

DISERTASI

**KAJIAN “MODE OF ACTION” *Beauveria bassiana* (Bals.)
Vuill. (DEUTEROMYCOTA: HYPOMYCETES)
TERHADAP *Tribolium castaneum* Herbst
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)**

Disusun dan diajukan oleh

MUSLIMIN S

P013171005



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

HALAMAN JUDUL

**KAJIAN “MODE OF ACTION” *Beauveria bassiana* (Bals.)
Vuill. (DEUTEROMYCOTA: HYPOMYCETES)
TERHADAP *Tribolium castaneum* Herbst
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

MUSLIMIN S

kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU PERTANIAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

KAJIAN "MODE OF ACTION" *Beauveria bassiana* (Bals.)
Vuill. (DEUTEROMYCOTA: HYPOMYCETES)
TERHADAP *Tribolium castaneum* Herbst
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

Disusun dan diajukan oleh

MUSLIMIN S
P013171005

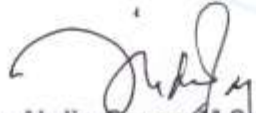
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian dalam rangka Penyelesaian Studi
Program Doktor Program Studi Ilmu Pertanian Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanudin
pada tanggal 27 Januari 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui


Promotor,


Prof. Dr. Ir. Iji Diana Daud, MS
Nip. 196006061986012001

Co. Promotor,


Dr. Ir. Ahdin Gassa, M.Sc
Nip. 196005151986091002

Co. Promotor,


Dr. Firdaus, MS
Nip. 96009091988101001

Ketua Program Studi,


Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.Si
Nip. 196306061988031004

Dekan Sekolah Pascasarjana,


Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
Nip. 196703081990031001



PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muslimin S
Nomor Induk Mahasiswa : P013171005
Program Studi : Ilmu Pertanian

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini **benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan** pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Januari 2021
Saya menyatakan
D758CAHF918023334
6000
ENAM RIBURUPIAH
Muslimin S



PROMOTOR, KOPROMOTOR DAN PENGUJI

- i. PROMOTOR : Prof. Dr. Ir. Itji Diana Daud, MS.
- ii. KOPROMOTOR : Dr. Ir. Ahdin Gassa, M.Sc.
- iii. KOPROMOTOR : Dr. Firdaus, MS.
- iv. PENGUJI : Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc.
- v. PENGUJI : Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc.
- vi. PENGUJI : Dr. Ir. Andi Nasaruddin, M.Sc.
- vii. PENGUJI : Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si.
- viii. PENGUJI EKSTERNAL : Dr. Araz Meilin., S.P., M.Si

PRAKATA

Bismillahirrohmanirrohim, ucapan syukur Alhamdulillah penulis haturkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian hingga proses akhir penulisan disertasi ini. Berkat izin dan takdirNya segala usaha dapat terwujud, urusan dipermudah dan doa-doa terkabulkan. Penelitian dan penulisan disertasi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis tak lupa menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Itji Diana Daud, MS. Selaku Promotor yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan ide-ide yang cemerlang, bimbingan, pemikiran, petunjuk serta dukungan moril bagi penulis sehingga penulis semangat menyelesaikan penelitian hingga penyelesaian disertasi ini.
2. Dr. Ir. Ahdin Gassa, M.Sc dan Dr. Firdaus, MS. Selaku tim Kopromotor yang telah banyak memberiklan saran-saran berharga, arahan dan petunjuk atas kendala-kendala yang dihadapi sejak awal penelitian hingga selesainya penulisan disertasi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc., Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc., Dr. Ir. Andi Nasaruddin, M.Sc., dan Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si. masing-masing selaku tim penguji dan Dr. Araz Meilin, S.P., M.Si. selaku penguji eksternal yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran-saran, sumbangan pemikiran, koreksi bagi penyempurnaan penulisan disertasi.
4. Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPP-DN) yang telah memfasilitasi biaya studi penulis pada program studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
5. Rektor Universitas Ichsan Gorontalo (UNISAN) Gorontalo Dr. Abdul Gaffar La Tjokke, M.Si yang telah berkenan memberikan izin kepada

penulis untuk melanjutkan studi. Dekan beserta Wakil dekan, rekan sejawat dan staf Dosen Fakultas Pertanian UNISAN atas dukungannya selama ini.

6. Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin beserta Wakil dekan dan seluruh staf. Ketua program studi S3 Ilmu Pertanian Universitas Hasanuddin beserta seluruh dosen program studi Ilmu Pertanian.
7. Teman-teman seangkatan Program Doktor Ilmu Pertanian 2017 kalian teman-teman luar biasa. Seluruh pihak yang telah memberikan bantuan namun tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Ucapan terima kasih tak terhingga kepada orang tua tercinta Sepe Nada dan Datti atas segala pengorbanan, dan doa yang terus mengalir untuk penulis selama ini. Kepada saudara-saudaraku tercinta Alm. Sabir, Almh. Sanaria, Sainal, Senawati, S.Pd., M.Pd., Seri, S.Pd., Satriani, S.K.M., Suhardi, S.P., M.Si terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini.

Akhir kata penulis sangat berharap semoga penelitian ini dapat berkontribusi pada perkembangan ilmu dan teknologi pertanian khususnya pemanfaatan cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* untuk mengendalikan hama gudang *Tribolium castaneum* di masa yang akan datang.

Makassar, Januari 2021

Penulis

ABSTRAK

MUSLIMIN S. *Kajian “Mode of Action” Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. (Deuteromycota: Hypomycetes) terhadap Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) (dibimbing oleh Itji Diana Daud, Ahdin Gassa dan Firdaus).*

Penelitian ini bertujuan untuk (1) menganalisa pengaruh masing-masing media PDA, beras, dan jagung terhadap pertumbuhan koloni isolat *B. bassiana*, (2) melakukan pengujian pengaruh masing-masing media PDA, beras, dan jagung terhadap produksi konidia isolat *B. bassiana*, (3) menganalisa pengaruh kerapatan konidia terhadap patogenitas *B. bassiana* terhadap *T. castaneum*, dan (4) melakukan pengujian aktivitas enzim kitinase asal isolat *B. bassiana* dengan menganalisa aktivitasnya secara kualitatif dan kuantitatif.

Penelitian yang dilakukan mencakup beberapa aspek yaitu aspek pertama yaitu pengujian respon pertumbuhan *B. bassiana* pada media PDA, beras, dan jagung. Kedua yaitu pengujian respon produksi konidia *B. bassiana* pada tiga jenis media. Ketiga yaitu infektivitas cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap imago *T. castaneum* pada tiga jenis media dengan berbagai perlakuan kerapatan konidia. Keempat yaitu penentuan LC₅₀ dan LT₅₀ cendawan *B. bassiana* terhadap *T. castaneum*. Kelima yaitu pengujian terhadap produksi kitinase oleh *B. bassiana*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media yang paling sesuai untuk pertumbuhan koloni *B. bassiana* adalah media beras dan jagung, dimana pertumbuhan dan perkembangan koloni menyelimuti penuh kedua media tersebut pada umur 21 hari setelah inkubasi. Kerapatan konidia isolat *B. bassiana* tertinggi terjadi pada media beras yaitu sebesar $8,36 \times 10^8$ konidia/mL, secara uji statistik menunjukkan perbedaan nyata terhadap kerapatan konidia pada media *potato dextrose agar*. Kerapatan 10^7 konidia/mL asal media *potato dextrose agar* efektif mengendalikan *T. castaneum* yaitu sebesar 71,11% dengan nilai LC₅₀ yaitu sebesar $2,13 \times 10^6$ konidia/mL dan nilai LT₅₀ yaitu sebesar 8,315 (8 hari). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa mortalitas pada kerapatan 10^7 konidia/mL berbeda nyata dengan tingkat kerapatan lainnya. Rata-rata aktivitas spesifik enzim tertinggi kitinase yang diperoleh dari cendawan *B. bassiana* berasal dari kadaver *T. castaneum* adalah 10 U/mg protein. Dalam uji protein dengan menggunakan larutan standar BSA dan metode Lowry diperoleh hasil pembacaan dengan *Spectrophotometer* UV-Vis diperoleh harga $R^2 = 0,9925$.

Kata kunci : enzim kitinase, kerapatan konidia, patogenitas, protein test

ABSTRACT

MUSLIMIN S. *Study of "Mode of Action" Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. (Deuteromycota: Hyphomycetes) as Biological Control Against Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) (Supervised by Itji Diana Daud, Ahdin Gassa dan Firdaus).*

This study aims to (1) analyze the influence of each PDA, rice, and corn media on the growing colonies of *B. bassiana* isolate, (2) Test the influence of each PDA, rice, and corn media on the production conidia of *B. bassiana* isolate, (3) analyze the effect of conidia density on the pathogenicity of *B. bassiana* in *T. castaneum*, and (4) perform the activity of the enzyme chitinase from *B. bassiana* isolates by analyzing its activity qualitatively and quantitatively.

The research conducted includes several aspects, namely the first aspect, namely testing the growth response of *B. bassiana* on PDA media, rice, and corn. The second was testing the production response of conidia *B. bassiana* on three types of media. The third was the infectivity of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* against imago *T. castaneum* in three types of media with various conidia density. The fourth was the determination of LC₅₀ and LT₅₀ of *B. bassiana* fungus against *T. castaneum*. The fifth was the test of chitinase production by *B. bassiana*.

The results show that the most suitable media for the growth of *B. bassiana* colonies are rice and corn media, where the growth and development of the colony fully covered the two media at the age of 21 days after incubation. The highest density of conidia isolates *B. bassiana* occurs in rice media which was $8,36 \times 10^8$ conidia/mL. however, there was significant difference in the density of conidia in the medium of potato dextrose agar. The density of 10^7 conidia/mL from potato dextrose media to effectively control *T. castaneum* was 71.11% with an LC₅₀ value of $2,13 \times 10^6$ conidia/mL and an LT₅₀ value of 8,315 (8 days). The average activity of the highest enzyme-specific enzyme chitinase obtained from *B. bassiana* fungus derived from cadaver *T. castaneum* was 10 U/mg protein. In the protein test using standard BSA solution and Lowry method obtained reading results with Spectrophotometer UV-Vis obtained price $R^2 = 0,9925$

Keynote: chitinase enzyme, conidia density, pathogenicity, protein test

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
E. Hasil yang Diharapkan	6
F. Skema Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Tribolium castaneum</i> Herbst	8
B. <i>Beuveria bassiana</i>	11
1. Taksonomi <i>B. bassiana</i>	12
2. Karakteristik <i>B. bassiana</i>	12
3. Proses Infeksi <i>B. bassiana</i>	14
4. Gejala Infeksi <i>B. bassiana</i>	16
5. Keefektifan cendawan entomopatogen <i>B. bassiana</i>	17
6. Media biakan cendawan entomopatogen <i>B. bassiana</i>	17
C. Enzim Kitinase	18

1. Biosintesis enzim kitinase pada mikroorganisme	18
2. Sistem kitinolitik pada cendawan entomopatogen	19
D. Kerangka Konseptual	20
E. Hipotesis	23

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	24
B. Bahan dan Alat	24
C. Prosedur Penelitian	25
1. Preparasi <i>B. bassiana</i>	25
2. Parameter Pengamatan	26
2.1. Pengujian Respon Pertumbuhan dan Produksi Konidia <i>B. bassiana</i> pada Media PDA, Beras, dan Jagung	26
2.2. Aplikasi <i>B. bassiana</i> pada <i>Tribolium castaneum</i>	29
2.3. Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari <i>B. bassiana</i>	32
D. Analisis Data	37

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pertumbuhan, Morfologi, dan Kerapatan Konidia <i>B. bassiana</i> pada Media Tumbuh	38
1. Pertumbuhan dan morfologi <i>B. bassiana</i> pada media tumbuh	38
2. Pengaruh jenis media tumbuh terhadap kerapatan konidia cendawan <i>B. bassiana</i>	40
B. Infektivitas Cendawan Entomopatogen <i>B. bassiana</i> terhadap <i>T. castaneum</i>	43
1. Laju mortalitas <i>T. castaneum</i> terhadap <i>B. bassiana</i> pada berbagai media tumbuh	48
2. Pengaruh kerapatan konidia terhadap mortalitas serangga uji	51
3. Nilai LC ₅₀ dan LT ₅₀ pada pengujian mortalitas serangga uji	54
4. Hama gudang <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi <i>B. bassiana</i>	55
C. Produksi Enzim Kitinase oleh <i>B. bassiana</i>	58
1. Pengukuran kadar protein	59

2. Pengukuran aktivitas spesifik kitinase	62
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	64
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66

DAFTAR TABEL

nomor		halaman
1.	Karakteristik tekstur koloni isolat <i>B. bassiana</i> pada berbagai media tumbuh	39
2.	Mortalitas <i>T. castaneum</i> yang diberi perlakuan tingkat pengenceran <i>B. bassiana</i> pada media yang berbeda	44
3.	Nilai LC ₅₀ pada hari ke-9 dan LT ₅₀ pada cendawan <i>B. bassiana</i> dari media PDA, Beras dan Jagung terhadap imago <i>T. castaneum</i>	54
4	Kadar protein enzim (mg/mL)	61
5	Aktivitas enzim kitinase tiap fraksi hasil pemurnian	62

DAFTAR GAMBAR

nomor		halaman
1.	Skema penelitian	7
2.	Ukuran skala telur, larva, pupa dan imago <i>T. castaneum</i>	8
3.	Miselia dan konidia <i>B. bassiana</i>	12
4.	Tipe pertumbuhan dimorfik <i>B. bassiana</i> . (A) fase parasit menyerupai khamir saat menginfeksi inang. (B) fase saprofit menunjukkan filamen hifa	13
5	Siklus pertumbuhan <i>B. bassiana</i> pada media agar	14
6	Siklus infeksi dasar oleh <i>B. bassiana</i> pada invertebrata	15
7	Konidia putih pada (A) Imago <i>Metamasius hemipterus</i> dan (B) Imago <i>Nezara viridula</i>	15
8	Kerangka Konseptual Penelitian	22
9	Tahapan Pengenceran Konidia	28
10	Jumlah konidia <i>B. bassiana</i> umur biakan 21 HSI (konidia/mL)	41
11	Pengaruh tingkat kerapatan konidia/mL <i>B. bassiana</i> terhadap Laju mortalitas <i>T. castaneum</i> pada media tumbuh (A) PDA, (B) beras, dan (C) jagung selama 9 hari pengamatan	49
12	Hubungan antara nilai probit dengan persentase mortalitas terkoreksi <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi cendawan <i>B. bassiana</i> dari media	53

PDA (A), Beras (B), dan Jagung (C).

13	Kadaver <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi <i>B. bassiana</i> setelah ditumbuhkan pada media PDA (A) tampak depan dan (B) tampak belakang	56
14	Indeks kitinolitik isolat <i>B. bassiana</i> (A) sebelum penambahan <i>congo red</i> dan (B) setelah penambahan larutan <i>congo red</i> .	58
15	Kurva standar	60

DAFTAR LAMPIRAN

nomor		Halaman
1.	Karakteristik makroskopis dan mikroskopis tekstur koloni isolat <i>B. bassiana</i> pada media PDA	76
2a.	Pengaruh jenis media biakan terhadap jumlah total konidia <i>B. bassiana</i>	77
2b.	Uji Anova pengaruh jenis media biakan terhadap jumlah total konidia <i>B. bassiana</i>	78
2c.	Uji lanjut dengan Duncan	78
3a.	Mortalitas <i>T. castaneum</i> akibat terinfeksi oleh <i>B. bassiana</i> pada media PDA	79
3b.	Uji Anova Mortalitas <i>T. castaneum</i> oleh <i>B. bassiana</i> pada media PDA	79
3c.	Uji lanjut dengan Duncan	79
3d.	Persentase mortalitas imago <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi cendawan <i>B. bassiana</i> pada berbagai kerapatan konidia pada media PDA	80
4a.	Mortalitas <i>T. castaneum</i> oleh <i>B. bassiana</i> pada media beras	81
4b.	Anova mortalitas <i>T. castaneum</i> oleh <i>B. bassiana</i> pada media beras	81
4c.	Uji statistik dengan Duncan	81
4d.	Persentase mortalitas imago <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi cendawan <i>B. bassiana</i> pada berbagai kerapatan konidia pada media beras	82
5a.	Mortalitas <i>T. castaneum</i> akibat infeksi oleh <i>B. bassiana</i> pada media jagung	83

5b	Anova mortalitas <i>T. castaneum</i> akibat infeksi oleh <i>B. bassiana</i> pada media jagung	83
5c	Ha Hasil analisis statistic dengan Duncan	83
5d	Persentase mortalitas imago <i>T. castaneum</i> yang terinfeksi cendawan <i>B. bassiana</i> pada berbagai kerapatan konidia (media jagung)	84
6a	Mortalitas akumulatif pada tiga jenis media tumbuh (PDA, beras, dan jagung)	85
6b	Prsentase mortalitas <i>T. castaneum</i> (%) yang disebabkan oleh <i>B. bassiana</i> pada berbagai media	85
6c	Anova mortalitas akumulatif pada tiga jenis media tumbuh (PDA, beras, dan jagung)	86
6d	Uji statistik berdasarkan tingkat kerapatan konidia/mL persentase mortalitas <i>T. castaneum</i> (%) yang disebabkan oleh <i>B. bassiana</i> pada berbagai media	86
6e	Uji statistik jenis media persentase mortalitas <i>T. castaneum</i> (%) yang disebabkan oleh <i>B. bassiana</i> pada berbagai media	87
7	Analisis probit LC (<i>Lethal Concentration</i>) mortalitas <i>T. castaneum</i> pada media PDA yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i>	88
8	Analisis probit LC (<i>Lethal Concentration</i>) mortalitas <i>T. castaneum</i> pada media beras yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i>	91
9	Analisis probit LC (<i>Lethal Concentration</i>) mortalitas <i>T. castaneum</i> pada media jagung yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i>	92
10	Tabel Probit	93
11	Analisis probit LT (<i>Lethal Time</i>) pada kerapatan	94

	10 ⁷ konidia/mL pada media PDA yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i> dengan menggunakan program SPSS 16.0	
12	Analisis probit LT (<i>Lethal Time</i>) pada kerapatan 10 ⁶ konidia/mL pada media beras yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i> dengan menggunakan program SPSS 16.0	96
13	Analisis probit LT (<i>Lethal Time</i>) pada kerapatan 10 ⁵ konidia/mL pada media jagung yang mendapat perlakuan cendawan <i>B. bassiana</i> dengan menggunakan program SPSS 16.0	98
14	Standar Protein	100
15	Penentuan λ maksimum (nm) (untuk pengujian enzim)	100
16	Penentusn λ maksimum (nm) (standar protein)	102
17	Dokumentasi Penelitian	105

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
%	Persen
°C	Derajat Celcius
$\alpha = 0,05$	Taraf signifikansi padan selang kepercayaan 5%
ANOVA	Analysis of variance
g	gram
HDPE	<i>High Density Polyethylene</i>
LT ₅₀	Lhetal Time
LC ₅₀	Lhetal Concentration
Mg/mL	Milligram/mililiter
mm ²	Milimeter Persegi
N	Normalitas
nm	Nanometer
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Power of Hydrogen
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
U/mL	Unit/ mililiter
v/v	volum-volum

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hama gudang *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) merupakan hama penting pada komoditas beras (Buckman *et al.*, 2013), jagung (Astuti *et al.*, 2020), dan produk olahan seperti tepung terigu (El-Desouky *et al.*, 2018) di gudang penyimpanan khususnya negara tropis termasuk di Indonesia. Kehilangan hasil diakibatkan oleh serangan hama gudang diperkirakan mencapai 20-30% (Hendrival, 2016). Infestasi *T. castaneum* dalam jumlah besar menyebabkan bahan pangan berubah warna dan berbau pedas karena tercemar oleh hasil ekskresinya berupa benzokuinon sehingga tidak layak konsumsi (Devi dan Devi, 2015; Sunjaya dan Widayanti, 2012).

Pengendalian *T. castaneum* secara hayati dengan bioinsektisida merupakan alternatif lain. Selain mempunyai arti strategis dalam hal perkembangan ilmu pengetahuan khususnya tentang pengendalian *T. castaneum* secara hayati, juga aman terhadap lingkungan maupun manusia dan ternak. Penggunaan bioinsektisida berupa *Beauveria bassiana* terhadap *T. castaneum* merupakan wacana baru yang belum digunakan di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi memberikan data awal tentang kemampuan *B. bassiana*

mengendalikan *T. castaneum*. Terutama tentang umur kematian *T. castaneum* setelah terjadi infeksi.

Entomopatogen *B. bassiana* merupakan cendawan yang efektif mengendalikan sejumlah serangga hama, di antaranya mampu mengendalikan 90% hama rayap *Coptotermes gestroi* (Desyanti, 2007), 72,3% telur, dan 88% larva hama penggerek batang jagung *Ostrinia furnacalis* (Daud *et al.*, 2020). Sebagai pengendali hama, tingkat kerapatan konidia cendawan *B. bassiana* tidak kalah penting dalam menentukan keberhasilan mengendalikan inangnya. Prayogo (2006) melaporkan bahwa keberagaman mortalitas serangga uji ditentukan oleh spesies dan stadiannya, serta kerapatan konidia cendawan yang diaplikasikan.

Kerapatan *B. bassiana* 10^8 dan 10^9 konidia/mL yang diaplikasikan langsung pada serangga penghisap buah kakao (*Helopeltis* sp) sebelum diberi pakan mampu mengakibatkan mortalitas sebesar 100% (Anggarawati 2014). Akan tetapi, pada pengaplikasian setelah diberi pakan hanya mampu menyebabkan mortalitas sebesar 86–92% (Suriati, 2008). Sementara itu, jumlah kerapatan konidia cendawan *B. bassiana* yang optimal untuk mengendalikan imago *T. castaneum* di Indonesia belum dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh kerapatan konidia *B. bassiana* terhadap mortalitas *T. castaneum*.

Pada saat akan melakukan penetrasi pada tubuh *T. castaneum*, cendawan entomopatogen *B. bassiana* menghasilkan enzim kitinase yang mampu menghidrolisis ikatan β -1,4-asetamido-2-deoksi-D-glikosida pada kitin dan oligomer kitin (Bielka *et al.*, 1984). Hidrolisis senyawa polimer kitin pada dinding sel *T. castaneum* menyebabkan dinding sel patah dan rusak. Proses perusakan dinding sel dilanjutkan dengan pembentukan miselium yang akan membungkus tubuh inangnya (Prayogo dan Suharsono, 2005). Penggunaan enzim dalam menghidrolisis polimer kitin lebih banyak dikembangkan karena lebih spesifik dalam menghasilkan produk serta tidak memiliki hasil samping yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan (Bielka *et al.*, 1984).

Beberapa mikroba sebagai penghasil enzim kitinase telah banyak diteliti seperti *Enterobacter*, *Streptomyces*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* (Omumasaba *et al.*, 2001), *Bacillus* spp. (Nurdin *et al.*, 2016), dan *Aspergillus rugulosus* (Widhyastuti, 2007). Sepanjang penelusuran literatur yang penulis lakukan, khusus untuk aktivitas enzim kitinase asal isolat *B. bassiana* yang diisolasi dari kadaver *T. castaneum* belum pernah ditemukan. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap enzim kitinase yang diproduksi oleh isolat *B. bassiana* pada saat menginfeksi imago *T. castaneum*.

Media biakan untuk produksi massal konidia *B. bassiana* saat ini sering menggunakan PDA (*Potato Dextrose Agar*), serta beras dan jagung sebagai media alternatif. Media PDA termasuk dalam media semi sintetik

karena terdiri atas bahan alami (kentang) dan bahan sintesis (dextrose dan agar). Seperti halnya dengan dextrose sebagai sumber gula dan energi, kentang juga berfungsi sebagai sumber vitamin; sedangkan agar berfungsi sebagai komponen pematat medium. Ketiga komponen tersebut diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan *B. bassiana* (Octavia dan Wantini, 2017; Arifah, 2019).

Pembiakan cendawan memerlukan media yang mengandung makro-elemen seperti karbon, nitrogen, oksigen, sulfur, dan fosfat yang merupakan komponen utama dalam pertumbuhan miselium, produksi spora, dan keberlanjutan koloninya (Gao *et al.*, 2007; Rani *et al.*, 2007; Safavi *et al.*, 2007). Media alternatif beras dan jagung juga mempunyai kandungan nutrisi cukup tinggi untuk perbanyak cendawan (Wahyudi *et al.*, 2002) sehingga sangat memungkinkan untuk digunakan sebagai media pembiakan *B. bassiana*. Berdasarkan alasan ini sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap pengaruh media biakan alternatif berupa beras dan jagung terhadap produksi konidia cendawan *B. bassiana*.

Sebagai sumber nutrisi, media tumbuh merupakan faktor penentu pertumbuhan dan virulensi cendawan entomopatogen (Shah *et al.*, 2005). Virulensi cendawan entomopatogen berkaitan dengan ukuran konidia, laju perkecambahan konidia, dan produksi enzim sebagai pendegradasi kitin pada kutikula serangga (Altre *et al.*, 1999). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan pertumbuhan dan tingkat kerapatan konidia terhadap media produksi cendawan *B. bassiana*.

B. Perumusan Masalah

Beberapa permasalahan yang muncul untuk dicarikan solusi, yaitu:

1. Manakah dari ketiga jenis media beras, jagung, dan PDA yang paling sesuai untuk pertumbuhan koloni isolat *B. bassiana* ?
2. Media jenis apakah yang paling berpengaruh terhadap produksi konidia isolat *B. bassiana* ?
3. Berapakah kerapatan konidia *B. bassiana* yang paling efektif untuk mengendalikan hama gudang dari *T. castaneum* Herbst ?
4. Bagaimanakah aktivitas enzim kitinase asal Isolat *B. bassiana* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Menganalisa pengaruh masing-masing media beras, jagung, dan PDA terhadap pertumbuhan koloni.
2. Melakukan pengujian pengaruh masing-masing media beras, jagung, dan PDA terhadap produksi konidia isolat *B. bassiana*.
3. Menganalisa pengaruh kerapatan konidia terhadap patogenitas *B. bassiana* pada *T. castaneum*.
4. Melakukan pengujian aktivitas enzim kitinase asal isolat *B. bassiana* dengan menganalisa aktivitasnya secara kualitatif dan kuantitatif.

D. Kegunaan Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi bagi upaya mengatasi serangan hama gudang dari *T. castaneum* dengan

memanfaatkan potensi isolat *B. bassiana* melalui formulasi dan optimalisasi produk bioinsektisida sebagai pengganti insektisida kimia.

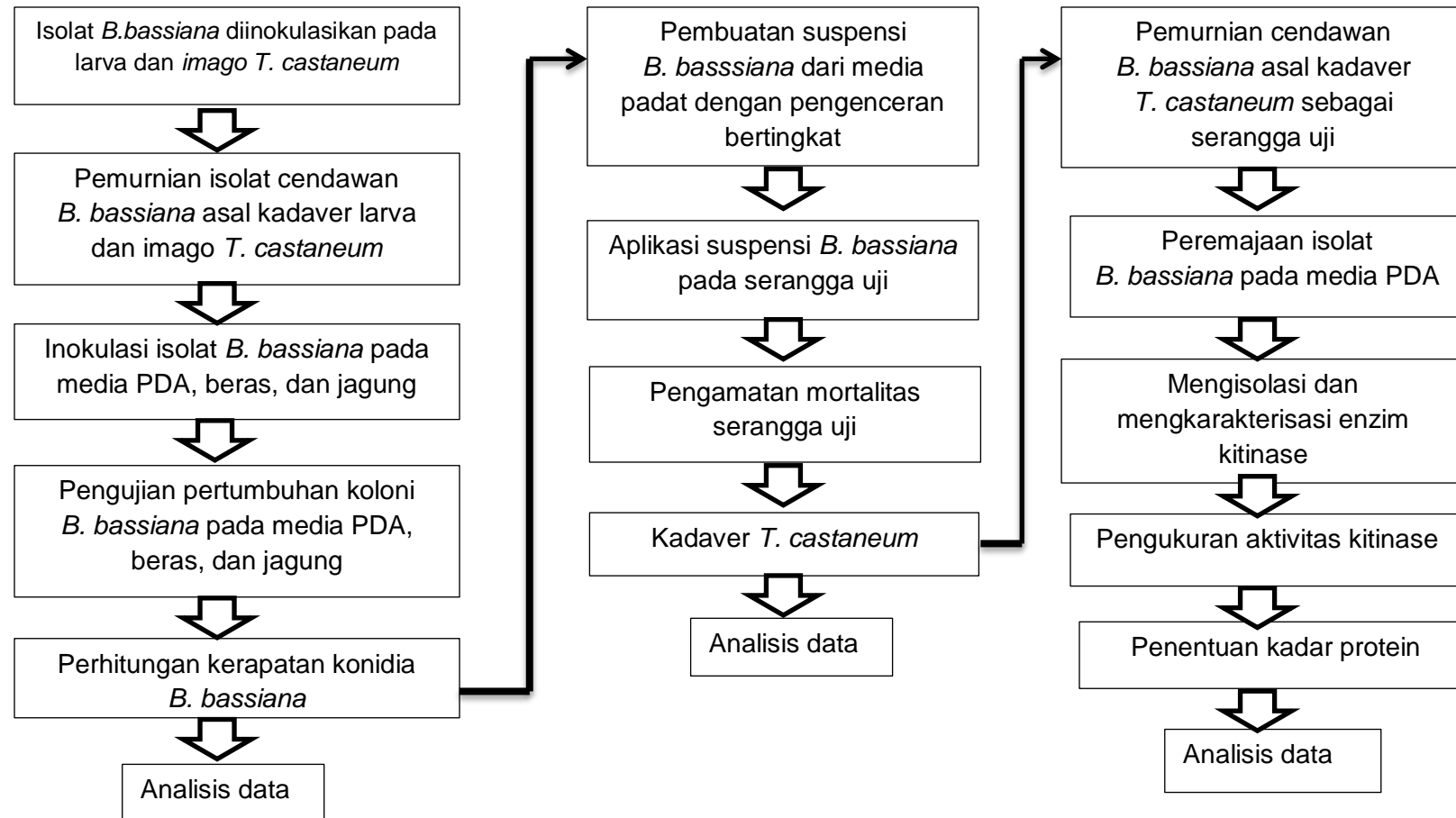
2. Memberikan kontribusi mengenai data potensi *B. bassiana* sebagai penghasil enzim kitinase ekstraseluler, metode isolasi enzim kitinase, dan data karakteristik enzim kitinase yang diproduksi.

E. Hasil yang Diharapkan

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan :

1. Memberikan pengetahuan dan informasi tentang pengaruh komposisi media terhadap produksi konidia cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan tingkat keefektifannya untuk pengendalian hama gudang *T. castaneum*.
2. Menemukan metode yang cocok untuk mengisolasi enzim kitinase yang terbentuk pada saat *B. bassiana* menginfeksi *T. castaneum*.
3. Langkah awal untuk menemukan teknik pengendalian *T. castaneum* di pergudangan dengan pemanfaatan enzim kitinase sebagai bahan aktif.
4. Memberikan pengetahuan dan informasi tentang aktivitas enzim kitinase pada cendawan entomopatogen *B. bassiana*.

G. Skema Penelitian



Gambar 1. Skema penelitian

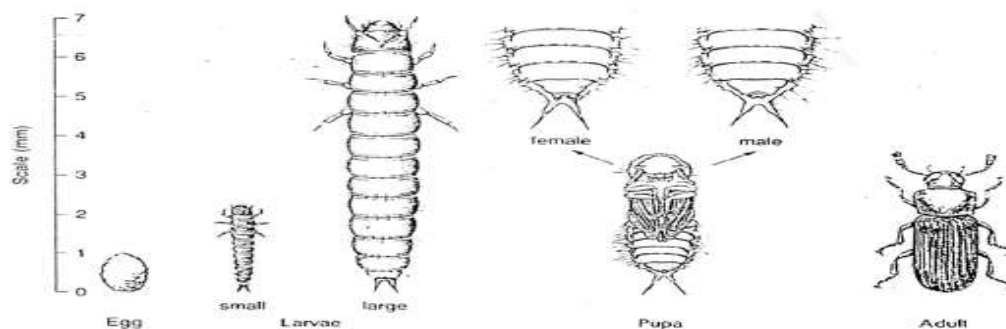
BAB II

TINJUAN PUSTAKA

A. *Tribolium castaneum* Herbst

Kumbang *T. castaneum* dikenal sebagai “red flour beetle”, karena lebih banyak menyerang bahan simpan olahan seperti tepung dan biji-bijian. Serangga ini mampu menginfestasi hampir semua komoditas yang disimpan di dalam gudang dengan kondisi suhu optimum 33°C dan kelembapan 70% (Kalshoven, 1981). Komoditas yang diserang di antaranya adalah beras, jagung, gandum, tepung terigu, sereal, kakao, buah kering, dan biji bunga matahari (Mason, 2010).

Lama perkembangan serangga ini dari telur sampai imago berkisar antara 40 sampai lebih dari 100 hari (Harahap, 2012). Imago memiliki tubuh pipih memanjang, dengan panjang tubuh antara 2,66-4,4 mm dan berwarna coklat. Antena terdiri atas 11 ruas dengan 3 ruas terakhir membentuk gada (Gambar 2).



Gambar 2. Ukuran skala telur, larva, pupa dan imago *T. castaneum*. (Sokoloff, 1974).

Imago betina meletakkan telur di antara partikel bahan yang diserang. Ketika diletakkan, telur-telur ditutupi oleh cairan perekat yang dapat menyebabkan partikel bahan menempel sehingga telur sulit terlihat. Telur berwarna putih dan berukuran kecil dengan panjang 0,5 mm (Haines, 1991). Stadium telur berkisar antara 3-4 hari. Imago betina dapat meletakkan telur sampai dengan 1000 telur selama masa hidupnya atau sekitar 5-15 butir setiap hari dengan masa peletakan telur selama beberapa bulan (Rees, 2004).

Larva *T. castaneum* memakan bahan makanan yang sama dengan imago. Panjang larva sekitar 10 mm dengan tipe elateriform, berwarna putih kekuningan, dan aktif bergerak mencari makan. Selama masa pertumbuhannya, larva mengalami pergantian kulit sebanyak 6-11 kali. Pada saat akan membentuk pupa, larva akan naik ke permukaan komoditas yang diserang sehingga pada permukaan komoditas akan banyak ditemukan eksuvia larva (Rees, 2007).

Pupa *T. castaneum* berwarna putih kekuningan dengan panjang 4 mm tanpa dilindungi oleh kokon. Stadium pupa dapat berlangsung selama 4-5 hari (Hill, 2002). Pupa jantan dapat dibedakan dari pupa betina dengan melihat struktur urogomphi (sepasang tonjolan pada ujung abdomen) yang lebih besar, sedangkan pada pupa betina terdapat struktur papillae (sepasang tonjolan yang letaknya di atas urogomphi) pada ujung abdomen (Beeman *et al.*, 2006).

Serangan serangga dapat menimbulkan kerusakan baik secara langsung maupun tidak langsung. Kerusakan langsung dapat terjadi akibat serangga yang mengkonsumsi bahan yang disimpan, dan juga karena adanya kontaminasi serangga dewasa, pupa, larva, telur dan kulit serangga. Kerusakan tidak langsung dapat berupa kenaikan suhu akibat metabolisme serangga yang disebut *hotspot*, yaitu area sekitar serangga yang terinfeksi berat suhunya dapat mencapai 42,2°C. Kenaikan kadar air dapat menyebabkan bahan akan menjadi lembab dan lengket, timbul *storage fungi*, dan bau apek. Tetapi apabila kadar air bahan rendah karena terjadinya proses perpindahan uap air, menyebabkan mikroba lain juga dapat tumbuh, sehingga nilai estetis dari produk berkurang (Cotton dan Wilbur, 1974).

Hama serangga mampu mempercepat proses perubahan kimiawi berbahaya. Hasil sekresi enzim lipase oleh serangga mampu meningkatkan proses kerusakan secara kimiawi. Hama gudang *T. castaneum* mampu bertahan pada bahan pangan dengan kadar air rendah sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada pakan. Serangga ini merupakan hama yang paling banyak ditemukan di gudang penyimpanan biji-bijian sereal, khususnya pada produk olahan seperti tepung dan beras giling. Bahan pangan yang terserang biasanya tercemar oleh benzokuinon (sekresi *T. castaneum*) sehingga tidak layak untuk dikonsumsi (Sunjaya dan Widayanti, 2012).

B. *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hypomycetes) adalah cendawan entomopatogen yang ditemukan pada tahun 1835 oleh Agostino Bassi yang menyebabkan *muscardine disease* pada ulat sutera (Tanada dan Kaya, 1993; Alexopoulos dan Mims, 1996). Cendawan *B. bassiana* memiliki kemampuan menginfeksi inang yang luas menyebabkan cendawan ini memiliki strain dan isolat yang beragam. Indonesia dengan iklim tropik yang dimilikinya memungkinkan *B. bassiana* hidup dengan keragaman strain. Keragaman strain ini akan berpengaruh terhadap kemampuannya menginfeksi inang (Trizelia dan Rusli, 2012). Cendawan ini dapat menyerang serangga dari berbagai ordo serta mampu menyerang seluruh stadia perkembangan serangga. Daud *et al.* (2020) melaporkan bahwa *B. bassiana* memiliki kemampuan menginfeksi semua stadia perkembangan pada hama penggerek batang jagung *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae).

Cendawan *B. bassiana* di luar negeri seperti di Jepang dan Eropa telah dikenal luas penggunaannya. Di antara perusahaan yang mengembangkan formula *B. bassiana* adalah Mycotech Corp. dan Troy BioSciences. (Hassanloui *et al.*, 2007). Beberapa hasil laporan penelitian pemanfaatan formula *B. bassiana* terhadap mortalitas hama di antaranya penggerek tongkol jagung *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), kepik hijau *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae), jangkrik kalung *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae), dan hama gudang

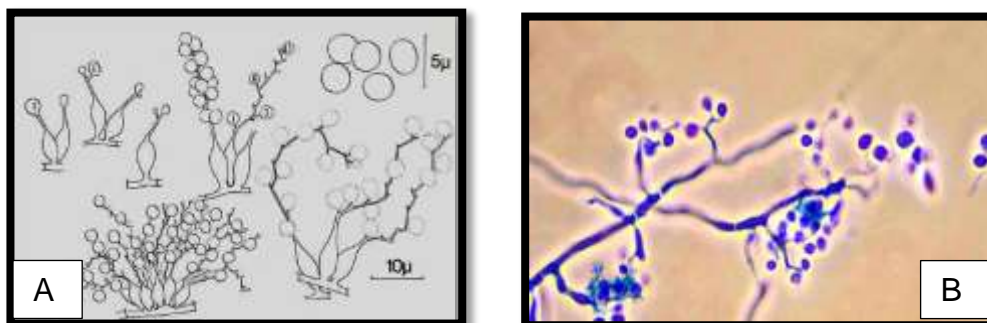
T. castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae) (Suprayogi *et al.*, 2015; Soleha *et al.*, 2016; Swathi *et al.*, 2017).

1. Taksonomi *B. bassiana*

Secara taksonomi *B. bassiana* termasuk dalam Kingdom: Fungi; Filum: Ascomycota; Kelas: Sordariomycetes; Ordo: Hypocreales; Famili: Cordycipitaceae; Genus: *Beauveria*; Spesies: *Beauveria bassiana* (Berman, 2012).

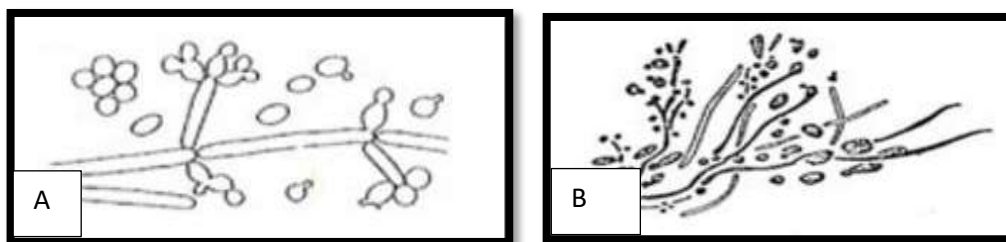
2. Karakteristik *B. bassiana*

Cendawan *B. bassiana* juga dikenal sebagai *white muscardine* karena miselia dan konidia (spora) yang dihasilkan berwarna putih, bentuknya oval dan tumbuh secara zig zag pada konidioforanya. Barron (2001) melaporkan bahwa cendawan *B. bassiana* memproduksi spora secara simpodial pada ujung sel induk spora, memiliki miselia bersekat, dan secara makroskopis berwarna putih (Gambar 3A dan 3B).



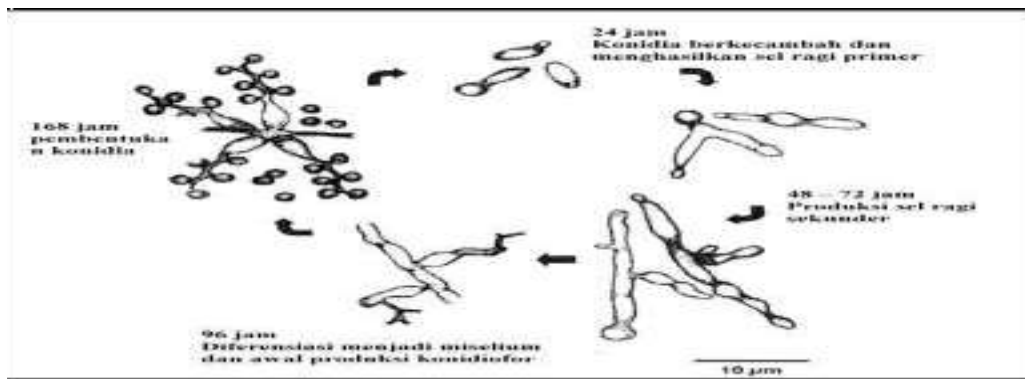
Gambar 3. Miselia dan konidia *B. bassiana* (www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm 4 Februari 2019).

Cendawan *B. bassiana* memiliki tipe pertumbuhan dimorfik (Wan, 2003). Pada saat tidak ada serangga inang yang spesifik, *B. bassiana* mengalami siklus hidup vegetatif aseksual yang meliputi perkecambahan konidia, pertumbuhan filamen hifa, dan pembentukan konidia secara simpodial. Siklus hidup *B. bassiana* beralih menjadi entomopatogen ketika ada inang (Gambar 4A dan 4B).



Gambar 4. Tipe pertumbuhan dimorfik *B. bassiana*. (A) fase parasit menyerupai khamir saat menginfeksi inang. (B) fase saprofit menunjukkan filamen hifa. Sumber : Wan (2003).

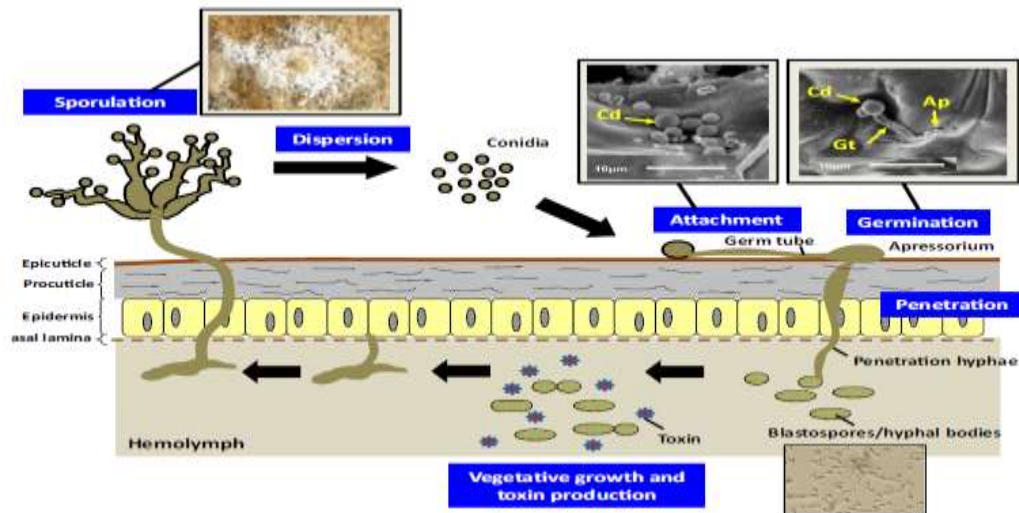
Alves *et al.* (2002) melaporkan perkembangan *B. bassiana* pada media agar dimulai dengan perkecambahan konidia dan menghasilkan sel ragi primer dimulai terjadi pada 24 jam setelah inkubasi, produksi sel sekunder mulai terjadi pada 48 sampai 72 jam, diferensiasi menjadi miselium dan awal produksi konidiofor pada 96 jam, dan pembentukan konidia pada 16 jam (Gambar 5). Neves dan Alves (2004) menyatakan bahwa, konidia *B. bassiana* berkecambah pada kutikula *Cornitermes cumulans* Kollar (Isoptera: Termitidae) antara 6 sampai 12 jam setelah aplikasi. Penetrasi pada umumnya mulai terjadi 12 sampai 24 jam setelah inokulasi dan kematian serangga terjadi antara 72 sampai 96 jam setelah aplikasi.



Gambar 5. Siklus pertumbuhan *B. bassiana* pada media agar. Sumber :Alves *et al.* (2002).

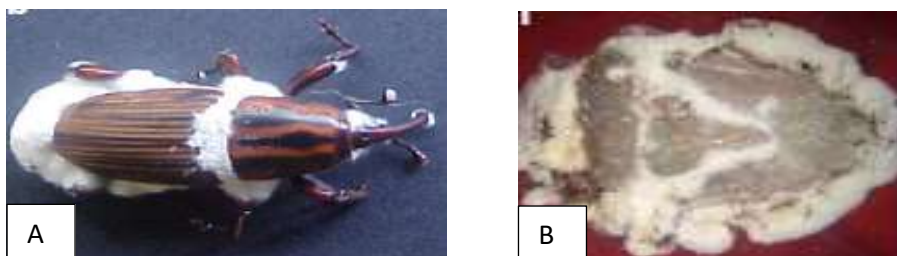
3. Proses infeksi *B. bassiana*

Secara umum cendawan entomopatogen menginfeksi serangga melalui integumennya (Gambar 6). Cendawan *B. bassiana* menembus integumen serangga dengan membentuk apresorium (tabung kecambah) dari konidia. Setelah menembus integumen dan masuk ke dalam hemosoel. Cendawan *B. bassiana* membentuk tubuh hifa yang kemudian ikut beredar dalam hemolimfa dan membentuk hifa sekunder untuk menerjang jaringan lain seperti jaringan lemak, sistem syaraf, trakea dan saluran pencernaan. Cendawan *B. bassiana* memproduksi toksin beauvericin yang menyebabkan gangguan pada fungsi hemolimfa dan nukleus serangga. Konidia berkembang dalam saluran pencernaan dalam waktu 72 jam, setelah itu hifa melakukan penetrasi pada dinding usus sekitar 60-72 jam. Kerusakan saluran pencernaan terjadi dengan hancurnya pencernaan, kemudian masuk ke hemosoel dan mengubah pH hemolimfa, setelah itu serangga akan kehabisan nutrisi dan mati (Soetopo dan Indrayani, 2007; Tanada dan Kaya, 1993).



Gambar 6. Siklus infeksi dasar oleh *B. bassiana* pada invertebrata (Mascarin and Jaronski, 2016).

Tubuh serangga yang mati akan berwarna putih karena ditumbuhi konidia (Gambar 7A dan 7B). Setiap serangga terinfeksi akan efektif menjadi sumber infeksi bagi serangga sehat di sekitarnya (Cheung dan Grula, 1982). Setelah kematian inang, pertumbuhan cendawan kembali menjadi bentuk hifa yang khas yaitu tahap saprotrof dimana cendawan memanfaatkan bangkai inangnya sebagai sumber nutrisi pada kondisi air, oksigen, pH, dan suhu yang memadai.



Gambar 7. Konidia putih pada (A) Imago *Metamasius hemipterus* dan (B) Imago *Nezara viridula* (Mascarin dan Jaronski, 2016).

4. Gejala infeksi *B. bassiana*

Gejala awal serangga yang terserang cendawan yaitu tidak mau makan, tubuh menjadi lemah dan kurang orientasi, lama kelamaan diam, dan mati. Selain kehabisan nutrisi, kematian serangga juga dapat disebabkan adanya tekanan fisik akibat masuknya hifa pada jaringan serangga, keracunan oleh mikotoksin *B. bassiana* serta aksi kombinasi ketiganya (Nankinga *et al.*, 1994; Inglis *et al.*, 2001). Beberapa toksin yang dihasilkan oleh *B. bassiana* adalah bassianin, beauvericin, bassianolide, beaverolides dan tenellin (Tanada dan Kaya, 1993). Jika keadaan lingkungan mendukung seperti kelembaban, suhu, cahaya, dan nutrisi akan muncul miselia putih pada permukaan tubuhnya (Neves dan Alves, 2004; Hasyim dan Azwana, 2005). Larva yang terserang biasanya mengeluarkan cairan kemerahan dari mulutnya secara terus menerus. Setelah mati, mula-mula tubuhnya lunak dan dalam waktu lima jam menjadi kaku (mummi), sehari kemudian tubuhnya ditutupi miselia (Lacey *et al.*, 2001; Nankinga *et al.*, 1996). Miselia ini akan berkembang pada tubuh serangga baik yang tertimbun tanah maupun tidak, sehingga cendawan ini dapat diisolasi dari tanah. Cendawan entomopatogen dapat bertahan dalam tanah dalam bentuk spora sehat selama beberapa tahun dan dalam bentuk miselia atau konidia untuk beberapa bulan (Papierok dan Hajek, 1997 *dalam* Butt dan Goettel, 2000).

5. Keefektifan cendawan entomopatogen *B. bassiana*

Cendawan *B. bassiana* sebagai entomopatogen telah terbukti dapat mengendalikan berbagai serangga hama. Beberapa hasil laporan penelitian isolat *B. bassiana* terhadap pengendalian serangga hama di antaranya penggerek tongkol jagung *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) pada kerapatan 1×10^8 konidia/mL menyebabkan mortalitas sebesar 82,50% (Swathi *et al.*, 2017), kepik hijau *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) pada kerapatan 1×10^8 konidia/mL menyebabkan mortalitas sebesar 50% (Suprayogi *et al.*, 2015), jangkrik kalung *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae) dengan kerapatan 1×10^9 konidia/mL menyebabkan mortalitas sebesar 52,50% (Soleha *et al.*, 2016), dan hama gudang *T. castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) pada kerapatan 1×10^7 konidia/mL sebesar 73,33% (Daud *et al.*, 2020).

6. Media biakan cendawan entomopatogen *B. bassiana*

Media isolasi dan pemurnian untuk cendawan entomopatogen pada umumnya menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Ganjar *et al.*, 1999). Media PDA mengandung cukup banyak karbohidrat yaitu terdiri atas ekstrak kentang 20% dan glukosa 2% sehingga mempercepat proses sporulasi dan perkecambahan konidia cendawan (saputri *et al.*, 2019). Daya kecambah cendawan dari biakan PDA menunjukkan kerapatan konidia mencapai $2,02 \times 10^8$ konidia/mL (Susilawati, 2015).

Produksi massal konidia cendawan entomopatogen *B. bassiana* dapat dilakukan dengan menggunakan bahan organik seperti beras dan jagung (Nelson dan Glare, 1996; Posada-Florez, 2008). Media beras dan jagung menghasilkan campuran berupa media dan konidia kering yang lebih mudah disimpan (Indrayani dan Prabowo, 2010). Pertumbuhan miselium, perkecambahan konidia, dan virulensi cendawan tergantung pada karakter isolat dan kandungan nutrisi di dalam media tumbuh (Adour *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2005; Gao *et al.*, 2007). Kerapatan konidia cendawan yang berasal dari media beras dan beras + jagung memiliki kerapatan konidia 10^{10} konidia/mL lebih tinggi dibandingkan dengan PDA yaitu 10^8 konidia/mL (Susilawati, 2015).

C. Enzim Kitinase

Kitin merupakan homopolimer dari β -1,4-*N*-setil-*D*-glukosamin dan merupakan polimer ke dua terbanyak di alam setelah selulosa. Senyawa ini dapat ditemukan pada cendawan entomopatogen. Kitinase atau poli {1,4- β (2 asetamido-2-deoksi-*D*-glukosaminide)} glikano hidrolase adalah enzim yang menghidrolisis ikatan β -1,4-asetamido-2-deoksi-*D*-glikosida dari kitin dan kitodekstrin (Bielka *et al.*, 1984).

1. Biosintesis enzim kitinase pada mikroorganisme

Pengaturan biosintesis enzim kitinase melalui sistem represor-induser. Kitin dan produk hasil degradasinya (oligomer/monomer) berperan sebagai induser sedangkan substrat seperti selulosa, xilan,

pektin, lignin dan sebagainya tidak dapat menginduksi kitinase. Glukosamin dapat menginduksi kitinase karena pada kitosan (kitin yang mengalami deasetilasi) masih terdapat sekitar 10–20% residu asetil (Sahai dan Manocha, 1993).

Faktor yang menginduksi sintesis kitinase adalah kemampuan sel mikroorganisme untuk mengenal struktur fisik kitin seperti susunan rantai, sebagai contoh adalah mekanisme sintesis kitinase pada *Streptomyces olivaceoviridis*. Mikroorganisme ini memproduksi protein seperti lektin (lectin-like protein) yang mengikat secara khusus pada kristal α -kitin. Sel juga dapat mengenal derajat deasetilasi dari jumlah glukosamin dan GlcNAc relatif yang dibebaskan selama degradasi kitin. Kehadiran komponen lain seperti protein yang berikatan kovalen dengan partikular kitin dapat dikenal secara langsung oleh sensor protein membran paling luar. Untuk memisahkan enzim proteolitik ini, *S. olivaceoviridis* menghasilkan kitinase dengan domain enzimatik tambahan seperti protease. Bakteri *S. olivaceoviridis* menghasilkan 59 kDa protein dan terdiri atas 47 kDa kitinase dan 12 kDa proteinase. Jadi efisiensi penggunaan kitin juga membutuhkan beberapa enzim selain kitinase (Schrempf, 1995).

2. Sistem kitinolitik pada cendawan entomopatogen

Aktivitas kitinolitik dari beberapa entomopatogen penting untuk pertumbuhan dan secara potensial dibutuhkan untuk penetrasi. Jenis entomopatogen *B. bassiana* yang tumbuh pada kutikula belalang sebagai

sumber karbon memberikan aktivitas endokitinase, β -1,4-*N*-Asetilglukosaminidase dan enzim hidrolitik lain (Maggadani *et al.*, 2017).

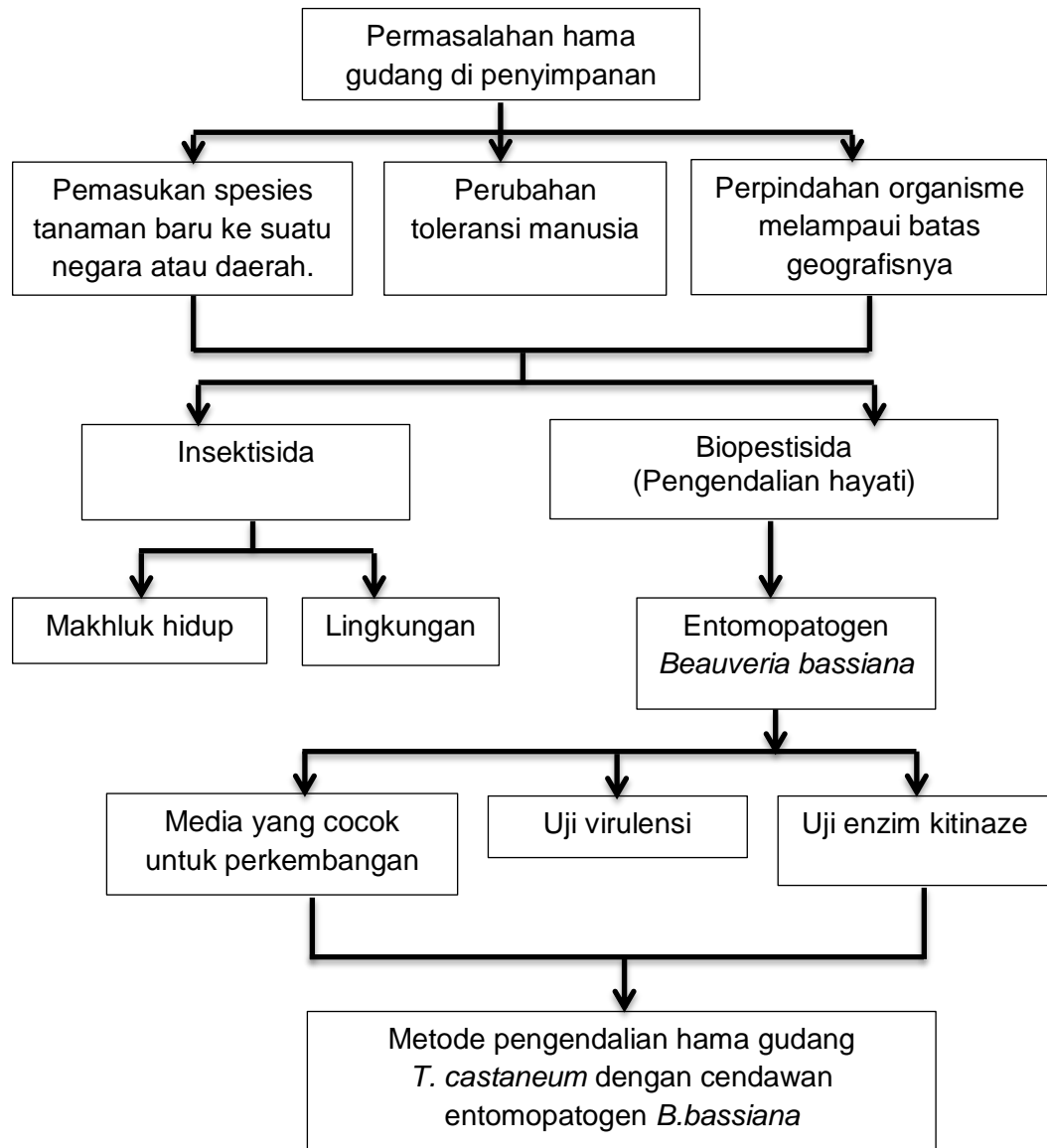
Eksresi gen kitinase pada cendawan dikontrol oleh sistim represor-induser. Aktivitas kitinase yang tinggi hanya ditemukan pada kultur yang diberi kitin sebagai sumber karbon, tetapi bukan selulosa, kitosan atau kitobiose. Sebaliknya ditemukan bahwa GlcNAc tidak meningkatkan produksi enzim pada *T. harzianum* akan tetapi GlcNAc dan glukosa menghambat sintesis kitinase dan β -1,4-*N*-asetilglukosaminidase (Maggadani *et al.*, 2017).

D. KERANGKA KONSEPTUAL

Keharusan untuk mengurangi pemakaian senyawa kimia sintetis secara bertahap untuk mengendalikan serangga hama gudang sangat diperlukan. Penggunaan senyawa kimia dapat menyebabkan perubahan keragaman genetik pada serangga-serangga hama gudang tersebut. Kegiatan perdagangan antar negara yang semakin tinggi meningkatkan resiko berpindahnya serangga hama gudang yang resistensi terhadap insektisida tertentu masuk ke suatu negara ke negara lain. Resistensi yang tinggi terhadap insektisida tertentu pada sejumlah spesies hama gudang di beberapa negara dapat mempengaruhi tingkat resistensi serangga hama gudang yang ada di Indonesia kalau terjadi perkawinan di antara mereka.

Indonesia merupakan negeri yang kaya akan keanekaragaman hayatinya. Arinafril (2002) menyatakan bahwa terdapat 37.000 spesies flora asli Indonesia yang telah diidentifikasi, dan baru sekitar satu persen yang telah dimanfaatkan sebagai agen biopestisida. Biopestisida merupakan pestisida yang menggunakan formulasi mikroba tertentu seperti cendawan, bakteri, maupun virus yang bersifat antagonis terhadap serangga. Biopestisida ini memiliki kegunaan sebagai agen yang dapat mematikan, menghalau, serta menghambat perkembangan larva dan serangga hama tanaman tanpa mengakibatkan kerusakan lingkungan. Salah satu mikroorganisme yang dapat dijadikan sebagai agen pengendali serangan hama, yaitu cendawan *B. bassiana*.

Perlu dilakukan analisis kandungan senyawa bioaktif pada cendawan *B. bassiana* yang menyebabkan patogenitas terhadap hama target. Serta perlu dilakukannya pengujian patogenitas terhadap serangga dari ordo coleoptera dengan memakai variasi konsentrasi konidium. Cendawan *B. bassiana* merupakan salah satu cendawan entomopatogenik yang menghasilkan kitinase ketika menginfeksi inang. Kitinase banyak digunakan sebagai agen biokontrol karena dapat menurunkan kitin menjadi produk yang ramah lingkungan (Gambar 8).



Gambar 8. Kerangka Konseptual Penelitian

E. Hipotesis

1. Media biakan mempengaruhi pertumbuhan koloni isolat *B. bassiana*.
2. Jenis media biakan mempengaruhi produksi konidia isolat *B. bassiana*
3. Tingkat kerapatan konidia mempengaruhi keefektifan *B. bassiana* dalam mengendalikan *T. castaneum* Herbst
4. Isolat *B. bassiana* dari kadaver *T. castaneum* akan memproduksi enzim kitinase saat menginfeksi inangnya.