

268
EKO

LAPORAN PENELITIAN
CENDAWAN PATOGEN PADA BERBAGAI
INSTAR LARVA ANOPHELES ACONITUS
SERTA PENGGUNAANNYA UNTUK
PENGENDALI HAYATI

OLEH

AMRUL MUNIF, MARJAN SUKIRNO DAN SUPRAPTINI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

PUSAT PENELITIAN EKOLOGI KESEHATAN

J A K A R T A

LAPORAN PENELITIAN
CENDAWAN PATOGEN PADA BERBAGAI
INSTAR LARVA ANOPHELES ACONITUS
SERTA PENGGUNAANNYA UNTUK
PENGENDALI HAYATI

OLEH

AMRUL MUNIF, MARJAN SUKIRNO DAN SUPRAPTINI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

PUSAT PENELITIAN EKOLOGI KESEHATAN

J A K A R T A

LAPORAN PENELITIAN

CENDAWAN PATOGEN PADA BERBAGAI INSTAR LARVA ANOPHELES ACONITUS

SERTA PENGGUNAANNYA UNTUK PENGENDALI HAYATI

O L E H

AMRUL MUNIF, MARJAN SUKIRNO DAN SUPRAPTINI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

PUSAT PENELITIAN EKOLOGI KESEHATAN

J A K A R T A

HADIAH

Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
PERPUSTAKAAN

Tanggal : 09 OCT 1993
Buku : 268 / 93
No. class : _____

DATA PROYEK PENELITIAN

Ketua pelaksana : Drs. Amrul Munif, MS

Angota Tim Pelaksana : Drs. Marjan Sukirno

Supraptini, SKM

Chaider S.E.

Sukijo

Bambang Aryono

Tenaga daerah : Supriyadi

Soemarno

Eko Widodo

Amin

Alim

Fadol

Budi Wiyono

Sumber Dana Rutin Penelitian dan Pengembangan Kesehatan

Tahun 1992/1993 No. 02.5.246/SK/05/92

Tanggal 18 Mei 1992

Waktu penelitian : Juni 1992 - Februari 1993

Penulisan laporan : 1993

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya laporan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof.Dr. Soemarmo Poerwo Soedarmo, Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Ir. Ny. H. Sri Soewasti Soesanto, MPH, Kepala Puslit Ekologi Kesehatan yang telah menyetujui serta membiayai pelaksanaan penelitian ini.

Penghargaan dan terimakasih kepada Ditjen Sospol Jawa Tengah, Pemerintah Daerah, serta seluruh jajarannya sampai dengan kepala desa di daerah penelitian Dati II Banjarnegara. Sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Terima kasih yang setinggi-tingginya kami ucapkan kepada Kepala Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Tengah, Kepala Dinas Kesehatan Dati II Banjarnegara serta Kepala Puskesmas Madukara dan Banjarmangu, yang atas bantuan sarana pengangkutan dan tenaga pelaksana peneliti.

Akhirnya kami ucapkan terima kasih kepada staf laboratorium Puslit Penyakit Menular dan semua pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini.

Jakarta, 12 April 1993

Ketua pelaksana

(Drs. Amrul Munif,MS)

DAFTAR ISI

	Halaman
Data Proyek Penelitian	i
Ucapan Terima Kasih	ii
Daftar Isi	iii
Ringkasan Eksekutif	iv
Abstrak	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. METODOLOGI	4
BAB III. HASIL	10
BAB IV. PEMBAHASAN	17
BAB V. KESIMPULAN dan SARAN	23
BAB IV. DAFTAR KEPUSTAKAAN	25
DAFTAR LAMPIRAN	
- TABEL	
- GRAFIK	
- GAMBAR	
- CONTOH PERHITUNGAN	

RINGKASAN EKSEKUTIF

Penyakit malaria masih merupakan masalah Kesehatan di Indonesia, terutama di daerah Banjarnegara, pada daerah yang irigasinya belum teratur dengan sawah berteras-teras. Tempat ini merupakan habitat yang baik bagi perkembangbiakan larva nyamuk Anopheles aconitus yang merupakan vektor utama malaria di Banjarnegara¹. Nyamuk ini aktif menggigit dan menghisap darah pada malam hari serta beristirahat di dalam rumah pada siang hari, selain itu juga ditemukan di sekitar kandang yang berdinding. Bahkan lebih dari separuh (60%) nyamuk An.aconitus istirahat di luar rumah sehingga tergolong exophilic. Di luar rumah An.aconitus istirahat pada tempat alami ditemukan pada ranting, daun tanaman, tebing sungai, tebing parit juga pada lubang dalam tanah yang secara tidak sengaja di buat manusia serta substrat yang berwarna gelap. Tempat perindukan utama larva nyamuk An.aconitus di persawahan dan saluran irigasi. Di tepi sungai yang airnya mengalir perlahan serta kolam air tawar yang airnya agak alkalis, larva nyamuk ini juga dapat ditemukan¹. Densitas An.aconitus di sawah mulai meninggi setelah padi berumur lima atau enam minggu terutama di daerah dengan pola bercocok-tanam tidak teratur, densitas akan tinggi sepanjang tahun.

Sampai saat ini penanggulangan vektor di daerah yang malarious telah digunakan berbagai macam cara, mulai dari penggunaan pestisida, sampai ke cara yang sulit dilaksanakan.

Penggunaan pestisida DDT dan Dieldrin telah menyebabkan resistensi nyamuk meningkat di daerah pertanian Jawa Tengah, disamping penggunaan pestisida di persawahan. Kejadian ini telah dilaporkan pertama pada tahun 1970, dinyatakan bahwa An.aconitus telah resisten terhadap DDT di Jawa Tengah^{2,3}. Dengan timbulnya permasalahan baru yang disebabkan penggunaan pestisida maka dipandang perlu melakukan penanggulangan dengan tidak menggunakan pestisida melainkan secara fisik maupun biotik.

Salah satu cara penanggulangan biotik adalah penggunaan cendawan yang tersebar luas di beberapa negara terutama di daerah tropis dan subtropis. Sebelum melakukan penggunaan cendawan patogen terhadap larva An.aconitus terlebih dahulu perlu ditelaah infestasi cendawan pada berbagai larva dan pupa An.aconitus yang tersebar dipersawahan. Selain itu dilakukan pula uji patogenitas cendawan yang terpilih, dibiakkan dan kemudian diaplikasikan pada habitat larva An.aconitus.

Larva dan pupa yang diperiksa diambil dari habitat An.aconitus yang terletak di persawahan desa Rejasari kecamatan Banjarmangu dan desa Kaliurip kecamatan Madukara. Isolat cendawan diambil dari sebanyak 3.197 larva dan 372 pupa An.aconitus selama penelitian. Larva-larva ini dipilah-pilah menurut instar, kemudian untuk digerus dan dipupuk dalam media agar dektrosa sabouraud.

Dari sampel larva dan pupa ini telah berhasil dibiakkan sebanyak 113 isolat cendawan. Isolat ini terdiri dari 28 genus

yang tersebar pada larva dengan frekuensi yang berbeda. Cendawan yang sering muncul pada semua instar dengan frekuensi diantara 2 sampai 2,17 adalah dari genus Rhizopus, Metarhizium, Aspergillus dan Penicillium. Genus cendawan dengan angka frekuensi diantara 0,5 sampai 1,9 yaitu dari genus Monilia, Spirochaeta, Blastomyces, Entomophthora, Geotrichum, Lasellina, Cladosporium dan Trycophyton, sedangkan genus lainnya mempunyai angka frekuensi yang paling rendah.

Prevalensi cendawan tersebar pada larva An.aconitus paling tinggi dari genus Rhizopus (63,3%), Penicilium (66,96%), Aspergillus (51,6%), Metarhizium (47,29%) dan Spirochaeta (45,33%), kemudian genus lainnya mempunyai prevalensi rendah.

Prevalensi jumlah cendawan yang menginfestasi berbagai larva An.aconitus ini menunjukkan perbedaan yang nyata sekali ($\alpha = 0,01$). Prevalensi cendawan pada larva instar II dengan instar III berbeda nyata sekali sedangkan stadium pupa dengan instar II berbeda nyata. Selanjutnya larva instar III lebih banyak terinfestasi dibandingkan instar I dan IV. Pada kenyataannya sebaran cendawan pada berbagai larva An.aconitus ini tidak homogen.

Hasil pembiakan cendawan dari isolasi sebelum diaplikasikan ke sawah terlebih dahulu diuji cobakan di laboratorium, agen yang digunakan dari cendawan Metarhizium dikontakkan dengan larva An.aconitus selama 48 jam. Separuh populasi larva uji (LD50) mengalami kematian pada dosis 0,71 mg konidiospora/cm².

Selanjutnya untuk mematikan 95 % populasi larva uji (LD95) diperlukan dosis sebanyak 3,085 mg konidiospora/cm².

Hasil aplikasi cendawan Metarhizium di persawahan ternyata mampu menurunkan populasi larva An.aconitus selama penelitian. Dalam aplikasi ini telah diberikan 300 mg konidiospora/m² dengan jumlah 1 ml air mengandung 10⁴ konidiospora. Penurunan populasi ini ditunjukkan dari hasil pengumpulan larva sebelum dan sesudah pemberian cendawan di daerah uji coba dan daerah kontrol. Selain itu dilakukan pengukuran kepadatan nyamuk An.aconitus yang menggigit manusia maupun di kandang hewan.

ABSTRAK

Dari bulan Juni 1992 sampai dengan Februari 1993 telah dilakukan pengamatan cendawan patogen pada berbagai instar larva Anopheles aconitus serta penggunaannya untuk pengendali hayati di daerah Banjarnegara dan Madukara Kabupaten Banjarnegara. Tujuan penelitian adalah untuk mencari alternatif penanggulangan penyakit malaria melalui vektor malaria yang telah resisten terhadap insektisida di daerah endemis malaria, menentukan tingkat infeksi sporangia pada larva An.aconitus. Selain itu juga menguji keefektifan cendawan tertentu yang diperoleh dari biakan cendawan yang disolasi di daerah sekitarnya.

Pengamatan dilakukan dengan cara mengumpulkan larva An.aconitus yang diambil dari sawah dengan cara dipping. Setiap instar larva digerus kemudian ditanam dalam cawan petri yang berisi 30 ml agar dektrosa Sabouraud. Untuk cendawan yang mempunyai prevalensi dan frekwensi tinggi ditetapkan sebagai agen pengendali di persawahan. Keefektifan cendawan sebagai agen pengendali ditetapkan dari penurunan kerapatan populasi larva An.aconitus di persawahan yang telah di tebar cendawan serta penurunan kerapatan populasi dewasa yang tertangkap.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai prevalensi cendawan paling tinggi dari genus Rhizopus (63,3%), Metarhizium (47,3%), Aspergillus (51,6%), dan Penicilium (66,9%) dan Spiera (45,3%). Selanjtnya frekwensi kemunculan cendawan asal gerusan larva diperoleh paling banyak dari genus Rhizopus (2,75), Metarhizium (2,00), Aspergillus (2,1), Spiera (1,9), Penicilium (2,1) dan Monilia (1,17). Genus cendawan lainnya ditemukan dengan nilai frekwensi rendah dibawah 0,9. Dilihat dari prevalensi cendawan pada setiap instar menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($= 0,01$). Prevalensi tertinggi ditemukan pada larva instar III (24,8%) dan instar IV (20,4%) jika dibandingkan instar II (19,5%), I (20,3%) dan pupa (15,04%).

Pengamatan uji larva An.aconitus terhadap Metarhizium anisopliae, untuk mematikan separuh dari populasi diperlukan dosis $0,71 \text{ mg/cm}^2$ dan untuk mematikan 95% dari populasi diperlukan dosis $3,08 \text{ mg/cm}^2$ di labotratorium. Hasil uji di lapangan ternyata dengan dosis 10^4 konidiospora/ml, kerapatan populasi larva An.aconitus dan dewasa menurun jumlahnya selama pengamatan berjalan.

I. PENDAHULUAN

Penyakit Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia, terutama di Banjarnegara, Jawa Tengah yang dari tahun ke tahun selalu ditemukan penderita malaria dengan High Case Incidence (HCI) berpindah-pindah dari kecamatan yang satu ke lainnya. Kejadian ini pada umumnya ditemukan pada daerah yang mempunyai persawahan dengan perairan nonteknis.

Pengendalian vektor dengan menggunakan pestisida baik untuk menanggulangi hama tanaman padi maupun penyakit malaria telah banyak menimbulkan masalah diantaranya peningkatan resistensi nyamuk, pencemaran lingkungan, keracunan, kematian makhluk bukan sasaran dan residu. Sehingga penggunaan pestisida dapat menghambat usaha-usaha penanggulangan penyakit terutama malaria. Kejadian ini terbukti sejak tahun 1973 telah diketahui terjadinya kenaikan resistensi pada Anopheles aconitus terhadap DDT, hampir di seluruh wilayah Jawa Tengah dan Jawa Timur bagian barat³. Dengan timbulnya kesulitan ini perlu dicari cara penanggulangan alternatif, dengan penanggulangan secara biotik (hayati). Penanggulangan secara biotik selain menggunakan organisme predator dapat juga menggunakan parasit diantaranya cendawan yang bersifat patogen yang tersebar di perairan sebagai tempat perkembangbiakan larva nyamuk. Cendawan yang bersifat patogen ini tersebar secara luas dan telah diketahui sebanyak 100 genus dengan beberapa ratus species⁴. Namun dari sejumlah ini hanya 20 species yang selama ini digunakan untuk penanggulangan secara biotik. Berbagai variasi galur diantara isolat-isolat serta perbedaan spesifikan telah diketahui adanya. Untuk suatu

tempat habitat tertentu seyogyanya digunakan galur dari tempat tersebut. Cendawan yang berpotensi diperoleh dari hasil seleksi daya racun, keaktifan menginfeksi inang dan kespesifikannya⁵.

Di lingkungan air tawar dan payau telah dapat diisolasi cendawan dari larva nyamuk antara lain Saprolegnales, Metarhizium, Entomophthora, Culicinomyces, Lagenidium dan Coelomomyces, yang masing-masing mempunyai daya toksik yang berbeda tergantung dari asal galurnya⁶.

Cendawan yang hidup di air payau maupun air tawar telah mampu membunuh larva nyamuk sebesar 90 % dari populasi larva yang ada, dengan ditandai 1/3 dari panjang siphon berwarna hitam. Kejadian ini disebabkan karena serangan hifa yang menjalar dan menembus organ ke seluruh tubuh larva.

Hasil uji tanding dari 9 genus cendawan dari biakan larva terhadap larva An.aconitus ternyata sangat sensitif bila dibandingkan dengan larva Aedes aegypti di laboratorium⁷. Meskipun demikian perlu dicari secara rinci cendawan yang berpotensi sebagai agen pengendali terutama yang terdapat pada larva An.aconitus.

Sebagai tindak lanjut, perlu dilakukan penelitian yang bertujuan

:

- Mencari alternatif penanggulangan penyakit malaria melalui vektor yang telah resisten terhadap insektisida.
- Mengembangkan cara penanggulangan biotik dengan menggunakan musuh alam, cendawan yang patogen.
- Menentukan tingkat infeksi sporangia di persawahan dari hasil pemeriksaan larva An.aconitus.

- Menentukan tingkat kepekaan patogen pada berbagai instar larva.
- Mengaplikasikan cendawan tertentu di areal persawahan yang merupakan tempat perkembangbiakan nyamuk An.aconitus.

Dengan mengetahui hal-hal tersebut diatas maka penelitian diharapkan dapat memberi informasi tentang kepastian galur cendawan yang patogen terhadap larva An.aconitus. Selain itu juga mengetahui tingkat serangan, frekwensi ditemukannya cendawan pada instar-instar tertentu. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai dasar penanggulangan biotik untuk program pemberantasan penyakit malaria.

II. METODOLOGI

A. Daerah penelitian

Penelitian ini dilakukan di Daerah Tingkat II Banjarnegara dengan mengambil dua daerah endemis malaria dan peran vektor nyamuk Anopheles aconitus yang telah resisten insektisida. Daerah yang terkena sampel adalah kelurahan Rejasari Kecamatan Banjarmangu dan kelurahan Kaliurip Kecamatan Madukara. Setiap daerah penelitian umumnya mempunyai areal persawahan yang berteras yang merupakan tempat perkembangbiakan nyamuk An.aconitus. Kedua daerah tersebut masing-masing pada ketinggian 610 m dan 540 m dari atas permukaan laut (gambar 3).

B. Pengambilan sampel larva

Larva yang hidup dipersawahan diambil dengan alat ciduk kemudian dihitung jumlahnya untuk setiap instar. Pengambilan larva dilakukan pada kedua lokasi persawahan. Persawahan yang ditemukan pada kedua lokasi ini, umumnya tidak jauh dari tempat pemukiman penduduk. Pada setiap sawah ditentukan 10 stasiun sebagai tempat pengambilan larva, luas masing-masing stasiun 1 m² dengan jumlah cidukan 10 kali. Larva yang terkumpul disaring dengan net plankton, agar larva instar I tidak lolos. Hanya larva dari species An.aconitus yang dihitung kemudian dipisahkan menurut instarnya dan dimasukkan ke dalam botol sampel. Botol sampel yang berisi larva dimasukkan ke dalam termos untuk diproses di laboratorium. Pengambilan sampel larva dilakukan 6 kali (gambar 1 dan 2).

C. Pembiakan cendawan dan identifikasi

1. Pembuatan media

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar Sabouraud dektrosa dari Difco Laboratories Detroit Michigan U.S.A. Sebanyak 65 gram agar dilarutkan ke dalam 1 liter air suling, kemudian campuran tersebut diaduk dalam botol erlenmeyer dan dipanaskan diatas kompor. Setelah media mendidih dimasukan kloramphenicol sebanyak 500 mg untuk 1 liter, selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 30 ml untuk setiap cawan petri. Cawan petri yang berisi agar disterilkan dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C. Agar yang telah disterilisasi ini digunakan untuk menanam cendawan yang berasal dari gerusan larva.

2. Pembiakan cendawan

Larva An.aconitus yang telah dipisahkan menurut tingkat perkembangbiakannya dipisahkan dari air. Kemudian dengan mempergunakan alat tumbuk batang kaca steril, larva digerus hingga halus. Masing-masing gerusan instar larva dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi agar. Pemin-dahan ini dilakukan dengan menggunakan ose yang telah steril. Setiap gerusan instar ditanam dalam satu cawan petri kemudian dieramkan dalam toples plastik selama 2 sampai 3 hari. Cendawan yang tumbuh diamati dan dihitung jumlah koloninya untuk mendapatkan nilai frekwensi. Nilai frekwensi ini diperoleh dari perbandingan antara banyaknya suatu genus cendawan yang muncul dalam penanaman

dengan banyaknya pengambilan sampel.

Kemudian dari setiap koloni cendawan yang tumbuh diisolasi kembali ke dalam cawan petri yang lain. Dalam satu cawan petri dibiakkan dua genus cendawan yang berbeda. Biakan isolat tersebut diperam kembali pada suhu kamar selama satu minggu hingga dua minggu. Setelah isolat tumbuh, cendawan diidentifikasi sampai genus berdasarkan sifat dan bentuk koloni. Penentuan genus cendawan dikerjakan menurut petunjuk Hazan dan Reed (1980) ; Weisler (1982) dan Oldfield dan Bridger (1979).

3. Pembiakan kultur isolat

Pembuatan kultur isolat cendawan pada kaca benda dimaksudkan untuk pemeriksaan secara mikroskopis melalui bentuk spora, hifa dan miselium yang berasal dari pembenihan isolat. Dengan menggunakan jarum yang telah disteril, koloni asal cawan dipindahkan pada potongan agar beku berukuran 1 cm X 1 cm yang diletakan diatas kaca benda. Kaca benda ini ditutup dengan kaca penutup. Jarum yang mengandung cendawan ditusukan pada ke empat sisi agar. Kaca benda yang telah diberi cendawan diletakan dalam cawan petri yang berisi kertas saring yang telah dibasahi dengan air suling agar kelembaban terjaga. Penanaman ini dilakukan untuk semua cendawan yang tumbuh dari berbagai instar larva sehingga diperoleh nilai prevalensinya. Nilai prevalensi ini diperoleh dari hasil perbandingan cendawan yang muncul dengan jumlah cendawan yang ditemukan pada setiap instar dikalikan 100%.

Pengamatan terhadap bentuk spora, hifa dan miselium dilakukan di bawah mikroskop yang dicocokkan dengan petunjuk Barnett (1960).

4. Pengujian di laboratorium dan aplikasi di persawahan

Cendawan yang telah diperbanyak diujicobakan pada larva An.aconitus instar III dan IV di laboratorium sebelum diaplikasikan di sawah. Percobaan pengujian dilakukan menurut metode Innis dan Zattau (1980) dengan 4 kali ulangan untuk setiap dosis. Dosis yang digunakan dalam perlakuan adalah 0,25 mg; 5 mg; 1mg; 2mg dan 4mg/16cm². Wadah yang digunakan dalam percobaan ini terbuat dari kaca berbentuk silinder dengan diameter 8,5 cm dan 9 cm ketinggiannya. Wadah diisi air suling sebanyak 250 cc untuk semua tempat perlakuan dan kontrol. Jumlah larva untuk setiap perlakuan dosis dan kontrol sebanyak 25 ekor larva, sehingga per dosis diperlukan 100 ekor. Untuk memperoleh dosis yang diperlukan mematikan separuh populasi larva (LD50) dan 95 % populasi larva maka data di analisis secara regresi.

Aplikasi di persawahan

Untuk aplikasi cendawan patogen yang telah ditetapkan sebagai agen pengendali maupun besarnya dosis maka diperlukan dua areal persawahan. Lokasi Rejasari kecamatan Banjarmangu dipakai sebagai daerah uji coba, dengan jumlah penduduk 1674 jiwa terdiri dari 338 kepala keluarga. Kondisi sawah berteras-teras dengan air kebanyakan dari mata air yang mengalir sepanjang tahun. Musim tanam padi

tidak berlangsung dalam waktu yang bersamaan sehingga daerah yang mempunyai sistem irigasi nonteknis yang dapat mengairi sawah sepanjang tahun banyak terlihat tanaman padi dalam berbagai umur (gambar 2). Lokasi lainnya sebagai daerah kontrol yaitu desa Kaliurip kecamatan Madukara yang terletak berjarak kurang lebih 19 km dari daerah perlakuan. Desa ini berpenduduk 2658 orang terdiri dari 514 kepala keluarga. Kondisi sawah berteras-teras dengan air kebanyakan dari mata air yang mengalir sepanjang tahun. Sawah terletak dijalur aliran air sehingga sulit dikeringkan. Musim tanam padi tidak berlangsung dalam waktu bersamaan dan termasuk sistem irigasi nonteknis sama halnya dengan desa Rejasari. Penduduk di dua daerah ini umumnya mempunyai ternak kerbau dan sapi sebagai sumber makanan nyamuk An.aconitus.

Spora cendawan dari hasil perbanyakan dicampur dengan media tepung jagung dengan perbandingan 1 gr spora dan 10 gr tepung jagung, sebagai bahan yang digunakan dalam aplikasi. Luas sawah sebagai perlakuan 900 m² yang terletak tidak jauh dari pemukiman penduduk. Sebelum aplikasi terlebih dahulu dilakukan perhitungan kepadatan populasi larva dan dewasa yang tertangkap pada kedua lokasi pengamatan. Perhitungan populasi larva yang diperoleh dari hasil rata-rata per ciduk, sedangkan parameter pengukur kepadatan populasi dewasa dihitung dari rata-rata nyamuk yang menggigit umpan orang di dalam dan di luar rumah dengan masing-masing penangkap 3 orang.

Selain penangkapan dengan umpan orang juga dilakukan penangkapan yang menggigit ternak dan yang istirahat di sekitar kandang juga masing-masing 3 orang penangkap. Penangkapan dewasa dilakukan dari pukul 18⁰⁰ sampai 22⁰⁰ untuk memperoleh diperoleh kerapatan populasi per jam per orang.

Selain penangkapan dengan umpan orang juga dilakukan penangkapan yang menggigit ternak dan yang istirahat di sekitar kandang juga masing-masing 3 orang penangkap. Penangkapan dewasa dilakukan dari pukul 18⁰⁰ sampai 22⁰⁰ untuk memperoleh diperoleh kerapatan populasi per jam per orang.

III. HASIL

DISTRIBUSI CENDAWAN PADA LARVA DAN PUPA NYAMUK ANOPHELES ACONITUS

Hasil isolasi cendawan yang berasal dari larva dan pupa nyamuk An.aconitus dari bulan Juni sampai November 1992 di kedua lokasi penelitian yaitu Rejasari dan Kaliurip disajikan pada tabel 1 dan 2. Dari hasil pencidukan larva dan pupa An.aconitus telah diperoleh 3569 individu yang terdiri dari 3197 larva dan 372 pupa. Dengan masing-masing kerapatan 17,76 larva per dip per orang dan 2,067 pupa per dip per orang. Dari penanaman sampel larva ini telah diisolasi sebanyak 113 isolat yang terdiri dari 28 genus yang berbeda frekwensi dan prevalensinya. Pada tabel 1 dapat terlihat sebaran frekwensi cendawan berbagai instar larva An.aconitus dimana cendawan yang sering muncul umumnya selalu ditemukan pada seluruh instar. Nilai frekwensi tertinggi ditemukan pada Rhizopus dengan angka frekwensi 2,75 dan paling banyak pada instar larva I kemudian pada stadium pupa. Cendawan Penicilium mencapai angka frekwensi 2,51 yang tersebar paling tinggi pada larva instar II dan terkecil pada stadium pupa. Sering munculnya Aspergillus (2,1) dan Metarhizium (2,0) ternyata hampir seimbang namun berbeda sebarannya pada setiap instarnya. Frekwensi tertinggi Aspergillus ditemukan pada larva instar IV bahkan tidak ditemukan pada instar II. Selanjutnya cendawan Metarhizium terbanyak ditemukan pada instar III dan terkecil pada

stadium pupa. Nilai frekwensi yang ditemukan pada Monilia (1,7) dan Spiera (1,93) hampir tidak berbeda pada larva An.aconitus. Spiera paling sering ditemukan pada larva instar IV, frekwensi yang jarang kemunculannya ditemukan pada instar I dan stadium pupa. Sebaliknya frekwensi Monilia paling sering muncul di instar II dan III bahkan tidak muncul sama sekali di instar I dan IV. Genus cendawan lainnya hanya mempunyai nilai frekwensi dibawah 0,67 sampai 0,17, dengan kemunculan yang bervariasi pada setiap instar walaupun demikian ada salah satu cendawan yang dikenal sebagai agen.

PREVALENSI CENDAWAN PADA BERBAGAI INSTAR LARVA ANOPHELES ACONITUS

Pada tabel 2 terlihat berbagai cendawan yang menginfestasi instar larva An.aconitus yang berasal dari persawahan. Angka prevalensi tertinggi ternyata ada pada larva instar III (24,78%) kemudian instar IV (20,4%) selanjutnya prevalensi paling kecil ditemukan pada instar II (19,47%) dan stadium pupa (15,04%). Sedangkan pada instar I sama besarnya dengan instar IV (20,35%). Ditinjau dari setiap genus cendawan yang terkumpul dan menginfestasi larva An.aconitus maka nilai prevalensi tertinggi pada Penicilium (66,96%). Cendawan ini tersebar tertinggi pada instar II dan sama sekali tidak ditemukan pada stadium pupa. Kemudian disusul nilai prevalensi dari Rhizopus (63,3%) yang tertinggi ditemukan pada stadium pupa (23,4%). Infestasi

cendawan Aspergillus pada larva An.aconitus mencapai nilai prevalensi 51,6% yang tersebar pada seluruh instar bahkan paling banyak ditemukan pada stadium pupa (15,4%).

Nilai prevalensi pada cendawan Metarhizium (47,29%) yang penyebarannya tertinggi pada instar III dan pada instar lainnya hampir sama namun prevalensi terendah pada instar II (7,4%). Prevalensi cendawan Spiera (45,3%) penyebarannya pada seluruh tingkat larva An.aconitus besarnya hampir seimbang; prevalensi tertinggi ditemukan pada instar IV (16%) dan terkecil pada instar I. Prevalensi cendawan Monilia (29,9%) dengan tingkat penyebaran hanya ditemukan pada ketiga instar yang tertinggi pada instar III dan terendah pada stadium pupa (7,7%). Prevalensi Laselina (19,1%) tersebar hanya pada ketiga instar larva yang tertinggi ditemukan pada instar II dan stadium pupa (7,7%) sedangkan prevalensi terkecil pada instar IV (4%). Pada cendawan Cladosporium dan Blastomyces nilai prevalensi sama tingginya mencapai 18,53% yang penyebaran pada setiap instar hampir sama. Besarnya nilai prevalensi cendawan lainnya diantara 7,7% sampai 14,2% yaitu dari genus Geotrichum, Entomophthora, Hormicium, Botritrichum, Monosporium, Acromium dan Trichopyton. Nilai prevalensi paling kecil ditemukan diantara 0,17% sampai 4,0% pada cendawan selebihnya seperti tertera pada tabel 2.

PATOGENITAS CENDAWAN TERPILIH METARHIZIUM ANISOPLIAE TERHADAP LARVA NYAMUK ANOPHELES ACONITUS

Bentuk spora cendawan Metarhizium anisopliae berbentuk lonjong dengan kedua ujungnya meruncing (gambar 5 dan 6).

Hasil uji coba infestasi cendawan M. anisopliae pada berbagai perlakuan dosis seperti tertera pada Tabel 3. Data pada dosis paling rendah yaitu $0,125 \text{ mg/cm}^2$ dalam air dengan pH=6 diperoleh 28% angka kematian secara kumulatif. Perhitungan ini dilakukan setelah larva An. aconitus melakukan kontak dengan konidiospora M. anisopliae selama 48 jam. Perkembangan lebih lanjut untuk mematikan separuh larva uji terlihat pada dosis diantara $0,5 \text{ mg/cm}^2$ dengan 1 mg/cm^2 . Selanjutnya untuk mematikan seluruh populasi larva uji diperlukan dosis 4 mg/cm^2 dan untuk mematikan 95% populasi larva uji diperlukan dosis diantara $1,0 \text{ mg/cm}^2$ dan 2 mg/cm^2 . Pengujian hasil uji coba ini dilakukan dalam kondisi laboratorium.

Pengujian lebih lanjut dilakukan pada lahan sawah seluas kurang lebih 900 m^2 , dibutuhkan sebanyak 27 gram konidiospora dengan takaran dosis rata-rata $300 \text{ mg konidiospora/m}^2$. Parameter untuk mengetahui efektifitas dari konidiospora M. anisopliae dilihat dari padat populasi larva dan dewasa An. aconitus dari hasil penangkapan sebelum dan sesudah aplikasi seperti tertera pada tabel 4. Sedangkan untuk daerah kontrol (Kaliurip) pelaksanaan pengukuran kerapatan populasi larva dan dewasa dari An. aconitus masing-

masing enam kali penangkapan (Tabel 5).

Sebelum aplikasi konidiospora, kepadatan populasi larva nyamuk An. aconitus di daerah perlakuan Rejasari rata-rata pada setiap survey mencapai 14,4 ekor per ciduk. Kepadatan populasi tertinggi pada pengambilan sampel ke enam sampai mencapai 20,4 per ciduk. Sedangkan kepadatan terendah pada pengambilan sampel ke lima dengan jumlah kepadatan populasi larva mencapai 6,8 per ciduk. Setelah pemberian konidiospora dari cendawan M. anisopliae secara umum kepadatan populasi larva menurun dengan rata-rata menjadi 1,3 per ciduk pada setiap pengambilan sampel. Kepadatan populasi larva An. aconitus tertinggi diperoleh setelah 2 minggu penebaran konidiospora yang hanya mencapai 0,53 larva per ciduk.

Penangkapan nyamuk yang dilakukan dengan umpan orang di luar dan dalam rumah serta di sekitar kandang ternak yang berdinding diperlihatkan pada tabel 4. Nyamuk An. aconitus yang ditemukan di daerah penelitian mempunyai sifat exophilik dan lebih menyukai darah hewan yang tergolong zoophilik. Kepadatan populasi nyamuk dengan umpan orang di luar rumah diperoleh sebanyak 23 ekor sebelum aplikasi. Rata-rata yang diperoleh pada setiap periode penangkapan sebanyak 3,8 ekor. Kepadatan rata-rata per orang per jam pada setiap periode diperoleh 0,24 ekor nyamuk yang menggigit di luar rumah. Kepadatan tertinggi ditemukan pada periode penangkapan ke 4 yaitu mencapai 1,5 per orang per jam. Sebaliknya terendah ditemukan pada penangkapan pertama dan ke 3 diperoleh 1,17

per orang per jam.

Penangkapan umpan orang di dalam rumah hanya diperoleh 2 ekor yang menggigit orang dengan nilai kerapatan 0,17 per orang per jam. Hasil penangkapan nyamuk di sekitar kandang secara keseluruhan merupakan penangkapan yang paling banyak diperoleh karena diperoleh kerapatan populasi 25,4 nyamuk per orang per jam pada setiap periode penangkapan. Penangkapan tertinggi diperoleh pada periode ke 4 dengan kerapatan populasi 34,17 per orang per jam. Sebaliknya kerapatan populasi terendah ditemukan pada penangkapan ke 5 sebanyak 13,7 nyamuk perorang per jam, sebelum aplikasi.

Setelah aplikasi penangkapan nyamuk yang berhasil dikumpulkan di sekitar kandang menurun jumlahnya karena hanya diperoleh 58 ekor di sekitar kandang. Rata-rata nyamuk yang tertangkap pada setiap periode hanya mencapai 1,6 per orang per jam. Kerapatan tertinggi ditemukan pada periode penangkapan ke 4 dengan rata-rata 2,17 per orang per jam dan terkecil pada periode pertama dengan rata-rata 0,83 per orang per jam. Penangkapan dengan umpan orang di luar rumah relatif menurun dengan rata-rata 0,5 per orang per jam dari setiap periode penangkapan. Kerapatan populasi tertinggi ditemukan pada periode ke 5 dengan rata-rata 0,3 per orang per jam. Sebaliknya penangkapan nyamuk di dalam rumah dengan umpan orang diperoleh hanya 2 nyamuk selama 6 kali penangkapan yaitu pada periode penangkapan ke 2 dan ke 5 dengan kerapatan 0,17 nyamuk per orang per jam.

Tabel 5 menunjukkan hasil penangkapan nyamuk dan larva di daerah kontrol pada setiap periode penangkapan yang tidak mengalami penurunan populasi yang berarti. Pengumpulan larva selama 12 kali di desa Kaliurip diperoleh kerapatan larva tertinggi pada periode pertama mencapai 13,1 larva per ciduk per orang dan terendah pada periode ke 3 hanya 3,4 larva per ciduk per orang.

Hasil penangkapan nyamuk An.aconitus di luar dan dalam rumah serta di sekitar kandang ternak terlihat pada tabel 5. Penangkapan nyamuk di luar rumah diperoleh dengan umpan orang sebanyak 13 ekor dan di dalam rumah 3 ekor. Sedang penangkapan di sekitar kandang ternak paling tinggi 31,7 per orang per jam dan terendah sebanyak 22 ekor per orang per jam.

IV. PEMBAHASAN

Dari pengamatan komposisi cendawan yang ditemukan pada larva An.aconitus terlihat bahwa frekwensi tertinggi dari kelompok cendawan saprofit. Cendawan dari kelompok ini cukup subur jika ditemukan bahan organik di persawahan. Sawah di Rejasari diusahakan secara intensif sehingga secara terus-menerus di tanam, saat setelah panen banyak ditemukan biji padi tersisa., batang padi yang direndam dan daun-daunan kering, jerami dan lain-lainnya. Cendawan Rhizophus, Aspergillus dan Metarhizium dapat tumbuh dengan baik karena kelompok cendawan ini dapat bersifat saprofit maupun parasit. Tersedianya bahan makanan dari biji-bijian padi, jerami, daun-daun kering serta ranting kayu dapat mendukung kehidupan dari cendawan tersebut⁴. Tingginya nilai prevalensi pada larva An.aconitus disamping adanya daya dukung lingkungan persawahan, juga tergantung pada hewan air yang ada di tempat tersebut. Larva nyamuk An.aconitus merupakan salah satu hewan avertebrata yang hidup di persawahan, sehingga tidak terlepas dari infestasi cendawan baik yang berperan sebagai parasit maupun saprofit. Namun besar kecilnya infestasi ini tentunya tergantung dari kerapatan larva yang hidup di tempat tersebut. Populasi kerapatan larva yang tinggi akan lebih memudahkan cendawan menginfestasi larva yang ada di permukaan air¹³. Banyak cendawan yang ditemukan di alam yang mengalami kekeringan, sehingga spora mudah terbawa oleh angin dari tempat yang satu ke tempat yang lain. Bahkan penyebaran cendawan dapat dilakukan hewan air seperti katak yang mempunyai andil dalam memindahkan dari tempat satu ke tempat lain⁵. Rhizopus merupakan cendawan

yang hidup selalu ditemukan pada biji-bijian, jadi dengan tingginya frekwensi penemuan di persawahan merupakan hal yang wajar. Aspergillus menyebar di mana-mana dan mempunyai peran sebagai salah satu komponen dalam proses kejadian perombakan di tanah. Dalam siklus hidupnya Aspergillus bertindak sebagai saprofit, yang mudah berkembang dan menghasilkan spora walaupun keadaan lingkungan kurang menguntungkan¹⁴. Kejadian ini sesuai dengan hasil penelitian yang pernah dilakukan di daerah persawahan; mempunyai nilai prevalensi tinggi dibandingkan kondisi perairan lainnya⁷.

Tingginya Penicilium di daerah persawahan karena merupakan cendawan saprofit serta parasit, yang tersebar secara luas pada berbagai substrat.

Prevalensi yang tinggi dari salah satu cendawan disebabkan oleh beberapa faktor pendukung. Faktor pendukung ini berpengaruh terhadap proses berlangsungnya kehidupan cendawan di suatu tempat. Inang berpengaruh terhadap cara penyebaran cendawan tersebut. Ketahanan hidup, adaptasi terhadap inang yang tinggi dan penyebaran konidia yang secara luas di udara maupun di perairan akan menyebabkan tingginya nilai prevalensi dan frekwensi cendawan tersebut¹⁵.

Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan jumlah jenis sebaran cendawan yang menginfestasi larva An.aconitus, paling tinggi ditemukan pada larva instar III dibandingkan dengan instar lainnya. Sidik ragam antar instar menunjukkan adanya perbedaan yang nyata menurut uji beda nyata terkecil dengan tingkat kesalahan = 0,01. Larva instar III berbeda nyata dengan larva instar I

dan instar IV. Larva instar III dengan instar II berbeda sangat nyata terinfeksi cendawan. Tingginya nilai prevalensi cendawan pada instar III ini mungkin disebabkan adanya aktifitas gerak larva. Larva instar III mempunyai ruang gerak yang lebih luas dibandingkan dengan larva instar I dan II, sehingga peluang terkena cendawan akan lebih memungkinkan. Larva selalu beristirahat dengan menempelkan tubuhnya pada substrat yang ada disekitarnya. Substrat ini biasanya terdiri dari ranting kayu, daun yang kering, dan jerami yang akan dimanfaatkan larva sebagai pelindung. Keseluruhan substrat ini merupakan tempat perkembangbiakan cendawan saprofit. Peluang ini memungkinkan larva mudah terinfeksi cendawan terutama dari kelompok cendawan Deuteromycetes. Karena kelompok Deuteromycetes ini selalu berkembang biak pada bahan organik, cendawan ini hidup sebagai saprofit serta parasitik. Keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian Umphlett (1969)¹⁶ yang mendapatkan nilai persentase infeksi paling tinggi selama 3 tahun berturut-turut ditemukan pada larva instar III, diantara 79% sampai 50,5% dan selalu rendah pada instar I dan II, hanya mencapai 10,8 sampai 36 %.

Hasil pengujian M.anisopliae terhadap larva nyamuk An.aconitus disajikan pada tabel 3. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa dalam waktu 48 jam pada dosis terendah 0,125 mg/cm² dapat membunuh larva 28 %. Berdasarkan hasil analisis persamaan regresi yang diperoleh $Y=36,61 + 18,9X$ maka untuk mematikan separuh larva An.aconitus (LD50) tercapai pada dosis 0,71 mg/cm² (gambar 4). Selanjutnya untuk mematikan 95 % populasi larva yang di uji (LD95) memerlukan dosis 3,085 mg/cm² (gambar

4). Pada dosis paling tinggi yaitu $1,6 \text{ mg/cm}^2$ semua larva uji ditemukan mati (100%). Kejadian ini berbeda dengan perlakuan pada larva Cx. quinquefasciatus untuk LD 50 diperlukan dosis $6,15 \text{ mg/250 ml}$ air dan LD 95 diperlukan dosis $20,13 \text{ mg/250 ml}$ air dengan formulasi spora yang dicampur dengan tepung jagung¹⁷.

Nampaknya larva An.aconitus lebih rentan dibandingkan larva Cx.quinquefasciatus. Pengamatan di laboratorium lain yang menggunakan spora kering menjadi suspensi spora dengan mempergunakan teknik standar bioassay ternyata dapat mematikan 95% sampai 98% larva Cx.quinquefasciatus setelah kontak 48 jam, pada konsentrasi 10 ppm atau $0,02 \text{ mg/cm}^2$ ¹².

Kerapatan populasi larva An.aconitus sebelum aplikasi konidiospora diperoleh rata-rata pada setiap pengambilan sampel mencapai $14,4$ per ciduk per orang sehingga populasi nampak tinggi. Namun setelah dilakukan aplikasi di daerah perlakuan (Rejasari) menurun sangat tajam hanya $1,3$ per ciduk per orang (gambar 9). Kejadian ini didukung hasil pengamatan di daerah pembanding (Kaliurip) merupakan daerah kontrol kerapatan larva An.aconitus pada setiap pengambilan tetap stabil. Rata-rata kerapatan yang diperoleh setiap periode pengambilan $7,85$ per ciduk per orang (gambar 9). Perubahan penurunan terlihat jelas dari rata-rata $20,1$ larva/ciduk/orang menjadi $0,5$ larva/ciduk/orang pada penangkapan pertama setelah aplikasi yang diikuti perkembangan selanjutnya berfluktuasi. Penaburan konidiospora pada habitat larva An.aconitus memberikan pengaruh terhadap kerapatan populasi di daerah perlakuan, dibandingkan daerah kontrol. Penelitian serupa namun berbeda jenis larvanya, yaitu An.gambiae, An.rufipes dan

An.fumestus dengan penggunaan dosis 600 mg konidiospora/m² dapat mematikan semua populasi larva tersebut¹⁸. Nampaknya larva An.aconitus lebih rentan karena dengan penggunaan dosis 300 mg/cm², sudah dapat menurunkan kerapatan populasi larva An.aconitus dibandingkan ketiga species nyamuk Afrika. Penelitian lain di persawahan dengan pemberian dosis 600 mg konidiospora/cm² terhadap larva An.freebarni telah dapat mematikan secara efektif.

Di tinjau dari kerapatan menggigit nyamuk An.aconitus dengan umpan orang di dalam dan luar rumah di daerah perlakuan dan pembanding, nampaknya nyamuk An.aconitus lebih menyukai menggigit orang di luar rumah (exofilic). Jumlah rata-rata nyamuk yang menggigit di luar rumah (MBR) sebelum aplikasi diperoleh rata-rata dari setiap penangkapan 0,6 nyamuk/orang/jam, jumlahnya menurun setelah aplikasi menjadi 0,07 nyamuk/orang/jam. Penurunan populasi secara umum pada setiap periode penangkapan mencapai 11 kali lipat. Di daerah pembanding di luar rumah diperoleh rata-rata 0,2 nyamuk/orang/jam. Gambar 10 memperlihatkan penurunan populasi nyamuk yang ditangkap dengan umpan orang dan di sekitar kandang ternak pada kedua lokasi penelitian. Pada penangkapan nyamuk di sekitar kandang ternak di kedua lokasi terlihat ada perbedaan antara daerah perlakuan dan pembanding. Pada daerah perlakuan populasi nyamuk yang tertangkap di sekitar kandang rata-rata 25 ekor/orang/jam sebelum aplikasi. Sesudah aplikasi jumlahnya menurun menjadi 1,6 ekor/orang/jam. Di daerah pembanding keadaan kerapatan populasi nyamuk An.aconitus pada sekitar kandang diperoleh rata-rata pada setiap periode penangkapan 22,5 nyamuk/orang/jam. Kejadian ini jauh berbeda di

daerah perlakuan dimana kepadatan populasi menurun dengan tajam pada saat penangkapan pertama, dan terus menurun pada penangkapan selanjutnya (gambar 10). Ternyata penurunan kepadatan populasi larva di daerah perlakuan akan diikuti penurunan populasi dewasa baik pada umpan orang maupun nyamuk yang ditangkap di sekitar kandang. Kejadian ini sesuai dengan penggunaan M.anisopliae, formulasi tepung ditambah tanah ternyata dapat menghambat pertumbuhan Cx.quinquefasciatus selama 6 hari sebaliknya dengan formulasi spora di tambah tepung jagung menghambat selama 16 hari¹⁷.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Cendawan Rhizopus, Aspergillus, Metarhizium dan Penicilium merupakan cendawan yang paling luas penyebarannya dan mempunyai keterkaitan paling erat dengan larva nyamuk An.aconitus dan lingkungannya.
2. Tipe habitat persawahan ternyata mempunyai kondisi paling baik untuk kehidupan cendawan saprofit dan parasitik.
3. Cendawan lebih mudah menginfestasi larva yang aktif di permukaan perairan.
4. Kerentanan diantara ke 4 instar ternyata infestasi paling tinggi ditemukan pada larva instar III dibandingkan instar lainnya.
5. Untuk mematikan separuh populasi larva An.aconitus (LD50) diperlukan dosis $0,71 \text{ mg/cm}^2$ dan untuk mematikan 95% populasi larva diperlukan dosis $3,085 \text{ mg/cm}^2$ pada kondisi laboratorium.
6. Sebaran genus cendawan pada berbagai instar An.aconitus tidak homogen.
7. Metarhizium anisopliae dengan dosis $300 \text{ mg konidiospora/m}^2$ dapat menurunkan populasi larva An.aconitus di lingkungan persawahan.
8. Faktor biotik dan abiotik yang terdapat di lingkungan persawahan lebih menunjang kelangsungan hidup agen (M.anisopliae) yang berada pada tempat tersebut.

SARAN

Selain dilakukan pada vektor utama yang berada di daerah endemis malaria, sebaiknya dilakukan juga pada vektor lainnya (An. maculatus, An. balabacensis) dalam menurunkan vektor penyakit.

VI. DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. SANTIYO, K. (1985). Vektor malaria di Indonesia dan status kerentanannya terhadap insektisida. Simposium dan Diskusi Panel Malaria. Semarang, Universitas Diponegoro, 9 Mei.
2. SOERONO, M., A.S. BADAWI, D.A. MUIR, A. SUDOMO and M. SIRAN. (1965). Observation on doubtly resistant Anopheles aconitus Donitz in Central Java, Indonesia, and its amenability to treatment with malathion. Bull. WHO. 33: 453-459.
3. O'CONNOR and ARWATI (1974). Insecticide resistance in Indonesia (Unpublished ed. document WHO/Mal/74/B39.
4. CLE, T.G. dan KENDRICK. (1981). Biology of conidial fungi. Academic Press. New York, Toronto. Sidney. San Fransisco. Vol 2:201-207.
5. W.H.O. (1982). Biological control of vectors of disease. Tech. Rep. Ser. 679. Geneva. 39 hal.
6. ZIMMERMAN, G. (1986). Insect pathogenic fungi as pest control agents. Dalam J. FRANZ, ed. Biological Plant and Health Protection. Gustav Fisher Verlag Stuttgart. New York 309 hal.
7. AMRUL MUNIF, (1990). Infestasi cendawan pada larva dan pupa nyamuk Anopheles dan Culex di tiga kondisi perairan berbeda dan kemungkinan penggunaannya untuk pengendali hayati. Tesis Magister Sains. Institut Pertanian Bogor : 82 hal.

8. HAZEN, E.L. dan F. C. REED. (1960). Laboratory identification of pathogenic fungi simplified. Charles. C. Thomas. Publisher Springfielcd. Illinois. USA. 150 hal.
9. WEISLER, J. (1982). Guide to field determination of major groups of pathogen effecting arthropod vector of himan disease. Dok. WHO/VBC/82. 860. 43 hal.
10. FREY, D., R.J. OLDFIELD dan R.C. BRIDGES. (1979). A color atlas of pathogenic fungi. Wolfe Medical Publication Ltd. Holland. 256 hal.
11. BARNET, R. (1960). Illustrated genera of imperfect fungi. Second edition, Burges Publishing Company. Virginia. 255 hal.
12. M.S. MULA dan DARWAZEH. (1980). Mosquito control with *Metarhizium*. Mosquito Control Research. Ann. Reprt. University of California. ; 68-70.
13. LINGG, A.J. dan DONALDSON, M.D. (1981). Biotic and abiotic factor effecting stability of *B.bassiana* conidial fungi in soil. Journal. Invert. Pathol. 38: 191-200.
14. ZIMMERMAN, G. (1982). Effect of hight temperature and artificial sunlight on viability of conidia of *Metharizium anisopliae*. J.Invert.Pathol. 40:36-40.
15. BRADY, B.L. (1981). Fungi as parasites of insects and mites. Commonwealth Insitute of Biological Control.

Biocontrol News and Information. Rev. Artcl. 2 (4):
281-295.

16. UMPHLETT, C.J. (1969). Infection level of Coelomomyces punctatus an aquatic fungus parasite in natural population of the common malaria mosquito Anopheles quadrimaculatus. J.Invert.Pathol. 15: 299-305.
17. AMRUL MUNIF, MARDIANA dan ENY.W.L. (1992). Pengaruh Metharizium anisopliae terhadap pertumbuhan populasi larva nyamuk Cx.p.quinquefasciatus. Majalah Kesehatan Masyarakat. Th XX. No 7. 401-406.
18. W.H.O. (1980). Metarhizium anisopliae. Data Sheet on Biological Control Agent. WHO/VBC/80. 758. 1-9.
19. WASHINO, R.K. dan FETERLASKO. 1980. Fields test with Metharizium anisopliae a fungal pathogen of mosquito. Mosq.Contr.Resch. Ann.Reprt. University of California.

TABEL 1. Frekwensi cendawan pada berbagai larva *Anopheles aconitus* di persawahan Banjarmangu dan Madukara, Banjarnegara.

No	Genus Cendawan	Frekwensi pada instar					Jumlah
		I	II	III	IV	Pupa	
1.	Rhizophus	0,67	0,33	0,33	0,33	0,5	2,75
2.	Metarhizium	0,5	0,33	0,67	0,33	0,17	2,00
3.	Aspergillus	0,5	0,5	0,17	0,67	0,33	2,1
4.	Trycophyton	0,33	0,0	0,17	-	-	0,5
5.	Clasdosperium	0,17	0,17	-	0,17	0,17	0,67
6.	Laselina	-	0,33	-	0,17	0,17	0,67
7.	Geotrichum	0,17	0,33	0,17	-	-	0,67
8.	Monilia	-	0,5	0,5	-	0,17	1,17
9.	Chycomilia	-	-	0,17	-	-	0,17
10.	Verticulum	-	-	0,17	-	-	0,17
11.	Didium	-	-	0,17	-	-	0,17
12.	Paecilomyces	-	-	0,17	-	-	0,17
13.	Acromium	-	0,17	-	0,17	-	0,34
14.	Monosporium	0,17	-	-	0,17	-	0,34
15.	Macrocorpus	-	-	-	0,17	-	0,17
16.	Streptomyces	-	-	-	0,17	-	0,17
17.	Penicillium	0,33	0,1	0,67	0,67	0,17	2,51
18.	Entomophthora	0,17	0,17	0,17	0,17	-	0,67
19.	Epicorm	0,17	-	-	-	-	0,17
20.	Tshelohama	0,17	-	-	-	-	0,17
21.	Spiera	0,17	0,33	0,5	0,67	0,17	1,93
22.	Blastomices	0,17	-	0,17	0,17	0,17	0,67
23.	Phialophora	0,17	-	-	-	-	0,17
24.	Fonseaceae	-	0,17	-	-	-	0,17
25.	Botriotrichum	-	0,17	-	-	-	0,17
26.	Hormicium	-	-	-	-	0,17	0,17
27.	Mucor	0,17	-	0,17	-	-	0,34
28.	Fusarium	-	-	0,17	-	-	0,17

TABEL 2. Prevalensi cendawan pada berbagai instar larva Anopheles aconitus di persawahan Banjarmangu dan Madukara Banjarnegara.

No.	Genus Cendawan	Prevalensi cendawan pada larva instar					Jumlah (%)
		I	II	III	IV	Pupa	
1.	Rhizophus	17,4	7,4	7,4	8,0	23,1	63,3
2.	Metarhizium	9,39	7,4	14,8	8,0	7,7	47,29
3.	Aspergillus	9,39	11,1	3,7	1 2	15,4	51,59
4.	Trycophyton	6,26	-	3,7	-	-	9,96
5.	Clasdosporium	3,13	3,7	-	4	7,7	18,53
6.	Laselina	-	7,4	-	4	7,7	19,1
7.	Geotrichum	3,13	7,4	3,7	-	-	14,23
8.	Monilia	-	11,1	11,1	-	7,7	29,9
9.	Chycomilia	-	-	3,7	-	-	3,7
10.	Verticulum	-	-	3,7	-	-	3,7
11.	Oidium	-	-	3,7	-	-	3,7
12.	Paecilomyces	-	-	3,7	-	-	3,7
13.	Acromium	-	3,7	-	4	-	7,7
14.	Monosporium	3,13	-	-	4	-	7,7
15.	Macrecorpus	-	-	-	4	-	4,0
16.	Streptomyces	-	-	-	4	-	4,0
17.	Penicillium	6,26	22,2	14,8	16	-	66,96
18.	Entomopthora	3,13	3,7	3,7	4	-	14,53
19.	Epicorm	3,13	-	-	-	-	3,13
20.	Tahelohama	3,13	-	-	-	-	3,13
21.	Spiera	3,13	7,4	11,1	16	7,7	45,33
22.	Blastomices	3,13	-	3,13	4	7,7	18,53
23.	Phialophora	3,13	-	-	-	-	3,13
24.	Fonseaceae	-	3,7	-	-	-	3,7
25.	Botriotrichum	-	3,7	-	4	-	7,7
26.	Hormicium	-	-	-	-	7,7	7,7
27.	Mucor	3,13	-	3,13	-	-	3,26
28.	Fusarium	-	-	0,17	-	-	0,17

TABEL 3. Angka kematian (%) larva nyamuk Anopheles aconitus setelah melakukan kontak selama 48 jam dengan cendawan Metarhizium anisopliae secara kumulatif.

Dosis (mg/cm ²)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah Larva yang mati	% kematian
Kontrol	110	0	0
0,125	100	28	28
0,25	103	35	35,7
0,5	104	44	44,6
1,0	101	62	62,5
2,0	101	96	96,6
4,0	110	110	100

Keterangan :

Pengujian dilakukan untuk setiap dosis dilakukan 4 kali ulangan.

TABEL 4. Jumlah dan Kerapatan rata-rata larva dan dewasa An.aconitus sebelum dan sesudah penaburan spora dari cendawan M.anisopliae di desa Rejasari, Kecamatan Banjarmangu, Banjarnegara, Jawa Tengah.

No.	Parameter Entomologi	Sebelum penaburan spora						rata ²
		periode penangkapan						
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	Kerapatan populasi larva An.aconitus perciduk	13,4	15,4	15,2	7,2	6,8	20,4	14,4
2.	Kerapatan populasi dewasa perorang/jam							
-	Penangkapan di luar rumah	0,17	0,5	0,17	1,17	1,5	0,3	0,6
-	Penangkapan didalam rumah	0,17	0	0,17	0	0	0	0,057
3.	Penangkapan di kandang	16	28,7	31,7	34,2	13,7	30	25,4
No.	Parameter Entomologi	Sesudah penaburan spora						Jumlah rata ²
		periode penangkapan						
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	Kerapatan populasi larva An.aconitus perciduk	0,5	1,4	1,8	0,96	2,53	1,73	1,3
2.	Kerapatan populasi dewasa perorang/jam							
-	Penangkapan di luar rumah	0	0	0,17	0	0,3	0	0,07
-	Penangkapan didalam rumah	0	0	0,17	0	0,17	0	0,057
3.	Penangkapan di kandang	0,83	1,67	1,8	2,2	2,0	1,1	1,6

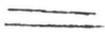
TABEL 5. Jumlah dan Kerapatan rata-rata larva dan dewasa An.aconitus di daerah pembanding desa Kaliurip, Kecamatan Madukara, Banjarnegara, Jawa Tengah

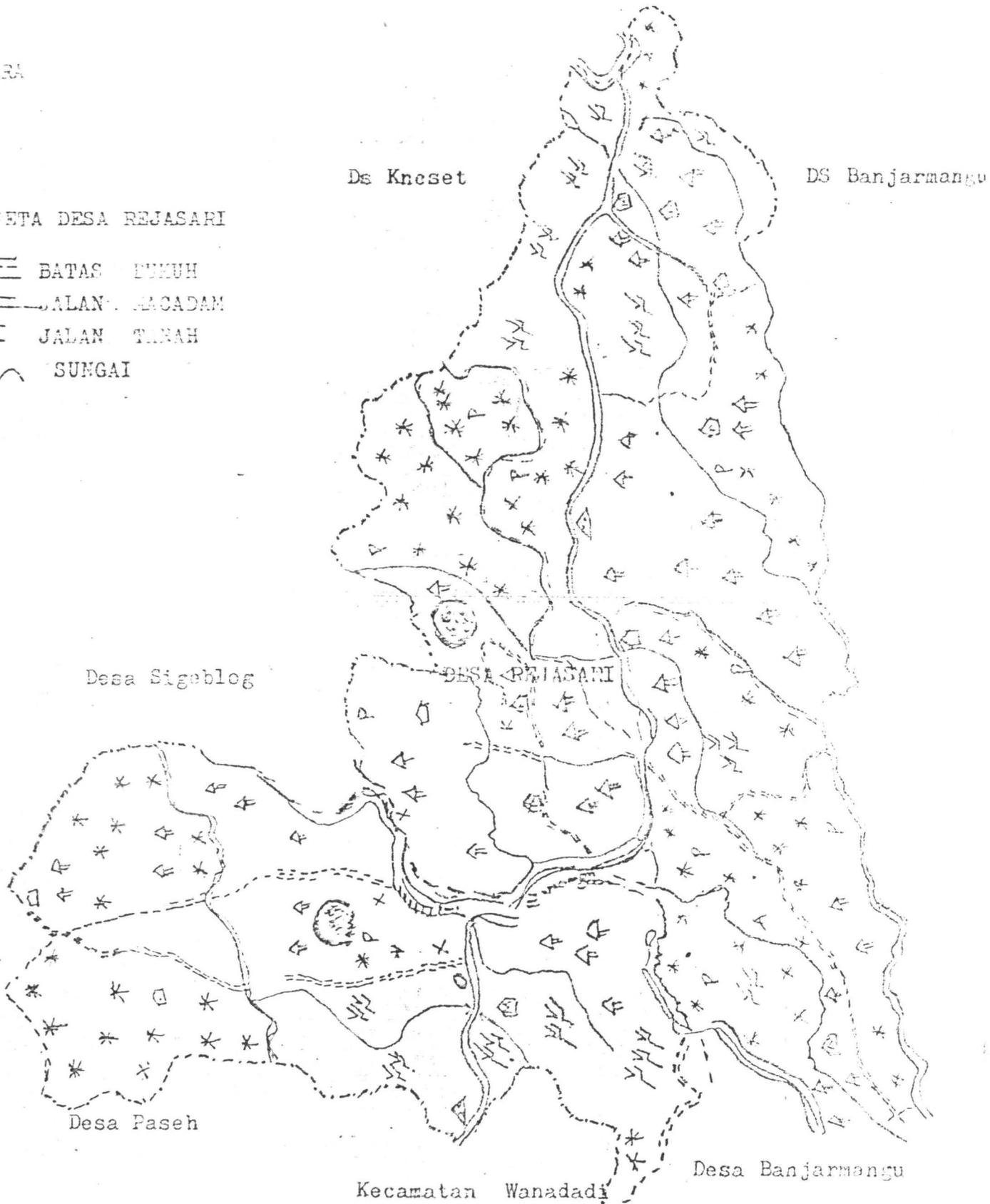
No.	Parameter Entomologi	Periode penangkapan						jumlah rata ²
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	Kerapatan populasi larva perciduk	13,1	12,5	3,4	4,7	8,3	9,3	8,55
2.	Kerapatan populasi per orang/ jam							
-	penangkapan di luar rumah	0	0,34	0,61	0	0,34	0,17	0,24
-	penangkapan di dalam rumah	0,17	0	0	0	0	0	0,03
3.	Penangkapan di kandang	30	31,8	14,8	13,2	19,3	19,2	21,4

No.	Parameter Entomologi	Periode penangkapan						jumlah rata ²
		I	II	III	IV	V	VI	
1.	Kerapatan populasi larva perciduk	7,2	9,9	12,5	5,6	5,2	4,2	7,43
2.	Kerapatan populasi per orang/ jam							
-	penangkapan di luar rumah	0,17	0,17	0,34	0	0,17	0,17	0,2
-	penangkapan di dalam rumah	0,17	0	0	0,17	0	0	0,06
3.	Penangkapan di kandang	18,3	22,1	32	31,3	15,2	22,1	23,5

UTARA

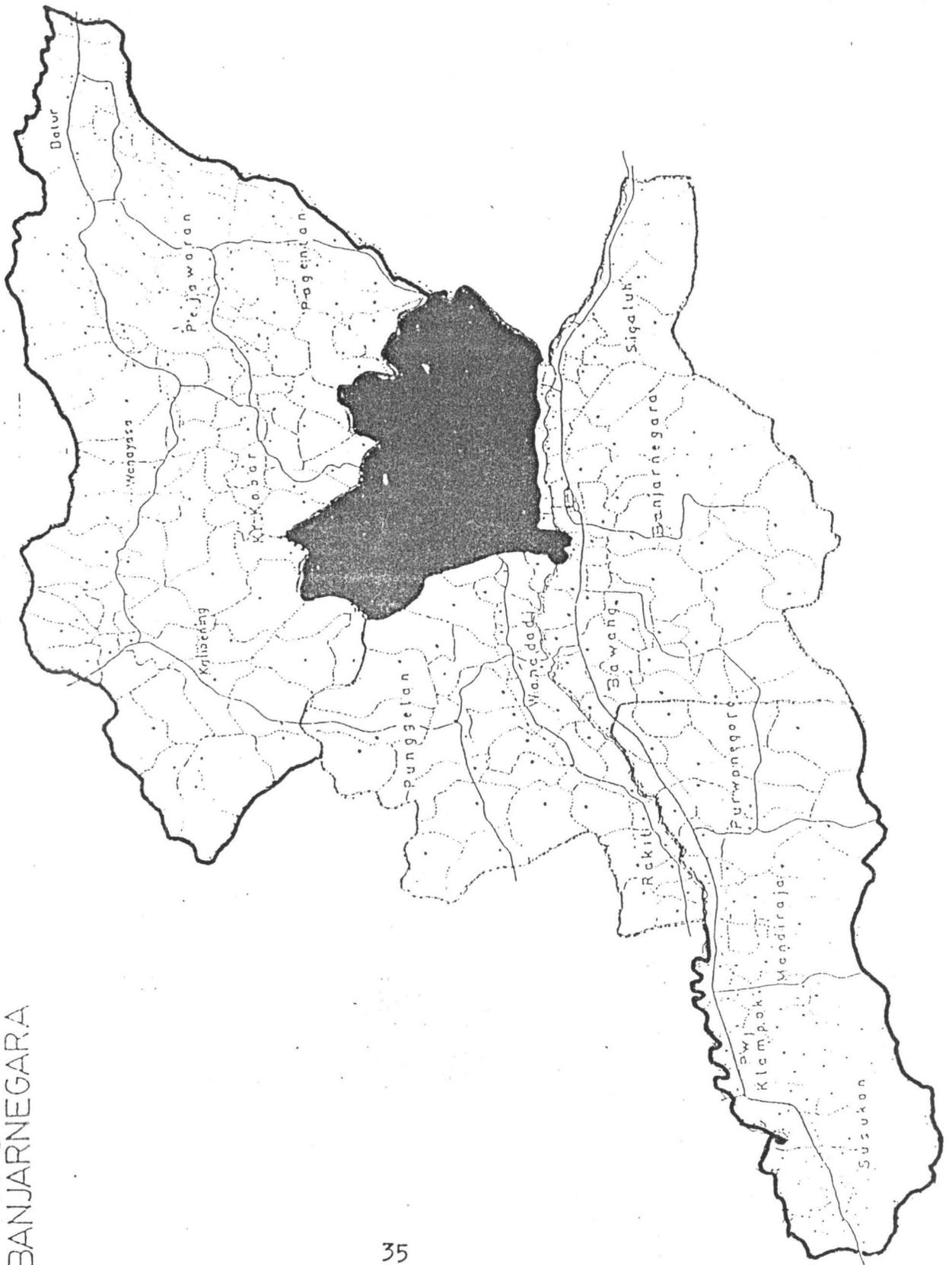
PETA DESA REJASARI

-  BATAS DESA
-  JALAN ASPAKADAM
-  JALAN TANAH
-  SUNGAI



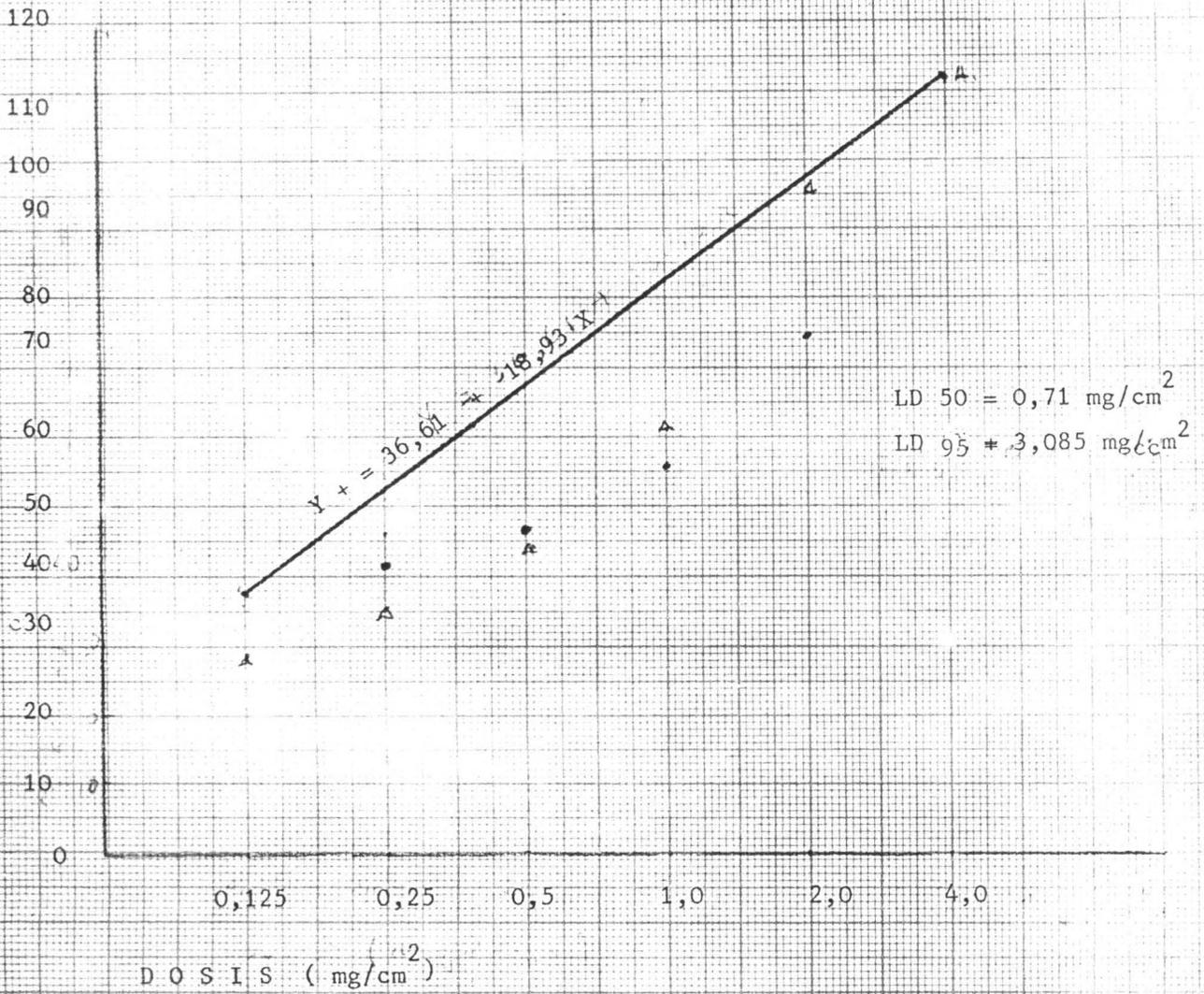
Gambar 1. Lokasi daerah penebaran cendawan Metarhizium anisopliae di desa Rejasari Kecamatan Banjarmangu, Banjarnegara, Jawa Tengah.

Gambar 3. Peta lokasi penelitian cendawan di Kabupaten Banjarnegara
Jawa Tengah.

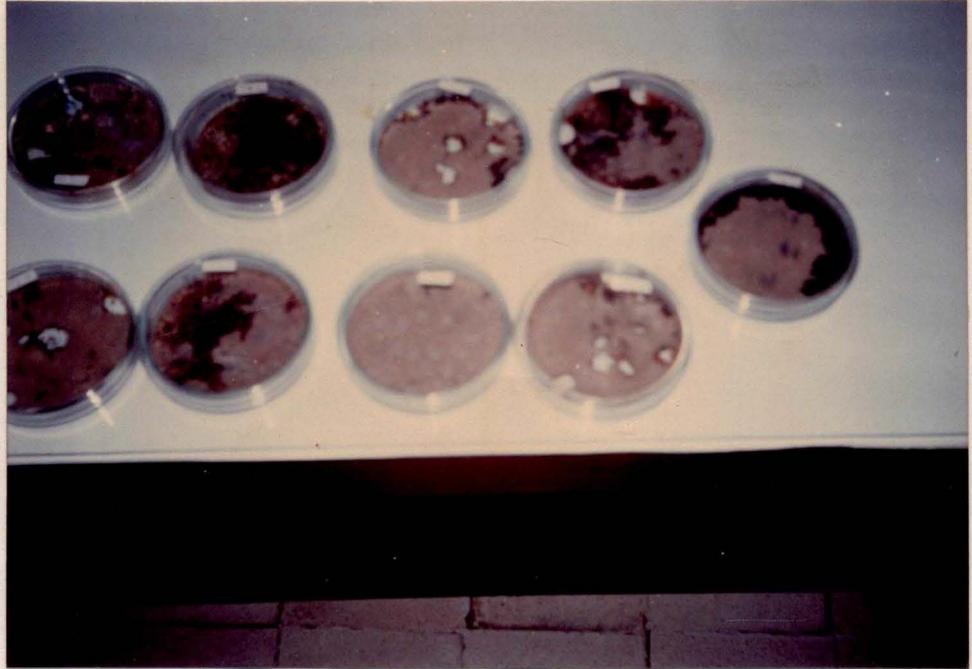


PETA ENTHO
KAB BANJARNEGARA





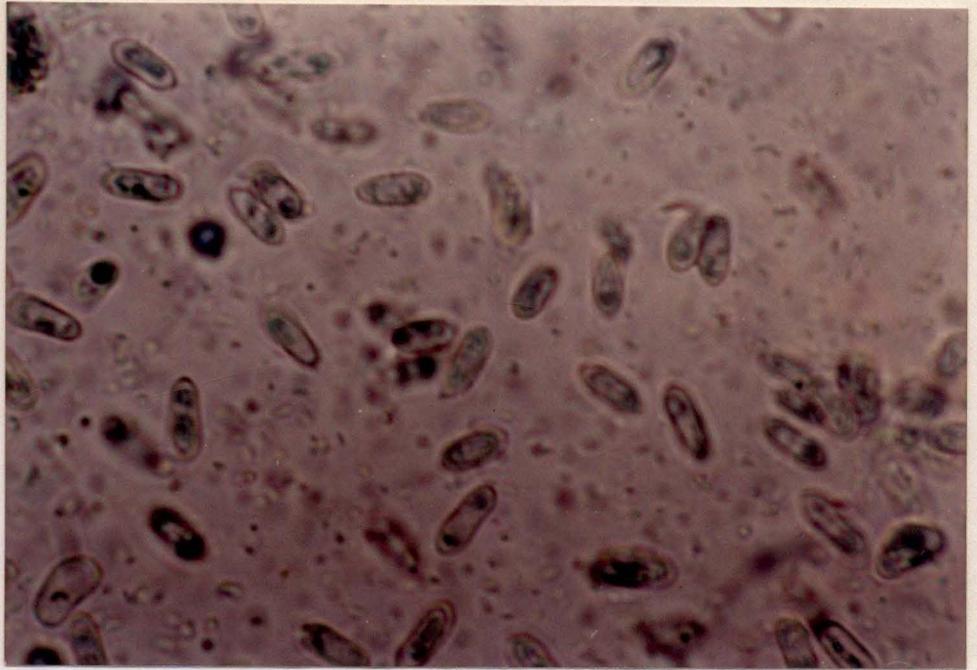
Gambar 4. Grafik angka kematian kumulatif larva An.aconitus yang diperlakukan dengan berbagai dosis konidiospora dari cendawan Metarhizium di laboratorium.



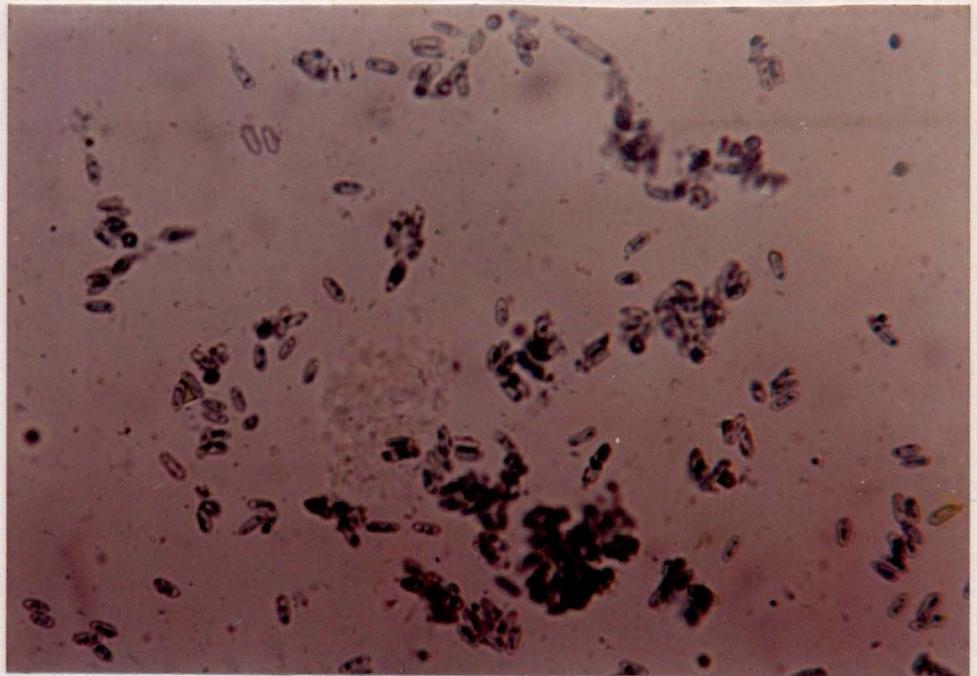
Gambar 7. Hasil isolasi cendawan yang berasal dari larva dan pupa An.aconitus dalam media SAD.



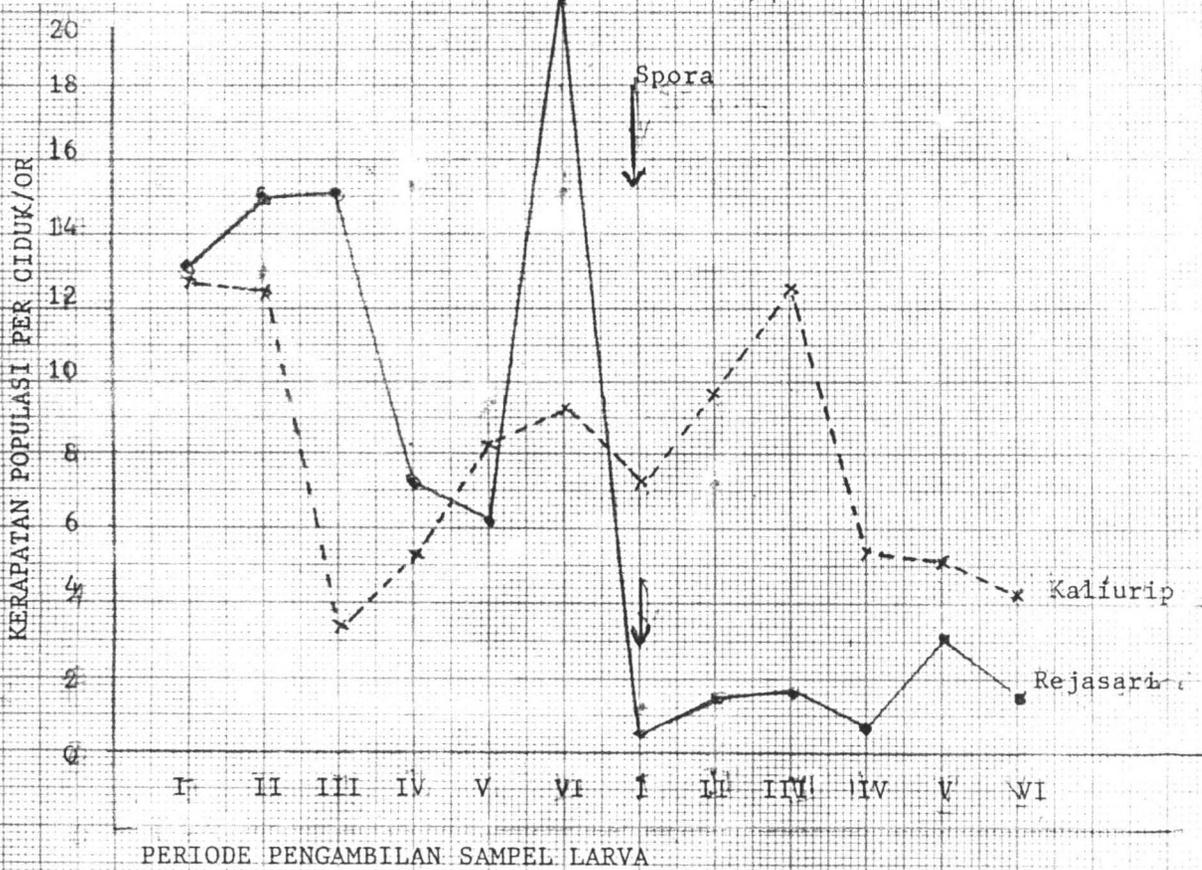
Gambar 8. Memperbanyak cendawan Metarhizium anisopliae



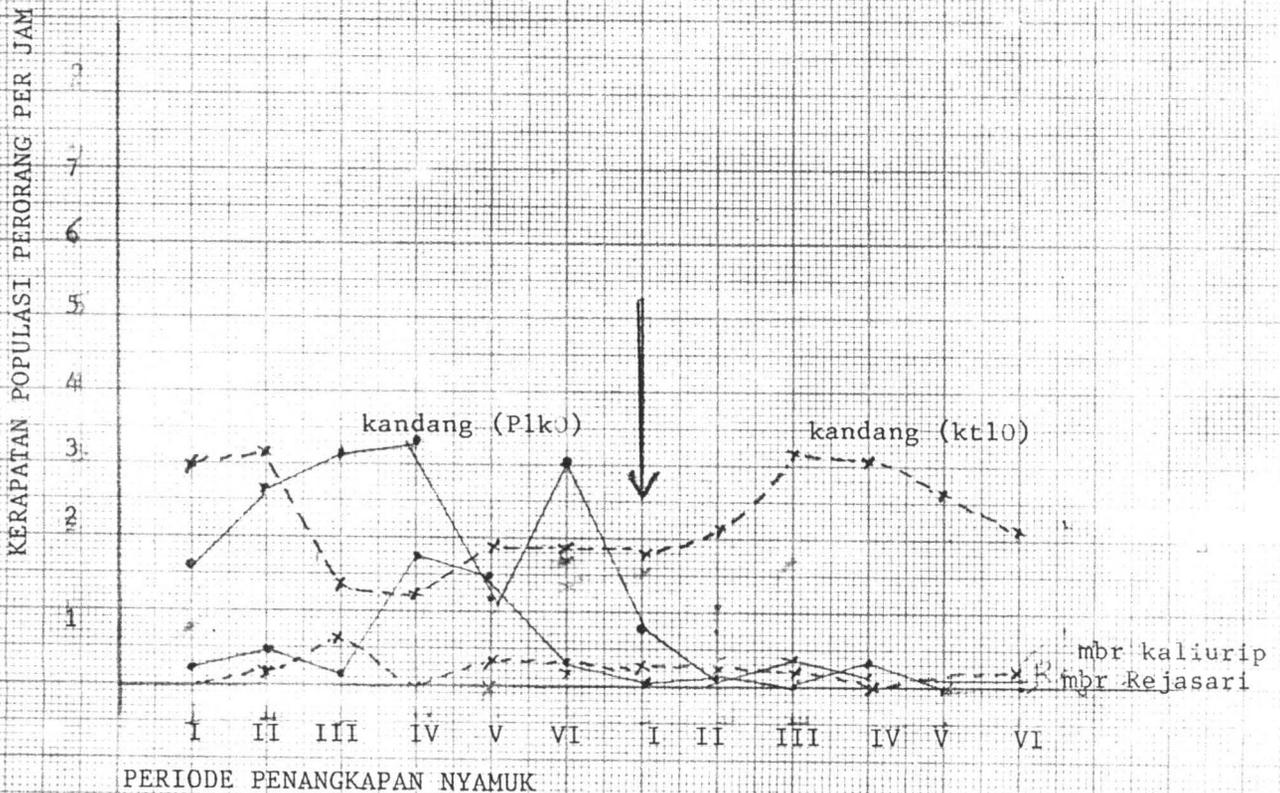
Gambar 5. Morphologi konidiospora dari cendawan Metarhizium anisopliae dengan pembesaran 1000 kali.



Gambar 6. Jumlah konidiospora dari cendawan Metarhizium anisopliae dilihat dari satu titik pandang dengan pembesaran 100 X



Gambar 9. Grafik kerapatan populasi larva *An. aconitus* setelah dan sebelum pemberian konidiospora *M. anisopliae* di daerah perlakuan dan pembandingan.



Gambar 10. Grafik kerapatan populasi nyamuk *An. aconitus* setelah dan sebelum pemberian konidiospora *M. anisopliae* di daerah perlakuan dan pembandingan.

PENGUJIAN SECARA STATISTIK

1. PERBEDAAN JUMLAH SEBARAN CENDAWAN YANG MENGINFEKSI BERBAGAI INSTAR LARVA.LS1

Ulangan	I N S T A R					Jumlah
	I	II	III	IV	Pupa	
1.	5	7	8	8	4	32
2.	6	3	3	4	3	19
3.	5	4	5	4	4	22
4.	3	0	3	0	0	6
5.	4	5	5	3	3	20
6.	0	3	4	4	3	14
Jumlah	23	22	28	23	17	113
Rata-rata	3,8	3,7	4,7	3,8	2,8	18,83

$$\begin{aligned}
 \Sigma Y^2 &= 5^2 + 7^2 + 8^2 + 8^2 + 4^2 + 6^2 + 3^2 + 3^2 + 4^2 + 3^2 + 5^2 + \\
 &4^2 + 5^2 + 4^2 + 4^2 + 3^2 + 0^2 + 3^2 + 0^2 + 0^2 + 4^2 + 5^2 + \\
 &5^2 + 3^2 + 3^2 + 0^2 + 3^2 + 4^2 + 4^2 + 3^2 \\
 &= 25 + 49 + 64 + 64 + 16 + 16 + 36 + 9 + 9 + 16 + 9 + 25 \\
 &+ 16 + 25 + 16 + 16 + 9 + 0 + 9 + 0 + 0 + 16 + 25 + 25 + \\
 &9 + 9 + 0 + 9 + 16 + 16 + 9 \\
 &= 547
 \end{aligned}$$

$$M_{YY} = \frac{(\sum T)^2}{t \cdot n} = \frac{(113)^2}{6.5} = \frac{12769}{30} = 425,63$$

$$T_{YY} = \frac{(32)^2 + 19^2 + (22)^2 + (6)^2 + (20)^2 + (14)^2}{t} - M_{YY}$$

$$= \frac{1024 + 361 + 484 + 36 + 400 + 196}{5} - 425,63$$

$$= 500,2 - 425,63 = 75,43$$

$$B_{YY} = \frac{(23)^2 + (22)^2 + (28)^2 + (23)^2 + (17)^2}{n} - M_{YY}$$

$$= \frac{529 + 484 + 784 + 529 + 289}{6} - 425,63$$

$$= \frac{2615}{6} - 425,63 = 10,20$$

$$E_{YY} = \sum Y^2 - M_{YY} - T_{YY} - B_{YY}$$

$$= 547 - 425,63 - 75,43 - 10,20 = 35,74$$

ANALISA VARIANS / SIDIK RAGAM

DAFTAR SIDIK RAGAM Untuk banyaknya instar larva *An.aconitus* yang terinfeksi

Sumber Variasi	d.b. (derajat bebas)	J.K (jumlah kwadrat)	K.T. (kwadrat tengah)	F _{hitung}	F _{tabel}	
					005	001
MEAN	1	M _{YY} =425,63	M _{YY/1} =425,63			
BLOK	(n-1)=4	B _{YY} =10,53	B _{YY/4} = $\frac{10,53}{4}$	B _{YY/4} = 2,63	2,87	4,43
				B _{YY/20} 1,78		
				= 2,63	= 1,47	
PERLAKUAN	(t-1)=5	T _{YY} =75,43	T _{YY/5} =75,43	T _{YY/5} =15,08	2,71	4,10
				E _{YY/20} 8,47		
				= 15,08	= 8,5	
ACAK/GALAT	(n-1)(t-1)	E _{YY} =35,74	E _{YY/20} =35,74			
				20		
	= 20			=1,78		

F_{hitung} > F_{tabel} ada beda yang sangat nyata pada perlakuan Hasil uji beda nyata terkecil (BTN) cendawan yang menginfeksi berbagai Instar larva Anopheles aconitus menunjukkan pengaruh nyata.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{005} &= t_{005} (\text{db acak}) \times \frac{\sqrt{2 \cdot \text{KT acak}}}{n} = 2,086 \times \frac{\sqrt{2(1,78)}}{6} \\
 &= 2,086 \times 0,32 \\
 &= 0,66
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{001} &= t_{001} (\text{db acak}) \times \frac{\sqrt{2 \cdot \text{KT acak}}}{n} = 2,845 \times \frac{\sqrt{2(1,78)}}{6} \\
 &= 2,845 \times 0,32 \\
 &= 0,91
 \end{aligned}$$

PERBEDAAN RATA - RATA

Rata-rata		X5	X2	X1	X4	X3
2,8	X5	-	0,9*	1,0**	1,0**	1,9**
3,7	X2	-	-	0,1	0,1	1,0**
3,8	X1	-	-	-	0	0,9*
3,8	X4	-	-	-	-	0,9*
4,7	X3	-	-	-	-	-

Keterangan :

X₁; X₂; X₃; X₄ adalah rata-rata instar larva terinfeksi

X₅ = stadium pupa

Pupa beda dengan instar II

Pupa dengan instar I, III, dan IV beda nyata sekali

Instar II dengan instar III beda nyata sekali

Instar III dengan instar I dan IV berbeda nyata.

KOEFISIEN KERAGAMAN (kk) ATAU COEFFICIENT OF VARIATION (CV)

$$\begin{aligned}
 CV &= \frac{\sqrt{KT \text{ acak}}}{Y} \times 100 \% = \frac{\sqrt{1,78}}{3,76} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,33}{3,76} \times 100 \% = 0,35 \times 100 \% = 35 \% \text{ tidak homogen}
 \end{aligned}$$

Ternyata sebaran cendawan pada berbagai instar larva An.aconitus tidak homogen.

ANALISIS SECARA STATISTIK

2. Mencari nilai LD 50 dan LD 95

	Dosis (mg/cm ²) X	%kematian Y	XY	x ²	y ²
1.	0,125	28	3,5	0,02	784
2.	0,25	35,7	8,93	0,063	1274,5
3.	0,5	44,6	22,3	0,25	1989,2
4.	1,0	62,5	62,5	1,0	3906,25
5.	2,0	96,6	193,2	4,0	9331,56
6.	4,0	100	400	16,0	10000
Jml	7,875	367,4	690,43	21,333	27285,51
Rata-rata	1,3125	61,23	115,072	3,56	454,3

$$b_i = \frac{n \times \sum XY - \sum X \times \sum Y}{n \times \sum X^2 - (\sum X)^2} = \frac{6 \times 690,43 - 7,88 \times 367,4}{6 \times 21,33 - (7,88)^2} = \frac{4142,6 - 2895,112}{127,98 - 62,094} = \frac{1247,5}{65,886} = 18,93$$

$$a = Y^- - b_i X^- = 61,23 - 18,93 \times 1,3 = 61,23 - 24,62 = 36,61$$

Persamaan regresi

$$Y = 36,61 + 18,93 X$$

Nilai untuk LD 50

$$50 = 36,61 + 18,93 X \quad X = \frac{13,39}{18,93} = 0,71 \text{ mg/cm}^2$$

$$LD 50 = 0,71 \text{ mg/cm}^2$$

Nilai untuk LD 95

$$95 = 36,61 + 18,93 X \quad X = \frac{58,39}{18,93} = 3,085 \text{ mg/cm}^2$$

$$LD 95 = 3,085 \text{ mg/cm}^2$$

$$Y = 36,61 + 18,93 X$$

$$Y_1 = 36,61 + 18,93 \times 0,125 = 36,61 + 2,37 = 38,98$$

$$Y_3 = 36,61 + 18,93 \times 0,5 = 36,61 + 9,47 = 46,08$$

$$Y_4 = 36,61 + 18,93 \times 1 = 36,61 + 18,93 = 55,54$$

$$Y_5 = 36,61 + 18,93 \times 2 = 36,61 + 37,84 = 74,45$$

$$Y_2 = 36,61 + 18,93 \times 0,25 = 36,61 + 4,73 = 41,34$$

$$Y_6 = 36,61 + 18,93 \times 4,0 = 36,61 + 75,68 = 112,29$$

