

Uji Efektifitas *Entomophatogenic Fungi Beauveria bassiana* Terhadap Kematian *Blattella germanica* (L)

Whawan Bayu Arusyid^{*)}, Lintang Dian Saraswati^{**)}, Retno Hestningsih^{**)}

^{*)}Mahasiswa Peminatan Entomologi Kesehatan FKM UNDIP

^{**)}Dosen Bagian Epidemiologi dan Penyakit Tropik FKM UNDIP
e-mail : whawanbayuarusyid@gmail.com

ABSTRACT

Blattella germanica (L) is an insect vectors and pests. One of controlling effort by using a Entomophatogenic fungi. The study aims to measure the effectiveness of Entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* against *Blattella germanica* (L). This research is explanatory laboratories and completely randomized design. Samples *Blattella germanica* (L) aged 1.5-4 months, 960 tail taken at random from the laboratory. Data analyzing with Probit. The values of Entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* LC_{50} is $2,2 \times 10^6$ spores / mL and LC_{90} was $1,4 \times 10^9$ spores / mL. The values of LT_{50} of Entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* is 65,187 hours ($\pm 2,7$ days) and 267,071 hours (± 11 days). Based on this research is known that Entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* able to kill *Blattella germanica* (L). Further research needs to be done measuring the amount of germination entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* againts *Blattella germanica* (L) at any concentration during the observation time. Advice for health agencies are able to be an alternative vector control on house holds. Suggestions for researchers can be continued research into the use of entomophatogenic fungi against other vector. Advisable for public to be able to innovate pest control with Entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* againts *Blattella germanica* (L).

Keyword : Entomophatogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Blattella germanica* (L)

Bibliography : 102(1980-2015)

PENDAHULUAN

Blattella germanica (L) termasuk kedalam filum Arthropoda, Kelas Insekta dan Ordo Blattodea merupakan serangga yang berperan ganda yaitu sebagai hama mengganggu aktifitas manusia, banyak dijumpai restoran, hotel, *food court*, rumah sakit dan lingkungan pemukiman dan berperan sebagai vektor penyakit, membawa pathogen berbahaya seperti *Klebsiella oxytoca*, *Providencia spp*, *Shigella disentri* dan *Pseudomonas aeruginosa*.^{1,2} Populasi dan tingkat perkembangan *Blattella germanica* (L) sangat cepat, telur menetas setelah 20 hari dengan rata-rata ooteka berisi 6-28 telur dan mampu bertahan hidup selama 5 bulan pada temperatur 27°C sehingga upaya pengendalian sangat sulit dilakukan.³

Beberapa diantara *Blattella germanica* (L) mampu bertahan hidup terhadap beberapa pestisida tertentu seperti Permetrin, Karbamat, Dieltrin, Propoxur dan fipronil.^{4,5} Pestisida kimia dapat menyebabkan resistensi terhadap serangga jika penggunaannya tidak dilakukan secara bijak yaitu dilakukan dalam waktu yang lama dan dengan frekuensi tinggi. Kejadian penurunan status kerentanan vektor terhadap insektisida dan mempertimbangkan keamanan lingkungan mendorong dikembangkannya bioinsektisida.

Penelitian tentang agen hayati saat ini telah menjadi alternatif dalam pengendalian vektor. Pengembangan *Entomopathogenic fungi* merupakan salah satu terobosan mycopestisida untuk membunuh serangga.⁶ Terdapat lebih dari 700 spesies dari 90 genus dan ±12 subspecies memiliki bahan aktif mycopestisida.⁷

Entomopathogenic fungi merupakan pathogen alami serangga. Mekanisme *Entomopathogenic fungi* ialah dengan melumpuhkan bagian kutikula eksternal serangga target.⁸ Hifa akan masuk kedalam kutikula dalam bentuk konodioform

kemudian berkembang didalam tubuh serangga diikuti dengan intoksikasi secara lambat kemudian berakibat pada kematian. Penularan terjadi pada koloni melalui penyebaran spora.⁹

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksplanatory laboratories*, dengan desain penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap). Banyaknya Pengulangan untuk uji efikasi dihitung menurut rumus sebagai berikut:¹⁰

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$3r-3 \geq 15$$

$$r \geq 6$$

Keterangan:

t= jumlah Perlakuan

r= jumlah pengulangan

Data primer kematian *Blattella germanica* (L) pada uji efektifitas dihitung di laboratorium. Data primer jumlah jumlah sel spora pada biakan. Populasi dalam penelitian ini adalah *Blattella germanica* (L) hasil pemeliharaan Laboratorium Terpadu Unniversitas Diponegoro. Sampel penelitian adalah *Blattella germanica* (L) dewasa panjang 10-15 mm dan lebar 4-5 mm, umur 1,5-4 bulan.⁴

Pengambilan sampel pada kelompok perlakuan dilakukan secara *randomized sampling* karena hewan uji bersifat homogen. Randomisasi dilakukan dengan menempatkan perlakuan secara random terhadap unit percobaan.

Uji efektifitas dilakukan dengan menyiapkan kultur spora yang telah berusia 14 hari kemudian diambil menggunakan ose untuk mengelupas spora yang menempel pada medium PDA. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 9 mL. Digojog menggunakan penggojok selama 1-3 menit sampai homogen. Sebanyak 9 mL larutan homogen diambil 1 mL menggunakan

mikropipet dan dihitung jumlah sporanya menggunakan *Improved Nerbaur Chamber*. Dilakukan pengenceran sebanyak 4 kali untuk mendapatkan 4 konsentrasi. Pengujian dengan melakukan penyemprotan terhadap kelompok perlakuan. Dihitung jumlah Persentase kematian setiap hari sesudah perlakuan.

Perhitungan persentase kematian perlakuan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Kematian}}{\text{Total tiap Perlakuan}} \times 100\%$$

Rumus Abbott digunakan apabila pada kelompok kontrol terdapat kematian 5-20% yaitu:

$$\text{Akk}(\%) = \frac{\text{AK}(\%) - \text{AK}(\%) \text{ Kontrol}}{100\% - \text{AK}(\%) \text{ Kontrol}} \times 100$$

Keterangan:

Akk = Angka Kematian Koreksi

AK = Angka Kematian Perlakuan

Penentuan LC50 dan LC90, LT50 dan LT90 Perlakuannya adalah dengan memasukan 1 mL larutan stok murni kedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL aquades steril kemudian di homogenkan menggunakan vortex. Diambil 1 mL larutan dari pengenceran 1 sampai pada tingkat pengenceran konsentrasi yang diuji sebanyak 4 konsentrasi yaitu $4,0 \times 10^8$, $4,0 \times 10^7$, $4,0 \times 10^6$ dan $4,0 \times 10^5$. Masing-masing konsentrasi diambil dan dilakukan penyemprotan terhadap *Blattella germanica* (L) tiap perlakuan dan ulangan sebanyak 10 ekor. Kematian *Blattella germanica* (L) diamati selama 1-7 hari pengujian. Untuk mendapatkan LC50 dan LC90, LT50 dan LT90 dengan uji regresi probit ¹¹

HASIL PENELITIAN

Tabel. 4.3. Pengaruh Tingkat Konsentrasi *Entomopathogenic fungi Beauveria bassiana* Terhadap Kematian *Blattella germanica* (L)

Konsentrasi (spora/mL)	Total perlakuan (ekor)	Jumlah Kematian hari/ekor						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
$4,0 \times 10^5$	60	3	7	10	12	16	20	24
$4,0 \times 10^6$	60	4	7	13	14	22	25	31
$4,0 \times 10^7$	60	8	12	15	21	28	33	41
$4,0 \times 10^8$	60	15	22	27	35	41	49	53
0 (Kontrol)	60	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 4.3 diketahui bahwa Dari hari ke-1 sampai hari ke-7 rata-rata kematian *Blattella germanica* (L) semakin meningkat. Semakin tinggi tingkat konsentrasi yang diberikan pada perlakuan juga akan mempengaruhi peningkatan

kematian *Blattella germanica* (L), kematian rata-rata tertinggi pada konsentrasi $4,0 \times 10^8$ sebesar 53 ekor, kematian rata-rata terendah pada konsentrasi $4,0 \times 10^5$ sebesar 24 ekor, Perlakuan terhadap kontrol tidak terdapat kematian

Tabel 4.6. Hasil Pengukuran Suhu, Kelembaban Udara dan Intensitas Cahaya Uji Lanjutan

Hari ke-	Suhu (°)	Kelembaban (%)	Intensitas Cahaya (Lux)
I	24,7	63	90
II	22,9	59	91
III	23,0	64	89

IV	24,1	63	90
V	22,5	59	90
VI	23,2	60	90
VII	23,2	62	91
Rata-rata	23,3	61,4	90,1

Berdasarkan tabel 4.6 Rata-rata suhu ruangan, kelembaban udara dan intensitas cahaya uji lanjutan berturut-turut adalah 23,3°C, 61,4% dan 90,1 Lux. Angka tersebut menunjukkan bahwa suhu, Kelembaban udara dan Intensitas Cahaya tidak berpengaruh terhadap kematian *Blattella germanica* (L).

Tabel 4.7 Uji Regresi Probit Konsentrasi *Beauveria bassiana* Terhadap Kematian *Blattella germanica* (L)

Lethal Concentration	Konsentrasi (spora/mL)	Range
LC ₅₀	2,2x10 ⁶	2,7x10 ² <LC ₅₀ <2,0x10 ⁷
LC ₉₀	1,4x10 ⁹	8,5x10 ⁷ <LC ₉₀ <2,0x10 ²¹

Pada tabel 4.7 Hasil uji regresi probit menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ dan LC₉₀ berturut-turut uji lanjutan konsentrasi *Entomophatogenic fungi Beauveria bassiana* adalah 2,2x10⁶ spora/mL range (2,7x10²<LC₅₀<2.0x10⁷) dan 1,4x10⁹ spora/mL range (8,5x10⁷<LC₉₀<2.0x10²¹).

Tabel 4.9 Uji Regresi Probit Waktu Pengamatan *Beauveria bassiana* Terhadap Kematian *Blattella germanica* (L)

Lethal Time	Waktu (jam)	Range
LT ₅₀	65,187	37,473<LT ₅₀ <92,986
LT ₉₀	267,071	158,704<LT ₉₀ <1436,250

Berdasarkan tabel 4.9. Diketahui bahwa nilai LT₅₀ dan LT₉₀ berturut-turut *Entomophatogenic fungi Beauveria*

Bassiana adalah 65,187 jam (±2,7 hari) dan 267,071 jam (±11 hari).

PEMBAHASAN

Suhu udara yang mendukung kehidupan *Blattella germanica* (L) berkisar antara 18°C sampai dengan 30°C.¹ Suhu lingkungan yang mendukung pertumbuhan konidia *Entomophatogenic fungi* berkisar antara 5°C sampai dengan 25°C sehingga rata-rata suhu tersebut merupakan suhu optimal untuk patogenisitas kecoa *Blattella germanica* (L).¹² Sejalan dengan penelitian Kruger, 2014 yang menumbuhkan *Metarhizium* pada 7 jenis substrat dengan

suhu optimal perkembangan berkisar antara 6°C-25°C.¹³ Suhu udara minimal *Entomophatogenic fungi* untuk berkembang berkisar antara 3°C sampai dengan 5°C.

Perbedaan suhu berpengaruh besar terhadap perkembangan *Entomophatogenic fungi*. Berdasarkan penelitian Farguez, 1997 yang meneliti empat isolat *Metarhizium anisopliae* dipaparkan pada suhu yang sama 25°C dan 30°C mampu membunuh belalang pasir sebesar 98% hingga 100% dibandingkan pada suhu 40°C yang tidak

terjadi kematian. Namun, pada suhu 35°C kematian belalang berkisar antara 40% hingga 100%.¹⁴ Sehingga dapat disimpulkan suhu tertinggi *Entomophatogenic fungi* untuk hidup adalah 35°C. Perbedaan geografi isolat *Entomophatogenic fungi* berpengaruh pada efektifitasnya. Isolat yang berasal dari negara panas akan toleransi terhadap pengujian pada temperatur tinggi sebaliknya jika isolat di dapat dari wilayah geografi negara dingin maka hanya toleran terhadap pengujian pada temperatur rendah. Sejalan dengan penelitian Vidal, 1997. Mengukur pertumbuhan *P. fumosoroseus* respon terhadap temperatur beberapa isolat dari USA, Eropa, Pakistan Nepal dan India yang diujikan pada *Bemisia tabaci* bahwa isolat yang berasal dari Eropa memperlihatkan pertumbuhan pada suhu 8°C hingga 30°C dan pertumbuhan optimal pada suhu 20°C hingga 25°C. Isolat dari USA dan Asia Barat memperlihatkan pertumbuhan pada suhu 8°C hingga 35°C dan pertumbuhan optimal pada suhu 25°C hingga 28°C. Isolat yang berasal dari India sangat toleran terhadap suhu yang tinggi antara 32°C hingga 35°C.¹⁵

Rata-rata kelembaban udara pada uji lanjutan lebih tinggi dibandingkan pada uji pendahuluan. Kelembaban yang disenangi kecoa sebesar 54%.¹⁵ Pada penelitian ini rata-rata kelembaban udara 61,4% tidak mempengaruhi kematian *Blattella germanica* (L) yang dapat disimpulkan bahwa semua sampel *Blattella germanica* (L) toleran terhadap kelembaban tersebut. Kelembaban udara yang efektif untuk pertumbuhan *Entomophatogenic fungi* berkisar antara 60% sampai dengan 85%. Sehingga dibutuhkan waktu yang lebih lama apabila ingin digunakan untuk menganalisa perkecambahan hifa fungi pada seluruh tubuh *Blattella germanica* (L).

Intensitas cahaya diukur setiap hari setiap pengamatan. Pencahayaan diperoleh dari cahaya matahari tidak langsung sebab tempat dan ruang pengujian tertutup oleh korden. *Blattella germanica* (L) merupakan serangga yang memiliki daya adaptasi yang tinggi karena memiliki beberapa enzim reseptor penangkal panas, menjaga kelembaban tubuhnya dan mampu hidup pada intensitas cahaya antara 10,5 lux sampai dengan 350 lux.^{16, 17} Ketika penelitian *Blattella germanica* (L) tidak mengalami kematian pada kontrol sehingga faktor intensitas cahaya tidak berpengaruh terhadap kematian *Blattella germanica* (L).

Nilai LC₅₀ *Entomophatogenic fungi Beauveria bassiana* adalah 2,2x10⁶ spora/mL dan nilai LC₉₀ 1,4x10⁹ spora/mL. Pergeseran nilai *Lethal Concentration* tidak berbeda dengan penelitian Hussein, 2011 yang digunakan yang digunakan untuk uji *Beauveria Bassiana* terhadap *Galleria mellonella* LC₅₀ dan LC₉₀ berturut turut 1,04x10⁵ dan 1,01x10⁸.¹⁸ Penelitian Ratissa, 2011 LC₅₀ dan LC₉₀ berturut turut adalah 1,1x10⁹ dan 8,6x10¹⁴ yang menguji *Beauveria Bassiana* terhadap *Cylas formicarius* (F). Perbedaan LC₅₀ dan LC₉₀ tergantung pada kondisi penelitian dan viabilitas spora masing-masing uji. Menurut Trizelia, 2007 kemampuan patogen untuk dapat menimbulkan infeksi pada serangga ditentukan oleh tiga hal yaitu patogen, inang dan lingkungan. Dari segi patogen, dosis dan cara aplikasi akan mempengaruhi mortalitas serangga, sedangkan dari segi inang, faktor fisiologi dan morfologi tiap serangga uji mempengaruhi kerentanan serangga terhadap *Entomophatogenic fungi Beauveria Bassiana*. Beberapa lapisan lilin pada kutikula serangga dapat menghambat perkecambahan spora seperti jenis asam lemak *caprylic acid* yang terdapat pada permukaan tubuh *Blattella germanica* (L)

secara langsung mempengaruhi perkecambah dan virulensi fungi.¹⁹

Nilai LT_{50} *Entomopathogenic fungi Beauveria bassiana* adalah 65,187 jam ($\pm 2,7$ hari) dan LT_{90} 267,071 jam (± 11 hari). Berbeda dengan penelitian Ratissa, 2011 yang menggunakan *Beauveria Bassiana* terhadap *Cylas formicarius* (F) nilai LT_{50} dan LT_{90} berturut turut adalah 9,9 hari dan 28,7 hari.²⁰ Pada penelitian lain yang menguji *Entomopathogenic fungi Beauveria bassiana* terhadap *S. scabei* waktu yang diperlukan untuk membunuh serangga sebanyak 50% adalah selama 2,24 hari yang berarti masih sejalan dengan penelitian Uji *Entomopathogenic fungi Beauveria Bassiana* terhadap *Blattella germanica* (L).²¹

Spora yang menempel pada tubuh *Blattella germanica* (L) akan membentuk tabung kecambah (apresorium) dan menghasilkan enzim kitinase untuk menembus kutikula. Selanjutnya, masuk kedalam *haemolymph*. *Beauveria bassiana* dan membentuk sejumlah toksin yang akan merusak jaringan tubuh dan menurunkan aktifitas sehingga *Blattella germanica* (L) akan mengalami kaku pada seluruh tubuh. Enzim yang dihasilkan oleh *Entomopathogenic fungi Beauveria Bassiana* adalah enzim kitinase, lipase dan proteinase, toksin yang dihasilkan adalah *beauvericin*, *Bassianin*, *Bassianolide*, *Beauverolides* dan *tenellin* antibiotik ini dapat menyebabkan gangguan pada fungsi *haemolymph* dan nukleus serangga, kemudian menyebabkan pembengkakan dan pengerasan kulit pada serangga yang terinfeksi.²²

KESIMPULAN

1. LC_{50} dan LC_{90} *Entomopathogenic fungi Beauveria Bassiana* berturut-turut $2,2 \times 10^6$ spora/mL dan $1,4 \times 10^9$ spora/MI
2. LT_{50} dan LT_{90} *Entomopathogenic fungi Beauveria Bassiana* berturut-turut 65,187 jam ($\pm 2,7$ hari) dan 267,071 jam (± 11 hari)

SARAN

1. Disarankan bagi instansi kesehatan untuk dapat dijadikan alternatif pengendalian vektor menggunakan *Entomopathogenic fungi Beauveria Bassiana* pada lingkungan pemukiman
2. Disarankan bagi Peneliti diperlukan penelitian lebih lanjut penggunaan *Entomopathogenic fungi* pada vektor lain seperti Pinjal, Nyamuk dan Rayap di lapangan
3. Disarankan bagi masyarakat untuk dapat melakukan inovasi untuk mengendalikan hama lingkungan pemukiman dengan membeli produk *Entomopathogenic fungi* siap pakai jika telah tersedia

Daftar Pustaka

1. Mahmoud MF. Ecological investigation , density , infestation rate and control strategy of German cockroach , *Blattella germanica* (L .) in two hospitals in Ismailia , Egypt. *Arthropods* 2013;2(4):216-224.
2. Jalil N, Keyhani A, Hasan M-KS, Mahdi M, Monireh M, Atefeh B. Cockroaches' bacterial infections in wards of hospitals, Hamedan city, west of Iran. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 2012;2(5):381-384.
3. Gemeno C, Williams GM, Schal C. Effect of shelter on reproduction, growth and longevity of the German cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *Eur. J. Entomol.* 2011;108(1):205-210.

4. Mohammad Djaefar, Moemenbellah Fard, Mohammad Reza Fakoorziba, Kouroz Azizi MMN. Carbamate Insecticides Resistance Monitoring of Adult Male German Cockroaches , *Blattella germanica* (L .), in Southern Iran. *J. Heal. Sci Surveillance* 2013;1(1):41-47.
5. Rahayu resti, Intan Ahmad, Endang Sri Ratna, Marselina TNA. Present Status of Carbamate, Pyrethroid and Phenylpyrazole Insecticide Resistance to German Cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) in Indonesia. *Inst. Teknol. Bandung* 2009;361-367(6):7
6. De Moraes CK, Schrank A, Vainstein MH. Regulation of extracellular chitinases and proteases in the entomopathogen and acaricide *Metarhizium anisopliae*. *Curr. Microbiol.* 2003;46(1):205-210.
7. Han JH, Jin BR, Kim JJ, Lee SY. Mycobiology Virulence of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua*. *Mycol. J* 2014;42(4):385-391.
8. Kaya L a. L-HK. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Phatology*. second edi. (Lacey LA, Kaya HK., eds.). California: Springer; 2007.
9. S. M. Midwest Biological Control News. *Vol. IV No 10* 2000:1-7.
10. Hanafiah K a. *Rancangan Percobaan Teori Dan Aplikasi*. Jakarta: Rajawali Press; 2003.
11. Probit Analysis. *J. Pharm. Sci.* 1971;60(9):1432-1432.
12. Vurro M, Gressel J. *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. 13th ed. (Vurro M, ed.). Gualdo Tadino, Italy: www.springer.com; 2007.
13. Kruger RD, Posadas JB, Lewylle MA, et al. Solid Substrate Production and Formulation of an Isolate of *Metarhizium anisopliae* for Biological Control of Stem Bug *Tibraca limbativentris*. *Entomol. Exp. Appl.* 2014;32(7):1242-1251.
14. Luz C, Fargues J. Temperature and moisture requirements for conidial germination of an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus*. *Mycopathologia* 1997;138(3):117-25.
15. Claire Vidal, Jacques Fargues LAL. Intraspecific Variability of *Paecilomyces fumosoroseus*:Effect of Temperature on Vegetative Growth. *J. Invertebr. Pathol.* 1997;70(1):18-26.
16. Appel a G, Tanley MJ. Laboratory and field performance of an imidacloprid gel bait against German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 2000;93(1):112-118.
17. Sfara V, Mougabure-Cueto G a., Zerba EN, Alzogaray R a. Locomotor behaviour of *Blattella germanica* modified by DEET. *PLoS One* 2013;8(12):1-5.
18. Hussein K a., Abdel-Rahman M a a, Abdel-Mallek AY, El-Maraghy SS, Joo JH. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Galleria mellonella*. *Phytoparasitica* 2012;40(2):117-126.

19. Trizelia. Patogenisitas jamur entomopatogen. *J. Penelit. dan Inf. Pertan.* 2007;11(1):52-59.
20. Ratissa DA. keefektifan cendawan entomopatogen beauveria bassiana (bals .) vuill terhadap c ylas formicarius (f .) (coleoptera : brentidae) dan pengaruhnya pada keperidian. *Biol. Control Urban Pest* 2011;12(1):55-57.
21. R.Z. Ahmad DHD a W. Lethal Time 50 Cendawan Beauveria Bassiana Dan Metarhizium Anisopliae Terhadap Sarcoptes Scabiei (Lethal Time 50 Of Beauveria Bassiana And Metarhizium Anisopliae Fungy On Sarcoptes Scabiei). *Semin. Nas. Teknol. Peternak. Dan Vet.* 2008;12(2):498-503.
22. Tarigan B. uji efektifitas beauveria basianna dan bacillus thuringiensis terhadap ulat api (setothosea asigna eeck, lepidoptera, limacodidae) di laboratorium. *Agreekoteknologi* 2013;1(4):1439-1446.

