

PENELITIAN | RESEARCH

Mortalitas *Aedes albopictus* akibat infeksi horizontal *Beauveria bassiana* dan aktivitas enzim Kitinase *B. bassiana*

Mortality of Aedes albopictus caused by horizontal infection of Beauveria bassiana and its chitinase enzyme activity

Firda Yanuar Pradani*, Mutiara Widawati

Loka Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis, Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jl. Raya Pangandaran KM.03, Ds. Babakan Kp.Kamurang, Pangandaran 46396, Jawa Barat, Indonesia

Abstract. Dengue fever is a disease caused by dengue virus and spread by *Aedes aegypti* as a primer vector and *Ae. albopictus* as a secondary vector. The vector control by using insecticide was commonly used, however, it caused vector resistance. Alternative ways of vector control is needed to overcome this problem. Microorganism like bacteria and fungi has potential effect to become insecticides and eliminate vector diseases. Hence, microorganism could be used as one of the alternative ways of vector control. One of potential fungi that has pathogenicity to mosquitoes was *Beauveria bassiana*. The purpose of this research was to found out about the effect of conidia *B. bassiana* concentration to mortality of *A. albopictus*. This study also aimed to observe mortality condition of mosquito (feed and unfeed) infect by fungi, potential horizontal transfer and chitinase activity produced by *B. bassiana*. Mortality data were analyzed by univariate test and followed by Tukey's analysis. The result showed that mortality of *A. albopictus* is influenced by concentration of conidia. There is no effect of mosquito condition on mortality rate, and there are no interaction between conidia concentration and mosquito condition. Mortality rate of *A. albopictus* in concentration 105 is 23.05% ,while mortality rate in 107 was higher, 31.47%, concentrtrion 105 Chitinolitic index of *B. bassiana* is 1.67 and specific activity of enzyme chitinase is 1.0557 unit/mg.

Keywords: dengue fever, *Beauveria bassiana*, conidia concentration, chitinase enzyme

Abstrak. Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor primer dan *Ae. albopictus* sebagai vektor sekunder. Pengendalian vektor selama ini dilakukan dengan menggunakan insektisida dengan resiko terjadi resistensi. Upaya pencarian insektisida alternatif yang ramah lingkungan dan aman terus dilakukan dengan melakukan penelitian potensi mikroorganisme seperti bakteri dan fungi. Salah satu fungi yang diketahui memiliki daya patogen terhadap nyamuk adalah *B. bassiana*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian konidium *B. bassiana* dengan konsentrasi berbeda terhadap mortalitas *Ae. albopictus*. Penelitian ini juga bertujuan untuk melihat pengaruh kondisi nyamuk terhadap infeksi fungi, potensi infeksi horizontal dari nyamuk jantan yang terinfeksi kepada nyamuk betina sehat dan aktivitas enzim kitinase yang dihasilkan oleh *B. bassiana*. Data kematian dianalisis menggunakan uji univariate dan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi konidia berpengaruh terhadap mortalitas *Ae. albopictus*. Kondisi nyamuk tidak ikut mempengaruhi mortalitas tetapi mempengaruhi kerentanan nyamuk. Tidak ada interaksi dari kedua faktor yang diujikan sehingga kedua faktor berdiri sendiri dalam menentukan kematian nyamuk. Pada konsentrasi 105 angka kematian nyamuk adalah sebesar 23,05%. Konsentrasi lebih tinggi yaitu 107 mengakibatkan mortalitas yang lebih tinggi yaitu sebesar 31,47%. Indeks kitinolitik *B. bassiana* adalah sebesar 1,67 dan aktivitas spesifik enzim adalah sebesar 1,0557 unit/mg.

Kata Kunci: Demam berdarah dengue, *Beauveria bassiana*, konsentrasi konidia, aktivitas enzim kitinase

* Korespondensi: fhierda@gmail.com | Telp/Faks: +62(0)85224422862

Naskah masuk: 27 Januari 2015 | Revisi: 7 Oktober 2015 | Layak terbit: 10 November 2015

LATAR BELAKANG

Pengendalian penularan penyakit DBD selama ini dilakukan dengan pengendalian vektor, salah satunya menggunakan insektisida. Penggunaan insektisida kimiawi dalam jangka panjang meningkatkan resiko terjadinya resistensi pada serangga target dan dapat membunuh serangga non target.¹ Hal ini perlu diantisipasi dengan mencari alternatif insektisida yang lebih ramah lingkungan dan tidak berbahaya bagi serangga non target. Dasar pemikiran inilah yang menjadi faktor pendorong pentingnya dilakukan penelitian mengenai insektisida biologi bagi serangga vektor penyakit, di antaranya nyamuk.

Beberapa organisme seperti bakteri, fungi dan predator alami dapat berperan sebagai bioinsektisida, beberapa di antaranya seperti *Bacillus thuringiensis* (bakteri), *Beauveria bassiana* dan larva *Toxorynchites* (predator larva nyamuk). *B. bassiana* merupakan salah satu jamur entomopatogen yang sudah sering diisolasi dan tersebar secara kosmopolit. Salah satu inang alamiah *B. bassiana* adalah nyamuk.² *B. bassiana* merupakan anggota dari phylum *Ascomycota* yang telah lama dikenal sebagai fungi entomopatogenik dengan spektrum yang luas, sehingga banyak digunakan sebagai kontrol biologi serangga.

Kryukov dan Yaroslavtseva³ meneliti tentang kemampuan *B. bassiana* bertahan di lingkungan dengan faktor abiotik (unsur hara dan air) terbatas dan pada suhu yang berbeda menunjukkan respon yang dihasilkan berbeda-beda tergantung strainnya. *Beauveria bassiana* dilaporkan mampu menginfeksi serangga dan mengandung toksin yang mampu meracuni serangga sasarannya hanya dalam rentang waktu 3-5 hari dari waktu aplikasi⁴. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *B. bassiana* adalah *bassianin*, *bassiacridin*, *beauvericin*, *bassianolide*, *beauverolides*, *tenellin* dan *oosporein*.⁵

Siklus hidup *B. bassiana* dimorfik yaitu sebagai parasit pada tubuh inang dan organisme saproba atau pengurai ketika inangnya mati. Pada media buatan dan tanah, *B. bassiana* tumbuh sebagai filamen dan menghasilkan konidia. Apabila konidia bersentuhan dengan kutikula serangga, konidia akan menempel dan menginfeksi tubuh serangga melalui kulit, makanan yang terkontaminasi, spirakel atau lubang lainnya. Konidia kemudian masuk ke dalam tubuh inang, selanjutnya bereproduksi pada satu atau lebih jaringan inang, kemudian fungi akan mem-

bentuk miselium, dan menembus kutikula serta melakukan penetrasi integumen serangga hingga menjangkau *haemocoel*. Penembusan kutikula dilakukan secara mekanis dan atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim kitinase yang mampu menghambat pembentukan kitin pada kutikula serangga.^{6,7}

Mekanisme infeksi *B. bassiana* biasanya melibatkan toksin dan reaksi enzimatik. Enzim yang terlibat dalam mekanisme infeksi adalah enzim kitinase. Kitinase merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam entomopatogenitas. Kitinase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis polimer kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer N-asetilglukosamin. Enzim kitinase dipakai oleh fungi dalam menyerang serangga dengan cara mendegradasi kitin pada kutikula dan membran pencernaan. Fungi entomopatogenik seperti *B. bassiana* merupakan salah satu contoh fungi yang memanfaatkan enzim ini untuk menyerang serangga.⁸ Hal ini mengindikasikan bahwa kitinase yang dihasilkan oleh fungi bersifat mematikan terhadap serangga sehingga dapat dimanfaatkan untuk pengendalian serangga khususnya serangga pengganggu atau hama termasuk vektor.⁸

Serangga yang terserang jamur *B. bassiana* akan mati dengan tubuh mengeras seperti mumi dan jamur menutupi tubuh inang dengan warna putih.^{9,10} Serangga yang telah terinfeksi *B. bassiana* selanjutnya akan mengkontaminasi lingkungan, baik dengan cara spora keluar dari tubuh inang, maupun melalui fesesnya. Spora yang keluar dari tubuh serangga yang terinfeksi dapat menular ke serangga sehat kemudian akan terinfeksi, penularan ini dinamakan transmisi horizontal (inter/intra generasi).⁹

Selain faktor transfer horizontal, Faktor lain yang mempengaruhi efektivitas infeksi fungi pada serangga di antaranya adalah konsentrasi konidia fungi yang menginfeksi dan faktor kerentanan serangga itu sendiri. Penelitian yang dilakukan oleh Luz *et al.*¹¹, menyatakan bahwa serangga *Triatoma infestans* memiliki *lethal time* 15-21 hari setelah dipaparkan konidia *B. bassiana* dengan konsentrasi 3×10^6 dan 3×10^7 konidia/cm. Adriano *et al.*¹² melakukan penelitian mengenai kerentanan dengan kondisi nyamuk *Ae. aegypti* betina yang kenyang darah dan dipuaskan terhadap infeksi *Metarhizium anisopliae* menemukan bahwa kerentanan nyamuk berkurang ketika dalam kondisi kenyang darah. Selain mempengaruhi kerentanan, faktor

nutrisi berhubungan langsung dengan fekunditas dan fertilitas nyamuk.

Kajian mengenai potensi insektisida biologis seperti fungi *B. bassiana* dalam mengendalikan populasi serangga khususnya nyamuk *Ae. albopictus* perlu dilakukan secara mendalam, terutama mengenai konsentrasi konidia yang optimal dan potensi transfer horizontal yaitu potensi terjadinya penularan intra generasi antara serangga terinfeksi pada serangga sehat melalui kontak fisik. Selain itu, pengaruh kondisi nyamuk betina (kenyang darah atau tidak) terhadap infeksi fungi serta peranan enzim khususnya aktivitas enzim kitinase fungi sebagai salah satu cara menginfeksi serangga belum banyak dikaji.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi konidia *B. bassiana* dan kondisi nyamuk *Ae. albopictus* terhadap mortalitas *Ae. albopictus*. Tujuan lainnya adalah untuk mengetahui potensi transfer horizontal dari nyamuk terinfeksi pada nyamuk sehat dan menghitung aktivitas enzim kitinase *B. bassiana*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen-tal laboratorium. Khusus untuk mortalitas nya-muk percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial, yang di-amati adalah pengaruh kombinasi faktor konsen-trasi konidia dan kondisi nyamuk betina terha-dap kematian nyamuk.

Nyamuk jantan dewasa sebanyak 20 ekor dima-sukkan ke dalam kandang berukuran 30x30x30 cm. Larutan gula 4% dimasukkan ke dalam botol kaca dan diberi sumbat kapas pada ujungnya. Pada sumbat kapas dan kandang disemprotkan 10 ml *B. bassiana* dengan konsentrasi 0, 105 dan 107 konidia/ml. Pemaparan dilakukan selama 2x24 jam. Kemudian nyamuk jantan yang dipaparkan *B. bassiana* dimasukkan ke dalam kandang yang berisi 20 ekor nyamuk betina dewasa yang kenyang darah (perbandingan jantan:betina=1:1) dan yang dipuaskan (masing -masing perlakuan diulangi 4 kali). Sebagai kon-trol digunakan nyamuk jantan sehat dengan beti-na kenyang darah dan dipuaskan. Pengamatan dilakukan selama 10 hari dan selama peng-amatan, dihitung nyamuk betina yang mati pada setiap perlakuan yang positif *B. bassiana* (ditun-jukan dengan tumbuhnya miselium pada tubuh nyamuk). Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga jumlah unit percobaan sebanyak 24 unit. Kontrol terdiri atas dua kandang yang masing-masing

berisi nyamuk betina sehat kenyang darah dan nyamuk betina yang dipuaskan kemudian dima-sukkan ke dalamnya nyamuk jantan sehat tanpa pemaparan konidia fungi. Infeksi horizontal dilihat dari jumlah nyamuk betina yang mati dan positif terinfeksi *B. bassiana*. Pengukuran akti-vitas enzim kitinase dilakukan dengan uji kualitatif menghitung indeks kitinolitik dan uji kuantitatif dengan menghitung jumlah total pro-tein berdasarkan metode Bradford (1978). Infeksi horizontal diukur dengan menghitung jumlah nyamuk betina yang mati dan positif *B. bassiana*. Data yang digunakan merupakan data nyamuk betina yang bangkainya ditumbuhi miselium *B. bassiana* setelah diinkubasikan selama 5-10 hari.

HASIL

Berdasarkan hasil pengujian pada kematian nyamuk uji dengan menggunakan independent T-test dengan SPSS (Tabel1) digunakan untuk membedakan antara kematian nyamuk kenyang darah dan dipuaskan.

Tabel 1. Hasil analisis uji beda nyamuk kenyang darah dan dipuaskan

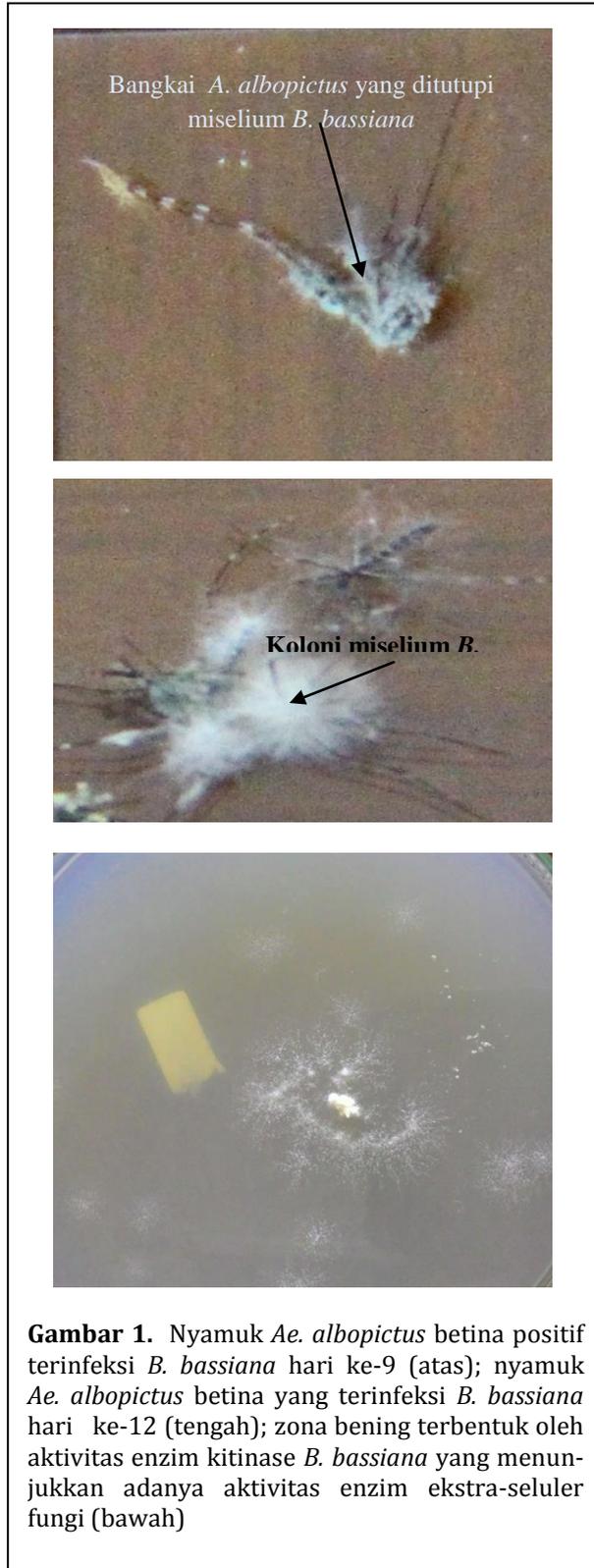
Konsentrasi	Kondisi nyamuk	Rata-rata jml kematian \pm SD	Sig.
10 ⁰	kenyang darah	0 \pm 0	-
10 ⁰	dipuaskan	0 \pm 0	
10 ⁵	kenyang darah	2,5 \pm 0,58	0,05*
10 ⁵	dipuaskan	3,5 \pm 0,58	
10 ⁷	kenyang darah	4,5 \pm 1,91	0,31
10 ⁷	dipuaskan	6,5 \pm 3,10	

Keterangan: * perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95%.

Nyamuk betina yang terinfeksi ditunjukkan oleh tumbuhnya miselium pada tubuh nyamuk (white mold) setelah didiamkan dalam petridish dengan kelembaban relatif 80% selama 5-10 hari pasca kematian (Gambar 1, atas).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penularan secara horizontal dari nyamuk *Ae. albopictus* jantan yang terinfeksi *B. bassiana* pada nyamuk *Ae. albopictus* betina. Penularan tertinggi terjadi pada nyamuk uji yang dipa-parkan *B. bassiana* dengan konsentrasi 107 yaitu sebesar 31,47%. Kematian nyamuk betina rata-rata sebanyak 2,5 pada kondisi kenyang darah dan 3,5 pada kondisi dipuaskan untuk konsen-trasi konidia 105. Pada konsentrasi 107, kema-tian nyamuk betina rata-rata sebanyak 4,5 untuk nyamuk kenyang darah dan 6,5 untuk nyamuk dipuaskan. Penularan terjadi ketika nyamuk jantan bersinggungan dengan nyamuk betina

baik itu pada saat terbang maupun pada saat terjadi perkawinan. Pada saat terjadi perkawinan biasanya nyamuk betina akan masuk ke dalam kerumunan nyamuk jantan dan kemungkinan besar terjadi singgungan atau kontak fisik antara nyamuk jantan terinfeksi dengan nyamuk betina sehat.



Kematian yang dihitung adalah jumlah nyamuk betina yang positif *B. bassiana* sehingga dapat dipastikan kematian nyamuk tersebut adalah akibat infeksi jamur entomopatogen. Bangkai nyamuk *Ae. albopictus* yang terinfeksi *B. bassiana* setelah 12 hari terlihat pada Gambar 1 (tengah).

Hasil uji kualitatif enzim kitinase memperlihatkan terbentuknya zona bening pada media agar yang mengandung koloid kitin 0,3% (Gambar 1 - bawah).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengenai kematian nyamuk yang kenyang darah dan dipuaskan menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara nyamuk kenyang darah dan dipuaskan (Tabel 1), artinya kondisi nyamuk baik itu kenyang darah maupun dipuaskan tidak memberikan pengaruh apapun terhadap jumlah nyamuk betina yang mati akibat infeksi *B. bassiana*. Diduga bahwa pemberian pakan darah tidak memberikan pengaruh yang berarti pada daya tahan tubuh serangga, sehingga baik nyamuk yang dipuaskan maupun yang kenyang darah memiliki kerentanan yang sama terhadap infeksi *B. bassiana*. Darah digunakan oleh nyamuk betina dalam proses pematangan telur sedangkan untuk cadangan energi dan daya tahan tubuh, nyamuk betina menggunakan glukogen dan trigliseride yang berasal dari pemecahan sukrosa. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun nyamuk betina tidak diberikan pakan darah tetapi tetap diberikan sukrosa, tidak ada pengaruh yang berarti pada ketahanan tubuh nyamuk. Penyebab lainnya diduga adalah konidia kurang dapat menempel pada kutikula nyamuk sehingga jumlah nyamuk yang terinfeksi sedikit.

Hasil berbeda dilaporkan oleh Adriano *et al.*¹² yang menyatakan bahwa kondisi nyamuk betina akan mempengaruhi kerentanan nyamuk terhadap infeksi *M. anisopliae* dimana nyamuk yang kenyang darah lebih tahan dari infeksi dibandingkan nyamuk yang dipuaskan. Nyamuk yang kenyang darah memiliki imunitas lebih baik dibandingkan nyamuk yang dipuaskan, karena darah merupakan sumber protein bagi nyamuk. Protein berperan dalam sistem imun tubuh seperti disebutkan dalam hasil penelitian yang dilakukan oleh Philani¹³ konsumsi energi dan protein yang rendah secara bermakna akan mengganggu sistem imun tubuh sehingga dapat meningkatkan resiko terkena infeksi.

Pemanfaatan *B. bassiana* sebagai biokontrol nyamuk *A. albopictus* masih bisa dikembangkan dengan peningkatan konsentrasi konidia yang diberikan. Penelitian kali ini menunjukkan efek pemberian konidia *B. bassiana* masih belum

efektif (jumlah kematian kurang dari 50%). Selain faktor intrinsik nyamuk (usia nyamuk, daya tahan tubuh nyamuk, dsb), diduga faktor lain yang menyebabkan rendahnya kematian adalah metode aplikasi konidia yang kurang tepat sehingga konidium tidak melekat sempurna pada nyamuk. Formulasi konidium dalam 1% *tween* 80 bukan merupakan formulasi terbaik untuk digunakan. *Tween* 80 merupakan ester asam lemak *polioksietilen sorbitol*, tidak larut dalam minyak tetapi mudah larut dalam air. *Tween* banyak digunakan sebagai emulgator dan peningkat kelarutan. *Tween* juga berfungsi sebagai peningkat penetrasi. *Tween* akan menyebabkan larutan lebih encer, sehingga daya sebarannya cukup baik tetapi daya lekatnya kurang. Formulasi konidia dalam *tween* 80 akan memberikan efek penyebaran cukup tinggi pada kandang, tetapi konidia kurang dapat melekat pada kutikula nyamuk sehingga hanya sedikit nyamuk yang positif terinfeksi.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prasad *et al.*² menyatakan bahwa mortalitas yang ditimbulkan pada larva *Anopheles stephensi* yang dipaparkan konidia *B. bassiana* dengan konsentrasi 10¹¹ adalah sebesar 23-61%. Penelitian mengenai formulasi konidium yang dilakukan oleh Tullubukhari¹⁴ menemukan bahwa formulasi yang paling efektif adalah formulasi konidium dalam minyak sintetik (*Shell sol-T*).

Kondisi tubuh bangkai nyamuk yang berwarna putih dan mengeras sesuai dengan gambaran umum serangga yang terinfeksi *B. bassiana* seperti pada nimfa kepik hijau (*Nezara virindula*) yang diinfeksi *B. bassiana* dalam penelitian yang dilakukan oleh Prayogo⁴ yang menyatakan bahwa nimfa kepik hijau (*N. Virindula*) yang mati terinfeksi *B. bassiana* setelah tujuh hari tampak terjadi kolonisasi miselium cendawan yang berwarna putih menyelubungi seluruh tubuh, sehingga kelihatan seperti mumi.

Apabila dilihat dari kondisi dan kebiasaan nyamuk, biasanya nyamuk betina akan menghisap darah ketika membutuhkan protein untuk proses pematangan telur sehingga betina yang kenyang darah adalah betina yang sudah melakukan perkawinan. Perkawinan biasanya terjadi segera setelah nyamuk menjadi dewasa, dan setelah dibuahi, nyamuk betina akan mulai mencari pakan darah yang merupakan tahapan penting selanjutnya dalam siklus reproduksi nyamuk betina. Pada saat kopulasi, kelenjar aksesoris nyamuk jantan akan mengeluarkan sekret yang dikenal sebagai *matronae*. Sekret ini akan menyebabkan nyamuk betina tidak akan bisa lagi melakukan perkawinan selama sisa hidupnya, akan tetapi masih bisa bertelur. Nyamuk betina memiliki kemampuan untuk menyimpan sperma di dalam *spermateca* untuk kemudian digunakan

pada proses pembuahan telurnya⁶. Dari pernyataan tersebut maka dapat dinyatakan bahwa khusus nyamuk betina yang kenyang darah penularan terjadi hanya karena terjadi kontak fisik saja bukan karena perkawinan.

Penularan ditunjukkan dengan ditemukannya miselium *B. bassiana* pada tubuh nyamuk betina yang mati (Gambar 2). Tubuh nyamuk diselubungi miselium dari *B. bassiana* berwarna putih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hunt *et al.*¹⁵ yang menyatakan bahwa infeksi jamur *B. bassiana* dikenal dengan penyakit *white muscardine* karena miselium dan konidia (spora) yang dihasilkan berwarna putih, berbentuk oval dan tumbuh secara zig-zag pada konidiophornya.

Nilai indeks kitinolitik menunjukkan adanya enzim kitinase yang dihasilkan isolat *B. bassiana*. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya sekresi enzim kitinase ekstraseluler oleh fungi yang akan menyebabkan terjadinya degradasi polimer kitin yang terdapat pada media. Polimer kitin pada media akan terdegradasi menjadi unit monomer GlcNAc (*N-Acetil glukosamin*) sehingga warna media akan menjadi bening¹⁶.

Secara kualitatif, hal ini menunjukkan bahwa isolat *B. bassiana* yang ditanam mendifusikan kitinase ekstraseluler ke dalam media yang akan mengakibatkan terjadinya degradasi substrat kitin menjadi bentuk monomer sederhana yaitu *N-Acetil Glukosamin* (GlcNAc) seperti pernyataan Suryadi *et al.*¹⁶ Substrat kitin yaitu koloidal kitin yang ditambahkan pada media akan terhidrolisis oleh kitinase yang akan mengakibatkan terbentuknya zona bening disekeliling koloni isolat (Gambar 3). Nilai indeks kitinolitik dari isolat *B. bassiana* yang diujikan adalah sebesar 1,67. Hasil penelitian ini relatif sedikit lebih besar dari hasil penelitian yang dilakukan Suryadi *et al.*¹⁶ yang menguji aktivitas enzim kitinase dari *B. bassiana* isolat BB200109 yaitu sebesar 1,035.

Uji aktivitas enzim kitinase dilakukan dengan menggunakan metode Bradford (1978). Hasil pengukuran menunjukkan absorbansi sampel berkisar antara 0,143 sampai 0,180. Hasil perhitungan aktivitas enzim spesifik adalah sebesar 1,0557 unit/mg yang artinya dibutuhkan 1,0557 unit enzim kitinase untuk menghasilkan 1 μ mol gula pereduksi *N-asetilglukosamin* selama 1 menit pada suhu 37°C. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Suryadi *et al.*¹⁶ yang menyebutkan bahwa aktivitas kitinase dari *B. bassiana* isolat BB20019 berkisar antara 0,0981-0,1916 unit/mg.

Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan strain *B. bassiana* yang diuji dimana pada penelitian sebelumnya menggunakan isolat BB-200109 dan pada penelitian kali ini digunakan *B. bassiana* strain Balitro. Perbedaan dapat disebabkan juga oleh perbedaan waktu inkubasi. Peneli-

tion dilakukan dengan waktu inkubasi 6 hari dan penelitian sebelumnya menggunakan waktu inkubasi 2x6 hari sehingga diduga fase pertumbuhan fungi sudah berbeda dan jumlah enzim yang diproduksi pun berbeda.

Suhu tinggi akan mengakibatkan enzim terdenaturasi dan menurun aktivitasnya, sehingga kinerjanya akan menurun. Waktu inkubasi juga akan mempengaruhi jumlah enzim yang diperoleh, sebagaimana dijelaskan pada bagian sebelumnya bahwa fase yang tepat untuk memanen enzim adalah pada fase eksponensial dimana sel-sel jamur sedang aktif membelah, sehingga aktivitas sel sangat meningkat dan banyak dihasilkan enzim-enzim metabolik termasuk salah satunya adalah enzim kitinase. Aktivitas enzim akan meningkat sebanding dengan kemurnian sampel enzim dan optimasi enzim. Spindler (1997) dalam Suryadi *et al.*¹⁸ menyebutkan ada beberapa faktor ikut mempengaruhi aktivitas enzim termasuk kitinase yaitu: derajat keasaman, suhu, waktu inkubasi dan aktivator berupa ion logam maupun ion non logam.

Enzim kitinase yang dihasilkan *B. bassiana* digunakan dalam proses degradasi kitin pada kutikula nyamuk sehingga miselium dapat menembus kutikula. Enzim kitinase memiliki peran penting dalam proses penetrasi dan infeksi *B. bassiana* pada nyamuk, semakin besar indeks kitinolitik enzim, maka semakin cepat kitin terdegradasi.¹⁶

KESIMPULAN

Konsentrasi konidia *B. bassiana* berpengaruh pada kematian *Ae. albopictus*, semakin tinggi konsentrasi akan menyebabkan kematian yang semakin besar pada nyamuk. Infeksi disebabkan karena terjadinya transfer horizontal dari nyamuk *Ae. albopictus* jantan yang terinfeksi pada nyamuk betina sehat.

Beauveria bassiana menghasilkan enzim kitinase yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada medium koloidal kitin dan laju aktivitas enzim yaitu sebesar 1,0557. Enzim kitinase yang dihasilkan berperan dalam penetrasi fungi pada awal proses infeksi.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Pesticides and Their Application: For the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance. WHO /CDS/ NTD/ WHOPES /GCDPP /2006 /1. Diakses 20 juni 2013.
2. Prasad A, Veerwal B. 2010. Biototoxicity of entomopathogenic fungus *Beauveria*

- bassiana* (Balsamo) Vuillemin, against early larval instars of Anopheline mosquitoes. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* (4) :181-188.
3. Kryukov VY, Yaroslavtseva ON, et al. 2011. Change in the temperature preferences of *Beauveria bassiana* sensu lato isolates in the latitude gradient of Siberia and Kazakhstan. *Journal of Microbiology*, (81): 453-459.
4. Prayogo Y. Efikasi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* Bals. Vuill Terhadap Kepik Hijau Nezara viridula (L). *Suara Perlindungan Tanaman*, 2012; 2(1).
5. Barbarin, A.M., N.E. Jenkins, Rajotte E.G. dan Thomas M.B. A preliminary evaluation of the potential of *B. bassiana* for bed bug control. *Journal Invertebrata Pathologi*, 2012, (111):82-85.
6. Borrer DJ, Triplehorn, Johnson. Pengenalan Pelajaran Serangga, Edisi VI. Gadjah Mada University Press; 1996.
7. Wahyudi P. Produksi mikoinsektisida dari propagul kapang *Beauveria bassiana*. *Jurnal Matematika, Sains & Teknologi*, 2008; (9):68-79.
8. Toharisman A. Peluang pemanfaatan enzim kitinase di industri gula. *Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia*; 2008.
9. Donald GM Jr. Fungus fatal to mosquito may aid global war on malaria. *The new york times*, 10 June 2005. Diakses 20 juni 2013.
10. Groden E. Using *Beauveria bassiana* for insect management. *Proceeding. New England Vegetable and Berry Growers conference and trade show*, 1999; 313-315. <http://www.Hort.uconn.edu>. Diakses 20 juni 2013.
11. Luz, C.,L. Silva, B. P. Mugalhaes., C. M.T. Condeiro & M. S. Tinago. Control of *Triatoma infestans* (Klug) (Reduviidae: Triatominae) with *B. bassiana* (Balls) Vuill Preliminans assays on formulation and application in the field. *Annual Social Entomology*, 1999; 28(1).
12. Adriano RP, Caroline AT, Silva CP, Samuels RI. Susceptibility of adult female *Aedes aegypti* to the entomopathogenic fungi *Metharizhium anisopliae* in modified following blood feeding. *Parasites and Vectors*, 2011; (4):87-91.
13. Philani D. Hubungan Tingkat Konsumsi Energi Dan Protein Dengan Kadar Immunoglobulin M (IgM) anti Phenolic Glycolipid-1 (PGL-1) Narakontak Serumah Penderita Kusta di Kota Semarang. Skripsi. Unpublished; 2005.
14. Tullubukhari, W. Takken and C. J.M. Koendraat. Development of *Metharizhium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formu-

- lation for control of malaria mosquito larvae. *Parasites and Vectors*, 2011; 4(23).
15. Hunt DWA, Borden JH, Rahe JE, Whitney HS. Nutrient-mediated germination of *Beauveria bassiana* conidia on the integument of the Bark Beetle *Dendroctonus pordenosae*. *Journal Invertebrate Pathology*. 1984; 44:304-314.
 16. Suryadi, Y, Priyanto TP, Samudera IM, Susilowati DN, Lawati N, Kustaman E. Pemurnian parsial dan karakterisasi kitinase asal jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* Isolat BB200109. *Jurnal AgroBiogen*. 2013; Vol 9(2):77-84.

