitaman dan kaku (Devi, *et al.*, 2022).

2.7 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan anggota famili bakteri Enterobacter yang memiliki ciri berbentuk batang, gram negatif, heterotrof, memiliki alat gerak berupa flagellum, koloni berbentuk bulat, licin, dan bewarna hijau *flourenscent* (Diggle dan Whiteley, 2020). *P. aeruginosa* dapat tumbuh optimal pada suhu 37°C dan mampu bertahan dalam suhu minimum 4°C. Seperti mikroba *coliform* lainnya, *Pseudomonas* umum dijumpai pada tanah ataupun air, dan ditransmisikan melalui udara ataupun feses mamalia. *P. aeruginosa* dapat menjadi patogen oportunistik dan mampu menyebabkan

beberapa penyakit pada saluran kemih, pusat sistem saraf, dan infeksi pada luka terbuka (Shi, *et al.*, 2023).

Selain itu, genus bakteri *Pseudomonas* mampu menyebabkan patogenitas pada serangga maupun makhluk hidup lain seperti tumbuhan, nematoda, dan mamalia, melalui produksi senyawa metabolisme yang bersifat toksin (Diggle dan Whiteley, 2020). Anggota dari genus bakteri *Pseudomonas* dikenal mampu menghasilkan senyawa enzim ekstraseluler seperti proteinase dan *metalloprotease* yang mampu menyebabkan kematian pada larva serangga seperti *Spodoptera litura* (Devi, *et al.*, 2022). Bakteri *P. aeruginosa* secara alami mampu menghasilkan senyawa Rhamnolipid (RL) (Soberón-Chávez, *et al.*, 2021). Senyawa Rhamnolipid (RL) telah diujikan sebagai larvasida bersamaan dengan bakteri *E. cloacae* terhadap nyamuk *Culex quinquefasciatus* dan menyebabkan kematian setelah pemberian dosis LC50 dalam kurun waktu 48 jam (Harikrishnan, *et al.*, 2023).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2023–Januari 2024. Tahap preparasi, pengembangbiakan bakteri sebagai pakan larva nyamuk *Ae. aegypti*, hingga pembuatan suspensi pakan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Sedangkan tahap pengembangbiakan larva nyamuk *Ae. aegypti*, perlakuan pakan, pengamatan parameter mortalitas larva *Ae. aegypti*, dan analisis data dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam tahap pembuatan suspensi pakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung antara lain, *Biological Safety Cabinet* (BSC), timbangan digital, neraca analitik, *orbital shaker*, *centrifuge*, *hot plate*, bunsen, jarum ose (*loop*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmayer, gelas beaker, gelas ukur, pipet tetes, batang pengaduk, dan *sprit* suntikan 10 mL.

Alat-alat yang digunakan dalam tahap pengembangbiakkan nyamuk, pemberian perlakuan, dan analisis data di Laboratorium Zoologi Universitas Lampung antara lain, kotak plastik *thinwall* (17 cm x 5 cm x 11,5 cm), kotak plastik *thinwall* (12 cm x 12 cm x 7 cm), *rearing cage*, pipet tetes plastik 10 mL, *tally counter*, laptop Asus VivoBook tipe E210MA, aplikasi IBM SPSS Statistics versi 26, Microsoft Excel, kertas, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam tahap pembuatan suspensi pakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung antara lain, isolat bakteri *E. coli*, isolat bakteri *Klasiella* sp., isolat bakteri *Pseudomonas* sp. (diperoleh dari LABKESDA Provinsi Lampung), media *Natrium Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), akuades, *Phospate-Buffered Saline* (PBS), formalin 4%, spirtus, *aluminium foil*, kertas HVS, dan karet gelang.

Bahan-bahan yang digunakan dalam tahap pengembangbiakkan nyamuk dan pemberian perlakuan di Laboratorium Zoologi Universitas Lampung, telur nyamuk *Ae. aegypti* (diperoleh dari Laboratorium Entomologi Kesehatan, SKHB Institut Pertanian Bogor), pakan ikan (TetraBits Complete), air sumur, dan air kondensat AC.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Diawali dengan melakukan penetasan 1 lembar kertas telur nyamuk *Ae. aegypti*. Larva yang menetas dibesarkan dalam 125 mL air sumur yang diberi suspensi pelet ikan TetraBits (3,3 mg/mL). Kontrol hanya diberikan suspensi pelet ikan TetraBits dalam 125 mL air kondensat AC, sedangkan perlakuan diberikan suspensi ekstrak bakteri *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa* dengan 6 kali pengulangan setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan selama 48 jam dalam interval waktu pengamatan setiap 4 jam. Kemudian dilakukan perhitungan mortalitas larva *Ae. aegypti* berdasarkan jumlah larva yang mati selama 48 jam, serta analisis probit untuk mengetahui nilai *Lethal Time* 50% (LT50) dari masing-masing perlakuan. Perlakuan menggunakan suspensi ekstrak bakteri diharapkan mampu membunuh larva instar 3 *Ae. aegypti* dalam

waktu 48 jam dan mampu menurunkan populasi nyamuk vektor penyakit demam berdarah (DBD).

Tabel. 1. Kontrol dan Perlakuan Tiap Uji

| No | Kontrol dan Perlakuan (P) | Uraian | Keterangan |
|----|---------------------------|--|-------------|
| 1 | K | Larva nyamuk diberikan suspensi TetraBits (3,3 mg/mL) | Kontrol |
| 2 | P1 | Larva nyamuk diberikan suspensi bakteri <i>E. cloacae</i> (3,3 mg/mL) | Perlakuan 1 |
| 3 | P2 | Larva nyamuk diberikan suspensi bakteri <i>K. pneumoniae</i> (3,3 mg/mL) | Perlakuan 2 |
| 4 | P3 | Larva nyamuk diberikan suspensi bakteri <i>P. aeruginosa</i> (3,3 mg/mL) | Perlakuan 3 |

Keterangan: K = Kontrol
 P1 = Perlakuan suspensi bakteri *E. cloacae*
 P2 = Perlakuan suspensi bakteri *K. pneumoniae*
 P3 = Perlakuan suspensi bakteri *P. aeruginosa*

3.4 Peremajaan Stok dan Pengembangbiakan Bakteri

3.4.1 Peremajaan Stok dan Pengembangbiakan Bakteri *E. cloacae*

Isolat murni *E. cloacae* didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung (LABKESDA). Ose loop disterilisasi menggunakan bunsen hingga menyala sebelum digunakan untuk menginokulasikan bakteri ke dalam media pertumbuhan bakteri. 1 inokulum *E. cloacae* ditanamkan ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) miring dengan metode *streak*, Proses inkubasi bakteri *E. cloacae* yang kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Ebomah dan Okoh, 2020). Setelah isolat bakteri *E. cloacae* dipastikan tumbuh merata, dilakukan proses pembuatan *starter* dari bakteri *E. cloacae* pada media NB. Dibutuhkan sebanyak 30 mL *starter* bakteri *E. cloacae* untuk menghasilkan 1 jenis suspensi sebanyak 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022).

30 mL starter bakteri *E. cloacae* dibuat dengan cara membagi rata volume *starter* ke dalam 3 erlenmayer kecil sebanyak 10 mL yang bertujuan untuk memudahkan proses inokulasi 1 ose bakteri dan menghindari kontaminasi (Abatenh, *et al.*, 2018). Koloni bakteri *E. cloacae* diambil sebanyak 1 ose menggunakan ose *loop* steril, kemudian ditanam ke dalam 10 mL media *Nutrient Broth* (NB) dalam erlenmayer ukuran 50 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Lakukan hal yang sama sebanyak 3 kali untuk memenuhi volume *starter* 30 mL. Kemudian, ketiga seri *starter* bakteri *E. cloacae* diinkubasi menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm (Allahghadry *et al.*, 2022 dan Nurbailis, *et al.*, 2023).

Setelah inkubasi *starter* bakteri, dilakukan pembuatan suspensi bakteri *E. cloacae* sebanyak 300 mL. Pertama-tama, 3 erlenmayer ukuran 250 mL disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit sebelum diisi media NB sebanyak 100 mL untuk memenuhi total suspensi bakteri *E. cloacae*. Ketiga tabung erlenmayer berisikan 100 mL media NB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (Agalloco, 2019). Tabung erlenmayer berisi media NB dikeluarkan dari autoklaf untuk didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah media NB mencapai suhu ruang, disiapkan 3 *starter* bakteri *E. cloacae* 10 mL untuk masing-masing dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer berisi 100 mL media NB steril (Agalloco, 2019).

Perlakuan yang sama dilakukan terhadap 3 seri media suspensi *E. cloacae* untuk memenuhi volume suspensi yang dibutuhkan sebesar 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Ketiga suspensi *E. cloacae* dalam erlenmayer 250 mL diinkubasi kembali menggunakan *orbital shaker* selama 48 jam (Allahghadry, *et al.*, 2022). Selanjutnya, inokulum *E. cloacae* disentrifugasi dalam kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit (Ezemuoka, *et al.*, 2020).

3.4.2 Peremajaan Stok dan Pengembangbiakan Bakteri *K. pneumoniae*

Isolat murni *K. pneumoniae* didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung (LABKESDA). Ose *loop* disterilisasi menggunakan bunsen hingga menyala sebelum digunakan untuk menginokulasikan bakteri ke dalam media pertumbuhan bakteri. 1 inokulum *K. pneumoniae* ditanamkan ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) miring dengan metode *streak*, Proses inkubasi bakteri *K. pneumoniae* yang kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Mitreva dan Vodnar, 2019). Setelah isolat bakteri *K. pneumoniae* dipastikan tumbuh merata, dilakukan proses pembuatan *starter* dari bakteri *K. pneumoniae* pada media NB. Dibutuhkan sebanyak 30 mL *starter* bakteri *K. pneumoniae* untuk menghasilkan 1 jenis suspensi sebanyak 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022).

30 mL *starter* bakteri *K. pneumoniae* dibuat dengan cara membagi rata volume *starter* ke dalam 3 erlenmayer kecil sebanyak 10 mL yang bertujuan untuk memudahkan proses inokulasi 1 ose bakteri dan menghindari kontaminasi (Abatenh, *et al.*, 2018). Koloni bakteri *K. pneumoniae* diambil sebanyak 1 ose menggunakan ose *loop* steril, kemudian ditanam ke dalam 10 mL media *Nutrient Broth* (NB) dalam erlenmayer ukuran 50 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Lakukan hal yang sama sebanyak 3 kali untuk memenuhi volume *starter* 30 mL. Kemudian, ketiga seri *starter* bakteri *K. pneumoniae* diinkubasi menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm (Allahghadry *et al.*, 2022 dan Nurbailis, *et al.*, 2023).

Setelah inkubasi *starter* bakteri, dilakukan pembuatan suspensi bakteri *K. pneumoniae* sebanyak 300 mL. Pertama-tama, 3 erlenmayer ukuran 250 mL disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit sebelum diisikan media NB sebanyak 100 mL untuk memenuhi total

suspensi bakteri *K. pneumoniae* Ketiga tabung erlenmayer berisikan 100 mL media NB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (Agalloco, 2019). Tabung erlenmayer berisi media NB dikeluarkan dari autoklaf untuk didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah media NB mencapai suhu ruang, disiapkan 3 *starter* bakteri *K. pneumoniae* 10 mL untuk masing-masing dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer berisi 100 mL media NB steril (Agalloco, 2019).

Perlakuan yang sama dilakukan terhadap 3 seri media suspensi *K. pneumoniae* untuk memenuhi volume suspensi yang dibutuhkan sebesar 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Ketiga suspensi *K. pneumoniae* dalam erlenmayer 250 mL diinkubasi kembali menggunakan *orbital shaker* selama 48 jam (Allahghadry, *et al.*, 2022). Selanjutnya, inokulum *K. pneumoniae* disentrifugasi dalam kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit (Ezemuoka, *et al.*, 2020).

3.4.3 Peremajaan Stok dan Pengembangbiakkan Bakteri *P. aeruginosa*

Isolat murni *P. aeruginosa* didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung (LABKESDA). *Ose loop* disterilisasi menggunakan bunsen hingga menyala sebelum digunakan untuk menginokulasikan bakteri ke dalam media pertumbuhan bakteri. 1 inokulum *P. aeruginosa* ditanamkan ke dalam media *Nutrient Agar* (NA) miring dengan metode *streak*, Proses inkubasi bakteri *P. aeruginosa* yang kemudian dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Mitre dan Vodnar, 2019). Setelah isolat bakteri *P. aeruginosa* dipastikan tumbuh merata, dilakukan proses pembuatan *starter* dari bakteri *P. aeruginosa* pada media NB. Dibutuhkan sebanyak 30 mL *starter* bakteri *P. aeruginosa* untuk menghasilkan 1 jenis suspensi sebanyak 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022).

30 mL starter bakteri *P. aeruginosa* dibuat dengan cara membagi rata volume *starter* ke dalam 3 erlenmayer kecil sebanyak 10 mL yang bertujuan untuk memudahkan proses inokulasi 1 ose bakteri dan menghindari kontaminasi (Abatenh, *et al.*, 2018). Koloni bakteri *P. aeruginosa* sebanyak 1 ose menggunakan ose *loop* steril, kemudian ditanam ke dalam 10 mL media *Nutrient Broth* (NB) dalam erlenmayer ukuran 50 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Lakukan hal yang sama sebanyak 3 kali untuk memenuhi volume *starter* 30 mL. Kemudian, ketiga seri *starter* bakteri *P. aeruginosa* diinkubasi menggunakan *orbital shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm (Allahghadry *et al.*, 2022 dan Nurbailis, *et al.*, 2023).

Setelah inkubasi *starter* bakteri, dilakukan pembuatan suspensi bakteri *P. aeruginosa* sebanyak 300 mL. Pertama-tama, 3 erlenmayer ukuran 250 mL disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit sebelum diisikan media NB sebanyak 100 mL untuk memenuhi total suspensi bakteri *P. aeruginosa*. Ketiga tabung erlenmayer berisikan 100 mL media NB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (Agalloco, 2019). Tabung erlenmayer berisi media NB dikeluarkan dari autoklaf untuk didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah media NB mencapai suhu ruang, disiapkan 3 *starter* bakteri *P. aeruginosa* 10 mL untuk masing-masing dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer berisi 100 mL media NB steril (Agalloco, 2019).

Perlakuan yang sama dilakukan terhadap 3 seri media suspensi *P. aeruginosa* untuk memenuhi volume suspensi yang dibutuhkan sebesar 300 mL (Allahghadry, *et al.*, 2022). Ketiga suspensi *P. aeruginosa* dalam erlenmayer 250 mL diinkubasi kembali menggunakan *orbital shaker* selama 48 jam (Allahghadry, *et al.*, 2022). Selanjutnya, inokulum *P. aeruginosa* disentrifugasi dalam kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit (Ezemuoka, *et al.*, 2020).

3.5 Pembuatan Suspensi Berbasis Bakteri

Pertama-tama, media *Nutrient Broth* (NB) untuk pertumbuhan bakteri yang positif ditumbuhkan *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa*. Satu persatu inokulum dalam media cair dipindahkan ke dalam tabung falcon untuk kemudian disentrifugasi dalam kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit (Allahghadry, *et al.*, 2022). Endapan (supernatan) yang terbentuk dipisahkan dari natan hasil sentrifugasi, kemudian dicuci menggunakan larutan *Phospate-Buffered Saline* (PBS) sebanyak 0,05 mL menggunakan pipet tetes dengan cara sedot tuang sebanyak 3 kali, agar menjadi ekstrak bakteri dan terbebas dari zat pengotor. Setelah dicuci, ekstrak mikroba dikumpulkan dalam masing-masing kotak aluminium *foil* untuk ditimbang menggunakan neraca analitik hingga mencapai 132,5 mg per satu jenis ekstrak (Souza *et al.*, 2019).

Ekstrak mikroba dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 mL, lalu ditambahkan 40 mL akuades, dihomogenkan dengan cara mengguncangkan gelas beaker berisi suspensi pakan hingga merata. Suspensi pakan berbasis mikroba dalam gelas beaker 500 mL ditutup menggunakan aluminium *foil* untuk mencegah kontaminasi dan masuknya kotoran (*debris*) sebelum diberikan ke larva nyamuk. Suspensi pakan diberikan sebesar 3,3 mg/mL untuk setiap pengulangan pada perlakuan 1, 2, dan 3 (Souza, *et al.*, 2019).

Konsentrasi suspensi dihitung berdasarkan banyaknya perlakuan dan pengulangan, masing-masing sebanyak 4 perlakuan dan 6 pengulangan. Masing-masing wadah pertumbuhan tiap pengulangan berisi 125 mL air dengan 25 ekor larva instar 3 (Garjito, *et al.*, 2021 dan Qureshi, *et al.*, 2023). Konsentrasi suspensi dihitung berdasarkan acuan Souza, *et al.* (2019), 800 mg pakan untuk 250 mL volume air, dihitung berdasarkan densitas larva 0,22 larva/cm², untuk 150 larva nyamuk *Ae. aegypti*.

Perbandingan pakan disederhanakan untuk 1x dosis konsentrasi pakan untuk 3 ekor larva.

Kemudian didapatkan hasil bahwa 3 larva membutuhkan sebesar 16 mg pakan dilarutkan dalam 50 mL akuades steril. Hasil perhitungan menyesuaikan dosis dalam satu wadah pengulangan untuk 25 ekor larva, diperoleh hasil bahwa 25 ekor larva instar 3 pada tiap pengulangan membutuhkan sebesar 132,5 mg pakan, dilarutkan ke dalam akuades steril sebanyak 40 mL. Hasil perhitungan massa pakan dibagi dengan volume akuades steril sebagai pelarut, dan menghasilkan konsentrasi sebesar 3,3 mg/mL (Souza, *et al.*, 2019).

Berikut adalah rumus perhitungan konsentrasi suspensi pakan menurut Pangga dan Ahzan (2023):

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Keterangan: ρ = Massa jenis atau konsentrasi larutan (mg/mL)
 m = Massa zat terlarut (mg)
 V = Volume pelarut (mL)

3.6 Pembuatan Suspensi Pakan Kontrol

Mula-mula pelet TetraBits sebagai pakan kontrol ditimbang menggunakan neraca analitik. Pelet dimasukkan ke dalam kotak aluminium *foil* sebanyak 132,5 mg. Kemudian, pelet dimasukkan ke dalam gelas beaker 250 mL dan ditambahkan 40 mL akuades. Suspensi pelet diaduk hingga merata menggunakan spatula. Suspensi pelet dimasukkan ke dalam botol plastik bertutup ulir. Suspensi dapat disimpan dalam suhu 4°C di dalam lemari pendingin. Suspensi pakan yang dibuat digunakan untuk 1 kali dosis pemberian pakan dan diberikan setiap 3 hari sekali, diseluruh pengulangan kontrol. Setiap ulangan kontrol diberikan suspensi TetraBits sebanyak 3,3 mg/mL sebagai pakan. Jumlah dosis pemberian pakan diperoleh dari

perbandingan 800 mg pakan terhadap 16 mg/larva, dalam 125 mL media pertumbuhan larva nyamuk (Souza, *et al.*, 2019).

Konsentrasi suspensi dihitung berdasarkan banyaknya perlakuan dan pengulangan, masing-masing sebanyak 4 perlakuan dan 6 pengulangan. Masing-masing wadah pertumbuhan tiap pengulangan berisi 135 mL air dengan 25 ekor larva instar 3 (Qureshi, *et al.*, 2023). Konsentrasi suspensi dihitung berdasarkan acuan Souza, *et al.* (2019), 800 mg pakan untuk 250 mL volume air, dihitung berdasarkan densitas larva 0,22 larva/cm², untuk 150 larva nyamuk *Ae. aegypti*. Perbandingan pakan disederhanakan untuk 1x dosis konsentrasi pakan untuk 3 ekor larva. Kemudian didapatkan hasil bahwa 3 larva nyamuk *Ae. aegypti*, membutuhkan sebesar 16 mg pakan dilarutkan dalam 50 mL akuades steril.

Hasil perhitungan menyesuaikan dosis dalam satu wadah pengulangan untuk 25 ekor larva, sehingga diperoleh hasil bahwa 50 ekor larva pada tiap pengulangan membutuhkan sebesar 132,5 mg pakan yang dilarutkan ke dalam akuades steril sebanyak 40 mL. Hasil perhitungan massa pakan dibagi dengan volume akuades steril menghasilkan konsentrasi sebesar 3,3 mg/mL (Souza, *et al.*, 2019).

Berikut adalah rumus perhitungan konsentrasi suspensi pakan menurut Pangga dan Ahzan (2023):

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Keterangan: ρ = Massa jenis atau konsentrasi larutan (mg/mL)

m = Massa zat terlarut (mg)

V = Volume pelarut (mL)

3.7 Aklimatisasi dan Penetasan Telur Nyamuk *Ae. aegypti* dalam Media Air Sumur

Langkah penetasan diawali dengan mengisi kotak plastik *Thinwall* 3.000 mL dengan 1.875 mL air sumur (Garjito, 2021). Setelah terisi air, dimasukkan 1 kertas berisi telur nyamuk *Ae. aegypti* untuk satu wadah berukuran 3.000 mL. Kemudian telur didiamkan selama 7-10 hari sampai menetas menjadi larva (instar 3), sebelum dipindahkan ke dalam masing-masing media perlakuan dengan 6 pengulangan (Garjito et al., 2021).

3.8 Perlakuan Pemberian Pakan

3.8.1 Pemberian Pakan Kontrol dengan Suspensi Tetrabits

Kotak plastik *Thinwall* (12 cm x 12 cm x 7 cm) dipersiapkan untuk menampung air kondensat AC sebanyak 125 mL sebagai tempat pertumbuhan larva nyamuk. Wadah perlakuan kontrol diberikan label keterangan “K”. Sebanyak 3,3 mg/mL suspensi pakan TetraBits dimasukkan ke dalam 125 mL air kondensat AC menggunakan spuit 20 mL dalam wadah perlakuan kontrol. Setelah suspensi pakan tercampur merata dengan media pertumbuhan, sebanyak 25 ekor larva nyamuk (instar 3) (Souza, *et al.*, 2019).

3.8.2 Perlakuan dengan Suspensi Bakteri

Kotak plastik *Thinwall* (12 cm x 12 cm x 7 cm) dipersiapkan untuk menampung air kondensat AC sebanyak 125 mL sebagai tempat pertumbuhan larva nyamuk. Wadah diberikan label keterangan untuk masing-masing jenis bakteri, yaitu; P1 (*E. cloacae*), P2 (*K. pneumoniae*), dan P3 (*P. aeruginosa*). Sebanyak 3,3 mg/mL masing-masing jenis suspensi ekstrak bakteri dimasukkan ke dalam 125 mL air kondensat AC dalam wadah perlakuan P1, P2, dan P3. Setelah suspensi pakan tercampur merata

dengan media pertumbuhan, sebanyak 25 ekor larva nyamuk (instar 3) dimasukkan ke dalam masing-masing wadah perlakuan (Souza, *et al.*, 2019).

3.9 Perhitungan Tingkat Mortalitas Larva *Ae. aegypti*

Perhitungan tingkat mortalitas nyamuk dilakukan mulai dari tahap pemberian suspensi pakan terhadap larva instar 3. Ketika larva nyamuk instar 3 sudah diberikan perlakuan pakan menggunakan suspensi ataupun pelet TetraBits sebagai kontrol, larva nyamuk yang mati, ditandai dengan tidak adanya pergerakan ataupun larva jatuh ke dasar wadah perlakuan, dilakukan pencatatan jumlah larva (n) yang mati pada tiap hasil perlakuan (Putri, *et al.*, 2022). Jumlah larva yang mati dicatat secara manual di dalam kertas menggunakan pena.

Kemudian, jumlah larva yang mati akan dihitung *mortality rates* tiap perlakuan dan ulangan menggunakan rumus tingkat mortalitas (*mortality rates*), dengan rumus sebagai berikut (Alhewairini *et al.*, 2021):

$$\text{Mortality rates (\%)}: \left(1 - \frac{n \text{ in Co before treatment} \times n \text{ in T after treatment}}{n \text{ in Co after treatment} \times n \text{ in T before treatment}}\right) * 100$$

Keterangan: *Mortality rates* (%) = Nilai Mortalitas (%)

| | |
|----|-----------------------|
| n | = Jumlah larva nyamuk |
| T | = Perlakuan |
| Co | = Kontrol |

3.10 Perhitungan *Lethal Time 50%* Larva *Ae. aegypti*

Perhitungan *lethal time 50%* larva nyamuk dilakukan mulai dari tahap pemberian suspensi pakan terhadap larva instar 3 (Putri, *et al.*, 2022). Ketika larva nyamuk instar 3 sudah diberikan perlakuan pakan menggunakan suspensi ataupun pelet TetraBits sebagai kontrol, larva nyamuk yang mati, ditandai dengan tidak adanya pergerakan ataupun larva jatuh ke dasar wadah perlakuan, dilakukan pencatatan jumlah larva (n) yang mati pada tiap hasil

perlakuan (Putri, *et al.*, 2022). Kematian larva diamati selama 48 jam dengan interval waktu pengamatan setiap 4 jam dalam sehari setelah perlakuan. Jumlah kematian larva dicatat secara manual di dalam kertas menggunakan pena sebelum dipindahkan kedalam aplikasi Microsoft Excel (Alhewairini, *et al.*, 2021). Hasil kematian larva tiap interval 4 jam akan dianalisis menggunakan aplikasi IBM Statistics SPSS versi 26 menggunakan uji Regresi Probit (Natalia dan Astuti, 2019).

3.11 Analisis Data

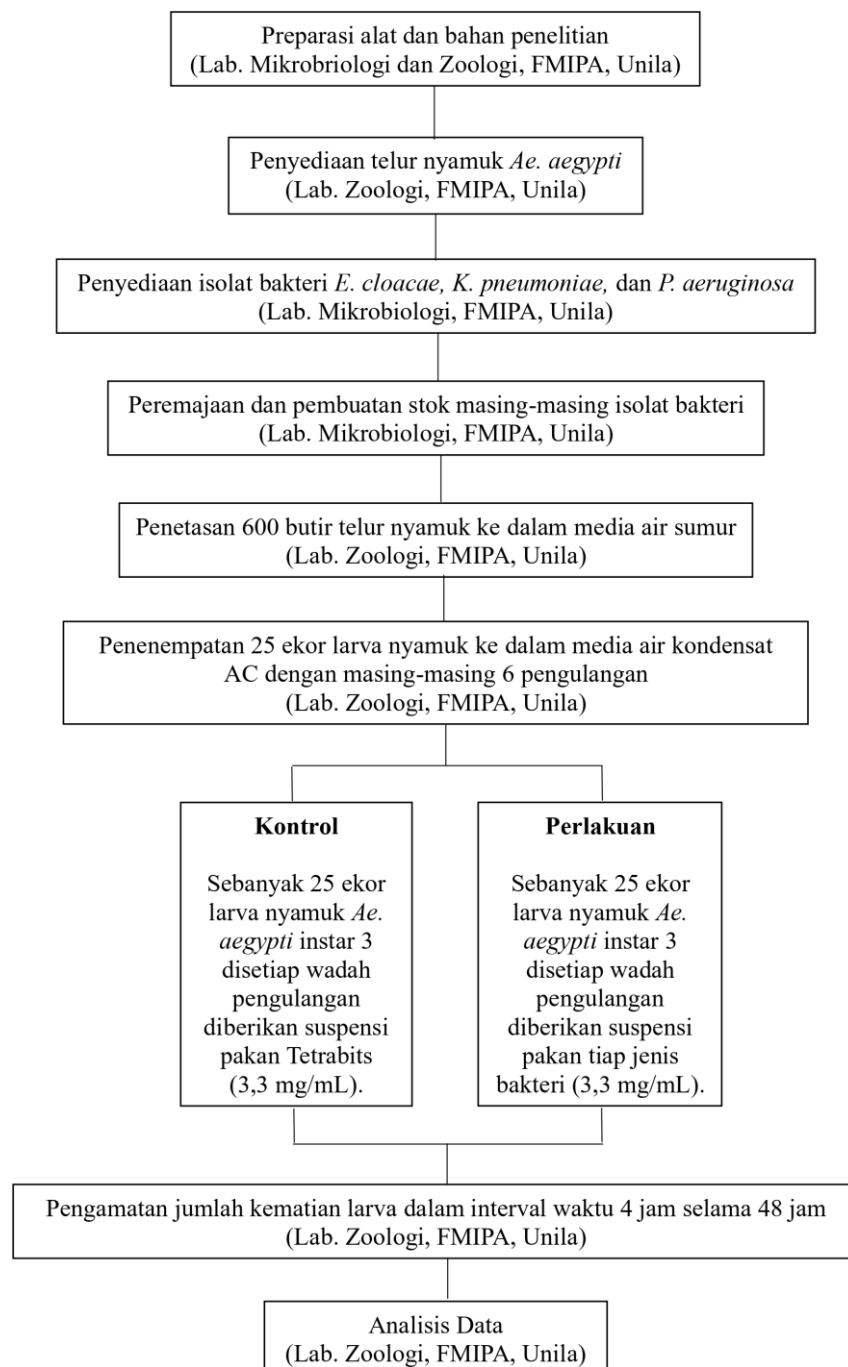
Data pengamatan diperoleh melalui pengamatan jumlah larva mati pada kontrol dan setiap pengulangan selama 48 jam. Data tersebut digunakan untuk perhitungan nilai mortalitas (*mortality rates*) menggunakan rumus Henderson-Tilton (Alhewairini, *et al.*, 2021), dan perhitungan nilai LT50 menggunakan Regresi Probit, aplikasi IBM SPSS Statistics versi 26 (Koraag, 2020). Data hasil perhitungan jumlah kematian larva nyamuk juga dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. Kedua metode uji dipilih karena data memenuhi persyaratan uji, data tidak terdistribusi normal (Amelia, *dkk.*, 2023, Natalia dan Astuti, 2019).

Uji Kruskal-Wallis bertujuan untuk memperoleh nilai signifikansi dari jumlah kematian larva nyamuk pada kontrol dan seluruh perlakuan uji (Natalia dan Astuti, 2019). Uji Kruskal-Wallis memiliki beberapa syarat yang harus dipenuhi, yaitu dengan melakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnof dengan nilai tingkat signifikansi sebesar $p < 0,05$ (Natalia dan Astuti, 2019).

Uji Mann-Whitney digunakan untuk memperoleh nilai *P value* (beda nyata) dengan cara membandingkan dua data hasil perhitungan jumlah kematian larva (Amelia, *dkk.*, 2023). Uji Mann-Whitney digunakan untuk mengetahui perlakuan yang signifikan berdasarkan nilai *P value* (beda nyata) antara kontrol dan masing-masing perlakuan (Amelia, *dkk.*, 2023).

3.12 Diagram Alir

Adapun diagram penelitian yang dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi dan Zoologi, FMIPA, Universitas Lampung dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan antara lain:

1. Nilai mortalitas larva *Ae. aegypti* tertinggi diperoleh dari perlakuan pemberian suspensi bakteri *E. cloacae*, sebesar 53,3%, serta hasil uji Mann-Whitney di seluruh perlakuan berbeda nyata. Kecuali pada perlakuan suspensi *K. pneumoniae* dan *P. aeruginosa*.
2. Nilai *Lethal Time* 50% (LT50) untuk suspensi ekstrak bakteri *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, dan *P. aeruginosa* berturut-turut diperoleh sebesar 36,10 jam, 88,99 jam, dan 47,54 jam.

5.2. Saran

Adapun saran penelitian ini antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis variasi dosis ekstrak pakan bakteri entomopatogen terhadap nilai LC50 larva *Ae. aegypti*.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan variasi *strain* bakteri yang memiliki potensi sebagai entomopatogen terhadap larva *Ae. aegypti*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abatenh, E., B. Gizaw dan Z. Tsegaye. 2018. Contamination in a Microbiological Laboratory. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 6(4), 7–13.
- Adepeju, A., D. M. . Uwanta, L. I. Agu, K. . Udenweze, E. C. Mbah, C. A. Awari G dan U. N. D. 2023. Mosquito Larvae Biocontrol Potential of *Bacillus Thuringiensis* Isolated from Soil Samples. *International Journal of Research Publication and Reviews*, 4(8), 1899–1906.
- Agalloco, J. 2019. Steam sterilization. *Parenteral Medications, Fourth Edition*, 2008, 695–709.
- Akram, M. W., R. Mursalin, M. M. Hassan, M. R. Islam dan S. K. Choudhury. 2018. Recycling of Condensed Water from an Air Conditioning Unit. *International Conference on Computer, Communication, Chemical, Material and Electronic Engineering, IC4ME2 2018*, 1–5.
- Aksan, B. G., F. Uçkan dan A. Er. 2022. Influence of dietary indole-3-acetic acid on phenoloxidase and hemolytic activities in *Pimpla turionellae* L., 1758 (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) in a host-parasitoid system. *Turkiye Entomoloji Dergisi*, 46(2), 149–158.
- Alba-Tercedor, J. dan S. Vilchez. 2023. Anatomical damage caused by *Bacillus thuringiensis* variety israelensis in yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (L.) larvae revealed by micro-computed tomography. *Scientific Reports*, 13(1), 1–10.
- Alhewairini, S. S., M. M. Al-azzazy, S. B. A. Ghani dan A. Mohammed. 2021. A New Strategy For Controlling The Date Palm Mite, *Oligonychus afrasiaticus* (McGregor) and *Eutetranychus palmatus*, Attiah (Acari : A New Strategy For Controlling The Date Palm Mite, *Oligonychus Afrasiaticus* (Mcgregor) And *Eutetranychus palmatus* Atti. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 58(April), 783–789.
- Allahghadry, T., A. M. Bojesen, B. J. Whitehead dan F. Antenucci. 2022. Clarification of large-volume bacterial cultures using a centrifuge-free protocol. *Journal of Applied Microbiology*, 133(2), 870–88

- Amelia, I., I. Made Sudarmaja dan N. L. Ariwati. 2023. Uji Hayati Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Larvasida Temephos 1% (Abate 1 Sg) Dengan Berbagai Konsentrasi Di Kelurahan Sesetan Denpasar Selatan. *Jurnal Medika Udayana*, 12(4), 43–48.
- AO, F., A. A. Anzaku, A. M, I. A. Emmanuel dan I. L. Yusuf. 2018. Production of protease enzyme from fish guts using *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* and *Bacillus megaterium*. *J Clin Path Lab Med*, 2(1).
- Arévalo-Cortés, A., Y. Granada, D. Torres dan O. Triana-Chavez. 2022. Differential Hatching, Development, Oviposition, and Longevity Patterns among Colombian *Aedes aegypti* Populations. *Insects*, 13(6).
- Astuti, D. T., Y. Pujiastuti, S. H. K. Suparman, N. Damiri, S. Nugraha, E. R. Sembiring dan Mulawarman. 2018. Exploration of *Bacillus thuringiensis* Berl. from soil and screening test its toxicity on insects of Lepidoptera order. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102(1).
- Caragata, E. P., C. V Tikhe dan G. Dimopoulos. 2019. Curious entanglements: interactions between mosquitoes, their microbiota, and arboviruses. *Current Opinion in Virology*, 37, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.05.005>
- Carvajal-Lago, L., M. J. Ruiz-López, J. Figuerola dan J. Martínez-de la Puente. (2021). Implications of diet on mosquito life history traits and pathogen transmission. *Environmental Research*, 195, 110893. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110893>
- CDC. 2022. *Life Cycle of Aedes aegypti and Ae. albopictus Mosquitos*. CDC.
- Christaki, A., K. G. Zinoviadou, V. T. Papoti, M. Miaoulis dan A. Chaskopoulou. 2022. The Nutrient Composition of Three Mosquito (Diptera: Culicidae) Species, *Aedes caspius*, *Anopheles hyrcanus*, and *Culex pipiens*, Harvested from Rice Fields for Their Potential Utilization as Poultry Feed Ingredients. *Sustainability (Switzerland)*, 14(21). <https://doi.org/10.3390/su142113852>
- Dehghan, H., S. H. Mosa-Kazemi, B. Yakhchali, N. Maleki-Ravasan, H. Vatandoost dan M. A. Oshaghi. 2022. Evaluation of anti-malaria potency of wild and genetically modified *Enterobacter cloacae* expressing effector proteins in *Anopheles stephensi*. *Parasites and Vectors*, 15(1), 1–12.
- Delita, K. dan Nurhayati. 2022. *Ekologi dan Entomologi Vektor Demam Berdarah Dengue Aedes Aegypti*. Kurnia Group.
- Devi, S., H. S. Saini dan S. Kaur. 2022. Insecticidal and growth inhibitory activity of gut microbes isolated from adults of *Spodoptera litura* (Fab.). *BMC Microbiology*, 22(1), 1–14.
- Diggle, S. P. dan M. Whiteley. 2020. Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (United Kingdom)*, 166(1), Dinkes NTB. 2021. *Mengenal Nyamuk Penular Demam Berdarah*.

- Dueñas-López, M. A. 2022. *Aedes aegypti* (Yellow Fever Mosquito). In *CABI Compendium datasheet* (Issue December). CABI.
- Dwi Putri, W., A. Khaerah dan F. Akbar. 2022. Uji Efektivitas Sari Batang Serai Dapur *Cymbopogon Citratus*. *Universitas Muhammadiyah Bulukumba*, 1(1), 1–9.
- Ebomah, K. E. dan A. I. Okoh. 2020. *Enterobacter cloacae* harbouring blaNDM-1, blaKPC, and blaOXA-48-like carbapenem-resistant genes isolated from different environmental sources in South Africa. *International Journal of Environmental Studies*, 78(1), 151–164.
- Ezemuoka, L. C., E. A. Akorli, F. Aboagye-Antwi dan J. Akorli. 2020. Mosquito midgut *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* affect the fitness of adult female *Anopheles gambiae* s.l. *PLoS ONE*, 15, 1–11.
- Farnesi, L. C., J. M. Brito, J. G. Linss, M. Pelajo-Machado, D. Valle dan G. L. Rezende. 2012. Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: Effects of the chitin synthesis inhibitor novaluron. *PLoS ONE*, 7(1).
- Garjito, T. A., L. Susanti, M. Mujiyono, M. T. Prihatin, D. Susilo, S. S. Nugroho, M. Mujiyanto, R. A. Wigati, T. B. T. Satoto, S. Manguin, L. Gavotte dan R. Frutos. 2021. Assessment of Mosquito Collection Methods for Dengue Surveillance. *Frontiers in Medicine*, 8(June), 1–8.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2021.685926>
- Gholami, A., D. Minai-Tehrani, S. J. Mahdizadeh, P. Saenz-Mendez dan L. A. Eriksson. 2023. Structural Insights into *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A–Elongation Factor 2 Interactions: A Molecular Dynamics Study. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(5), 1578–1591.
- Glare, T. R., J.-L. Jurat-Fuentes dan M. O’Callaghan. 2017. Chapter 4 - Basic and Applied Research: Entomopathogenic Bacteria. In L. A. B. T.-M. C. of I. and M. P. Lacey (Ed.), *Microbial Control of Insect and Mite Pests From Theory to Practice* (pp. 47–67). Academic Press.
- Guégan, M., K. Zouache, C. Démichel, G. Minard, V. Tran Van, P. Potier, P. Mavingui dan C. Valiente Moro. 2018. The mosquito holobiont: fresh insight into mosquito-microbiota interactions. *Microbiome*, 6(1), 49.
- Harikrishnan, S., S. Sudarshan, K. Sivasubramani, M. S. Nandini, J. Narenkumar, V. Ramachandran, B. O. Almutairi, P. Arunkumar, A. Rajasekar dan S. Jayalakshmi. 2023. Larvicidal and anti-termite activities of microbial biosurfactant produced by *Enterobacter cloacae* SJ2 isolated from marine sponge *Clathria* sp. *Scientific Reports*, 13(1), 1–10.
- Huang, W., S. Wang dan M. Jacobs-Lorena. 2020. Use of Microbiota to Fight Mosquito-Borne Disease. *Frontiers in Genetics*, 11(March), 1–6.

- Ismah, Z., T. B. Purnama, D. R. Wulandari, E. R. Sazkiah dan Y. K. Ashar. 2021. Faktor Risiko Demam Berdarah di Negara Tropis. *ASPIRATOR - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 13(2), 147–158.
- Jahne, M., D. King dan K. Kovalcik. 2022. Water Quality of Air Conditioning Condensate - Implications for Onsite Use. *WRAP Condensate Reuse Action 4.5 Meeting*.
- Juan, C. A., J. M. Pérez de la Lastra, F. J. Plou dan E. Pérez-Lebeña. 2021. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9).
- Karkour, S., T. Ihara, T. Kuwayama, K. Yamaguchi dan N. Itsubo. 2021. Life cycle assessment of residential air conditioners considering the benefits of their use: A case study in Indonesia. *Energies*, 14(2).
- Kemenkes. 2021. Profil Kesehatan Indonesia 2021. In *Pusdatin.Kemenkes.Go.Id*.
- Kim, I. H., J. C. Castillo, A. Aryan, I. Martin-Martin, M. Nouzova, F. G. Noriega, A. B. F. Barletta, E. Calvo, Z. N. Adelman, J. M. C. Ribeiro dan J. F. Andersen. 2020. A mosquito juvenile hormone binding protein (mJHBP) regulates the activation of innate immune defenses and hemocyte development. *PLoS Pathogens*, 16(1), 1–24.
- Klowden, M. J. 2021. *Physiological Systems in Insects* (2nd ed.). Academic Press.
- Koraag, M. E. 2020. Lethal Time Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera elatior*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Seminar Nasional Biologi*, 300–309.
- Kumar, S., S. Kumar, D. Bhandari dan M. P. Gautam. 2020. Entomopathogens, Pathological Symptoms and their Role in Present Scenario of Agriculture: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(12), 2110–2124.
- Li, X., J. Yang, Q. Pu, X. Peng, L. Xu dan S. Liu. 2019. Serine hydroxymethyltransferase controls blood-meal digestion in the midgut of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Parasites and Vectors*, 12(1), 1–15.
- Linenberg, I., G. K. Christophides dan M. Gendrin. 2016. Larval diet affects mosquito development and permissiveness to Plasmodium infection. *Scientific Reports*, 6(November), 1–10.
- Liu, H., C. A. Whitehouse dan B. Li. 2018. Presence and Persistence of *Salmonella* in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. *Frontiers in Public Health*, 6(May), 1–13.
- Loulou, A., M. Mastore, S. Caramella, A. H. Bhat, M. F. Brivio, R. A. R. Machado dan S. Kallel. 2023. Entomopathogenic potential of bacteria associated with soil-borne nematodes and insect immune responses to their infection. *PloS One*, 18(1), e0280675.

- M. Shafik, S., H. A. Abbas, N. Yousef dan M. M. Saleh. 2023. Crippling of *Klebsiella pneumoniae* virulence by metformin, N-acetylcysteine and secnidazole. *BMC Microbiology*, 23(1), 1–15.
- Martinson, V. G. dan M. R. Strand. 2021. Diet–Microbiota Interactions Alter Mosquito Development. *Frontiers in Microbiology*, 12(June).
- Mitreă, L. dan D. C. Vodnar. 2019. *Klebsiella pneumoniae*—a useful pathogenic strain for biotechnological purposes: Diols biosynthesis under controlled and uncontrolled pH levels. *Pathogens*, 8(4), 2–11.
- Mosquera, K. D., L. E. Martinez Villegas, S. J. Pidot, C. Sharif, S. Klimpel, T. P. Stinear, L. A. Moreira, N. J. Tobias dan M. G. Lorenzo. 2021. Multi-Omic Analysis of Symbiotic Bacteria Associated With *Aedes aegypti* Breeding Sites. *Frontiers in Microbiology*, 12(August), 1–10.
- Mushtaq, B., S. A. Bandh dan S. Shafi. 2020. Environmental Management: Environmental Issues, Awareness and Abatement. In *Springer*. Springer.
- Mustafa, A., M. Ibrahim, M. A. Rasheed, S. Kanwal, A. Hussain, A. Sami, R. Ahmed dan Z. Bo. 2020. Genome-wide Analysis of Four *Enterobacter cloacae* complex type strains: Insights into Virulence and Niche Adaptation. *Scientific Reports*, 10(1), 8150.
- Natalia, R. dan F. D. Astuti. 2019. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Etanol Biji Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Mortalitas Nyamuk *Aedes aegypti*. *Publikasi UAD*.
- Nurbailis, Y. Yanti, Z. Resti, A. Djamaan dan S. D. Rahayu. 2023. Consortia of endophytic bacteria for controlling *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease in chili plant. *Biodiversitas*, 24(6), 3503–3511.
- Ojovan, B., R. Catana, S. Neagu, R. Cojoc, A. I. Lucaci, L. Marutescu, L. Florescu, R. Ruginescu, M. Enache and M. Moldoveanu. 2021. Metabolic potential of some functional groups of bacteria in aquatic urban systems. *Fermentation*, 7(4), 1–11.
- Okeyinka, O. M., O. O. Ogundipe, D. A. Oloke and S. O. Adesogan. 2021. Reclaimed Air Conditioner Condensate as Alternative Source of Water in Hot Humid Region. *IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering (IOSR-JMCE) e-ISSN*, 18(6), 25–30.
- PAHO. 2019. Technical document for the implementation of interventions based on generic operational scenarios for *Aedes aegypti* control. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 2, Issue 1).
- Pangga, D. dan S. Ahzan. 2023. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Larutan Gula Putih terhadap Nilai Viskositas Nira Aren sebagai Identifikasi Kemurnian Nira Aren. *Jurnal Ilmiah IKIP Mataram*. 10(1), 4–11.

- Prawesty, D. U. 2007. Pengendalian Nyamuk *Aedes aegypti* Sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue Dengan Insektisida Malathion Dan Temephos. *Tuah Medical Journal*, 5(2), 43–52.
- Putra, M. D. D., I. G. K. Suarjana dan K. T. P. Gelgel. 2022. Isolasi dan Identifikasi *Klebsiella* sp. Pada Anjing Kintamani Diare. *Buletin Veteriner*
- Qureshi, A., E. Keen, G. Brown dan L. Cator. 2023. The size of larval rearing container modulates the effects of diet amount and larval density on larval development in *Aedes aegypti*. *PLoS ONE*, 18(1 January), 1–18.
- Rahim, A., F. Akmal, M. A. Fikri Mahmud, M. F. Md Yatim, M. H. Abdul Mutalip dan H. Shahar. 2022. The Construction Site Provides a Suitable Environment for Vector Mosquitoes in the Federal Territory of Kuala Lumpur, Malaysia. *Environment & Ecosystem Science*, 6(2), 65–70.
- Rosa, E., E. Nurcahyani, E. Linirin, S. Marcelia dan L. Septiani. 2023. Penyuluhan Tempat Perindukan Alami Nyamuk *Aedes aegypti* Vektor DBD di Dusun Pal 6, Kabupaten Lampung Selatan. *AMMA: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 2(1), 118–123.
- Rueda, L. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. *Zootaxa*, 589.
- Sabnis, A., M. Kale, M. Dhanorkar dan S. P. Kale. 2020. Quality Testing of Air Conditioner Condensate and Its Potential in Water Conservation. *Journal of Water Resource and Protection*, 12(02), 93–101.
- Sari, M., M. A. Berawi, T. Y. Zagloel, N. Madyaningrum, P. Miraj, A. R. Pranoto, B. Susanti dan R. Woodhead. 2023. Machine Learning-Based Energy Use Prediction for The Smart Building Energy Management System. *Journal of Information Technology in Construction (ITcon)*, 28(April), 622–645.
- Seven, B. 2022. *Insecticidal and Antimicrobial Effects of Pseudomonas Species Isolated From Waste Water*.
- Shalihah, A., T. Srisantyorini, M. Fauziah, F. Kesehatan Masyarakat, U. K. Muhammadiyah Jakarta Jl Ahmad Dahlan, C. Tim dan K. Jakarta Selatan. 2021. Environmental Occupational Health and Safety Journal Studi Literature Hubungan Variasi Iklim (Curah Hujan, Suhu Udara Dan Kelembaban Udara) Dengan Kejadian Demam Berdarah Dengue Di Indonesia Tahun 2007-2020. *Environmental Occupational Health and Safety Journal* •, 2(1), 35.
- Shi, Y., Q. Cao, J. Sun, X. Hu, Z. Su, Y. Xu, H. Zhang, L. Lan dan Y. Feng. 2023. The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* exploits bacterial biotin synthesis pathway to benefit its infectivity. *PLoS Pathogens*, 19(1), 1–30.

- Soberón-Chávez, G., A. González-Valdez, M. P. Soto-Aceves dan M. Cocotl-Yañez. 2021. Rhamnolipids produced by *Pseudomonas*: from molecular genetics to the market. *Microbial Biotechnology*, 14(1), 136–146.
- Souza, R. S., F. Virginio, T. I. S. Riback, L. Suesdek, J. B. Barufi dan F. A. Genta. 2019. Microorganism-based larval diets affect mosquito development, size and nutritional reserves in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Frontiers in Physiology*, 10(APR).
- Sucipto, C. D. 2018. The Effectiveness of Insect Growth Regulator (IGR) on the Growth and the Development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Tangerang City, Indonesia. *Journal of Medical Science And Clinical Research*, 6(4), 890–902.
- Sulistiono, E. 2021. Uji Klinis Faktor Fisika, Kimia, Biologi Limbah Kondesat Ac Sebagai Air Minum Di Universitas Islam Lamongan. *VISIKES: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 20(2).
- Susantho, A. H. dan R. Agustine. 2022. Pengaruh Jarak dan Kedalaman Sumur Bor terhadap Kualitas Air Bersih di Peternakan Ayam Petelur Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Cendekia Peternakan 2022*, 32, 130–138.
- Tominaga, T. dan M. Ishii. 2020. Chapter 11 - Detection of microorganisms with lateral flow test strips. In C. S. Pavia & V. B. T.-M. in M. Gurtler (Eds.), *Immunological Methods in Microbiology*. 47(351–394). Academic Press.
- Tripathi, S., S. Batra dan S. Pandey. 2019. Unbiased Mortality Prediction for Unbalanced Data Using Machine Learning. *International Conference on Electrical, Electronics and Computer Engineering (UPCON)*, 1–5.
- Wohl, M. P. dan C. J. McMeniman. 2023. Batch Rearing *Aedes aegypti*. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2023(3), 172–181.
- Zaki, Z. A., N. Che Dom dan I. Ahmed Alhothily. (2020). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Treatment on *Aedes* Population Using Different Applications at High-Rise Buildings. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(2).
- Zettel, C. dan P. Kaufman. 2019. *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Culicidae). Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.