

Pengaruh Destruxin dan Konidiospora *M. anisopliae* yang Dikultur pada Berbagai Media terhadap Larva *Aedes aegypti*

Amrul Munif

*Pusat Penelitian Ekologi Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan RI, Jakarta*

ABSTRAK

Penelitian isolasi destruxin dan konidiospora *Metarhizium anisopliae* untuk memperoleh endotoksinya melalui proses antibiosis dalam meningkatkan toksisitas sebagai agen pengendali, telah dilakukan di laboratorium Entomologi Puslit Ekologi Kesehatan, Jakarta, dari bulan Mei 1994 sampai April 1995. Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan toksisitas *strain* agar diperoleh kualitas endotoksin yang hipervirulen (toksik) dan untuk memproduksi konidiospora *M. anisopliae* dengan mudah. Di samping itu juga dilakukan penentuan tingkat kepekaan larva nyamuk dengan menggunakan hasil isolasi destruxin dan konidiospora yang dikultur pada berbagai macam medium.

Pengamatan dilakukan dengan cara mengkultur spora cendawan *M. anisopliae* pada berbagai macam media agar dekstrosa Sabouraud buatan, kentang (potato dekstrosa agar buatan), beras, gandum dan jagung. Ternyata media tumbuh cendawan *M. anisopliae* mempengaruhi kualitas dan kuantitas konidiospora yang dihasilkan. Produksi massal konidiospora yang dikultur pada kentang/PGA buatan menghasilkan kualitas dan kuantitas yang lebih baik dibandingkan pada medium jagung, beras dan agar dekstrosa Sabouraud buatan.

Pengamatan toksisitas destruxin yang diisolasi dari konidiospora yang dihasilkan berbagai macam medium terhadap larva *Ae. aegypti* menunjukkan hasil persamaan regresi untuk LC 50 dan LC 95 berbeda satu dengan yang lainnya. Analisis Rancangan Acak Lengkap isolasi destruxin untuk LC 50 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$). Dari analisis beda rata-rata terkecil, ternyata destruxin yang dihasilkan dari isolasi konidiospora pada media kentang dan beras lebih toksik dibandingkan dengan yang berasal dari media jagung, gandum dan agar dekstrosa Sabouraud buatan.

PENDAHULUAN

Penyakit menular yang ditularkan serangga vektor saat ini masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia, terutama penyakit malaria, tularia dan demam berdarah. Salah satu cara pemberantasan penyakit tersebut yaitu dengan memutuskan rantai penularan yang ditujukan pada vektor dengan menggunakan pestisida maupun pengendali hayati. Salah satu alternatif pengendali hayati adalah memanfaatkan agen dan cendawan patogen yang endotoksinya bersifat racun bagi serangga.

Hubungan antara serangga dan mikroorganisme dapat berlangsung melalui tiga hal yaitu hidup sebagai simbiosis, saprofit atau sebagai patogen. Mikroorganisme yang hidup sebagai patogen dapat menimbulkan penyakit pada serangga. Pada tahun 1835 Bassi de Lodi membuktikan bahwa cendawan dapat menyebabkan penyakit serta kematian pada ulat sutera. Kemudian pada tahun 1870 L. Pasteur juga mempublikasikan penyakit ulat sutera yang disebabkan oleh mikroorganisme dan bakteri. Pasteur telah berjasa karena menyelamatkan produksi sutera Perancis dari

epidemi Flacherio tersebut. Kemudian pada dekade-dekade berikutnya muncul beberapa publikasi, namun yang paling terkenal adalah karya Metchnikoff pada tahun 1879 yang menunjukkan bahwa serangga hama dapat dikendalikan dengan baik oleh cendawan *Metarhizium anisopliae* (Metch)⁽¹⁾.

Pada umumnya cendawan entomopatogen menyerang inang dengan menembus integumen serangga melalui perantara hifa, kecuali cendawan *Mucor* dan *Aspergillus* yang memerlukan pelakuan terlebih dahulu pada integumen.

Ada empat tahap dalam etiologi penyakit cendawan yang menyerang serangga. Tahap pertama, kontak antara propagul cendawan dengan serangga. Dalam proses ini senyawa mukopolisakarida memegang peranan yang sangat penting. Tahap ke dua, penempelan dan perkecambahan propagul cendawan. Cendawan dapat memanfaatkan senyawa-senyawa yang terdapat pada integumen; protein amino dan fenol merupakan senyawa stimulan bagi cendawan *Metarhizium anisopliae*. Tahap ke tiga adalah penetrasi dan invasi menembus integumen, cendawan membentuk tabung kecambah; titik penetrasi sangat dipengaruhi oleh konfigurasi morfologi integumen. Cendawan juga membentuk appressorium untuk menembus integumen. Penembusan dilakukan secara mekanis dan kimia dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Tahap ke empat adalah tahap penghancuran dekat dengan titik penetrasi, terbentuk blastospora yang kemudian beredar dalam hemolimpa dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang jaringan lain⁽²⁾. Hal ini tergantung pada jenis cendawan, perkembangan cendawan yang sangat atau ekstensif. Toksin juga dikeluarkan oleh cendawan, sedangkan pihak serangga sendiri akan mengembangkan sistem pertahanan din dengan fagositosis⁽³⁾. Fagositosis biasanya dilakukan oleh plasmatisitgranuloma. Di samping itu cendawan akan mengeluarkan zat metabolit bichromo misalnya bassianin, teneilin dan oosporein. Contoh zat toksin yang dikeluarkan oleh cendawan adalah Beauverolides, Basionalides, Isarolides dan Destruxin⁽⁴⁾.

Setelah serangga mati, fase perkembangan saprofit dimulai dengan penyerangan jaringan dan berakhir dengan pembentukan organ reproduksi. Pada umumnya cendawan menyerang jaringan yang terdapat di dalam tubuh serangga. Cairan tubuh serangga akan habis digunakan oleh cendawan, maka serangga mati dengan tubuh mengeras seperti mumi.

Pertumbuhan cendawan diikuti dengan pengeluaran pigmen atau toksin yang dapat melindungi serangga dan serangan mikroorganisme lain terutama oleh bakteri. Miselia cendawan dapat menembus ke luar tubuh serangga melalui bagian yang mudah diserang seperti pada bagian artikulasi embelan tubuh dan alat mulut; tidak selalu cendawan tumbuh ke luar menembus bagian integumen serangga.

Pada keadaan kurang mendukung, perkembangan saprofit hanya berlangsung di dalam jasad serangga tanpa ke luar menyeberangi integumen. Dalam hal ini cendawan membentuk struktur khusus yang dapat bertahan yaitu *Arthospora*.

Cendawan *M. anisopliae* menghasilkan metabolisme endotoksin yang dapat mematikan larva nyamuk. Endotoksin yang dihasilkan oleh *M. anisopliae* adalah destruxin A dan B. Endotoksin ini mempunyai peran sebagai bioinsektisida yang dapat

dikembangkan melalui proses antibiosis; endotoksin *M. anisopliae* diperoleh dari isolasi destruxin yang terapat pada spora⁽⁵⁾. Metode yang digunakan adalah metode isolasi destruxin oleh Robert (1969)⁽⁶⁾.

Tingkat virulensi berbagai macam spesies cendawan dipengaruhi oleh berbagai aktifitas enzim yaitu di antaranya : amilase, proteolitik dan lipolitik⁽⁷⁾. Seleksi perubahan mutan dalam sel tunggal dipengaruhi oleh aktifitas enzim yang spesifik. Kemampuan aktifitas enzim protease dan amilase secara serempak menghasilkan strain yang hipervirulen.

Penelitian ini bertujuan meningkatkan virulensi/toksisitas strain untuk memperoleh kualitas endotoksin yang hipervirulen, juga menentukan tingkat kepekaan larva nyamuk dengan menggunakan isolasi destruxin yang dihasilkan konidiospora *M. anisopliae*.

BAHAN

Bahan yang digunakan adalah isolat *Metarhizium anisopliae* yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Pangan, Sukamandi dan Balitro Bogor; sebagai media pemurnian digunakan Potato Dekstrosa Agar (PDA) dan media patogenisitasnya adalah air. Perbanyakan masal dilakukan sendiri dengan menanam isolat *M. anisopliae* pada berbagai media buatan di antaranya: beras, gandum, jagung, kentang dan agar dekstrosa sabouraud buatan sehingga akan diperoleh konidiospora dari berbagai medium. Kemudian dilakukan proses isolasi destruxin untuk diuji cobakan terhadap larva *Aedes aegypti*.

CARA

Penelitian dilakukan di laboratorium Entomologi Puslit Ekologi Kesehatan dan Laboratorium Toksikologi Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi pada bulan Mei 1994 sampai dengan April 1995.

1) Pembuatan Medium

Untuk pemakaian medium kentang, agar sabouraud dekstrosa buatan dan gandum, dibuat dengan cara yang sama yaitu sebagai berikut: Kentang kupas disisir halus kemudian direbus dengan 1000 ml dan 500mg kloramfenikol. Larutan tersebut dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk agar merata. Kemudian dibuat agar miring pada tabung reaksi. Dalam tabung reaksi tersebut dibuat perbanyakan sebagai sumber benih. Perbanyakan masal dilakukan pada cawan petri sebanyak 100 buah. Setelah media dituangkan pada cawan petri tersebut, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada temperatur 115°C. Setelah media dalam cawan petri dan tabung reaksi dingin, dilakukan inokulasi cendawan dari sumber isolat pada permukaan agar. Cendawan yang ditanam pada cawan petri disimpan dalam stoples plastik. Pada umur 1 sampai dengan 2 minggu, konidiospora dipanen, digunakan untuk proses isolasi destruxinnya.

Media beras dan jagung dibersihkan terlebih dahulu dengan air panas selama 30 sampai 60 menit. Setelah direndam kemudian dikukus selama 1 (satu) jam sampai matang, beras dan jagung secukupnya dikemas dalam kantong plastik tahan panas, setiap kantong berisi 1/2 kg. Kantong plastik berisi media beras

atau jagung disterilkan pada suhu 115°C selama 20 menit. Kemudian setelah dingin ditanami isolat *M. anisopliae* secara acak.

2) Isolasi Destruxin

Konidiospora *M. anisopliae* yang dikultur dalam berbagai medium dipanen dan ditempatkan pada botol erlenmeyer, diekstrak dengan CCl₄. Kemudian larutan dipindahkan ke dalam cawan petri untuk diuapkan (membuang H₂O). Setelah proses penguapan akan diperoleh residu; residu ini dilarutkan dalam 150 ml air, akan terbentuk suspensi berupa koloid. Ke dalam suspensi koloid dimasukkan DOWEX 50 (*hydrogen form*) untuk proses pertukaran ion dalam kolom (20 x 1 cm). Hasil larutan yang telah melalui proses tersebut dicampur dengan DOWEX I (*acetate form*) yang dialirkan kembali dalam kolom di laboratorium. Larutan ini dicuci dengan air kemudian diuapkan akan diperoleh residu kembali. Residu dicampur dengan alumina dalam larutan benzena dan dimasukkan kembali dalam kolom. Kemudian larutan ini dicampurkan kembali dengan 5% etil asetat dalam benzena; akan dihasilkan 519 mg destruxin yang mengandung 73% destruxin A. Bahan destruxin ini diaplikasikan dengan berbagai konsentrasi pada larva *Aedes aegypti*.

3) Uji Toksisitas/Bioassay Destruxin A

Dilakukan uji kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap destruxin A hasil isolasi dan konidiospora *Metarhizium anisopliae* yang dibiakan pada berbagai medium. Materi uji kerentanan berupa larva *Ae. aegypti* instar ke tiga dan ke empat yang berasal dari hasil pembiakan laboratorium. Terhadap setiap asal destruxin dilakukan uji 4 kali ulangan dengan konsentrasi 0,025 ppm, 0,5 ppm, 1,0 ppm, 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm. Dilakukan kontak larva *Aegypti* dengan destruxin selama 24 jam. Pengujian dilakukan dengan menggunakan prosedur standar WHO (1972).

Data yang diperoleh, dianalisis dengan regresi untuk memperoleh separuh populasi yang mati dan 95% kematian populasi larva yang uji (LC 95).

4) Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dalam pengujian toksisitas destruxin A terhadap larva *Aedes aegypti*. Bila ditemukan perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil. Masing-masing pengujian dikerjakan dengan 5 perlakuan yang diulang 4 kali. Sebagai perlakuan menggunakan medium jagung, kentang, beras, gandum dan agar dekstrosa sabouraud buatan. Data variabel dosis/konsentrasi, jumlah kumulatif larva yang mati dalam aplikasi diolah dengan menggunakan analisis regresi linier, yang dirumuskan sebagai berikut⁽⁸⁾ :

$$Y = a + x b$$

$$b = \frac{n \sum x^2 - (P \sum) (\sum y)}{N \sum x^2 - (x)^2}$$

$$a = Y - b x$$

X = adalah variabel dosis atau konsentrasi yang diberikan
 Y = adalah jumlah persentase kematian larva *Aedes aegypti*
 n = adalah jumlah ulangan dalam pengamatan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama dua belas bulan (Mei 1994 sampai dengan April 1995) telah dapat diselesaikan produksi *M. anisopliae* pada berbagai macam media dan isolasi destruxin untuk uji ketahanan terhadap larva *Aedes aegypti* di laboratorium.

1) Pengaruh Media terhadap Sporulasi Cendawan

Penggunaan media kentang dan gandum untuk perbanyak konidiospora *M. anisopliae* memberikan jumlah spora tetinggi dibandingkan dengan media jagung, beras dan agar dekstrosa Sabouraud. Diduga hal ini disebabkan oleh perbedaan komposisi nutrisi gizi yang terkandung setiap medium, bahkan Agar Potato Dekstrosa (PDA) merupakan media untuk memelihara spora *M. anisopliae* agar tetap manjur/toksik di laboratorium Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi.

2) Uji Toksisitas destruxin terhadap larva *Ae. aegypti*

Persentase kematian larva *Ae. aegypti* akibat destruxin yang diisolasi dari konidiospora *M. anisopliae* pada medium jagung disajikan pada **Tabel 1**. Secara kumulatif kematian larva *Ae. aegypti* mencapai 100% pada hasil uji dengan konsentrasi 6 ppm. Angka kematian pada tiap uji ulangan tidak banyak berbeda. Pada uji kontrol larva *Ae. aegypti* tidak ada yang mati, hal ini menunjukkan hasil uji kerentanan tersebut berlaku baik. Dari hasil uji tersebut diperoleh LC 50 dan LC 95 *Ae. aegypti* berdasarkan analisis regresi linier dengan persamaan Y=28,3+13,4 X (**Tabel 6**). Populasi larva *Ae. aegypti* rentan terhadap destruxin hasil isolasi konidiospora dari jagung dengan LC 50 = 1,62 ppm dan LC 95 = 4,98 ppm.

Tabel 1. Rata-rata % kematian larva *Ae. aegypti* dengan perlakuan isolat destruxin yang berasal dan *Metarhizium anisopliae* basil kultur media Jagung

Konsentrasi dalam 250 ml (ppm)	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	I	II	III	IV		
0,25	20	18	22	16	76	19
0,50	32	34	38	29	133	33,25
1	44	52	48	49	193	48,25
2	60	58	62	58	238	59,5
4	88	96	92	100	376	94
6	100	100	100	100	400	100
Kontrol	0	0	0	0	0	0

Y = 28,3 + 13,4 X ; LDSO = 1,62 ; LD95 = 4,48

Persentase rata-rata kematian larva *Ae. aegypti* akibat destruxin yang diisolasi dari konidiospora pada media kentang (PDA buatan) disajikan pada **Tabel 2**. Secara kumulatif persentase kematian larva *Ae. aegypti* yang diuji pada 4 macam konsentrasi mencapai 100% dengan konsentrasi destruxin 4 ppm. Angka kematian pada setiap uji ulangan tidak banyak berbeda tetapi hanya pada ulangan ke dua mencapai 100% dengan konsentrasi destruxin 2 ppm. Bahkan pada perlakuan kontrol tidak ada yang mati. Berdasarkan analisis regresi diperoleh persamaan Y = 30,88 + 34,14 X, sehingga LC 50 dicapai pada konsentrasi 0,56 ppm (**Tabel 6**).

Selanjutnya persentase kematian larva *Ae. aegypti* terhadap destruxin yang diisolasi dari konidiospora yang dikultur pada media gandum disajikan pada **Tabel 3**. Kematian larva uji *Ae.*

Tabel 2. Rata-rata % kematian larva *Ae.aegypti* dengan perlakuan isolat destruxin yang berasal dan *Metarhizium anisopliae* basil kultur media Kentang (PGA)

Konsentrasi dalam 250 ml (ppm)	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	I	II	III	IV		
0,50	38	44	36	32	150	37,5
1	84	76	80	84	324	81
2	100	92	84	100	376	94
4	100	100	100	100	400	100
Kontrol	0	0	0	0	0	0

$$Y = 30,88 + 34,14 X ; LD 50 = 0,56 LD 95 = 1,88$$

aegypti secara kumulatif tertinggi 99% konsentrasi destruxin 4 ppm, sedangkan angka kematian pada tiap uji ulangan tidak banyak berbeda uji kontrol larva *Ae. aegypti* tidak ada yang mati. Berdasarkan analisis regresi diperoleh persamaan $Y = 1,42 + 27,2 X$ sehingga LC 50 mencapai 1,79 ppm.

Tabel 3. Rata-rata % kematian larva *Ae.aegypti* dengan perlakuan isolat destruxin yang berasal dan *Metarhizium anisopliae* basil kultur media Gandum

Konsentrasi dalam 250 ml (ppm)	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	I	II	III	IV		
0,25	0	0	0	0	0	0
0,50	8	0	0	0	8	2
1	16	4	0	8	28	7
2	88	92	84	80	344	86
4	100	100	96	100	396	96
Kontrol	0	0	0	0	0	0

$$Y = 1,42 + 27,21 X ; LD 50 = 1,79 ; LD 95 = 2,4$$

Persentase kematian larva *Ae. aegypti* destruxin yang diisolasi dari konidiospora yang dikultur pada media berfas disajikan pada **Tabel 4**. Kematian larva *Ae. aegypti* secara kumulatif tertinggi mencapai 100% pada konsentrasi 1 ppm, walaupun pada salah satu uji ulangan mencapai 100% pada konsentrasi destruxin 0,5 ppm.

Tabel 4. Rata-rata % kematian larva *Ae. aegypti* dengan perlakuan isolat destruxin yang berasal dan *Metarhizium anisopliae* basil kultur media Beras

Konsentrasi dalam 250 ml (ppm)	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	I	II	III	IV		
0,50	100	80	75	8	260	65
1	100	100	100	100	400	100
2	100	100	100	100	400	100
4	100	100	100	100	400	100
Kontrol	0	0	0	0	0	0

$$Y = 30 + 70 X ; LD 50 = 0,286 ; LD 95 = 0,93$$

Secara umum angka kematian pada setiap uji ulangan tidak banyak berbeda dan pada uji kontrol larva *Ae. aegypti* tidak ada yang mati. Hal ini menunjukkan bahwa uji kerentanan tersebut berlaku baik. Berdasarkan analisis persamaan regresi diperoleh $Y = 30 + 70 X$ sehingga LC 50 diperlukan 0,286 ppm dan LC 95 pada 0,93 ppm.

Tampaknya destruxin dari isolasi konidiospora yang dikul-

tur media beras lebih toksis dibandingkan yang lain. Persentase kematian larva *Ae. aegypti* dan hasil uji kerentanan terhadap 5 macam konsentrasi destruxin hasil isolasi konidiospora yang dikultur pada media agar dekstrosa sabouraud buatan disajikan pada **Tabel 5**. Kematian larva *Ae. aegypti* tersebut mencapai 100% diperoleh dari hasil uji ke tiga ulangan dengan konsentrasi 4 ppm, namun rata-rata persentase kematian secara kumulatif pada larva *Ae. aegypti* mencapai 97% dengan konsentrasi 4 ppm. Angka kematian pada tiap uji ulangan tidak banyak berbeda sedangkan pada uji kontrol larva *Ae. aegypti* tidak ada yang mati. Populasi larva *Ae. aegypti* dengan berbagai perlakuan konsentrasi mempunyai kerentanan persamaan $Y = 6,73 + 22,3 X$, sehingga konsentrasi destruxin yang diperlukan untuk LC 50 = 1,94 ppm dan LC 95 = 3,96 ppm (**Tabel 6**).

Tabel 5. Rata-rata % kematian larva *Ae. aegypti* dengan perlakuan isolat destruxin yang berasal dan *Metarhizium anisopliae* hasil kultur media Sabouraud agar

Konsentrasi dalam 250 ml (ppm)	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	I	II	III	IV		
0,50	4	8	12	8	32	8
1	20	24	32	16	92	32
2	44	52	48	36	180	45
4	88	100	100	100	388	97
Kontrol	0	0	0	0	0	0

$$Y = 6,73 + 22,29 X ; LD 50 = 1,94 ; LD 95 = 3,96$$

Tabel 6. Analisis regresi pengaruh destruxin yang diperoleh dan isolasi *M. anisopliae* yang dikultur pada berbagai medium terhadap kematian larva *Ae. aegypti*

Macam medium	Persamaan regresi	LD 50 (gram/250 ml air)	LD 95 (gram/250 ml air)
1. Beras	$Y = 30 + 70 X$	0,286	0,93
2. SADbuatan	$Y = 6,73 + 22,29 X$	1,94	3,96
3. Kentang/PGA	$Y = 30,88 + 34,14 X$	0,56	1,88
4. Jagung	$Y = 28,3 + 13,4 X$	1,62	4,98
5. Gandum	$Y = 1,42 + 27,21 X$	1,79	3,4

Ternyata tingkat toksisitas destruxin hasil isolasi konidiospora yang dikultur pada media jagung, gandum, beras, kentang dan SAD buatan pengaruhnya saling berbeda (**Tabel 7a**). Berdasarkan uji nyata terkecil (**Tabel 7b**) rata-rata persentase kematian pada LC 50 terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p > 0,01$). Toksisitas tinggi terutama diperoleh dari media beras, kentang dibandingkan dari media yang lain.

Tabel 8 menunjukkan LC 95 populasi larva *Ae. aegypti* hasil analisis sidik ragam tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p = 0,05$), namun kerentanan populasi LC 50 larva *Ae. aegypti* terhadap destruxin asal biakan media beras berbeda dengan asal biakan gandum, SAD dan jagung.

Produksi *M. anisopliae* se masal dalam aplikasi lapangan banyak menggunakan media jagung; mungkin karena jagung mudah didapatkan, murah dan banyak tersedia; akhir-akhir ini diketahui adanya perbedaan virulensi maupun viabilitas cendawan yang dikultur pada berbagai strain jagung. Rata-rata persentase daya kecambah *M. anisopliae* pada jagung manis lebih baik

Tabel 7a. Analisis sidik ragam perbedaan pengaruh isolasi destruxin dari konidiospora *M. anisopliae* yang dikultur pada berbagai media terhadap larva uji *Ae. aegypti* untuk LC 50

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 0,05	0,01
Mean	1 (db)	5186,11	5186,11			
Antar Perlaku Acak	(5-1) = 4 (db2)	52380,31	13095,1	255,5 *	3,06	4,89
	5(4-1) = 5 (db3)	768,94	51,26			
Total	20					

F Hit < 4,89 destruxin yang dihasilkan media gandum, jagung, beras, dan SAD. Mempunyai toksisitas yang berbeda.

Uji Beda Nyata Terkecil BNT

$$BNT\ 005 \setminus t\ 00,5\ (db\ acak) \times \frac{2\ KT\ Acak}{n} = 2,131 \times \frac{51,26 \times 2}{4} = 5,39$$

$$BNT\ 001 = T\ 00,1\ (dbn\ acak) \times 2\ KT\ Acak = 2,845 \times 2 \times 51,26 = 7,2$$

Tabel 7b. Uji Beda nyata terkecil Isolasi destruxin asal berbagai macam media pengaruhnya terhadap LC 50

Rata-rata	Berns	Gandum	Jagung	SAD	Kentang
45 Beras	-	1,5	5,875 *	8 **	14,25 **
46,5	-	-	4,275	6,5 *	8,375**
50,88	-	-	-	2,125	8,375**
53, SAD	-	-	-	-	6,251
59,25	-	-	-	-	-

Tabel 8. Analisis sidik dengan pengaruh destruxin dan konidiospora yang dikultur pada berbagai medium terhadap larva *Ae. aegypti* pada LC 95

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 0,05	Q,04
Mean	I (db 1)	154089,01	154089,01			
Antar Acak	A (db 2)	867,1	216,75	1,83	2,4	456
	15 (db 3)	1778,2	11,55			
Total tidak beda						

dibandingkan jagung lokal arjuno dan hibrida⁽⁸⁾.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- 1) Terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan lima jenis media perbanyakan; media beras dan kentang lebih baik daripada SAD buatan, jagung dan gandum dalam hal jumlah spora *M. anisopliae*.
- 2) Ada perbedaan toksisitas terhadap populasi larva *Ae. aegypti*; destruxin hasil isolasi konidiospora yang dikultur pada beras (LC 50 = 0,29 ppm) dan kentang (LC = 50 = 0,6 ppm) lebih toksik dibandingkan hasil kultur pada media gandum (LC 50 = 1,6 ppm) gandum (LC = 50 = 1,8 ppm) dan SAD kentang (LC 50 = 1,9 ppm).
- 3) Media tumbuh mempengaruhi kualitas konidiospora cendawan *M. anisopliae* yang dihasilkan.

KEPUSTAKAAN

1. Cole TG, Kendrick B. Biology of Conidial Fungi. New York, Toronto, Sydney, San Fransisco: Academic Press, Vol 2. 1981: 201-207.
2. Ferron P. Biological control of insect pest by entomogeneous fungi. Ann. Rev. Entomol. 1978; 32: 409-42.
3. Roberts DW. Toxin from the Entomogenous Fungus *Metarhizium anisopliae*. I. Production in submerged and surface cultures, and in inorganic and organic nitrogen media. J Invertebrata, 1966.
4. Roberts DW. b. Toxin From the Entomogenous Fungus *M. anisopliae* II. Symptoms and detection in moribund hosts. J. Inverbrata Pathol, 1966; 8: 222-27.
5. Paris J. Sergstain C. Submerge cultivation of fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Trans Br Mycol Soc. 1975; 48(2).
6. Roberts DW. Toxins from the Entomogenous Fungus *Metharizium anisopliae* : isolation destruxins from submerged cultures. J Inverbrat Pathol. 1969; 14: 82-8.
7. Kodaira Y. Studies on the new toxic substance to insects, destruxin A and B, produced by Oosporadestructor. Part I. Isolation and purification of destruxin A and B. Agr. Biol Chem (Tokyo) 1962; 26: 36-42.
8. Achmadi SS, Santoso S, Tatang H. Sporulasi, Viabilitas Cendawan *Metarhizium anisopliae* pada media jagung dan patogenitasnya terhadap larva *O. rhinoceros*. Proc Simposium Pathologi Serangga. PEI Cab. Yogyakarta, 12-13 Oktober 1993.



*The best years of our life are those in which
We believe our best years are still to come*