

## Efek *Beauveria bassiana* pada *Anopheles maculatus* Fase Aquatik di Laboratorium

### ***EFFECS OF AQUATIC PHASE OF Beauveria bassiana ON Anopheles maculatus IN A LABORATORY***

Bina Ikawati, Dewi Marbawati, dan Bondan Fajar Wahyudi

Balai Litbang P2B2 Banjarnegara

Jl. Selamanik No. 16 A Banjarnegara, 53415 Jawa Tengah, Indonesia

E - mail : bina.ikawati@gmail.com

*Submitted : 14-7-2016, Revised : 7-3-2017, Revised : 20-4-2017, Accepted : 15-5-2017*

#### ***Abstract***

*Beauveria bassiana can be used both as for controlling agricultural insect and protecting health. This study aims to examine the effects of aquatic phase of B. bassiana on An. maculatus in the laboratory. Samples were eggs and larvae of An. maculatus reared from Banjarnegara colony. Eggs and instar larvae II, III and IV and their control which consisted of 10 larvae/eggs were replicated six times and contacted to B. bassiana spores for 15 minutes and then transferred to aquades to be maintained for observation, in every 24 hours as long as 192 hours (8 days). Probit analysis found that application of B. bassiana caused damage of external coat of eggs and inhibited >60% of unhatched eggs. Lethal dosage was dosage spores of  $1,713 \times 10^7$  (16 days), whereas the lethal dose required to make 50% of unperached eggs is a dose of spore concentration of  $1,361 \times 10^7$  (11.6 days). Higher concentrations will be needed to know the faster effects B bassiana on An. maculatus larvae or eggs.*

*Key words: Beauveria bassiana, Anopheles maculatus, aquatic phase, laboratory*

#### **Abstrak**

*Beauveria bassiana dapat digunakan baik sebagai pengendali serangga pertanian maupun kesehatan. Penelitian ini bertujuan mengkaji efek B. bassiana terhadap An. maculatus pada fase akuatik di laboratorium. Sampel uji berupa telur dan larva An. maculatus dari koloni Banjarnegara. Telur dan larva instar II,III dan IV serta kontrol masing-masing sebanyak 10 ekor/butir dengan replikasi 6 kali dikontakkan dengan spora B. bassiana selama 15 menit dan selanjutnya dipindahkan ke aquades untuk dipelihara untuk dilakukan pengamatan, pengamatan dengan mikroskop compound terutama pada larva yang lemah/mati setiap 24 jam selama 192 jam (8 hari). Analisis probit membuktikan bahwa aplikasi B. bassiana pada telur menimbulkan efek kerusakan pada lapisan luar telur diketahui dari pengamatan dengan mikroskop serta mampu menghambat >60% telur tidak menetas. Simulasi dengan analisis probit menunjukkan lethal dose yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji (instar II,III maupun IV) adalah dosis konsentrasi spora  $1,713 \times 10^7$  (16 hari), sedangkan lethal dose yang dibutuhkan untuk membuat 50% telur tidak menetas adalah dosis konsentrasi spora  $1,361 \times 10^7$  (11,69 hari). Dibutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mempercepat efek B. bassiana terhadap larva maupun telur An. maculatus.*

*Kata kunci : Beauveria bassiana, Anopheles maculatus, akuatik, laboratorium*

## PENDAHULUAN

Pengendalian vektor menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 374/Menkes/Per/III/2010 adalah semua kegiatan atau tindakan yang ditujukan untuk menurunkan populasi vektor serendah mungkin sehingga keberadaannya tidak lagi berisiko untuk terjadinya penularan penyakit tular vektor di suatu wilayah atau menghindari kontak masyarakat dengan vektor sehingga penularan penyakit tular vektor dapat dicegah.<sup>1</sup> Dalam upaya pengendalian nyamuk utamanya untuk pengendalian malaria terdapat beberapa prinsip yang perlu diperhatikan yaitu: perlindungan diri dari gigitan nyamuk, pengendalian vektor nyamuk (penggunaan kelambu berinsektisida, *Indoor Residual Spraying/IRS*), diagnosis dini dan pengobatan, partisipasi sosial serta komunikasi, informasi dan edukasi. Pengendalian vektor sendiri dapat dilakukan dengan empat hal yaitu modifikasi dan manipulasi lingkungan, larvasida secara kimia dan biologi, penyemprotan insektisida di dalam dan luar rumah.<sup>2</sup> Pengendalian vektor menurut Juli Soemirat terbagi menjadi pengendalian vektor secara kimiawi, pengendalian vektor terpadu, pengendalian rekayasa, serta pengendalian biologis.<sup>3</sup>

Pengendalian vektor secara biologi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan memelihara musuh alami baik sebagai pemangsa maupun sebagai penyebab penyakit bagi vektor tersebut. Cara kedua adalah dengan mengurangi fertilitas yaitu dengan meradiasi nyamuk jantan sehingga steril dengan harapan perkawinannya dengan nyamuk betina mengakibatkan telur yang dibuahi tidak dapat menetas.<sup>3</sup> Efektivitas dari pengendalian secara biologi disamping ditentukan oleh kemampuan bahan untuk membunuh nyamuk juga memerlukan pengetahuan yang baik tentang bionomik dari vektor spesies dan kondisi ekologi lingkungan tempat aplikasi dilakukan. Hasil dari pengendalian secara biologi ini akan lebih baik lagi apabila dikombinasikan dengan metoda lain atau yang dikenal sebagai pengendalian vektor terintegrasi (*integrated vector control*).<sup>2</sup>

*Beauveria bassiana* merupakan jamur/cendawan yang dikenal sebagai entomopatogen.

Jamur ini mempunyai distribusi yang luas. Jamur ini termasuk dalam Kingdom: *Fungi*, *Phylum: Ascomycota*, *Ordo: Hypocreales*, *Family: Cordycipitaceae*, *Genus: Beauveria*, *Sub genus: Zooxanthellate*, *Species: Beauveria bassiana (Bals-Criv) Vuill 1912*.<sup>4</sup> Jamur ini diharapkan pula dapat dikembangkan sebagai pengendali vektor secara biologis.

Jamur ini banyak ditemukan dari hasil isolasi serangga yang telah mati, produksi konidia berjalan dengan baik dan mempunyai infeksi tinggi merupakan ciri khas dari *Beauveria*. *Beauveria* mempunyai miselium berwarna putih atau terang dengan konidiospora sendiri-sendiri. Percabangan miselium tertumpu pada suatu tempat dan secara mikroskopis pada media terlihat butiran tepung putih. Konidiospora dapat hidup pada suhu udara 20°C-30°C dengan pH netral dan selalu ditemukan bersama-sama dengan *Penicillium urticae* pada tanah berair.<sup>5</sup>

Jamur *B. bassiana* adalah jamur mikroskopik dengan tubuh berbentuk benang-benang halus (hifa). Kemudian hifa tadi membentuk koloni yang disebut miselia. Jamur ini tidak dapat memproduksi makanannya sendiri, oleh karena itu ia bersifat parasit terhadap serangga inangnya. Sistem kerjanya yaitu spora jamur *B. bassiana* masuk ke tubuh serangga inang melalui kulit, saluran pencernaan, spirakel dan lubang lainnya. Selain itu inokulum jamur yang menempel pada tubuh serangga inang dapat berkecambah dan berkembang membentuk tabung kecambah, kemudian masuk menembus kutikula tubuh serangga. Penembusan dilakukan secara mekanis dan atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Jamur ini selanjutnya akan mengeluarkan racun beauverin yang membuat kerusakan jaringan tubuh serangga. Dalam hitungan hari, serangga akan mati. Setelah itu, miselia jamur akan tumbuh ke seluruh bagian tubuh serangga. Serangga yang terserang jamur *B. bassiana* akan mati dengan tubuh mengeras seperti mumi dan tertutup oleh benang-benang hifa berwarna putih.<sup>6</sup> *Beauveria bassiana* merupakan jamur entomopatogen yang mempunyai tempat hidup pada temperatur dan kelembaban dengan spektrum luas yang menyebabkannya mudah beradaptasi pada berbagai kondisi. Penelitian ini merupakan

tahapan awal dari penelitian selanjutnya. Efek dari *Beauveria bassiana* pada *An. maculatus* fase akuatik belum diketahui. Penelitian ini bertujuan mengkaji efek *B. bassiana* terhadap *An. maculatus* pada fase akuatik di laboratorium.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan April-November 2015. Penelitian dilakukan dengan mengkoleksi nyamuk *An. maculatus* di Kabupaten Banjarnegara untuk dikembangkan. Pada penelitian ini ada empat kali perlakuan dengan 6 kali ulangan. Empat perlakuan tersebut berupa kontak dengan konsentrasi spora  $0,33 \times 10^7$ ,  $0,5 \times 10^7$  dan  $1 \times 10^7$  serta kontrol, yang masing-masing direplikasi/diulang 6 kali. Konsentrasi spora *B. bassiana* yang diinginkan diperoleh dengan cara mengambil koloni *B. bassiana* yang berumur 8-15 hari dengan ose steril dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan dimasukkan dalam tabung berisi 50 ml *aquades*, agar spora dapat dikeluarkan secara maksimal kemudian digoyang selama 30 menit dengan menambahkan 2-3 tetes *tween 80 reagen*, konsentrasi spora dihitung dibawah mikroskop compound perbesaran 100 kali dengan menggunakan hemositometer, apabila jumlah spora kurang maka dilakukan penambahan spora dari koloni *B. bassiana* dan proses diulangi lagi, apabila lebih diencerkan dengan menggunakan *aquades* dan dihitung lagi kepadatan spora. Sampel berupa telur dan larva instar II,III dan IV dikumpulkan masing-masing sebanyak 240 butir/ekor yang ditempatkan dalam 24 wadah terpisah masing-masing berisi 10 butir untuk sampel telur dan 10 ekor untuk sampel

berupa larva. Sampel telur dan larva nyamuk masing – masing dikontakkan dengan *B. bassiana* selama 15 menit dan selanjutnya dipindahkan ke gelas berisi *aquades* yang ditutup dengan kain kasa. Pengamatan baik untuk sampel larva maupun telur dilakukan sampai hari kedelapan. Pada gelas dengan larva yang berubah menjadi nyamuk, tutup kasa diberi kapas yang telah dicelupkan glukosa 10%. Setelah akhir pengamatan (hari ke 8), larva yang telah berubah menjadi nyamuk dipelihara menjadi satu walaupun pada saat pengamatan awal berasal dari instar II,III dan IV. Nyamuk-nyamuk tersebut tetap diberi pakan air gula dan diamati apabila terjadi perubahan.

## HASIL

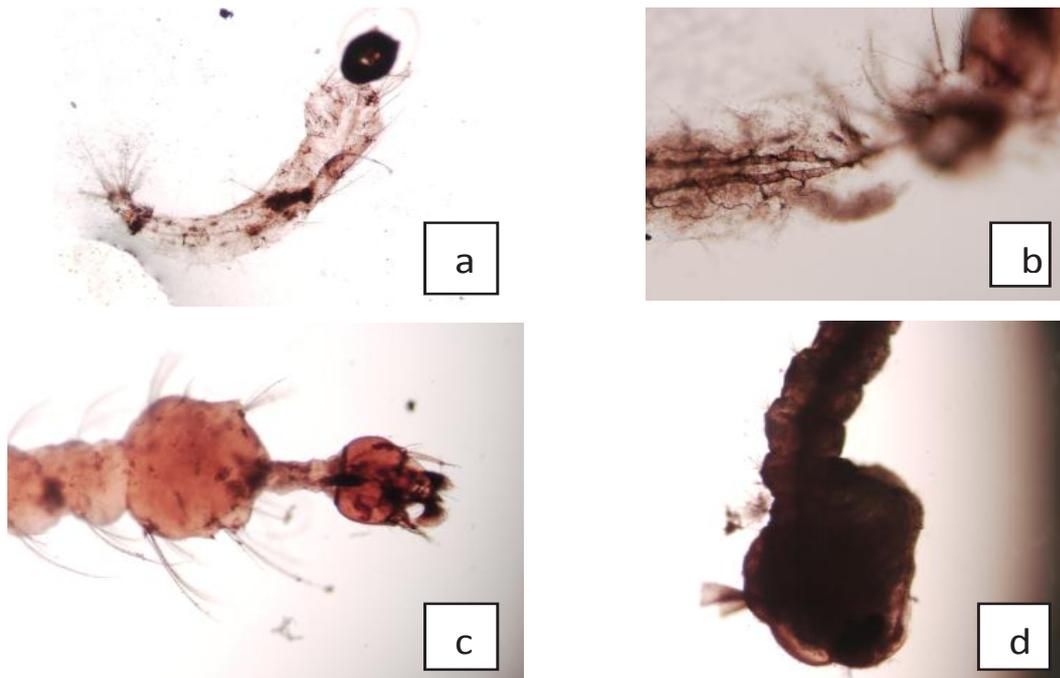
Aplikasi *B. bassiana* menunjukkan efek yang lambat terhadap larva uji. Semula penelitian ini direncanakan melakukan pengamatan sampai 4 hari setelah aplikasi, namun karena efek yang lambat sehingga pengamatan dilakukan sampai dengan 8 hari pasca aplikasi. Pengamatan mikroskopis menunjukkan spora jamur pada awal kontak pada lateral hair, utamanya pengamatan pada larva yang gerakannya tidak aktif. Gambar 2 berikut ini menunjukkan lokasi awal spora pada larva uji.

Pada akhirnya spora akan memenuhi seluruh tubuh dan mengganggu gerak larva yang akan menyebabkan kematian. Gambar tubuh larva yang rusak karena invasi spora *B. bassiana* sbb. Gambar 2 berikut ini menunjukkan kondisi larva mati dan pupa, serta kondisi yang diakibatkan invasi *B. bassiana*.



doc : Balai Litbang P2B2 Banjarnegara Tahun 2015,Compound mikroskop 40x10

**Gambar 1. Spora *B. bassiana* pada Larva Nyamuk**



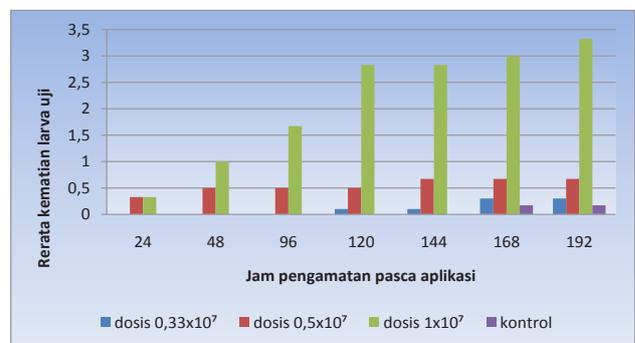
doc : Balai Litbang P2B2 Banjarnegara Tahun 2015

**Gambar 2 . Kondisi larva dan pupa yang rusak karena infasi spora di larva nyamuk. a. spora dan hifa yang menyelimuti nyamuk uji,kepala yang abnormal. b.bagian tubuh yang rusak utamanya abdomen. c.spora ditemukan pada lateral hair dan tubuh serta kondisi leher yang lebih panjang dari seharusnya. d. pupa yang mati, dengan spora pada *clipeal hair***

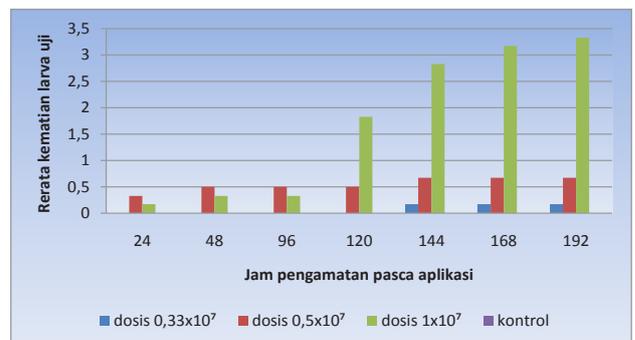
Aplikasi *B.bassiana* dengan tiga dosis spora yaitu  $0,33 \times 10^7$ ,  $0,5 \times 10^7$  dan  $1 \times 10^7$  pada larva instar IV menunjukkan bahwa dosis  $1 \times 10^7$  yang mempunyai kemampuan paling tinggi dalam membunuh larva uji, dengan rata-rata larva mati 3 ekor dari 10 larva yang diuji. Kematian larva mulai nampak pada 24 jam (1 hari) setelah dikontakkan meskipun sangat sedikit, pada larva yang dikontakkan dengan dosis spora  $0,5 \times 10^7$  dan  $1 \times 10^7$ . Sedangkan pada dosis  $0,33 \times 10^7$  kematian mulai muncul pada pengamatan jam ke 120 (5 hari) setelah aplikasi. Pada kontrol ditemukan adanya kematian pada jam ke 168 pasca aplikasi. Hal ini dapat diamati pada Gambar 3 berikut ini. Kelompok perlakuan yang masih hidup maupun kontrol larva tetap mengalami pertumbuhan menjadi nyamuk.

Kematian larva *An. maculatus* instar III setelah aplikasi spora *B. bassiana* menunjukkan trend yang tidak jauh berbeda dengan aplikasi yang dilakukan pada instar IV. Kematian larva sampai jam ke 192 trend (8 hari) tertinggi pada spora dengan dosis  $1 \times 10^7$ , dengan rerata kematian pada jam ke 192 (8 hari) berkisar 3 ekor dari 10 larva. Dosis terendah kematian larva ditunjukkan

pada jam ke 144 (6 hari). Informasi lebih lengkap dapat dicermati pada Gambar 4 berikut ini.

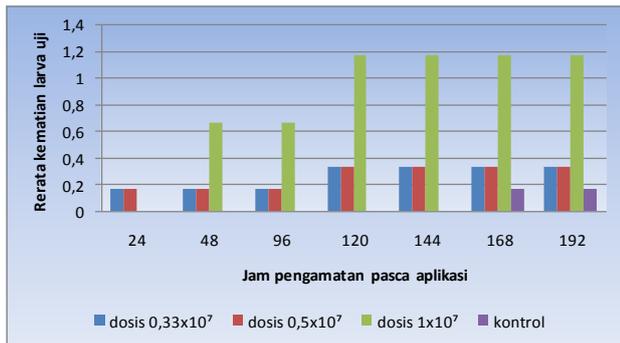


**Gambar 3. Kematian Larva *An. maculatus* Uji Instar IV Setelah Aplikasi *B bassiana***



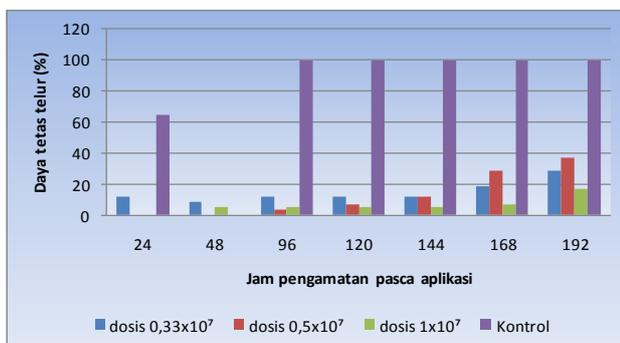
**Gambar 4. Kematian Larva *An. maculatus* Uji Instar III Setelah Aplikasi *B bassiana***

Aplikasi *B. bassiana* pada larva *An. maculatus* instar 2 menunjukkan trend yang sama bahwa dosis  $1 \times 10^7$  yang paling banyak menimbulkan kematian. Meskipun demikian jumlah kematian yang ditimbulkan tidak sebanyak dosis lainnya pada jam ke 192 (8 hari) rata-rata 1 larva yang mati. Namun pada dosis 0,33 pada instar 2 kematian larva mulai nampak pada 24 jam pengamatan setelah aplikasi. Selengkapnya dapat dilihat pada gambar 5 berikut ini:



**Gambar 5. Kematian Larva *An. maculatus* uji Instar II Setelah Aplikasi *B. bassiana***

Aplikasi terhadap telur ditunjukkan pada Gambar 6 di bawah ini. Daya tetas telur untuk perlakuan dosis *B. bassiana*  $1 \times 10^7$  berada dibawah 20% sedangkan dosis  $0,33 \times 10^7$  dan  $0,5 \times 10^7$  daya tetas telur diantara 20-40% pada pengamatan jam ke-192 (8 hari) setelah aplikasi. Pengamatan pada kontrol pada jam ke-72(3 hari) semua telur menetas, atau dapat dinyatakan pada akhir pengamatan di hari ke-8 semua telur pada kontrol telah menetas. Telur yang menetas berhasil menjadi larva, namun gerakan larva lemah apabila disentuh dengan jarum dibandingkan kontrol dan selanjutnya mati pada instar I-II larva, dengan tubuh ditumbuhi jamur *B. bassiana*.



**Gambar 6. Daya Tetas Telur *An. maculatus* Setelah Aplikasi *B. bassiana***

Pada larva aplikasi awal instar II,III maupun IV yang tidak mati dibiarkan hidup sampai menjadi nyamuk dikumpulkan dalam satu paper cup dan dilakukan pengamatan. Hasilnya setelah menjadi nyamuk mati dengan tubuh tertutup hifa jamur yang semakin hari semakin banyak. Gambar 7 menunjukkan kondisi nyamuk 7 hari setelah kematian (Gambar 7).



Doc: Balai litbang P2B2 Banjarnegara

**Gambar 7. Tubuh Nyamuk yang Berselimut Hifa *B. bassiana***

Hasil analisis probit konsentrasi spora yang mampu membunuh 50% specimen uji pada berbagai instar larva ditunjukkan pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1 menunjukkan konsentrasi tertinggi spora yang dibutuhkan untuk membunuh larva adalah  $2,959 \times 10^7$  yang dapat membunuh 50% larva instar III. Sedangkan konsentrasi terendah untuk membunuh 50% larva instar IV adalah  $1,903 \times 10^7$ . Apabila digabungkan semua jenis instar maka dosis yang mampu membunuh 50% sampel uji adalah  $1,713 \times 10^7$  pada interval kepercayaan 95% terletak antara  $1,568 \times 10^7$ - $1,913 \times 10^7$ . Untuk konsentrasi spora yang dibutuhkan untuk membuat 50% telur *An. maculatus* tidak menetas adalah  $1,361 \times 10^7$ .

Penghitungan *lethal time* pada dosis yang paling efektif dilakukan pada dosis yang paling dekat dengan LC50 yaitu dosis  $1 \times 10^7$  diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 2. menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji pada dosis  $1 \times 10^7$  adalah 280,63 jam atau sekitar 11,69 hari.

Tabel 3 menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk membuat 50% telur tidak menetas pada konsentrasi/dosis aplikasi  $1 \times 10^7$  adalah 384,204 jam atau sekitar 16 hari.

**Tabel 1. Konsentrasi Spora yang Mampu Membunuh 50% Larva Uji pada Berbagai Instar**

% kematian pada larva Instar	Konsentrasi spora	Tingkat Kepercayaan (%)	Interval Kepercayaan	
IV	50	1,903x10 <sup>7</sup>	95	1,558<LC< 2,587
III	50	2,959x10 <sup>7</sup>	95	2,101<LC< 5,460
II	50	2,456x10 <sup>7</sup>	95	1,913<LC< 3,844
II-IV	50	1,713x10 <sup>7</sup>	95	1,568<LC<1,913

**Tabel 2. Waktu yang Dibutuhkan untuk Membunuh 50% Larva Uji pada Dosis Aplikasi 1X10<sup>7</sup>**

% Jumlah kematian larva pada dosis 1x10 <sup>7</sup>	Waktu	Tingkat Kepercayaan (%)	Interval Kepercayaan	
II,III,IV	50	280,634	95	244,472<LT< 344,574

**Tabel 3. Waktu yang Dibutuhkan untuk Membuat 50% Telur tidak Menetas pada Dosis Aplikasi 1x10<sup>7</sup>**

% jumlah telur tidak menetas pada dosis 1x10 <sup>7</sup>	Waktu	Tingkat Kepercayaan (%)	Interval Kepercayaan
50	384,204	95	283,506<LT<841,923

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kultur *B. bassiana* dapat dilakukan dengan baik di laboratorium pada kondisi aseptis. Efek *B. bassiana* pada *An. maculatus* bekerja secara lambat, sehingga pengamatan yang semula dilakukan selama 96 jam/4 hari diperpanjang menjadi 192 jam/8 hari. Pengamatan pada mikroskop compound dengan perbesaran 10x10 dilanjutkan 40x10 menunjukkan spora jamur pada hari-hari pertama pengamatan telah menempel pada *lateral hair*. Mekanisme pengendalian serangga oleh *B. bassiana* adalah melalui infeksi langsung hifa atau spora *B. bassiana* ke dalam kutikula melalui kulit luar serangga. Pertumbuhan hifa akan mengeluarkan enzim kitinase dan toksin. Enzim tersebut adalah enzim kitinase yang selain dapat mendegradasi kitin pada kutikula juga pada membran pencernaan, sehingga hifa tersebut mampu menembus dan masuk serta berkembang di dalam tubuh serangga. Setelah menembus tubuh serangga, perilaku inang akan berubah, dengan terjadinya paralisis yang menyebabkan gangguan bergerak. Kematian inang lebih banyak disebabkan oleh aktifitas toksin dibandingkan penyebab lain. Toksin yang dihasilkan oleh *B. bassiana* antara lain beauverisin, beauverolit, dan isorolit. Toksin tersebut dapat merusak enzim serta mampu menerobos masuk ke dalam organ

dan merusak jaringan atau organ hemokoel. Kerusakan yang ditimbulkan menyebabkan tidak berfungsinya organ sehingga aktivitas fisiologi terganggu. Organ yang sering dirusak oleh toksin antara lain otot, saluran pencernaan, saraf, jaringan lemak, dan saluran pernafasan. Akibatnya gerakan dan pertumbuhan serangga menjadi tidak normal. Kematian inang lebih banyak disebabkan oleh aktifitas toksin dibandingkan penyebab lain.<sup>7,8,9,10</sup> Hal yang terjadi setelah serangga inang mati, *B. bassiana* akan mengeluarkan antibiotik, yaitu Oosporein yang menekan populasi bakteri dalam perut serangga inang. Hal ini menyebabkan seluruh tubuh serangga inang akan penuh oleh propagul *B. bassiana*. Pada bagian lunak dari tubuh serangga inang, jamur ini akan menembus keluar dan menampakkan pertumbuhan hifa di bagian luar tubuh serangga inang yang biasa disebut "white bloom". Pertumbuhan hifa eksternal akan menghasilkan konidia yang bila telah masak akan disebarkan ke lingkungan dan menginfeksi serangga sasaran baru.<sup>11</sup> Secara umum infeksi *B. bassiana* pada manusia sangat jarang terjadi, terjadi infeksi karena kondisi kesehatan manusia yang sangat buruk.<sup>12</sup> Jamur ini bukan termasuk parasit pada manusia maupun vertebrata, tetapi masalah alergi kulit, terutama pada manusia yang memiliki bakat alergi dapat terjadi apabila kontak terbuka secara terus menerus. Penelitian di laboratorium dengan metode *intra dermal skin*

*testing* menunjukkan *B. bassiana* berpotensi kuat menimbulkan alergi (35kDa), namun belum diteliti lebih lanjut tentang lingkungan, kegawatan dan rentang alergi.<sup>13,14</sup>

Penelitian ini menunjukkan hal yang sama yang mana secara fisik larva yang terinfeksi *B. bassiana* mengalami gangguan gerak pada kisaran hari ke-3 dan ke-4, apabila disentuh dibandingkan larva pada control. Namun demikian rata-rata larva yang tetap mampu berkembang lebih banyak dari larva yang mati, hal ini dimungkinkan karena waktu kontak larva dengan spora *B. bassiana* yang dilakukan selama 15 menit.

Ketiga dosis spora *B. bassiana* yang diaplikasikan pada larva instar IV, III dan II maupun telur menunjukkan bahwa dosis  $1 \times 10^7$  yang mempunyai kemampuan paling tinggi dalam membunuh larva uji maupun menghambat kemampuan telur untuk menetas. Kematian pada larva instar II, III dan IV menunjukkan trend yang tidak jauh berbeda. Daya tetas telur pada aplikasi dosis *B. bassiana*  $1 \times 10^7$  berada dibawah 20% sedangkan pada dosis  $0,33 \times 10^7$  dan  $0,5 \times 10^7$  daya tetas telur diantara 20-40% pada pengamatan jam ke-192 setelah aplikasi. Hasil penelitian pada kutu anjing menunjukkan pada dosis  $1 \times 10^7$  dengan waktu kontak 3 menit menunjukkan bahwa efek dari *B. bassiana* baik pada fase telur, larva, nimfa maupun dewasa menunjukkan kematian yang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada hari ke-5 setelah dipaparkan. Tidak ada telur yang menetas dan tidak ada larva yang berubah menjadi nimfa. Hanya 15% nimfa yang tumbuh menjadi dewasa pada kelompok betina yang tidak diberi makan.<sup>12</sup> Hasil penelitian aplikasi *B. bassiana* yang disemprotkan terhadap telur hama penggerek ubi jalar (*Cylas formicarius*) menunjukkan pada konsentrasi 108 konidia/ml berpengaruh dalam menekan penetasan telur. Pada umur 0-4 hari sebesar 0%. Umur telur 5 hari 26,67% , umur telur 6 hari 36,67% dan umur telur 7 hari 56,67%. Semakin muda umur telur semakin rentan terhadap *B. bassiana*.<sup>13</sup> Hal ini diduga karena pada umur muda exochorion telur masih rentan terhadap gangguan dari luar termasuk *B. bassiana*.

Akhir pengamatan yaitu jam ke 192 (hari ke-8) pada kontrol semua telur menetas, dengan waktu menetas yang bervariasi. Pada larva

aplikasi awal instar II, III maupun IV yang tidak mati dibiarkan hidup sampai menjadi nyamuk dikumpulkan dalam satu papercup dan dilakukan pengamatan. Hasilnya setelah menjadi nyamuk mati dengan tubuh tertutup hifa jamur.

Hasil analisis probit menunjukkan bahwa konsentrasi spora yang dibutuhkan untuk membunuh larva nyamuk *An. maculatus* pada instar II, III maupun IV lebih besar dari dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Secara umum dosis yang dibutuhkan untuk membunuh larva uji pada gabungan instar II, III dan IV adalah sebesar  $1,713 \times 10^7$ .

Perhitungan LT50 yang dilakukan terhadap dosis yang paling tinggi pada penelitian ini yaitu dosis  $1 \times 10^7$  menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% serangga uji adalah 280,63 jam atau setara 11,69 hari.

## KESIMPULAN

Aplikasi *B. bassiana* pada telur menimbulkan efek kerusakan pada lapisan luar telur serta mampu menghambat >60% telur tidak menetas. Aplikasi *B. bassiana* pada berbagai dosis pada larva instar II, III dan menunjukkan pada 24 jam pertama spora telah menempel pada lateral hair, pada 48 jam beberapa larva ditemukan spora pada tubuh larva utamanya thorax dan abdomen. Larva yang telah mati menunjukkan kerusakan pada tubuhnya dan leher yang memanjang. Larva yang berhasil dewasa mati dalam kondisi tubuh tertutup hifa jamur. Lethal dosis yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji (instar II, III maupun IV) adalah dosis konsentrasi spora  $1,713 \times 10^7$ . Lethal dosis yang dibutuhkan untuk membuat 50% telur tidak menetas adalah dosis konsentrasi spora  $1,361 \times 10^7$ . Waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji pada dosis spora  $1 \times 10^7$  adalah 11,69 hari. Waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% telur tidak menetas pada dosis spora  $1 \times 10^7$  adalah 384, jam atau setara dengan 16 hari

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala Balai Litbang P2B2 Banjarnegara beserta

seluruh staf untuk bantuan dan kerjasamanya selama pelaksanaan penelitian. Kepada Bapak Bambang Sukana, SKM,M.Kes dan Miko Hananto, SKM,M.Kes dari Panitia Pembina Ilmiah Puslitbang Upaya Kesehatan Masyarakat Badan Litbangkes yang telah memberikan bimbingan dan arahan. Terima kasih kami haturkan pula kepada rekan-rekan di Loka Litbang P2B2 Ciamis yang menjadi rekan diskusi serta kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian yang tak dapat kami sebutkan satu persatu.

#### DAFTAR RUJUKAN

1. Permenkes No. 374/Menkes/Per/II/2010 Tentang Pengendalian Vektor.pdf.diakses tanggal 2 Desember 2015
2. Warrell DA HMG. Essential Malariology. United States of America: Oxford University Press Inc.; 2002.
3. Slamet JS. Kesehatan Lingkungan. Yogyakarta: Gajah Mada University Press; 2009.
4. [http://zipcodezoo.com/Fungi/B/Beauveria\\_bassiana](http://zipcodezoo.com/Fungi/B/Beauveria_bassiana). Taxonomy Beauveria bassiana. diakses tgl 7 Februari 2013
5. Ling and Donaldson dalam Munif A. Patogenitas Cendawan Beauveria bassiana terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti dan Culex pipiens quinquefasciatus di Laboratorium. Bul Penelit Kes. 1991;3.
6. Jamur Bermanfaat dalam pertanian. Label : Beauveria bassiana. Laboratorium BTPPH Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. [www.google.com](http://www.google.com) diakses tanggal 2 Januari 2014
7. Wahyudi P. Enkapsulasi Propagul Jamur Entomopatogen Beauveria bassiana Menggunakan Alginat dan Pati Jagung sebagai Produk Mikoinsektisida. 2008;6(2):51–56.
8. Toharisman, A. Peluang pemanfaatan enzim kitinase di industri gula. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. 2008.
9. Burges, H.D. (ed.). Microbial Control of Pest and Plant Disease, 1970-1980. 1st ed. London: Academic Press; 1981
10. Benz, 1963; Cheung dan Gula, dalam Suntoro. 1991. Uji Efikasi Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. Terhadap Hypothenemus hampei (Ferr.) Tesis S2. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 1982.
11. Wahyudi P. Produksi insektisida berbahan aktif jamur entomopatogen Beauveria bassiana. J. Sains dan Teknologi Indonesia. Edisi Teknologi Proses. 1999.1(9):36-42.
12. Ikawati B. Beauveria bassiana sebagai Alternatif Hayati dalam Pengendalian Nyamuk. J Vektor Penyakit. 2016;10(1):19–24.
13. Jamur: Insektisida biologis yang ramah lingkungan. Cakrawala; 2004.
14. Westwood GS, Shih WH NO. Allergens of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana. Clin Mol Allergy. 2005;3(1):1–8. Available at: <http://www.clinicalmolecularallergy.com>.