

## **Aplikasi IJEN (Infeksi Jamur Entomopatogen pada Nyamuk) : Jamur *Metarhizium anisopliae* pada Nyamuk *Aedes aegypti***

### ***Application of Entomopathogen Fungi Infection to Mosquito : Metarhizium anisopliae to Aedes aegypti***

Liestiana Indriyati <sup>\*a,b</sup>, Salamiah <sup>c</sup>, Luthfi Fatah <sup>c</sup>, Eko Suhartono <sup>d</sup>, M. Rasyid Ridha <sup>a</sup>,  
Abdullah Fadily <sup>a</sup>, Paisal <sup>a</sup>, dan Dicky Andiarsa <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Balai Litbang Kesehatan Tanah Bumbu, Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI  
Kawasan Perkantoran Pemda Tanah Bumbu, Kab. Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, Indonesia

<sup>b</sup>Program Studi Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan, Pascasarjana,  
Universitas Lambung Mangkurat,

Jl. Brigjen H. Hasan Basri, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan 70123, Indonesia

<sup>c</sup>Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat

<sup>d</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat

#### **INFO ARTIKEL**

*Article History:*  
Received: 10 Dec. 2018  
Revised: 13 March 2019  
Accepted: 19 March 2019

*Kontribusi:*  
Liestiana Indriyati berperan sebagai kontributor utama. Salamiah, Luthfi Fatah, Eko Suhartono, M. Rasyid Ridha, Abdullah Fadily, Paisal, dan Dicky Andiarsa berperan sebagai kontributor anggota

*Keywords:*  
entomopatogen  
*Metarhizium anisopliae*  
*Aedes aegypti*

*Kata kunci:*  
entomopatogen  
*Metarhizium anisopliae*  
*Aedes aegypti*

#### **ABSTRACT / ABSTRAK**

*Dengue hemorrhagic fever is one of the main problems in Indonesia, its handling on chemical insecticides with insecticide resistance constraints that can inhibit vector control efforts. Entomopathogenic fungi especially *Metarhizium anisopliae* is one of bioinsecticides that has been widely used in agriculture for controlling insect attacks, effective in killing mosquitoes, safe for vertebrates, humans and the environment and has a small risk of resistance. Appropriate methods of formulation and application for *M. anisopliae* infection to mosquitoes suitable for mosquito bionomic and fungus characteristics are required. Experimental research with complete randomized design was conducted to test the efficacy of *M. anisopliae* solution mixed olive oil and honey formula applied to ovitrap, plant trap and black cotton trap in infecting adult female *Ae. aegypti*. The death of *Ae. aegypti* and fungal growth on cadaver was observed everyday. 100% *Ae. aegypti* death was obtained in the ovitrap method with mixed formulation of *M. anisopliae* and olive oil. This method was also capable of infecting *Ae. aegypti* in various phases of both adults, eggs and larvae so that in this study ovitrap olive oil method was the most effective method for infecting *M. anisopliae* on *Ae. aegypti*.*

Demam berdarah dengue merupakan salah satu masalah utama di Indonesia. Penggunaan insektisida kimia sebagai upaya pengendalian DBD saat ini memiliki kendala resistensi insektisida yang dapat menghambat upaya pengendalian vektor. Jamur entomopatogen khususnya *Metarhizium anisopliae* adalah salah satu bioinsektisida yang telah digunakan secara luas di bidang pertanian untuk pengendalian serangan serangga efektif membunuh nyamuk, aman bagi vertebrata, manusia dan lingkungan serta memiliki risiko resistensi yang kecil. Diperlukan metode yang tepat baik dari formulasi maupun cara aplikasi untuk penginfeksi *M. anisopliae* kepada nyamuk yang sesuai dengan bionomik nyamuk dan karakteristik jamur. Penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap dilakukan untuk menguji efektivitas formula *M. anisopliae*. Larutan *M. anisopliae* dicampur minyak zaitun dan madu yang diaplikasikan pada *ovitrap*, *plant trap* dan *black cotton trap* dalam menginfeksi *Ae. aegypti* betina dewasa. Pengamatan dilakukan pada kematian *Ae. aegypti* dan pertumbuhan jamur pada kadaver setiap hari. Kematian *Ae. aegypti* 100% didapatkan pada metode *ovitrap* dengan formulasi campuran *M. anisopliae* dan minyak zaitun. Metode ini juga mampu menginfeksi *Ae. aegypti* pada berbagai fase baik dewasa, telur maupun larva sehingga pada penelitian ini metode zaitun *ovitrap* dinyatakan metode yang paling efektif untuk penginfeksi *M. anisopliae* pada *Ae. aegypti*.

© 2019 Jurnal Vektor Penyakit. All rights reserved

\*Alamat Korespondensi : email : lis\_alla@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit tular vektor nyamuk yang merupakan salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia. Sejak 45 tahun terakhir, tepatnya sejak tahun 1968 hingga saat ini DBD telah menyebar di 34 provinsi, 85% kabupaten/kota dengan angka peningkatan kasus dari 58 kasus di tahun 1968 hingga 126.675 ribu kasus di tahun 2015.<sup>1</sup> Upaya pengendalian DBD saat ini dititikberatkan pada pengendalian *Aedes aegypti* sebagai vektornya dengan melakukan pengasapan *thermal fogging* di setiap lokasi kejadian kasus DBD dan sekitarnya menggunakan insektisida kimia dari golongan organofosfat (malation, fenitrothion), dan piretroid sintetis (permetrin, deltametrin dan *lamdasihalotrin*).<sup>2,3</sup> Abatisasi yaitu penaburan bubuk abate (formulasi temefos) pada tempat penampungan air di rumah tangga dengan efek residu selama tiga bulan juga dilakukan untuk mengendalikan populasi larva *Ae. aegypti*.<sup>4</sup>

Setiap bahan kimia yang digunakan sebagai insektisida sebenarnya memiliki potensi bahaya kesehatan yang tidak banyak diketahui oleh kalangan masyarakat. Penggunaan temefos di air yang sering dan berulang dapat dapat menimbulkan kanker jika digunakan untuk konsumsi air minum.<sup>4</sup> Golongan organoklorin dinyatakan dapat menimbulkan gangguan pada sistem syaraf pusat. Golongan karbamat dan organofosfat dapat menimbulkan gangguan syaraf pusat serta perifer melalui ikatan kolinesterase dll. Para penderita anemia, hemoglobinuria, wanita dan individu yang secara kongenital dalam darahnya tidak memiliki kolinesterase merupakan populasi beresiko tinggi bagi penggunaan insektisida golongan organofosfat dan karbamat.<sup>5</sup>

Penggunaan insektisida secara luas di di rumah tangga dan pertanian telah berlangsung lama meninggalkan residu di alam yang berdampak pada kesehatan dan pencemaran lingkungan. Penggunaan satu jenis insektisida yang terlalu lama tanpa pergantian juga dapat memicu terjadinya resistensi pada nyamuk vektor penyakit sehingga menghambat upaya pengendalian vektor dan penyakit tular vektor.<sup>2,6,7</sup> Ditjen PP-

PL Kemenkes telah menyatakan bahwa permasalahan resistensi insektisida terhadap *Ae. aegypti* telah berkembang di Indonesia khususnya resistensi insektisida malation dan sipermetrin.<sup>8</sup> Munculnya permasalahan resistensi insektisida mengindikasikan untuk penelusuran alternatif sebagai pengganti insektisida kimia dalam upaya pengendalian vektor DBD.

Beberapa alternatif dalam mengatasi permasalahan resistensi insektisida sekaligus upaya pengendalian penyakit tular vektor nyamuk antara lain PSN dengan program 4 M Plus (menguras, menutup, mengubur, memantau jentik plus menghindari gigitan nyamuk), teknologi serangga mandul (TSM) dan penggunaan bioinsektisida. Bioinsektisida merupakan insektisida hayati yang memiliki kelebihan yaitu lebih aman bagi lingkungan dan tidak meninggalkan residu karena lebih mudah terurai di alam. Ragam bioinsektisida yang dapat digunakan untuk pengendalian nyamuk vektor penyakit antara lain predator alami jentik seperti ikan kepala timah (*Panchax panchax*), ikan cupang (*Ctenopoma vittatus*),<sup>9</sup> dan berbagai tanaman yang mempunyai efek insektisida baik sebagai biolarvasida, repellent, bahan obat nyamuk bakar, dan lain-lain.

Penggunaan agen hayati bakteri gram positif *Bacillus thuringiensis var israelensis* (*Bti*) saat ini telah dikemas dalam produk *Bactived* dan digunakan oleh program dan masyarakat untuk pengendalian larva *Ae. aegypti*. Agen hayati lainnya yang berpotensi sebagai produk bioinsektisida lainnya yaitu jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* yang telah digunakan secara luas di bidang pertanian sebagai pengendali serangga pada tanaman akan tetapi belum banyak digunakan sebagai pengendali nyamuk vektor penyakit.

Hasil penelitian menyatakan bahwa *M. anisopliae* lebih efektif menyebabkan kematian *Ae. aegypti* fase dewasa dibandingkan *B. bassiana* dengan kerapatan spora lebih rendah,<sup>10</sup> dan menunjukkan resiko resistensi yang lebih rendah daripada *B. bassiana*.<sup>11</sup> *M. anisopliae* juga dinyatakan aman digunakan dengan risiko minimal bagi vertebrata, manusia dan lingkungan<sup>12</sup> karena infeksi *M. anisopliae* sangat jarang ditemukan

pada manusia.<sup>13</sup> Berdasarkan beberapa hasil penelitian tentang efektifitas, keamanan dan risiko resistensi, *M. anisopliae* dinyatakan efektif dan aman untuk pengendalian serangga termasuk *Ae. aegypti* sebagai vektor DBD, akan tetapi diperlukan metode dan formulasi yang efektif untuk menginfeksi *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti* untuk selanjutnya dapat diterapkan di lapangan, karena formulasi dan metode aplikasi konidia yang kurang tepat dapat menyebabkan konidia tidak melekat sempurna pada nyamuk sehingga menurunkan tingkat infeksi dan kematian pada nyamuk.

Formulasi jamur entomopatogen yang digunakan untuk penginfeksian kepada serangga cukup beragam, Effendy menyatakan tepung, abu atau tanah liat dapat digunakan sebagai bahan pembawa formulasi bioinsektisida untuk meningkatkan efektifitasnya. *M. anisopliae* berbahan *carrier* tepung dedaun dan glukosa serta tepung jagung dan glukosa dinyatakan dapat mempertahankan viabilitas konidia sampai 65,1%.<sup>14</sup> Pada beberapa penelitian, konidia diformulasikan dalam minyak untuk melindungi konidia dari kondisi lingkungan yang buruk dan memfasilitasi adhesi pada kutikula serangga. Penelitian yang dilakukan oleh Bukhari menemukan bahwa formulasi yang paling efektif adalah formulasi konidium dalam minyak sintetik (Shell sol-T).<sup>15</sup> Akan tetapi karena Shell sol-T relatif sulit didapatkan di Indonesia maka perlu ditelusuri bahan lain yang dapat digunakan sebagai bahan campuran untuk perekat yang efektif dan efisien untuk diterapkan di lapangan.<sup>16</sup>

Salah satu minyak nabati yang memiliki asam lemak tak jenuh yang cukup tinggi yaitu minyak zaitun atau olive oil (*Olea europaea*) (77%).<sup>17</sup> Minyak zaitun atau olive oil (*Olea europaea*) mudah ditemukan dan telah diproduksi massal di Indonesia, sering digunakan sebagai bahan makanan ataupun kosmetik juga memiliki nilai *sun protector factor* (SPF) 7,549 sehingga baik untuk digunakan sebagai perlindungan kulit.<sup>18</sup> Kandungan SPF pada minyak zaitun diharapkan dapat memberikan perlindungan efektifitas formulasi jamur terhadap sinar matahari karena konidia yang terpapar oleh sinar matahari dengan periode yang cukup

lama, umumnya akan mati dan inaktif karena radiasi oleh sinar ultraviolet.<sup>19</sup>

Selain minyak zaitun, madu juga dapat dipertimbangkan sebagai bahan campuran dan perekat pada aplikasi jamur entomopatogen dengan beberapa pertimbangan. Menurut Samad dalam Cahyana dan Rachmadi, karakteristik madu yang kental dapat digunakan sebagai bahan perekat.<sup>20</sup> Produk madu mudah didapatkan di pasaran dan merupakan nutrisi bagi konidia jamur entomopatogen.<sup>21</sup> Madu diharapkan dapat menutrisi pertumbuhan jamur sekaligus sebagai attractant, sumber pakan dan nutrisi bagi nyamuk.<sup>22</sup> Selain formulasi bahan *carrier* jamur, cara aplikasi yang tepat juga diperlukan untuk meningkatkan efektifitas IJEN.

Penentuan metode yang efektif dapat dilakukan dengan pendekatan bionomik nyamuk *Ae. aegypti*. Nyamuk *Ae. aegypti* betina memiliki kemampuan lebih tinggi untuk menularkan infeksi jamur entomopatogen dibanding dengan nyamuk jantan, hal ini disebabkan nyamuk *Ae. aegypti* dewasa betina memiliki perilaku poliandri (satu betina dapat dikawini oleh beberapa ekor jantan) sehingga peluang kontak dengan saat proses perkawinan lebih besar<sup>10</sup> Nyamuk betina *Ae. aegypti* bertelur pada wadah-wadah yang menampung air seperti tempurung kelapa, kelopak daun, tonggak bambu, lubang pohon, dll,<sup>3,23</sup> sehingga perangkap telur atau *ovitrap* berpotensi untuk digunakan sebagai salah satu metode IJEN.

Sifat dan kebiasaan nyamuk *Ae. aegypti* yang suka beristirahat (*resting*) pada tanaman rendah, semak-semak dan rerumputan yang ada di sekitar lingkungan rumah dan juga pada benda-benda yang bergantung di dalam rumah seperti pakaian, dll,<sup>3</sup> juga memungkinkan untuk tanaman semak menjadi *plant trap* dan pakaian atau kain hitam menjadi *cotton trap* pada aplikasi IJEN. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan formulasi dan metode yang efektif untuk aplikasi IJEN.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu

pada bulan Maret 2018. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap sebanyak enam perlakuan dan tiga kali ulangan. Tiga perlakuan terdiri atas metode *ovitrap*, *plant trap* dan *black cotton trap* menggunakan formula bahan campuran suspensi jamur *M. anisopliae* dengan minyak zaitun dan madu. Populasi dan sampel penelitian yaitu nyamuk betina dewasa *Ae. aegypti* yang di-rearing di Laboratorium Entomologi Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu berumur lima-tujuh hari. Cara pengambilan sampel nyamuk *Ae. aegypti* betina secara *purposive sampling* sebanyak 10 ekor pada setiap perlakuan.

Koloni jamur entomopatogen *M. anisopliae* yang didapatkan dari Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Dinas Pertanian Propinsi Kalimantan Selatan. Jamur entomopatogen *M. anisopliae* yang digunakan merupakan hasil biakan berumur  $\pm 2$  bulan dengan hasil perhitungan kerapatan jamur yaitu  $1,5 \times 10^9$  ml<sup>-1</sup>. Suspensi induk diperoleh dengan mencampurkan *isolate* jamur *M. anisopliae* dengan 200 ml aquades<sup>24</sup> dan dihitung kerapatannya menggunakan *Improved Haemocytometer Neubauer* di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 40x untuk menentukan konsentrasi dari konidia per ml media cair. Standar kerapatan jamur yang digunakan pada penelitian ini yaitu  $1 \times 10^9$  ml<sup>-1</sup> mengikuti standar kerapatan jamur pada penelitian sebelumnya.<sup>25</sup> Sebanyak 100 ml suspensi ditambahkan dan dihomogenkan dengan 10 ml<sup>26</sup> minyak zaitun untuk mendapatkan formula 1 dan 10 ml madu untuk mendapatkan formula 2 lalu diaplikasikan ke *ovitrap*, *plant trap* dan *black cotton trap*.

Aplikasi pada *ovitrap* dilakukan dengan mengoleskan suspensi jamur ke kertas saring yang ditempatkan pada tepi mangkuk berisi 100 ml air, lalu mangkuk diletakkan di dalam kandang nyamuk. Aplikasi pada *plant trap* dilakukan dengan mengoleskan suspensi jamur pada media tanaman pucuk merah (*Syzygium oleina*) dan meletakkan pot tanaman pada kandang nyamuk. Aplikasi *black cotton trap* dilakukan dengan mengoleskan suspensi jamur pada media

kaus kaki hitam dan menggantung kaus kaki hitam pada kandang nyamuk. Kontrol dilakukan dengan perlakuan yang sama dengan pengaplikasian pada *ovitrap*, *plant trap* dan *black cotton trap* menggunakan aquadest untuk kontrol negatif dan insektisida kimia dengan kandungan pralettrin 0,2% dan d-aletrin 0,15% untuk kontrol positif. Pada aplikasi *ovitrap* dilakukan uji tetas telur dengan cara kertas saring berisi telur nyamuk dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian beberapa hari kemudian diujicoba tetaskan.

Kandang nyamuk yang digunakan berukuran 30x30x30 cm yang berisikan 10 nyamuk *Ae. aegypti* betina dan dilakukan *rearing*/kolonisasi nyamuk dengan pemberian pakan darah serta air gula. Pengamatan dilakukan selama lima hari, dihitung jumlah dan persentase nyamuk yang mati. Nyamuk yang mati dikumpulkan dan diletakkan pada kertas saring basah di dalam petridish, disegel dengan parafilm, dan disimpan pada suhu kamar selama 3-4 hari, setelah itu diperiksa bukti spora jamur.<sup>27</sup> Pertumbuhan jamur diamati secara visual sejak hari pertama kematian nyamuk hingga dua minggu (15 hari)<sup>28</sup> berikutnya untuk menemukan tanda-tanda pertumbuhan jamur *M. anisopliae* yaitu jamur berwarna hijau tua/pekat atau hijau zaitun untuk kemudian diperiksa dibawah mikroskop disecting.

Analisis menggunakan analisis statistik dan deskriptif. Analisis statistik menggunakan Kruskal Walis yang didahului uji normalitas Kolmogorov Smirnov dan Saphiro Wilk menggunakan SPSS versi 16 yang kemudian dilanjutkan dengan uji post hoc Mann Whitney U sedangkan analisis deskriptif menggunakan ketetapan dari komisi pestisida (1995) yang menyatakan bahwa insektisida dinyatakan baik dan efektif jika hasil pengujian menunjukkan kematian 98-100%.<sup>29</sup> Koreksi jumlah persentase kematian nyamuk uji menggunakan formula Abbot (Busvine 1971):

$$P = \frac{P_o - P_c}{100 - P_c} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Persentase banyaknya serangga yang mati setelah dikoreksi

Po=Persentase banyaknya serangga yang mati pada perlakuan insektisida

Pc=Persentase banyaknya serangga yang mati pada kontrol

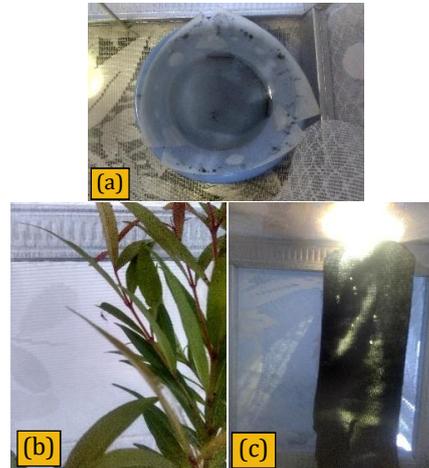
Suspensi *M.anisopliae* menggunakan minyak zaitun maupun madu dapat diaplikasikan dengan cukup baik pada berbagai trap yang digunakan yaitu *ovitrap*, *plant trap* maupun *black cotton trap* mampu menarik nyamuk untuk hinggap/*resting* ditampilkan pada Gambar 2.

## HASIL

Formulasi bahan campuran menggunakan minyak zaitun menghasilkan suspensi yang lebih homogen dibandingkan dengan formulasi suspensi menggunakan bahan campuran madu ditampilkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil Suspensi Formula *M. anisopliae* dengan Bahan Campuran Minyak Zaitun (a) dan madu (b)



**Gambar 2.** Aplikasi/trap yang Digunakan : *ovitrap* (a), *plant trap* (b) dan *black cotton trap* (c)

Kematian nyamuk selama pengamatan ditampilkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kematian Nyamuk Selama Pengamatan

No	Metode Formulasi & Trap	N	Jumlah Kematian/Hari/Ulangan															Total Kematian (ekor)	(%)
			1			2			3			4			5				
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
1	ZO	30	5	7	6	1	2	0	2	1	3	1	0	0	1	0	1	30	100
2	ZP	30	1	0	0	1	0	0	0	6	0	0	0	0	2	0	2	12	40
3	ZBC	30	1	3	0	1	0	0	3	2	2	1	1	0	1	0	1	16	53.33
4	MO	30	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2	0	0	4	1	0	19	63.33
5	MP	30	2	1	2	2	3	4	3	0	2	1	0	0	0	0	0	20	66.67
6	MBC	30	2	1	1	1	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	1	11	36.67
7	OK(+)	10	3			5			0			0			0			8	80
8	PK(+)	10	3			1			1			0			0			5	50
9	BCK(+)	10	1			1			0			0			0			2	20
10	OK(-)	10	1			1			0			0			0			2	20
11	PK(-)	10	0			1			1			0			0			2	20
12	BCK(-)	10	1			1			0			0			0			2	20
Jumlah		240																129	53,75

Keterangan:

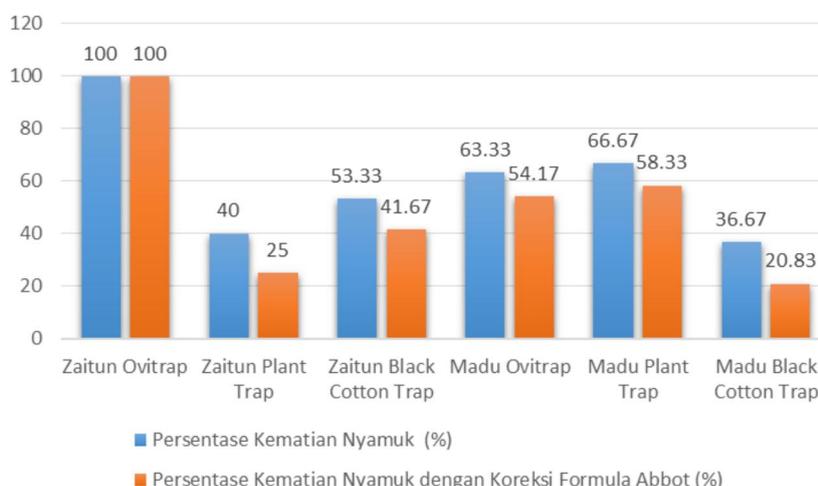
ZO : Formulasi Minyak Zaitun Metode *Ovitrap*  
 ZP : Formulasi Minyak Zaitun Metode *Plant Trap*  
 ZBC : Formulasi Minyak Zaitun Metode *Black Cotton Trap*  
 MO : Formulasi Madu Metode *Ovitrap*  
 MP : Formulasi Madu Metode *Plant Trap*  
 MBC : Formulasi Madu Metode *Black Cotton Trap*

OK (+) : Kontrol Positif *Ovitrap*  
 PK (+) : Kontrol Positif *Plant Trap*  
 BCK (+): Kontrol Positif *Black Cotton Trap*  
 OK (-) : Kontrol Negatif *Ovitrap*  
 PK (-) : Kontrol Negatif *Plant Trap*  
 BCK (-): Kontrol Negatif *Black Cotton Trap*

Adanya kematian nyamuk pada uji kontrol negatif (5-20%) maka mengharuskan dilakukannya koreksi jumlah persentase kematian nyamuk uji menggunakan formula Abbot. Hasil perhitungan persentase kematian nyamuk setelah dikoreksi dengan formula Abbot ditampilkan pada Gambar 3.

Kematian nyamuk tertinggi ditemukan pada formulasi minyak zaitun menggunakan *ovitrap* dengan kematian 100% dan kematian terendah terdapat pada formulasi madu menggunakan *black cotton trap* (20,83%). Analisis statistik didahului dengan uji normalitas dengan Kolmogorov Smirnov menghasilkan nilai probabilitas 0,166 untuk

kematian nyamuk dan 0,066 untuk metode perlakuan, nilai > 0,05 bermakna bahwa sampel berdistribusi normal. Hasil cross check menggunakan uji normalitas sampel kecil Saphiro Wilk didapatkan nilai probabilitas 0,005 dan 0,001, nilai < 0,05 hasil yang didapatkan tidak memenuhi syarat untuk dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* sehingga dilakukan uji Kruskal Wallis yang menghasilkan nilai p 0.037 < 0.05 yang bermakna bahwa terdapat perbedaan signifikan secara statistik antara metode perlakuan dengan kelompok kontrol (H=13.418, 6.d.f, p=0.037). Hasil uji *post hoc* Mann Whitney U disajikan pada Tabel 2.



**Gambar 3.** Diagram Persentase Kematian Nyamuk (Koreksi Formula Abbot)

**Tabel 2.** Hasil Uji *Post Hoc* Mann Whitney U (*p Value*)

Metode	ZO	ZP	ZBC	MO	MP	MBC	K(-)
ZO	-	0.037	0.037	0.121	0.034	0.037	0.025
ZP	0.037	-	0.376	0.376	0.178	0.822	0.121
ZBC	0.037	0.376	-	0.822	0.268	0.275	0.037
MO	0.121	0.376	0.822	-	0.825	0.275	0.037
MP	0.034	0.178	0.268	0.825	-	0.178	0.034
MBC	0.037	0.822	0.275	0.275	0.178	-	0.121
K(-)	0.025	0.121	0.037	0.037	0.034	0.121	-

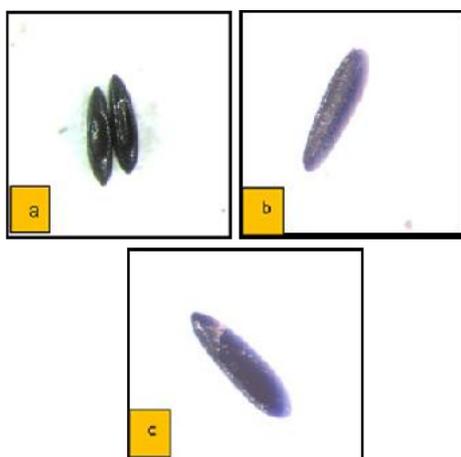
Pada hasil uji silang antara kontrol negatif dengan perlakuan menggunakan Mann Whitney U, didapatkan perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan zaitun *ovitrap* (*p value* 0.025), zaitun *black cotton trap* (*p value* 0.037), madu *ovitrap* (*p value* 0.037) dan madu *plant trap* (*p value* 0.034), yang menunjukkan bahwa metode-metode tersebut efektif sebagai metode penginfeksi jamur *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti*.

Hasil uji *post hoc* antar perlakuan, metode madu *ovitrap* dinyatakan tidak berbeda dengan metode zaitun *ovitrap* yang memiliki persentase kematian nyamuk tertinggi, dan metode lainnya (zaitun *plant trap*, zaitun *black cotton trap*, madu *plant trap* dan madu *black cotton trap*) tidak berbeda signifikan dengan madu *ovitrap* sehingga secara matematis juga tidak berbeda dengan zaitun *ovitrap* yang mengarahkan pada pernyataan hasil analisis

statistik bahwa tidak ada perbedaan efektivitas antar perlakuan atau semua metode yang digunakan efektif sebagai metode penginfeksi jamur *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti*.

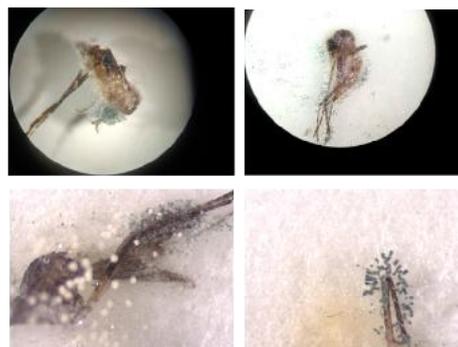
Analisis deskriptif mengacu pada jumlah kematian nyamuk, maka zaitun *ovitrap* dengan kematian nyamuk tertinggi 100% merupakan satu-satunya metode yang efektif untuk penginfeksi jamur *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti*. Pada aplikasi *ovitrap*, pertumbuhan dan keberadaan jamur lebih dapat bertahan pada formulasi *M. anisopliae* dengan minyak zaitun daripada formulasi madu. Nyamuk *Ae. aegypti* betina ditemukan bertelur pada kontrol negatif, *ovitrap* zaitun dan *ovitrap* madu.

Hasil pemeriksaan mikroskopis dilakukan pada telur nyamuk *Ae. aegypti* yang menempel di kertas saring pada setiap *ovitrap*. Ditemukan kerusakan pada telur nyamuk di kertas saring yang diolesi jamur entomopatogen baik dengan formulasi campuran minyak zaitun maupun madu. Kerusakan telur nyamuk ditandai dengan adanya kekosongan isi pada bagian dalam telur, sedangkan telur nyamuk yang dihasilkan pada *ovitrap* kontrol negatif tidak ditemukan kerusakan yang ditampilkan pada Gambar 4. Hasil evaluasi penetasan telur setelah empat hari ditetaskan, pada kertas saring uji jamur entomopatogen pada minyak zaitun dan madu tidak ditemukan larva yang hidup sedangkan pada kertas saring kontrol negatif ditemukan larva *Ae. aegypti*



**Gambar 4.** Telur *Ae. aegypti* dari zaitun *ovitrap* (a), madu *ovitrap* (b) dan kontrol negatif *ovitrap* (c)

Ditemukan pertumbuhan jamur *M. anisopliae* pada 33 nyamuk (30,56%) dari 108 nyamuk mati akibat uji formula jamur entomopatogen. Pada nyamuk uji kontrol positif dan negatif tidak ditemukan pertumbuhan jamur *M. anisopliae*. Pertumbuhan jamur *M. anisopliae* lebih banyak ditemukan pada kaki dan kepala kadaver daripada di tubuh kadaver seperti ditampilkan pada Gambar 5.



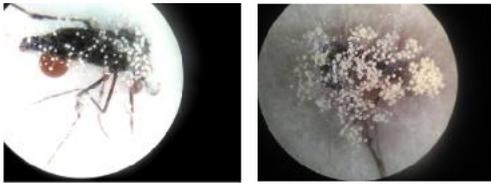
**Gambar 5.** Pertumbuhan *M. anisopliae* pada kadaver *Ae. aegypti*

Ditemukan adanya kontaminasi jamur lain berwarna putih dan kuning pada nyamuk yang telah mati baik pada 98 ekor (90,74%) nyamuk uji jamur entomopatogen maupun pada nyamuk kontrol positif dan negatif dengan jumlah total 106 ekor nyamuk (82,17%) dari jumlah nyamuk uji yang mati. Berdasarkan konfirmasi dan identifikasi oleh tenaga fungsional di laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Dinas Pertanian Propinsi Kalimantan Selatan dinyatakan bahwa kontaminasi tersebut oleh jamur *Aspergillus sp.* Pertumbuhan jamur *M. anisopliae* dan *Aspergillus sp* pada kadaver nyamuk uji *Ae. aegypti* ditampilkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Jumlah Pertumbuhan Jamur pada Nyamuk yang Mati

Jamur Metode	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Aspergillus sp</i>
Zaitun <i>Ovitrap</i>	18	27
Zaitun <i>Plant Trap</i>	2	11
Zaitun <i>Black Cotton Trap</i>	2	14
Madu <i>Ovitrap</i>	8	19
Madu <i>Plant Trap</i>	1	18
Madu <i>Black Cotton Trap</i>	2	9
Kontrol (+) <i>Ovitrap</i>	0	4
Kontrol (+) <i>Plant Trap</i>	0	2
Kontrol (+) <i>Black Cotton Trap</i>	0	0
Kontrol (-) <i>Ovitrap</i>	0	1
Kontrol (-) <i>Plant Trap</i>	0	1
Kontrol (-) <i>Black Cotton Trap</i>	0	0
Jumlah	33	106

Pertumbuhan jamur *Aspergillus sp* juga ditemukan dari hasil pemeriksaan terhadap nyamuk mati non uji pada ruangan yang sama maupun ruangan yang berbeda dengan nyamuk uji. Pada individu nyamuk mati dimana terjadi pertumbuhan jamur ganda *M. anisopliae* dan *Aspergillus sp* secara bersamaan, jamur *M. anisopliae* lebih sedikit ditemukan dan lebih sering tumbuh pada bagian perifer yaitu pada kaki atau bagian kepala sedangkan pada bagian tubuh/badan nyamuk lebih banyak ditumbuhi oleh *Aspergillus sp* terlihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Pertumbuhan *Aspergillus sp* pada kadaver *Ae. aegypti*

## PEMBAHASAN

Kerapatan jamur yang digunakan pada penelitian ini sedikit lebih tinggi daripada kerapatan jamur penelitian aplikasi jamur *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti* dewasa sebelumnya yaitu  $1 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ <sup>30</sup> dan lebih rendah dari kerapatan jamur pada penelitian aplikasi *M. anisopliae* pada nyamuk *An. gambiae* yaitu  $4,2 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ .<sup>31</sup> Jamur *M. anisopliae* dengan kerapatan  $1,6 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$  mampu menyebabkan kematian nyamuk *Ae. aegypti* yang terinfeksi virus dengue sebesar 78%,<sup>32</sup> sementara jamur *M. anisopliae* dengan kerapatan  $1 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$  mampu menurunkan kelangsungan hidup nyamuk *Ae. aegypti* hingga pada tingkat persentase 24,4%.<sup>33</sup>

Formula minyak zaitun menghasilkan suspensi yang lebih merata dibandingkan dengan madu, beberapa hasil penelitian memang menyatakan bahwa jamur entomopatogen lebih efektif diformulasikan dengan bahan campuran minyak antara lain minyak Shell sol-T,<sup>15</sup> minyak sayur dan isoparafin,<sup>34</sup> minyak neem.<sup>35</sup> Minyak nabati dinyatakan mampu mempertahankan efikasi jamur *Lecanicillium lecanii* hingga 40%, dari tiga jenis minyak nabati yang diuji, minyak kacang tanah dan kacang kedelai lebih mampu meningkatkan efikasi jamur dibandingkan

dengan minyak kelapa. Menurut Mercola dan Luthana dalam Prayogo et al, hal ini disebabkan karena kandungan asam lemak tidak jenuh yang terdapat pada minyak kacang tanah (82%) dan kedelai (80%) lebih tinggi dibandingkan dengan minyak kelapa (10%). Minyak kelapa diketahui memiliki asam lemak jenuh yang lebih tinggi (90%) yang menyebabkan minyak sulit terhidrolisis,<sup>35</sup> demikian pula halnya dengan minyak kelapa sawit. Minyak zaitun merupakan minyak nabati yang memiliki kandungan asam lemak tak jenuh yang cukup tinggi (77%) sehingga memiliki kemampuan untuk mempertahankan efikasi jamur *M. anisopliae*.<sup>17</sup>

Kisaran persentase kematian nyamuk uji yaitu 20%-100%, dalam hal ini masih terdapat kemungkinan penambahan jumlah kematian pada hari-hari berikutnya yang diakibatkan oleh infeksi jamur *M. anisopliae*, karena berdasarkan siklus hidup *M. anisopliae* membunuh nyamuk atau host yang diserang dalam waktu 4-16 hari.<sup>28</sup> Pada penelitian ini pengamatan dan perhitungan kematian nyamuk dibatasi selama lima hari pengamatan agar tidak melebihi umur rata-rata nyamuk *Ae. aegypti* yang digunakan pada penelitian yaitu tiga sampai tujuh hari.

Keberhasilan *ovitrap* sebagai alat dalam penginfeksi jamur entomopatogen *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti* dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain *ovitrap* menyediakan kondisi lembab yang diperlukan oleh jamur entomopatogen untuk pertumbuhannya, *ovitrap* merupakan media yang sangat dibutuhkan oleh nyamuk untuk berkembangbiak serta penggunaan bahan campuran formulasi yang juga mendukung pertumbuhan jamur dalam hal ini minyak zaitun. Kelebihan lain dari aplikasi *ovitrap* untuk penginfeksi jamur entomopatogen pada nyamuk yaitu dapat menginfeksi nyamuk pada berbagai fase baik fase dewasa maupun *aquatic* yaitu telur dan larva didukung oleh hasil penelitian yang menyatakan bahwa aplikasi jamur entomopatogen pada media bertelur nyamuk efektif untuk menginfeksi telur dan larva nyamuk.<sup>36,37</sup>

*Ovitrap* selama ini telah banyak digunakan sebagai perangkap nyamuk dan telur nyamuk. *Ovitrap* merupakan salah satu

alat surveilans vektor dan metode pengendalian nyamuk vektor penyakit khususnya *Ae. aegypti*. *Ovitrap* dan *mosquito trap* dinyatakan lebih efektif dan tepat dalam memprediksi kejadian dengue dibandingkan survei larva. *Ovitrap* juga dinyatakan memiliki durasi efektivitas yang lebih lama daripada *mosquito trap*.<sup>38</sup>

*Insecticide-threated lethal ovitrap* selama ini telah digunakan di North Queensland, Australia guna pengendalian vektor demam berdarah dimana hasil penelitian menyatakan bahwa empat trap adalah jumlah optimum untuk penyebaran *ovitrap*.<sup>39</sup> Upaya untuk mengembangkan *ovitrap* yang sederhana dan hemat biaya serta bebas pestisida juga telah dilakukan antara lain dengan *Autocidal Gravid Ovitrap* (AOG) yang dinyatakan efektif dan efisien dan mampu bertahan selama delapan minggu sebagai perangkap telur dan nyamuk. Beberapa hal yang mempengaruhi efektifitas *ovitrap* antara lain luas permukaan dan warna komponen *ovitrap*.<sup>40</sup> Sebuah penelitian juga menyatakan bahwa penggunaan *ovitrap* sebagai metode pengendalian vektor demam berdarah dapat diterima oleh masyarakat dan dinilai efektif sebagai perangkap telur dan nyamuk betina *Ae. aegypti*.<sup>41</sup>

Komponen *ovitrap* terdiri atas kertas saring yang bagian bawahnya selalu bersentuhan dengan air sehingga membuat kertas saring selalu dalam kondisi agak basah dan lembab merupakan kondisi yang suportif baik bagi perkembangan telur nyamuk maupun untuk perkembangan jamur.<sup>37</sup> Menurut Prayogo dalam Situmorang, konidia akan membentuk kecambah pada kelembaban di atas 90%, patogenisitasnya meningkat bila kelembaban udara sangat tinggi yaitu hingga 100% dan patogenisitasnya akan menurun apabila kelembaban udara di bawah 86%.<sup>14</sup> Menurut Burges dan Hussey dalam Rosmayuningsih dkk, batasan suhu untuk pertumbuhan jamur berada pada kisaran 5-35°C, sedangkan pertumbuhan jamur optimal pada kisaran suhu 23-25°C. Konidia akan tumbuh maksimum pada kelembaban 80-92%<sup>42</sup> sedangkan *M. anisopliae* membutuhkan suhu optimum yaitu 27-28°C dan kelembaban optimum 92%.<sup>28</sup>

Penggunaan *plant trap* juga dapat diterapkan meskipun hasil penelitian menunjukkan penggunaan *plant trap* tidak sebaik penggunaan *ovitrap*. Penelitian menggunakan tanaman untuk aplikasi penginfeksi jamur entomopatogen yaitu pada *Castor oil plant* atau tanaman jarak kepyar (*Ricinus communis*) dinyatakan dapat dijadikan sebagai media penginfeksi jamur entomopatogen.<sup>43</sup> Penggunaan tanaman sebagai media penginfeksi jamur entomopatogen tampaknya lebih tepat untuk nyamuk jantan sebagai target karena nyamuk jantan menggunakan tanaman tidak hanya sebagai tempat resting akan tetapi juga menghisap gula pada berbagai tumbuhan khususnya pada tanaman yang memiliki kandungan gula.<sup>43</sup> Pengendalian nyamuk vektor dengan nyamuk jantan sebagai target juga dapat dilakukan karena penyebaran jamur entomopatogen dapat terjadi melalui transmisi horizontal,<sup>16</sup> perkawinan maupun kontak sentuhan dengan nyamuk yang terinfeksi.<sup>25</sup>

Penggunaan *black cotton trap* pada penelitian ini menunjukkan hasil yang kurang memuaskan, yaitu tingkat kematian nyamuk hanya 41,67% untuk formula yang menggunakan minyak zaitun dan 20,83% untuk formula yang menggunakan madu setelah dikoreksi menggunakan formula Abbot. Sebuah penelitian menyatakan bahwa frekuensi *Ae. aegypti* kenyang darah hinggap di kain hitam lebih rendah daripada *Ae. aegypti* kenyang gula selama 24 jam pertama feeding.<sup>30</sup> Hal inilah yang menyebabkan rendahnya frekuensi kematian pada aplikasi *black cotton trap* karena nyamuk yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ae. aegypti* kenyang darah, sebaliknya *ovitrap* justru dibutuhkan oleh nyamuk betina yang kenyang darah untuk bertelur. Hal ini mungkin disebabkan oleh *black cotton* yang digunakan sebagai *trap* tidak memberikan dukungan pertumbuhan bagi jamur entomopatogen. Hasil penelitian ini bertentangan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konidia efektif jika diaplikasikan pada kain hitam.<sup>27</sup>

Salah satu hal yang perlu diperhatikan untuk aplikasi jamur entomopatogen di lapangan baik *ovitrap*, *plant trap* maupun

*black cotton trap* yaitu jamur entomopatogen yang rentan *inefektif* pada paparan sinar matahari sehingga peletakan *trap* harus pada lokasi atau tempat yang terlindung dari sinar matahari. Meskipun jamur memiliki aktivitas residu dan waktu hidup yang relatif singkat ( $\pm$  3–4 minggu), akan tetapi efektivitas jamur entomopatogen dalam mengendalikan nyamuk vektor penyakit sebanding dengan keberhasilan bioinsektisida lainnya yaitu *B. thuringiensis*.<sup>44</sup>

Hal yang perlu diperhatikan dalam aplikasi suspensi jamur entomopatogen pada *plant trap* yaitu *coverage* aplikasi. Aplikasi suspensi jamur entomopatogen sebaiknya tidak hanya dilakukan pada bagian permukaan daun saja akan tetapi pada bagian bawah daun atau dibalik daun dan juga pada pot tanaman yang digunakan. Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini ditemukan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* juga sering hinggap/*resting* pada bagian bawah atau dibalik daun dengan posisi menukik keatas serta hinggap pada pot tanaman.

Kematian pada kontrol positif tergolong rendah disebabkan oleh ketidakcocokan insektisida kimia yang digunakan dengan *trap* yang digunakan. Insektisida kimia yang digunakan yaitu insektisida kimia aerosol yang disemprotkan pada ruangan target. Insektisida aerosol dengan ukuran tertentu mampu bertahan lama di udara dan diharapkan mengenai nyamuk target. Pada penelitian ini insektisida kimia disemprotkan dan menempel pada *trap* yang digunakan sebagai uji yaitu *ovitrap*, *plant trap* dan *black cotton trap* dan diharapkan nyamuk terinfeksi saat hinggap pada *trap*.

Penyemprotan insektisida kimia pada *trap* dilakukan di luar kandang nyamuk dan di luar ruang uji untuk menghindari kematian nyamuk uji akibat insektisida dan hanya mengandalkan penempelan/perlengketan insektisida dan nyamuk pada *trap* yang digunakan. Insektisida kimia dengan cara oles mungkin dapat digunakan sebagai kontrol positif akan tetapi mengingat insektisida kimia oles yang ada di pasaran juga mengandung bahan tanaman yang wanginya tidak disukai nyamuk seperti lavender dan lain-lain maka kemungkinan besar juga tidak akan efektif digunakan sebagai kontrol positif

karena justru akan dihindari oleh nyamuk. Hal ini juga perlu diperhatikan dalam aplikasi jamur entomopatogen menggunakan *plant trap* pada nyamuk agar tidak menggunakan tanaman yang tidak disukai nyamuk sebagai *plant trap*. Beberapa tanaman yang tidak disukai nyamuk antara lain zodia, tembakau, serai wangi, cengkeh,<sup>45</sup> kemangi,<sup>46</sup> lavender dan jeruk,<sup>47</sup> dan lain-lain.

Pertumbuhan jamur *M. anisopliae* hanya ditemukan 30,56% pada kadaver, hal ini sesuai dengan *literature* yang menyebutkan bahwa tidak semua infeksi jamur *M. anisopliae* dapat tumbuh keluar dari tubuh serangga yang terinfeksi. Pada kondisi yang tidak mendukung, jamur tidak keluar dari tubuh serangga, tetapi akan tetap berada di dalam tubuh serangga tanpa keluar menembus *integument*.<sup>48</sup> Hasil penelitian sebelumnya, pertumbuhan jamur *M. anisopliae* ditemukan pada 78,17% kadaver *An. gambiae* yang telah terinfeksi jamur *M. anisopliae*.<sup>44</sup>

Pertumbuhan jamur *M. anisopliae* yang lebih banyak ditemukan pada kaki dan kepala kadaver sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa konidia *M. anisopliae* ditemukan pada tarsal dan tibia serta probosis, kemungkinan hal ini disebabkan oleh rendahnya proporsi konidia yang menyerang nyamuk.<sup>49</sup> Hal itu pula yang kemungkinan besar merupakan salah satu faktor yang membuat jamur *M. anisopliae* tetap berada di dalam tubuh serangga tanpa keluar menembus keluar tubuh nyamuk. Rendahnya proporsi konidia yang menyerang nyamuk dapat berkaitan dengan waktu panen konidia yang digunakan. Hasil penelitian menyatakan konidia paling baik dipanen dan digunakan 14–21 hari setelah proses inokulasi,<sup>50</sup> sedangkan pada penelitian ini *M. anisopliae* yang digunakan berumur  $\pm$  2 bulan.

Strain *M. anisopliae* yang digunakan juga turut mempengaruhi hasil uji. Hasil penelitian infeksi jamur *M. anisopliae* terhadap nyamuk, sporulasi kadaver sebesar 22% dan 37% pada strain *M. anisopliae* least virulent (Ma-CBG-1) dan 85% pada *M. anisopliae* high virulent (Ma-CBG-2)<sup>51</sup>, akan tetapi hasil penelitian menyatakan bahwa *M. anisopliae* mampu mempengaruhi kapasitas vektorial *Ae. aegypti* di lapangan dan mencapai target

tanpa harus menggunakan *high virulen strain*.<sup>32</sup> Kondisi hangat dan lembab juga diperlukan konidia jamur *M. anisopliae* tumbuh menembus kutikula dan menyelimuti tubuh nyamuk dalam hal ini yaitu kondisi optimum untuk pertumbuhan jamur *M. anisopliae*.

Adanya kontaminasi *Aspergillus sp* pada kadaver dapat disebabkan oleh beberapa hal, kemungkinan kontaminasi *Aspergillus sp* pada ruangan laboratorium entomologi Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu ataupun kertas saring dan peralatan yang digunakan pada isolasi kadaver untuk mengamati pertumbuhan jamur *M. anisopliae* meskipun petridish yang digunakan untuk proses isolasi telah disterilisasi menggunakan alkohol 90% sebelum digunakan. Beberapa penelitian melakukan proses isolasi kadaver untuk pengamatan pertumbuhan jamur entomopatogen dengan cara berbeda-beda. Sebuah penelitian melakukan isolasi kadaver nyamuk dilakukan pada kertas saring kering untuk menghindari tumbuhnya jamur oportunistik lainnya.<sup>52</sup> Penelitian lain melakukan dengan cara mencuci kadaver dengan 1% sodium hypochlorite selama 20 detik dan air destilasi steril selama 40 detik dan menempatkan kadaver pada 1,5% plate agar.<sup>53</sup>

*Aspergillus sp* tergolong dalam kelas *Ascomycetes* yang dapat ditemukan bebas di alam, tumbuh sebagai saprofit yaitu jamur yang tumbuh pada organisme yang telah mati, pada tumbuh-tumbuhan yang membusuk dan terdapat pula pada tanah, debu organik, makanan dan merupakan kontaminan yang lazim ditemukan di rumah sakit dan laboratorium.<sup>54</sup> *Aspergillus sp* memiliki peran sebagai decomposer dengan tumbuh kemudian menguraikan bahan-bahan organik yang telah mati.<sup>55</sup> Hasil penelitian menyatakan bahwa pertumbuhan jamur saprofit dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan jamur lainnya karena adanya persaingan ruang tumbuh dan nutrisi yang ada dalam media tumbuh dalam hal ini tubuh nyamuk. Jamur yang pertumbuhannya lebih cepat memiliki kemampuan yang lebih tinggi untuk menekan pertumbuhan cendawan patogen lainnya karena adanya persaingan terhadap nutrisi dan ruang hidup tersebut.<sup>56</sup> Dalam hal

ini laju pertumbuhan jamur *Aspergillus sp* lebih cepat dibandingkan dengan jamur lainnya termasuk *M. anisopliae* sehingga menghambat pertumbuhan *M. anisopliae* pada nyamuk seperti hasil penelitian lain yang menemukan bahwa pertumbuhan jamur *Aspergillus sp* menghasilkan lebih banyak spora dibandingkan jamur *Trichoderma*,<sup>57</sup> dan *Aspergillus sp* memiliki daya hambat sebesar 48 a terhadap pertumbuhan jamur *Phytium sp*.<sup>58</sup>

Kekuatan penelitian ini salah satunya adalah menggunakan nyamuk betina kenyang darah (*blood feeding*) dan diberikan nutrisi gula sehingga bahan campuran dan *trap* yang digunakan benar-benar teruji efektivitasnya. Tingkat infeksi jamur entomopatogen dipengaruhi oleh status nutrisi nyamuk kenyang darah dan gula, nyamuk yang kenyang darah dan gula akan menurunkan tingkat kerentanan infeksi nyamuk terhadap jamur entomopatogen.<sup>59,60</sup> Penelitian lainnya yang menggunakan nyamuk *An. arabiensis* tidak kenyang darah menghasilkan kematian >95% pada infeksi jamur entomopatogen *M. anisopliae* dengan kerapatan konidia lebih tinggi yaitu  $3,9 \times 10^{10}$ .<sup>52</sup> Pada penelitian ini, meskipun menggunakan nyamuk kenyang darah dan gula sebagai sampel serta menggunakan kerapatan jamur yang lebih rendah dari penelitian sebelumnya akan tetapi pada metode formulasi dan aplikasi zaitun *ovitrap* menghasilkan kematian nyamuk *Ae. aegypti* 100% yang menunjukkan bahwa metode formulasi dan aplikasi tersebut benar-benar efektif.

Penggunaan atau aplikasi jamur entomopatogen di lapangan dapat dilakukan baik oleh masyarakat secara mandiri maupun program pemerintah melalui dinas kesehatan. Penggunaan secara mandiri oleh masyarakat juga dapat dilakukan dengan cara membeli sediaan jamur entomopatogen yang dijual telah dalam bentuk kemasan khususnya jamur *M. anisopliae* dan *B. bassiana*. Jamur entomopatogen kemasan cukup mudah ditemukan di Pulau Jawa, meskipun di Kalimantan khususnya di Kalimantan Selatan masih relatif sulit ditemui di pasaran akan tetapi jamur entomopatogen kemasan ini dapat dengan mudah didapatkan dengan cara membeli secara daring.

Aplikasi oleh program surveilans vektor untuk mengurangi penggunaan insektisida kimia dengan menggunakan jamur entomopatogen ini dapat dilakukan oleh Dinas Kesehatan selaku pemegang program pengendalian tular vektor dengan cara menjalin kerjasama dengan Dinas Pertanian dalam hal pengadaan atau pembiakan *isolate* jamur entomopatogen baik jamur *M. anisopliae* maupun *B. bassiana* untuk kemudian dibagikan kepada masyarakat dibarengi dengan promosi tentang cara aplikasi jamur entomopatogen kepada masyarakat khususnya menggunakan *ovitrap*. Produksi jamur entomopatogen dalam jumlah besar dan berlanjut untuk keperluan program pemerintah dapat dilakukan dengan beras sebagai media yang cocok pembiakan jamur *M. anisopliae* secara massal karena menyediakan nutrisi dan luas area pertumbuhan jamur yang besar.<sup>50</sup>

Penggunaan jamur entomopatogen oleh pihak dinas kesehatan juga dapat digunakan dengan cara dikombinasikan dengan insektisida kimia dengan mengurangi dosis insektisida kimia yang digunakan sehingga dapat mengurangi efek samping yang merugikan dari penggunaan insektisida kimia dosis tinggi. Hasil penelitian kombinasi penggunaan jamur *M. anisopliae* dengan insektisida *Imidacloprid* dosis rendah mampu menghasilkan kematian *Ae. aegypti* yang tinggi dengan waktu paparan yang relative singkat.<sup>25</sup> Kelebihan lainnya dari penggunaan jamur entomopatogen khususnya *M. anisopliae* sebagai bioinsektisida, berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa infeksi *M. anisopliae* pada nyamuk *Anopheles sp* mampu membunuh dan mereduksi jumlah parasit malaria yang menyerang manusia di dalam tubuh nyamuk hingga 98%<sup>61</sup> dan bukan tidak mungkin juga mampu mereduksi virus *dengue* di dalam tubuh nyamuk.

## KESIMPULAN

Metode aplikasi yang paling efektif untuk media penginfeksi jamur entomopatogen *M. anisopliae* pada nyamuk *Ae. aegypti* yaitu formulasi bahan campuran minyak zaitun pada aplikasi *ovitrap*.

## SARAN

Pengelola program dapat melakukan program pengendalian nyamuk vektor DBD menggunakan bioinsektisida khususnya jamur entomopatogen dan mulai mensosialisasikan penggunaan jamur entomopatogen untuk pengendalian nyamuk vektor DBD kepada masyarakat agar masyarakat dapat menggunakan aplikasi IJEN secara mandiri.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Agung Nugroho, S.TP, M.Sc, Ph.D dan Ibu Dr. Ir. Fatmawati, M.Si yang telah memberikan masukan yang bermanfaat. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada teman-teman di Laboratorium Balai Perlindungan Tanaman Pangan dan Hortikultura Dinas Pertanian Kalimantan Selatan khususnya Bapak Kasidal, SP dan Ibu Norhasanah, SP yang telah menjadi tempat belajar, berkonsultasi dan konfirmasi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Infodatin KKRI. Situasi DBD di Indonesia. 2016:1-12.
2. Ahmad I, Astari S, Rahayu R, Hariani N. Status kerentanan *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae) pada tahun 2006-2007 terhadap malation di Bandung, Jakarta, Surabaya, Palembang dan Palu. *Biosfera*. 2009;26(2):85-89.
3. Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S. *Parasitologi Kedokteran*. Keempat. (Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S, eds.). Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2008.
4. Mulyatno KC, Yamanaka A, Ngadino, Konishi E. Resistance of *Aedes aegypti* (L) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2012;43(1):29-33.
5. Achmadi UF. *Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI Press); 2008.
6. Andiarsa D, Sembiring WSR. Perilaku penggunaan insektisida pada rumah tangga di tiga kabupaten/kota Provinsi Sulawesi Selatan. *J Buski*. 2015;5(3):149-154.
7. Perwitasari D, Musaddad DA, Manalu HSP, Munif A. Pengaruh beberapa dosis *Bacillus thuringiensis* Var *Israelensis* serotype H14

- terhadap larva *Aedes aegypti* di Kalimantan Barat. *J Ekol Kesehat.* 2015;14(3):229-237.
8. Nusa R, Ariati Y. *Laporan Penelitian Pemetaan Status Kerentanan Aedes aegypti Terhadap Insektisida Di Indonesia Tahun 2015.* Jakarta; 2015.
  9. Taviv Y, Saikhu A, Sito. Pengendalian DBD melalui pemanfaatan pemantau jentik dan ikan cupang di Kota Palembang. *Bul Penelit Kesehat.* 2010;38(4):198-207.
  10. Kasmara H, Aliana ZD, Herawan M, Putri O. Potensi jamur entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dan *Beauveria bassiana* dalam pengendalian populasi *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) fase imago. In: *Seminar Nasional Pendidikan Dan Saintek 2016 (Isu-Isu Kontemporer Sains, Lingkungan, Dan Inovasi Pembelajarannya.*; 2016:211-216.
  11. Dubovskiy IM, Whitten MMA, Yaroslavtseva ON, et al. Can insects develop resistance to insect pathogenic fungi? *PLoS One.* 2013; 8 ( 4 ) : 1 - 9 . doi:10.1371/journal.pone.0060248.
  12. Zimmermann G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci Technol.* 2007;17(9):879-920.
  13. Nourrisson C, Dupont D, Lavergne R, et al. Species of *Metarhizium anisopliae* complex implicated in human infections: retrospective sequencing study. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(12):994-999.
  14. Situmorang YA. Dampak beberapa fungisida terhadap pertumbuhan koloni jamur *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin di laboratorium (Thesis). 2015.
  15. Bukhari T, Takken W, Koenraad CJM. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasit Vectors.* 2011;4(1):23. doi:10.1186/1756-3305-4-23.
  16. Pradani FY, Widawati M. Mortalitas *Aedes albopictus* akibat infeksi horizontal *Beauveria bassiana* dan aktivitas enzim kitinase *B. bassiana*. *ASPIRATOR.* 2015;7(2):66-73.
  17. Sartika RAD. Pengaruh asam lemak jenuh, tidak jenuh dan asam lemak trans terhadap kesehatan. *Gizi Kesmas.* 2008;2(4):154-160.
  18. Kaur CD, Saraf S. In vitro sun protector factor determination herbals oils used in cosmetics. *Pharmacognosy Res.* 2010;2(1):22-25. doi:doi.org/10.4103/0974-8490.60586.
  19. Nuraida, Lubis A. Pengaruh formulasi dan lama penyimpanan pada viabilitas, bioaktivitas dan persistensi cendawan *Metarhizium anisopliae* terhadap *Crocidolomia pavonana fabricius*. *J Hama Penyakit Tanam.* 2016;16(2):196-202.
  20. Cahyana BT, Rachmadi AT. Pemanfaatan kulit kayu gemor (*Alseodaphne* sp.) dan cangkang kemiri (*Aleurites molucca*) untuk obat nyamuk alami. *J Ris Has Hutan.* 2011;3(2):13-19.
  21. Lubis MF. Pengaruh penambahan nutrisi terhadap patogenitas cendawan *Beauveria bassiana* pada *Hypothenemus hampei* di perkebunan kopi rakyat (Skripsi). 2016.
  22. Herawan M, Putri O, Kasmara H. Jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo, 1912) sebagai agen pengendali hayati nyamuk *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). In: *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia.* Vol 1. ; 2015:1472-1477. doi:10.13057/psnmbi/m010636.
  23. Pusarawati S, Ideham B, Kusmartisnawati, Tantular IS, Basuki S. *Atlas Parasitologi Kedokteran.* (Santoso SHB, Dachlan YP, Yotopranoto S, eds.). Jakarta: EGC; 2013.
  24. Widiyanti NLPM, Muyadihardja S. Uji toksisitas jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Media Litbang Kesehat.* 2004;XIV(3):25-30.
  25. Paula AR, Carolino AT, Paula CO, Samuels RI. The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae). *Parasit Vectors.* 2011;4(1):8. doi:10.1186/1756-3305-4-8.
  26. Nunilahwati H, Herlinda S, Irsan C, Pujiastuti Y, Khodijah, Meidelima D. Uji efikasi bioinsektisida jamur entomopatogen berformulasi cair terhadap *Plutella xylostella* (L.) di laboratorium. *J Hama Penyakit Tanam.* 2013;13(1):52-60.
  27. Mnyone LL, Kirby MJ, Lwetoijera DW, et al. Tools for delivering entomopathogenic fungi to malaria mosquitoes: effects of delivery surfaces on fungal efficacy and persistence. *Malar J.* 2010;9(246):1-7. doi:10.1186/1475-2875-9-246.
  28. Narladkar BW, Shivpuje PR, Harke PC. Fungal biological control agents for integrated management of *Culicoides* spp. (diptera: Ceratopogonidae) of livestock. *Vet World.* 2015; 8 ( F e b r u a r y ) : 1 5 6 - 1 6 3 . doi:10.14202/vetworld.2015.156-163.
  29. Boesri H, Boewono T. Perbandingan kematian nyamuk *Aedes aegypti* pada penyemprotan

- aerosystem menggunakan bifenthrin dengan sistem thermal fogging menggunakan malathion. *Yars MedJ*. 2008;16(2):130-140.
30. Paula AR, Carolino AT, Silva CP, Pereira CR, Samuels RI. Testing fungus impregnated cloths for the control of adult *Aedes aegypti* under natural conditions. *Parasit Vectors*. 2013;6(256):1-6. doi:10.1186/1756-3305-6-256.
  31. Farenhorst M, Knols BGJ, Thomas MB, Howard AF V, Takken W, Gueusan RN. Synergy in efficacy of fungal entomopathogens and permethrin against West African insecticide-resistant *Anopheles gambiae* mosquitoes. *PLoS One*. 2010; 5 ( 8 ) : 1 - 1 0 . doi:10.1371/journal.pone.0012081.
  32. Rodrı MA, Salazar MI, Russell TL, et al. Vectorial capacity of *Aedes aegypti* for dengue virus type 2 is reduced with co-infection of *Metarhizium anisopliae*. *Neglected Trop Dis*. 2 0 1 3 ; 7 ( 3 ) : 1 - 5 . doi:10.1371/journal.pntd.0002013.
  33. Gomes SA, Paula AR, Ribeiro A, et al. Neem oil increases the efficiency of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae) larvae. *Parasit Vectors*. 2015;8(669):1-8. doi:10.1186/s13071-015-1280-9.
  34. Carolino AT, Paula AR, Silva CP, Butt TM, Samuels RI. Monitoring persistence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under simulated field conditions with the aim of controlling adult *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae). *Parasit Vectors*. 2014;7(1):1-7. doi:10.1186/1756-3305-7-198.
  35. Prayogo Y, Santoso T, Kartosuwondo U, Sudirman LI. Peningkatan efikasi cendawan *Lecanicillium lecanii* untuk mengendalikan telur hama kepik coklat pada kedelai. *Penelit Pertan Tanam Pangan*. 2011;30(1):58-70.
  36. Sousa NA, Lobo LS, Rodrigues J, Luz C. New insights on the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* formulation and application against *Aedes aegypti* eggs. *Soc Appl Microbiol*. 2013;57:193-199. doi:10.1111/lam.12097.
  37. Luz C, Tai MHH, Santos AH, Silva HHG. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio Janeiro*. 2008;103(2):214-215.
  38. Melo DPO De, Scherrer LR, Eiras EA. Dengue fever occurrence and vector detection by larval survey, ovitrap and mosquitotrap: A space-time clusters analysis. *PLoS One*. 2 0 1 2 ; 7 ( 7 ) : 1 - 1 4 . doi:10.1371/journal.pone.0042125.
  39. Williams CR, Long SA, Russell RC, Ritchie SA. Optimizing ovitrap use for *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia: Effects of some abiotic factors on fields efficacy. *J Am Mosq Control Assoc*. 2006;22(4):635-640.
  40. Mackay AJ, Amador M, Barrera R. An improved autocidal gravid ovitrap for the control and surveillance of *Aedes aegypti*. *Parasit Vectors*. 2013;6(225):1-13. doi:doi:10.1186/1756-3305-6-225.
  41. Ritchie SA, Rapley LP, Williams C, et al. A lethal ovitrap-based mass trapping scheme for dengue control in Australia: I. Public acceptability and performance of lethal ovitraps. *Med Vet Entomol*. 2009;23:295-302.
  42. Rosmayuningsih A, Rahardjo BT, Rachmawati R. Patogenitas jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap hama kepinding tanah (*Stibaropus molginus*) (hemiptera: Cydnidae) dari beberapa formulasi. *J Hama dan Penyakit Tumbuh*. 2014;2(2):28-37.
  43. Ondiaka SN, Masinde EW, Koenraadt CJM, Takken W, Mukabana WR. Effects of fungal infection on feeding and survival of *Anopheles gambiae* (diptera: Culicidae) on plant sugars. *Parasit Vectors*. 2015;8(35):1-11. doi:10.1186/s13071-015-0654-3.
  44. Mnyone LL, Kirby MJ, Lwetoijera DW, et al. Infection of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, with two species of entomopathogenic fungi: effects of concentration, co-formulation, exposure time and persistence. *Malar J*. 2009;8(1):1-12. doi:10.1186/1475-2875-8-309.
  45. Boesri H, Heriyanto B, Susanti L, Handayani SW. Beberapa ekstrak tumbuhan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah Dengue. *Vektora*. 2015;7(2):79-84.
  46. Aini R, Widiastuti R, Nadhifa NA. Uji efektifitas formula spray dari minyak atsiri herba kemangi (*Ocimum sanctum* L) sebagai repelent nyamuk *Aedes aegypti*. *J Ilm Manuntung*. 2016;2(2):189-197.
  47. Putro P, Supriyatna N. Perbandingan daya proteksi losion anti nyamuk dari beberapa jenis minyak atsiri tanaman pengusir nyamuk. *Biopropal Ind*. 2014;5(2):79-84.
  48. Faishol A. Keefektifan cendawan *Metarhizium brunneum* Petch terhadap hama ubi jalar *Cylas formicarius fabricius* (coleoptera: Brentidae)

- (Skripsi). 2011.
49. Ansari MA, Pope EC, Carpenter S, Scholte E, Butt TM. Entomopathogenic fungus as a biological control for an important vector of livestock disease: the *Culicoides* biting Midge. *PLoS One*. 2011; 6(1): 1-8. doi:10.1371/journal.pone.0016108.
  50. Barra-bucarei L, Vergara P, Cortes A. Conditions to optimize mass production of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin 1883 in different substrates. *Chil J Agric Res*. 2016;76(4):448-454. doi:10.4067/S0718-58392016000400008.
  51. Reyes-villanueva F, Garza-hernandez JA, Garcia-munguia AM, Tamez-guerra P, Howard AF V, Rodriguez-perez MA. Dissemination of *Metarhizium anisopliae* of low and high virulence by mating behavior in *Aedes aegypti*. *Parasit Vectors*. 2011;4(1):171. doi:10.1186/1756-3305-4-171.
  52. Lwetoijera DW, Sumaye RD, Madumla EP, et al. An extra-domiciliary method of delivering entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* IP 46 for controlling adult populations of the malaria vector, *Anopheles arabiensis*. *Parasit Vectors*. 2010;3(18):5-10. doi:doi:10.1186/1756-3305-3-18.
  53. Bilgo E, Lovett B, Fang W, Bende N, King GF, Leger RJS. Improved efficacy of an arthropod toxin expressing fungus against mosquitoes. *Sci Rep*. 2017;7(3433):3-10. doi:10.1038/s41598-017-03399-0.
  54. Hasanah U. Mengenal Aspergillosis, infeksi jamur genus *Aspergillus*. *J Kel Sehat Sejah*. 2017;15(30):76-86.
  55. Nurullita U. Peran jamur *Aspergillus flavus* dan *Penicillium* sp dalam mengurangi gas karbon monoksida (CO) dalam ruangan. In: *The 3rd Universty Research Colloquium 2016 ISSN 2407-9189*.;2016:395-405.
  56. Hutabalian M, Pinem MI, Oemry S. Uji antagonisme beberapa jamur saprofit dan endofit dari tanaman pisang terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. cubens di laboratorium. *J Online Agroekoteknologi*. 2015;3(2):687-695.
  57. Irianti ATP, Suyanto A. Pemanfaatan jamur *Trichoderma* sp dan *Aspergillus* sp sebagai dekomposer pada pengomposan jerami padi. *J Agrosains*. 2011;13(2):1-9.
  58. Octriana L. Potensi agen hayati dalam menghambat pertumbuhan *Phytium* sp. secara in vitro. *Bul Plasma Nutfah*. 2011;17(2):138-142.
  59. Mnyone LL, Kirby MJ, Mpingwa MW, et al. Infection of *Anopheles gambiae* mosquitoes with entomopathogenic fungi: effect of host age and blood-feeding status. *Parasitol Res*. 2011;108:317-322. doi:10.1007/s00436-010-2064-y.
  60. Paula AR, Carolino AT, Silva CP, Samuels RI. Susceptibility of adult female *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* is modified following blood feeding. *Parasit Vectors*. 2011;4(91):1-7. doi:doi:10.1186/1756-3305-4-91.
  61. Fang W, Rodriguez JV, Ghosh AK, Lorena MJ, Kang A, Leger RJS. Development of transgenic fungi that kill human malaria parasites in mosquitoes. *Science (80- )*. 2011; 331(6020): 1074-1077. doi:10.1126/science.1199115. Development.

