

**POTENSI LIMBAH KULIT UDANG SEBAGAI SUMBER NUTRISI BAGI
PERTUMBUHAN *Metarhizium anisopliae* YANG DIUJIKAN PADA NYAMUK
*Aedes aegypti***

N. Anisa'a¹, Witiyasti Imaningsih^{1,2*}, Muhammat¹

¹Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km. 36,
Banjarbaru-Kalsel

² Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A.
Yani Km. 35,8, Banjarbaru- Kalsel

*Email:witiyasti.imaningsih@ulm.ac.id

ABSTRACT

Shrimp shell waste is a waste from the shrimp freezing production process. Shrimp shell waste has the potential to be a source of nutrients for the growth and virulence of *Metarhizium anisopliae*. This study aims to calculate the amount of conidiospores and find out the virulence levels of *M. anisopliae* grown in PDA media with the addition of nutrient sources (yeast extract, KNO₃, and media without additional nutrients). In this study the test insect used was the *Aedes aegypti* mosquito, which was observed every 24 hours for 96 hours. The results showed that the highest amount of conidiospores and virulences were produced by PDA media with the addition of a 0.25% source of nutrients derived from shrimp shell waste.

Keywords: *Ae. aegypti*, entomopathogenic, KNO₃, *M.anisopliae*, yeast extract

PENDAHULUAN

Limbah merupakan bahan buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga). Limbah dianggap sebagai bahan buangan yang tidak memiliki nilai ekonomis, limbah memerlukan penanganan yang tepat agar tidak

industri makanan. Semakin besar jumlah produksi yang dilakukan maka akan semakin besar pula limbah yang dihasilkan.

menyebabkan pencemaran lingkungan. Limbah dalam jumlah besar dihasilkan dari proses produksi suatu industri. Salah satu limbah yang dapat menyebabkan pencemaran di lingkungan adalah kulit udang. Limbah kulit udang berasal dari proses pembekuan udang, pembuatan terasi, udang kering (ebi), serta kerupuk udang yang diproduksi oleh berbagai

Pemanfaatan limbah kulit udang hingga saat ini belum optimal, limbah dari proses produksi dari industri ini dapat menimbulkan bau yang tidak sedap dan

dapat merusak estetika lingkungan akibat penumpukan dan tidak dimanfaatkan. Rokhati (2006) menyatakan, limbah kulit udang hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Secara umum limbah kulit udang memiliki kandungan yang dapat dimanfaatkan sebagai faktor pemicu pertumbuhan bagi mikroorganisme. Menurut Darmawan (2007), limbah kulit udang mengandung komponen seperti protein (25% - 40%), nitrogen (4% - 6,5%), dan kitin (15% - 20%).

Kandungan organik seperti protein, nitrogen dan kitin dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme untuk perkecambahan maupun pembentukan dinding sel. Nutrisi pada media tumbuh menjadi salah satu faktor penting bagi mikroorganisme, salah satunya adalah cendawan entomopatogen.

Cendawan entomopatogen adalah cendawan yang bersifat parasit bagi serangga hama. Cendawan entomopatogen merupakan salah satu agen hayati yang dapat mempengaruhi dan menekan perkembangan serangga hama. Menurut Prayogo (2006), cendawan ini dapat menginfeksi dan membunuh serangga. Pemanfaatan cendawan entomopatogen sebagai agen hayati merupakan salah satu

penggunaan teknologi yang ramah lingkungan.

Metarhizium anisopliae merupakan salah satu cendawan entomopatogen yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai mikoinsektisida, yaitu pembasmi serangga yang berbahan aktif cendawan. *M. anisopliae* dapat menginfeksi serangga dari berbagai ordo seperti, Orthoptera, Coleoptera, Diptera. Cendawan ini bersifat parasit bagi serangga hama dan bersifat saprofit di tanah dengan cara menyerap nutrisi dari organisme yang telah mati. *M. anisopliae* sangat potensial digunakan untuk pengendalian serangga hama termasuk nyamuk *Aedes aegypti*.

M. anisopliae dalam hidupnya memerlukan nitrogen sebagai pemicu pertumbuhan hifa dan perkecambahan. Nitrogen merupakan salah satu komponen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Keberadaan nitrogen sangat penting terutama untuk membantu pertumbuhan. Nitrogen dapat disediakan dalam bentuk nitrat, ammonia atau bahan organik seperti asam amino atau protein. Kebutuhan unsur nitrogen juga merupakan faktor yang sangat penting bagi pertumbuhan cendawan entomopatogen, khususnya untuk pertumbuhan organel yang berperan dalam pembentukan apikal hifa serta memicu perkecambahan.

Cendawan entomopatogen memerlukan media dengan kandungan nitrogen yang cukup untuk membantu produksi konidiosporanya (Heriyanto & Suharno, 2008).

Produksi konidiospora erat kaitannya dengan nutrisi dan virulensinya. Menurut Prayogo *et al.* (2005), sporulasi *M. anisopliae* dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dari media yang digunakan. Media tumbuh juga mempengaruhi virulensi *M. anisopliae*. Media yang dipakai untuk menumbuhkan cendawan sangat menentukan laju pembentukan koloni dan jumlah konidia selama pertumbuhan. Jumlah konidia akan menentukan keefektifan cendawan dalam mengendalikan serangga. Makin tinggi kerapatan konidia *M. anisopliae*, makin tinggi pula virulensinya.

METODE PENELITIAN

Prosedur kerja pada penelitian ini diawali dengan peremajaan *M. anisopliae*, dilanjutkan dengan perbanyak inokulum, perhitungan konidiospora, pembuatan suspensi, kemudian pembuatan suspensi untuk uji hayati, membuat rancangan percobaan, serta melakukan uji hayati terhadap nyamuk *Ae. aegypti* menggunakan suspensi konidiospora

Peremajaan *M. anisopliae*

Peremajaan dilakukan dengan cara menumbuhkan *M. anisopliae* pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang. Untuk melihat kemurnian biakan dan kemungkinan terjadinya kontaminasi, dilakukan pengamatan setiap 2 hari sekali. Digunakan cendawan *M. anisopliae* yang berumur 3-7 hari sebagai biakan kerja.

Perbanyak Inokulum

Perbanyak inokulum dilakukan dengan cara *M. anisopliae* diinokulasi menggunakan jarum ant pada media PDA dengan penambahan Nutrisi dengan konsentrasi yang sudah ditentukan (penambahan yeast ekstrak 0,2%, KNO₃ 0,2% (Baskar *et al.*, 2012), limbah kulit udang 0,20% dan 0,25%). Inokulan ini kemudian disimpan pada suhu ruang dan dilakukan pemanenan konidiospora pada hari ke 7 (Prayogo *et al.*, 2005). Dilakukan pengamatan pada perubahan warna koloni dan diameter koloni *M. anisopliae*

Perhitungan Konidiospora, Pembuatan Suspensi *M. anisopliae*

Perhitungan konidiospora *M. anisopliae* dilakukan dengan cara menambahkan akuades sebanyak 5 ml ke dalam biakan *M. anisopliae* dalam cawan

petri. Cawan petri digoyang dengan tangan sehingga seluruh konidiospora yang menempel pada media terlepas. Suspensi konidiospora yang terkumpul kemudian dipindahkan kedalam tabung reaksi menggunakan pipet tetes. Selanjutnya suspensi spora diambil dari tabung dengan mikropipet sebanyak 0,5 ml, diteteskan di permukaan preparat *haemocytometer* pada 2 sisi dan ditutup dengan *cover glass*. Dilakukan perhitungan jumlah konidiospora yang tampak dalam ruang hitung pada *haemocytometer*. Perhitungan dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan dan dirata-ratakan, kemudian dihitung sesuai rumus berikut :

$$\text{Jumlah sel/ml} = \text{jumlah rata-rata sel} \times 2,5 \times 10^5$$

Keterangan : $2,5 \times 10^5 =$ faktor

koreksi *haemocytometer*

Pembuatan suspensi untuk Uji hayati

Pembuatan suspensi untuk uji hayati dilakukan menggunakan metode pengenceran, yaitu dengan cara, memasukkan suspensi konidiospora ke dalam tabung pengenceran pertama ($1/10$ atau 10^{-1}) secara aseptis (dari preparasi suspensi). Perbandingan volume sampel dengan volume akuades yang dimasukkan

dalam tabung pertama adalah 1 : 9. Setelah sampel dimasukkan lalu dikocok hingga homogen. Selanjutnya diambil 1 ml dari tabung 10^{-1} dengan mikropipet kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis dan dikocok hingga homogen. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama (hingga didapatkan kerapatan konidiospora sebesar 10^7 sel/ml). Pada setiap tingkat pengenceran digunakan tip pipet steril yang berbeda.

Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 5 (lima) perlakuan dengan 3 (tiga) kali pengulangan sehingga di dapatkan 15 (lima belas) satuan percobaan. Perlakuan yang digunakan yaitu penambahan nitrogen dari sumber yang berbeda, dengan rincian sebagai berikut:

P = PDA tanpa nutrisi tambahan*

YE = Penambahan yeast ekstrak 0,20 % (Baskar *et al.*, 2012)**

K = Penambahan KNO_3 0,20 % (Baskar *et al.*, 2012)**

LU = Penambahan limbah kulit udang dengan kandungan nutrisi sebesar 0,20 %

LU = Penambahan limbah kulit udang dengan kandungan nutrisi sebesar 0,25 %

Keterangan : * = kontrol negatif

** = kontrol positif

Uji Hayati

Uji hayati dilakukan dengan cara menyiapkan dua kandang nyamuk yang berukuran 30 x 30 x 30 cm (A) dan yang berukuran 70 x 70 x 70 cm (B), nyamuk dewasa *Ae. aegypti* sebanyak 25 ekor dengan kisaran usia 2-3 hari (WHO, 1996) untuk tiap perlakuan dimasukkan ke dalam kandang A. Kemudian disiapkan suspensi berisi konidia cendawan *M. anisopliae* yang telah dibuat sebelumnya. Kandang nyamuk A dimasukkan ke dalam kandang B yang salah satu sisinya terbuka. Setelah itu disemprotkan suspensi yang berisi konidia cendawan *M. anisopliae* terhadap nyamuk *Ae. aegypti* menggunakan *sprayer* sesuai dengan perlakuan. *Sprayer* yang digunakan adalah *sprayer* dengan tekanan yang sama dan disemprotkan selama 10 detik pada setiap kandang, sehingga konsentrasi yang diberikan pada setiap perlakuan sama yaitu sebesar 10^7 sel/ml (lampiran 3). Kandang

nyamuk yang sudah disemprot dibiarkan kurang lebih 1 jam kemudian diambil dan ditempatkan di ruang tertutup dan steril. Dilakukan pengamatan setiap 24 jam sekali selama 96 jam dengan mengamati tingkat mortalitas nyamuk *Ae. aegypti*.

Analisis Data

Data jumlah konidiospora dan virulensi *M. anisopliae* dianalisis menggunakan ANAVA. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ) Tukey pada taraf uji 5 %. Untuk mengetahui adanya hubungan antara jumlah konidiospora dengan jumlah kematian serangga uji (*Ae. aegypti*) akan dianalisis menggunakan uji korelasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan data diameter koloni cendawan *M. anisopliae* (tabel 1), jumlah konidiospora (gambar 4), mortalitas nyamuk *Ae. aegypti* yang dipapar dengan *M. anisopliae* (tabel 2), hasil analisis uji ANAVA (tabel 3), hasil analisis uji normalitas (tabel 4), hasil analisis uji korelasi (tabel 5), dan mumifikasi *M. anisopliae* pada tubuh nyamuk *Ae. aegypti* (gambar 5).

Diameter koloni cendawan *M. anisopliae* pada media dengan penambahan sumber nutrisi berbeda

Diameter koloni cendawan *M. anisopliae* pada berbagai sumber nitrogen

yang berbeda memiliki hasil yang bervariasi (tabel 1). Diameter koloni cendawan *M. anisopliae* berkisar antara 4 cm hingga 10 cm.

Tabel 1. Diameter koloni cendawan *M. anisopliae* pada berbagai sumber Nutrisi yang berbeda (LU0,20%, LU 0,25%, KNO₃, YE dan tanpa nutrisi tambahan)

Sumber Nutrisi	Diameter koloni (cm)							keterangan
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5	Hari ke-6	Hari ke-7	
Limbah kulit udang 0,20%	7	9	10	10	10	10	10	Cepat
Limbah kulit udang 0,25%	8	10	10	10	10	10	10	Cepat
KNO ₃	4	5,5	8	10	10	10	10	Sedang
Yeast ekstrak	5	7	9	10	10	10	10	Sedang
Tanpa nutrisi tambahan	7	8,3	10	10	10	10	10	Cepat

Limbah kulit udang 0,20% yang ditambahkan pada media untuk menumbuhkan *M. anisopliae* pada hari pertama diameter koloninya sepanjang 7 cm, pada hari kedua 9 cm dan pada hari ketiga hingga hari ketujuh diameter koloninya telah memenuhi cawan petri. Limbah kulit udang 0,25 % yang ditambahkan pada media pertumbuhan *M. anisopliae* pada hari pertama diameter koloninya sepanjang 8 cm, pada hari kedua hingga hari ketujuh diameter koloninya telah memenuhi cawan. Demikian pula dengan *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media tanpa nutrisi tambahan pada hari ketiga hingga hari ketujuh sudah

memenuhi cawan petri dan stabil. Sedangkan untuk media dengan penambahan sumber nutrisi yang berasal dari KNO₃ dan yeast ekstrak diameter koloninya tergolong sedang, karena pada hari keempat baru memenuhi cawan petri (tabel 1).

Diameter koloni cendawan *M. anisopliae* pada berbagai media dengan penambahan sumber nutrisi yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda pula. Berdasarkan hasil, media yang telah ditambahkan sumber nutrisi yang berbeda (limbah kulit udang dan media tanpa nutrisi tambahan) mengalami perkembangan yang cepat dan warna koloni yang sama,

sedangkan untuk media yang ditambahkan sumber nutrisi yeast ekstrak dan KNO_3 memiliki tingkat perkembangannya dalam skala sedang serta memiliki perbedaan warna koloni.

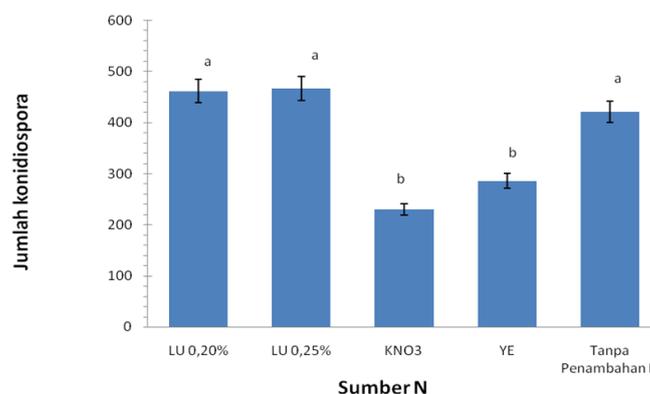
Pada hari terakhir media yang diberi penambahan limbah kulit udang setelah tumbuh memenuhi cawan petri berwarna hijau tua, sama halnya dengan media tanpa penambahan nutrisi. Media yang ditambahkan dengan KNO_3 berubah menjadi hijau pucat, sedangkan media yang diberi penambahan yeast ekstrak berubah menjadi hijau kekuningan. Perbedaan warna pada masing-masing media ini diduga disebabkan oleh adanya perbedaan sumber nutrisi yang disediakan.

Nitrogen diperlukan oleh semua organisme untuk mensintesis asam amino, protein dan asam nukleat yang diperlukan untuk membentuk protoplasma. Cendawan

mungkin menggunakan nitrogen anorganik dalam bentuk nitrat, nitrit, amoniak ataupun nitrogen organik dalam bentuk asam amino (Moore & Landecker, 1996).

Jumlah Konidiospora *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi yang berbeda

Jumlah konidiospora tertinggi dihasilkan oleh *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi dari limbah kulit udang 0,25% yaitu sebesar $4,67 \times 10^7$ sel/ml, diikuti oleh *M. anisopliae* pada media dengan penambahan limbah kulit udang 0,20%, tanpa nutrisi tambahan, yeast ekstrak dan KNO_3 , yaitu secara berturut-turut sebesar $4,62 \times 10^7$ sel/ml, $4,21 \times 10^7$ sel/ml, $2,86 \times 10^7$ sel/ml dan $2,30 \times 10^7$ sel/ml (gambar 1).



Gambar 1. Grafik perbandingan jumlah konidiospora pada media dengan penambahan sumber nutrisi dari limbah kulit udang (LU), KNO_3 , Yeast ekstrak (YE) dan pada media tanpa nutrisi tambahan. Bar yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Jumlah konidiospora tertinggi diperoleh dari *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan limbah kulit udang 0,25%, selanjutnya diikuti oleh *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan limbah udang 0,20%, *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media tanpa nutrisi tambahan, *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan yeast ekstrak dan jumlah konidiospora yang paling rendah diperoleh oleh *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan KNO_3 (lampiran 6). Penambahan sumber nitrogen yang berasal dari limbah kulit udang lebih tinggi jumlah kerapatan konidiosporanya yaitu sebesar $4,67 \times 10^7$ sel/ml, dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa limbah kulit udang dapat dijadikan sebagai media tumbuh alternatif bagi cendawan entomopatogen khususnya cendawan *M. anisopliae*.

Pada penelitian ini perbedaan nutrisi yang ada pada media memiliki pengaruh pada hasil produksi konidiospora. Sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Soetopo & Indrayani (2007) yang menyatakan bahwa perbedaan kandungan nutrisi sangat mempengaruhi produksi konidiospora. Oleh karena itu, pemilihan

media harus dilakukan secara tepat. Penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Prayogo, *et al.*, (2005), menyatakan bahwa sporulasi *M. anisopliae* dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dari media tumbuh yang digunakan. Media tumbuh yang mengandung komponen nitrogen dari unsur organik paling bagus digunakan untuk menumbuhkan *M. anisopliae*.

Banyaknya jumlah konidiospora yang menginfeksi mengakibatkan tubuh nyamuk tidak mampu bertahan dari serangan patogen. Semakin banyak spora yang melekat pada kutikula nyamuk, maka semakin banyak pula spora yang melakukan penetrasi terhadap kutikula tersebut. Semakin banyak nyamuk yang mati, maka akan meningkatkan persentase tingkat kematian.

Uji hayati *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi berbeda

Jumlah konidiospora yang ditumbuhkan pada media dengan sumber nutrisi yang berbeda menunjukkan tingkat virulensi yang bervariasi (tabel 2). Rata-rata jumlah kematian nyamuk *Ae. aegypti* memiliki kisaran dari nilai terendah hingga nilai tertinggi yaitu 0,3 – 3,7 ekor/hari.

Tabel 2. Mortalitas nyamuk *Ae. aegypti* yang dipapar dengan *M. anisopliae*

Sumber Nutrisi	Jumlah rata-rata nyamuk yang mati (ekor)				Rata-rata (ekor)/hari
	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
Limbah kulit udang 0,20%	3,7	2,3	1,3	1	2,08
Limbah kulit udang 0,25 %	3	4	4	2	3,25
KNO ₃	1,3	1	0,6	1,3	1,05
Yeast ekstrak	0,3	1,3	1,3	1,6	1,13
Tanpa nutrisi tambahan	1,6	1,6	2,7	1	1,73

Berdasarkan hasil, jumlah rata-rata kematian nyamuk tertinggi adalah dengan penambahan sumber nutrisi yang berasal dari limbah kulit udang 0,25 % yaitu sebesar 3,25 ekor nyamuk mati/hari. penambahan nutrisi pada masing-masing medium tidak berpengaruh nyata terhadap kematian nyamuk baik terhadap perlakuan maupun terhadap pengulangan (lampiran 10), berdasarkan hasil dari analisis ANAVA menunjukkan hasil yang tidak signifikan

Berdasarkan hasil analisis uji normalitas dapat dilanjutkan dengan uji korelasi. Dari hasil uji korelasi dapat diketahui bahwa jumlah konidiospora berkorelasi nyata terhadap jumlah kematian nyamuk. Hal ini dapat dilihat dari hasil korelasi pearson, yaitu sebesar 0,835 atau P = mendekati 1 (jika nilai P mendekati 1 maka ada korelasi antara jumlah konidiospora dengan jumlah kematian nyamuk).

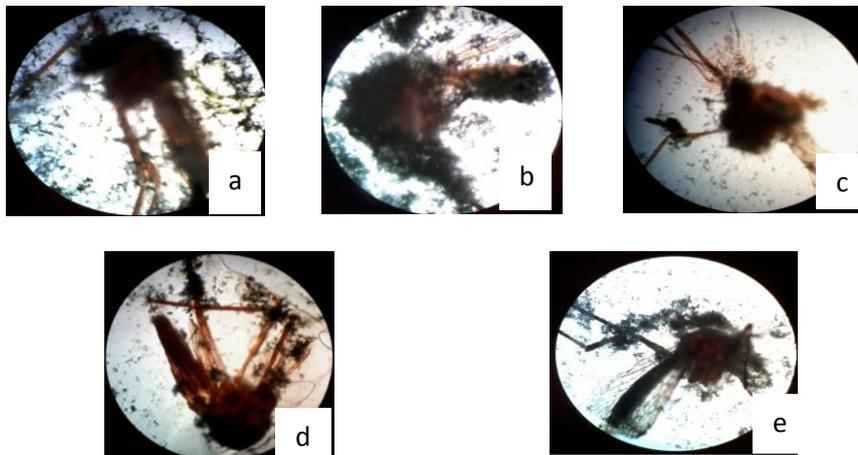
Berdasarkan hasil pengamatan kematian nyamuk dapat dilihat penyebaran

hifa cendawan *M. anisopliae* pada gambar 5. Penyebaran hifa *M. anisopliae* telah memenuhi/menyelimuti tubuh nyamuk *Ae. aegypti* pada hari ke-3 atau pada jam ke 72 atau disebut dengan mumifikasi (gambar 2).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan diketahui bahwa limbah kulit udang mengandung komponen organik yaitu kitin. Secara umum diketahui bahwa kitin diperlukan oleh cendawan untuk pembentukan dinding sel. Kandungan kitin yang telah dianalisis pada uji pendahuluan adalah sebesar 12,25 %, besarnya komponen kitin yang terkandung pada kulit udang bervariasi tergantung asal/habitat udang. Hasil penelitian Darmawan (2007) kandungan kitin dari kulit udang berkisar antara 15-20%. Sedangkan hasil dari penelitian Rokhati (2006), kandungan kitin pada limbah kulit udang adalah sebesar 18,1%. Kitin merupakan komponen utama penyusun dinding sel cendawan, sehingga cendawan membutuhkan komponen ini untuk

membentuk dinding sel tubuhnya. Dalam proses pembentukan dinding sel cendawan akan menghasilkan enzim

kitinase yang akan mendegradasi kutikula serangga yang menjadi inang dari *M. anisopliae*.



Gambar 2. Mumifikasi *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada sumber nutrisi yang berbeda pada tubuh nyamuk *Ae. aegypti* pada hari ke-3 (72 jam) (perbesaran 1 x 10), (a).limbah kulit udang 0,20% (perbesaran 1 x 10), (b).limbah kulit udang 0,25% (perbesaran 1 x 10), (c).KNO₃, (d).yeast ekstrak (perbesaran 1 x 10) dan (e).tanpa nutrisi tambahan (perbesaran 1 x 10)

Setelah kutikula inang terdegradasi maka *M. anisopliae* dapat menyerap nutrisi dan cairan dari serangga uji sehingga menyebabkan kematian.

Hasil penelitian uji hayati yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa semua pengujian yang telah diaplikasikan dapat menginfeksi nyamuk *Ae.aegypti*. Berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa penambahan nitrogen pada masing-masing media tidak berpengaruh nyata. Sedangkan untuk pengulangan juga tidak berpengaruh nyata.

Meskipun hasil analisis statistik dari penelitian ini menunjukkan bahwa kemampuan infeksi dari cendawan *M. Anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi limbah kulit udang dibandingkan dengan sumber nutrisi lain (yeast ekstrak, KNO₃, dan media tanpa nutrisi tambahan), tidak berpengaruh secara nyata, namun jika dibandingkan masing-masing kematian nyamuk *Ae. aegypti*, dapat dilihat bahwa perlakuan dengan

penambahan limbah kulit udang sebesar 0,25% memiliki tingkat virulensi tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, seperti penambahan limbah kulit udang 0,20%, KNO₃, yeast ekstrak maupun perlakuan tanpa nutrisi tambahan.

Hasil dari analisis uji normalitas memperlihatkan data tersebut berdistribusi normal. Hal ini ditunjukkan dari nilai signifikansinya yang lebih besar dari 0,05 (sig > 0,05). Sedangkan untuk uji korelasi, dapat diketahui bahwa ada korelasi positif antara jumlah konidiospora dengan jumlah kematian nyamuk karena nilai $P = 1$ ($P = 0,748$). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Ladja (2010) yang menunjukkan bahwa adanya korelasi positif antara konsentrasi konidia cendawan entomopatogen dengan mortalitas serangga uji. Semakin tinggi konsentrasi konidia yang diaplikasikan maka semakin tinggi pula persentase mortalitas serangga uji.

Jumlah konidiospora *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi yang berbeda pada analisis ANAVA menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap mortalitas nyamuk *Ae. aegypti*, akan tetapi jika dibandingkan berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat bahwa media

dengan penambahan limbah kulit udang merupakan media pertumbuhan bagi *M. anisopliae* yang dapat menghasilkan jumlah konidiospora dan mortalitas yang tertinggi dibandingkan media pertumbuhan bagi *M. anisopliae* dengan penambahan yeast ekstrak, KNO₃ maupun media tanpa nutrisi tambahan. Jika dilihat dari analisis uji korelasi jumlah konidiospora yang dihasilkan oleh *M. anisopliae* pada masing-masing media dengan penambahan sumber nutrisi yang berbeda menunjukkan bahwa adanya korelasi positif dengan mortalitas nyamuk *Ae. aegypti*.

Perkembangan mikosis *M. anisopliae* terbagi dalam tiga fase, yaitu penempelan dan perkecambahan spora pada kutikula serangga, penetrasi dan perkembangan jamur di dalam *hemocoel* rongga tubuh serta kematian serangga. Pada penelitian ini dapat dijelaskan bahwa kematian nyamuk *Ae. aegypti* terjadi setelah adanya penetrasi konidiospora *M. anisopliae* ke bagian tubuh inang. Infeksi nyamuk *Ae. aegypti* disebabkan adanya kontak antara konidiospora dengan tubuh inang, selanjutnya konidiospora akan membentuk tabung kecambah untuk melakukan penetrasi kedalam integumen.

Proses penetrasi melalui integumen serangga oleh konidia yang berkecambah dari spora melibatkan proses kimia

enzimatis. Enzim yang terdeteksi pada hifa penetrasi salah satunya adalah protease dan kitinase. Protease merupakan enzim pendegradasi kutikula paling utama dan aktivitas enzim ini merangsang kehadiran enzim kitinase. Aktivitas enzim kitinase berlangsung umumnya pada awal pertumbuhan jamur, pembentukan konidia dan sporulasi konidiospora (Prayogo, *et al.*, 2005)

Infeksi selanjutnya dilakukan didalam tubuh inang, *M. anisopliae* akan menyebar keseluruh jaringan tubuh inang dan menyerap semua cairan dalam tubuh inang, sehingga inang akan kekurangan cairan dan mati. Pada penelitian ini tubuh nyamuk *Ae.aegypti* terlihat mengeras dan kering akibat kehabisan cairan tubuh. Tubuh nyamuk yang mati akan terlihat diselimuti oleh hifa *M. anisopliae* (gambar 5, lampiran 9) sehingga nyamuk yang mati akan terlihat berwarna hijau.

Perkecambahan spora umumnya bergantung pada kelembaban dan suhu lingkungan, kondisi cahaya dan nutrisi di lingkungan. Spora yang berkecambah

Metabolit sekunder yang dihasilkan jamur ini adalah mikotoksin yang disebut destruksin. Destruksin berpengaruh terhadap organel sel target (mitokondria, retikulum endoplasma dan membran

menyerang inang membentuk tabung perkecambahan yang berperan sebagai hifa penetrasi. Selain terbentuk tabung perkecambahan, terbentuk pula apresorium. Struktur perkecambahan ini memperkuat saat penempelan jamur (Miranti *et al.*, 2008).

Pada saat setelah nyamuk mati, dari tubuh nyamuk tersebut muncul hifa berwarna putih membentuk jalinan hifa yang disebut miselium. Selanjutnya, sekitar tiga hari setelah muncul hifa, tumbuh spora berwarna hijau menutupi permukaan tubuh inang. Proses penetrasi hifa hanya memerlukan waktu 48 jam (2 hari). Hifa mulai menyerang badan lemak sekitar 72 jam (3 hari) setelah serangga mati. Sekitar 72 jam (3 hari), padatan hifa atau miselium berkembang melalui lubang tubuh dan mulai tumbuh pada permukaan serangga (Miranti *et al.*, 2008). Hal ini sejalan dengan hasil dari penelitian (gambar 5), tubuh inang mulai diselimuti oleh hifa *M. anisopliae* pada hari ke-3 (72 jam). Kematian nyamuk ini disebabkan adanya toksin yang dihasilkan oleh *M. anisopliae*. (nukleus), menyebabkan paralisis sel. Selain itu juga berpengaruh terhadap kelainan fungsi lambung tengah, tubulus malfigi, hemosit dan jaringan otot (Widiyanti & Muyadihardja, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian ini perbandingan antara masing-masing media yang telah ditambah sumber nutrisi yang berbeda memiliki hasil yang berbeda pula, merujuk pada gambar 3 dapat dilihat bahwa media dengan penambahan limbah kulit udang 0,25% merupakan media yang terbaik bagi pertumbuhan dan virulensi *M. anisopliae* terhadap kematian nyamuk

KESIMPULAN

Jumlah konidiospora tertinggi dihasilkan oleh *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber nutrisi limbah kulit udang 0,25% yaitu sebesar $4,67 \times 10^7$ sel/ml. Kematian tertinggi diperoleh oleh

Ae. aegypti. Selanjutnya media dengan penambahan limbah kulit udang 0,20% juga merupakan media yang baik bagi pertumbuhan serta virulensi. Sehingga dapat dikatakan, perlakuan dengan penambahan limbah kulit udang pada media pertumbuhan dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif untuk meningkatkan jumlah konidiospora dan untuk infeksi *M. anisopliae*

nyamuk *Ae. aegypti* yang dipapar oleh *M. anisopliae* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan limbah kulit udang 0,25% yaitu sebesar rata-rata 3,25 ekor/hari. Limbah Kulit udang berpotensi sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan dan virulensi *M. anisopliae* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*

DAFTAR PUSTAKA

- Baskar, K., G.A. Raj, P.M. Mohan, S. Lingathurai, T. Ambrose & C. Muthu. 2012. Larvacidal and Growth Inhibitory Activities of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* Against Asian Army Worm, *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera : Noctuidae). Journal of Entomology 9 (3):155-162.
- Darmawan.E., S. Mulyaningsih & F. Firdaus. 2007. Karakteristik Kithosan Yang Dihasilkan Dari Limbah Kulit Udang Dan Daya Hambatnya Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Jurnal Logika 4(2):28-31
- Heriyanto & Suharno. 2008. Studi Patogenitas *Metarhizium anisopliae*

- (meth) Sor. Hasil Perbanyak Medium Cair Alami Terhadap Larva *Oryctes rhinoceros*. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian STTP Magelang Jurusan Penyuluhan Pertanian Yogyakarta 4(1):47-54.
- Miranti M., Melanie, B. Irawan. 2008. Patogenisitas Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* Terhadap *Crocidolomia pavonana* fab. Dalam Kegiatan Studi Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kubis Dengan Menggunakan Agensia Hayati. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Unpad, November 2008, 1-44.
- Moore, E & Landecker. 1996. Fundamental Of The Fungi Fourt Edition. Prentic Hall Uprr Saddle River, New Jersey 07458.
- Prayogo, Y., W. Tengkan & Marwot. 2005. Prospek Cendawan Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* Untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* Pada Kedelai. Jurnal Litbang Pertanian 24(1) :19-26.
- Prayogo, Y. 2006. Upaya Mempertahankan Keefektifan Cendawan Entomopatogen Untuk Mengendalikan Hama Tanaman Pangan. Jurnal Litbang Pertanian 25(2) :47-54.
- Rokhati, N. 2006. Pengaruh Derajat Deasetilasi Khitosan Dari Kulit Udang Terhadap Aplikasinya Sebagai Pengawet Makanan. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Jurnal Reaktor 10(2):54-58.
- Soetopo, D., & Indrayani, I. 2007. Status Tenologi dan Prospek *Beauveria bassiana* Untuk Pengendalian Serangga Hama Tanaman Perkebunan yang Ramah Lingkungan. Jurnal Biologi 6(1):29-46.
- Widiyanti, N.L.P.M & S. Muyadihardja. 2004. Uji Toksisitas Jamur *M. Anispliae* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Media Litbang Kesehatan XIV (3):25-30.