

Pengembangan Formula Bahan Infeksi Cendawan sebagai Alternatif Biokontrol Rayap Tanah *Coptotermes* sp.

*Development of Infection Material Formula for Fungi as Bio-Control Alternative to Subterranean Termites *Coptotermes* sp.*

Titik Kartika, Sulaeman Yusuf, Didi Tarmadi, Arief Heru Prianto dan Ikhsan Guswenrivo

Abstract

Utilization of fungal entomopathogen as biological control agent has been developed in several country, but not in Indonesia. Therefore, the use of biological control agent to control termite need to be done in order that diminish chemical insecticide hazard. In this research, the ability of fungal entomopathogen (Hyphomycetes) identified as *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria* sp. and *Humicola* sp. to infect Subterranean termite will be evaluated. The fungi were isolated from Indonesia. The research methods are (i) to sporulate fungi in rice culture media; (ii) to formulate fungal entomopathogen being infection materials; (iii) bioassay of fungal entomopathogen against Subterranean termite by contact method. The result of bioassay show that the three fungi (*Humicola*, *M. anisopliae* and *Beauveria*) are able to kill termite in 14 days of observation day. Primarily, *M. anisopliae* has generate termite's mortality almost similar to *Humicola* sp. i.e higher than 60 %, in other side *Beauveria* just affect termite's mortality lower than 60 %.

Key words: fungal entomopathogen, Subterranean termite, biological control

Pendahuluan

Laju peningkatan populasi penduduk yang tinggi berimplikasi secara tidak langsung terhadap kebutuhan papan untuk permukiman penduduk. Fenomena ini berdampak pada tingginya permintaan kayu sebagai bahan dasar papan. Namun persediaan kayu di alam sangat terbatas sehingga tidak dapat memenuhi semua kebutuhan untuk pembangunan gedung dan perumahan. Kondisi ini diperburuk dengan terjadinya pelapukan dan kerusakan material berbahan dasar kayu pada gedung dan perumahan sehingga kebutuhan kayu semakin meningkat. Oleh karena itu perlu dilakukan pengelolaan pemanfaatan kayu dan pemeliharaan gedung dan bangunan, misalnya dengan meminimalisasi atau menghilangkan faktor penyebab kerusakan. Rayap merupakan salah satu jenis serangga yang berperan penting dalam kerusakan kayu di dunia. Rayap tanah Subterranean (*Coptotermes* sp.) adalah jenis rayap yang memberi kontribusi penting terhadap kerusakan kayu (Culliney dan Grace 2000). Organisme ini merusak kayu dengan cara membuat liang kembara pada kayu dan menjadikannya sebagai tempat tinggal sekaligus sumber nutrisi koloni rayap sehingga kayu menjadi keropos dan hancur.

Pengendalian populasi rayap sangat perlu dilakukan sebagai upaya meminimalisasi kerusakan yang lebih parah. Dewasa ini pengendalian rayap dilakukan secara kimiawi yaitu menggunakan pestisida kimia antara lain golongan organofosfat dan piretroid, namun meninggalkan residu berbahaya bagi lingkungan. Kondisi ini mendorong peneliti untuk mengembangkan

solusi alternatif sebagai pengganti pestisida konvensional sehingga evaluasi pada beragam agen biokontrol terhadap rayap (misalnya *Coptotermes*) terus dilakukan. Cendawan memiliki potensi untuk dikembangkan dalam pengendalian serangga (Butt 2000); misalnya cendawan *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Paecilomyces fumosoroseus* dan *Lagenidium giganteum* dapat dikembangkan sebagai biokontrol (Burgess 1998; Butt *et.al.* 1999). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Kartika *et.al.* 2006) yang mengujikan kemampuan patogen beberapa cendawan kelas Hyphomycetes terhadap rayap tanah *Coptotermes* sp. diketahui bahwa cendawan *Humicola* sp. menyebabkan kematian rayap sampai 100% pada hari ke-6 pengujian, oleh sebab itu cendawan *Humicola* sp. diduga berpotensi dikembangkan sebagai biokontrol rayap sehingga penelitian lanjutan mengenai penanganan *Humicola* sp. sebagai biokontrol perlu dilakukan.

Dalam penelitian ini akan dipelajari lebih lanjut mengenai formulasi bahan infeksi cendawan *Humicola* sp. sehingga dapat dikembangkan sebagai salah satu alternatif dalam pengendalian rayap, khususnya rayap tanah. Sebagai pembanding dalam penelitian ini digunakan juga cendawan *M. anisopliae* dan *Beauveria* sp. *Metarhizium* dan *Beauveria* telah dikembangkan secara komersial sebagai cendawan entomopatogen yang efektif untuk mengendalikan hama serangga (Lacey *et al.* 2001). *M. anisopliae* dikembangkan sebagai insektisida mikroba untuk pengendalian rayap, sedangkan *Beauveria bassiana* dikembangkan untuk

biokontrol kumbang/*stem borers* (Langenwald dan Cherry 2000). Dalam penelitian ini, cendawan ditumbuhkan pada media padat beras kemudian diformulasikan dalam bentuk padat dan cair untuk digunakan sebagai bahan infeksi.

Bahan dan Metode

Mikroorganisme

Humicola sp. dan *Beauveria* sp. adalah isolat koleksi UPT BPP Biomaterial yang diperoleh melalui proses isolasi dari tubuh rayap mati, sedangkan isolat *M. anisopliae* merupakan koleksi Koleksi Kultur Mikroba, Pusat Penelitian Biologi LIPI dengan nomor koleksi: 622. Ketiga isolat cendawan tersebut ditumbuhkan di media *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring pada suhu ruang selama 7 hari untuk bersporulasi.

Media Kultur Beras (MKB)

MKB disiapkan dengan cara menambahkan 6 ml akuades ke dalam labu Erlenmeyer volume 100 ml yang berisi 10 g beras. Kemudian labu Erlenmeyer ditutup dengan sumbat kapas dan didiamkan selama 2 jam. Selanjutnya, MKB disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit. MKB yang disiapkan disesuaikan dengan jumlah cendawan dengan menggunakan ulangan sebanyak tiga kali.

Penyiapan Inokulum

Setelah 7 hari, kultur masing-masing cendawan yang telah bersporulasi di media PDA dalam tabung reaksi dibuat menjadi suspensi dengan menambahkan 10 ml akuades steril ke dalam tiap biakan cendawan. Cendawan dilepaskan dari media dengan cara menggores biakan cendawan dengan jarum inokulasi, lalu suspensi cendawan tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril. Selanjutnya diperoleh tiga sumber inokulum, yaitu inokulum *M. anisopliae*, *Beauveria* dan *Humicola* sp.

Produksi Spora pada MKB

Sebanyak 1 ml inokulum cendawan ditambahkan ke dalam MKB yang telah disiapkan. Satu jenis inokulum cendawan menggunakan tiga ulangan MKB sehingga dibutuhkan 12 MKB untuk tiga sumber inokulum dan kontrol. Selanjutnya MKB diinkubasi selama 10 hari pada suhu ruang untuk memproduksi konidia.

Penghitungan Konidia Cendawan pada MKB

Di akhir masa inkubasi, konidia yang diproduksi pada semua unit MKB dihitung menggunakan *Haemocytometer*. Sebelumnya ke dalam MKB yang telah dikolonisasi cendawan ditambahkan 50 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan menggunakan pengaduk magnetik. Selanjutnya dilakukan pengenceran serial (10^{-1} , 10^{-2} dan seterusnya). Hasil dari pengenceran ini

dihitung dengan bantuan *Haemocytometer* dan diamati di bawah mikroskop cahaya.

Produksi Bahan Infeksi

Di akhir masa inkubasi MKB, masing-masing media yang telah dikolonisasi cendawan dibagi menjadi dua bagian. Satu bagian dicampur secara merata menjadi tepung, sedangkan bagian yang lain diekstrak dengan air dan disaring sehingga diperoleh ekstrak kasar cendawan. Kedua bagian ini untuk selanjutnya disebut bahan infeksi.

Uji Patogenitas

Pengujian dilakukan menggunakan metode kontak. Sebanyak 50 ekor rayap pekerja disemprot dengan masing-masing bahan infeksi. Rayap yang tidak mendapat perlakuan dijadikan sebagai kontrol. Setiap satu unit percobaan dibuat tiga ulangan. Selanjutnya masing-masing unit percobaan diinkubasi selama 14 hari pengamatan pada kondisi gelap, suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) di dalam cawan Petri Ø 5 cm dan dijaga kelembabannya. Parameter yang diamati selama pengamatan adalah persentase kematian (mortalitas) rayap.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil pengamatan pertumbuhan ketiga cendawan entomopatogen pada seluruh MKB menunjukkan bahwa proses kolonisasi menyeluruh MKB terjadi setelah 8-10 hari setelah inokulasi. Hasil serupa telah dilaporkan sebelumnya dimana *M. anisopliae* yang diinokulasikan ke media beras di dalam kantong plastik membutuhkan waktu 10-12 hari pada suhu inkubasi $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Jenkins *et.al.* 1998). Beberapa penelitian di tahun yang berbeda melaporkan bahwa beberapa jenis substrat padat dapat digunakan untuk produksi massa cendawan, namun beras putih merupakan jenis substrat yang sering digunakan untuk produksi konidia cendawan (Jenkins *et.al.* 1998). Beras yang dimasak juga digunakan untuk memproduksi konidia dan spora *Rhizopus oligosporus* sebagai inokulum dalam pembuatan tempe (Rusmin dan Ko 1974). Cendawan ini mengkolonisasi substrat beras dalam waktu 1-2 hari. Perbedaan waktu yang dibutuhkan untuk mengkolonisasi substrat ditentukan oleh perbedaan karakter cendawan dalam bersporulasi dan jenis substrat. Kolonisasi cendawan terhadap substrat mengindikasikan tingkat pertumbuhan cendawan. Pertumbuhan cendawan dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen merupakan faktor yang berasal dari dalam cendawan yang meliputi genetika dan hormonal sedangkan faktor eksogen merupakan faktor yang berasal dari luar (lingkungan), antara lainnya adalah nutrisi. Dalam pertumbuhannya, cendawan membutuhkan elemen-elemen penting, seperti karbon (C), nitrogen (N), sulfur (S), vitamin dan mineral penting (mangan, besi dan

kalsium). Serealia seperti beras dapat dipergunakan sebagai substrat karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh cendawan untuk pertumbuhannya sehingga dapat mengkolonisasi substrat dengan mudah.

Pada saat masa inkubasi cendawan di MKB berakhir, dilakukan penghitungan konidia cendawan. Ini bertujuan untuk mengetahui tingkat sporulasi atau jumlah konidia yang merupakan *propagule* untuk mengawali proses infeksi terhadap inang. Proses infeksi terhadap inang umumnya terjadi melalui eksternal integumen, namun infeksi melalui saluran pencernaan masih mungkin terjadi. Konidia menempel pada kutikula inang, melakukan germinasi dan penetrasi kutikula. Di dalam haemocoel, hifa cendawan bermultiplikasi dan bercabang membentuk massa miselium di dalam tubuh inang

Dalam penelitian ini, tingkat sporulasi atau jumlah propagul dilihat dari konsentrasi konidia per gram media

yang dihitung menggunakan *haemocytometer*. *Haemocytometer* biasa digunakan untuk menghitung jumlah propagul per unit volume atau berat. Hasil penghitungan konidia menunjukkan bahwa *M. anisopliae* bersporulasi lebih bagus, yaitu dengan konsentrasi konidia $8.5.10^8$ /gram media beras, diikuti oleh *Beauveria* sp. dengan konsentrasi konidia $1.70.10^8$ /gram dan *Humicola* sp. memiliki konsentrasi konidia $7.50.10^7$ /gram media beras. Adanya perbedaan dalam hal kemampuan sporulasi cendawan dipengaruhi oleh banyak faktor meliputi genetika, hormonal, nutrisi dan lingkungan (Moore-Landecker 1996). Dalam penelitian ini, perbedaan tingkat sporulasi ketiga cendawan dikaitkan dengan faktor endogen, yaitu genetika dan hormonal masing-masing cendawan sehingga mempengaruhi tingkat konsumsi substrat dan sporulasi.

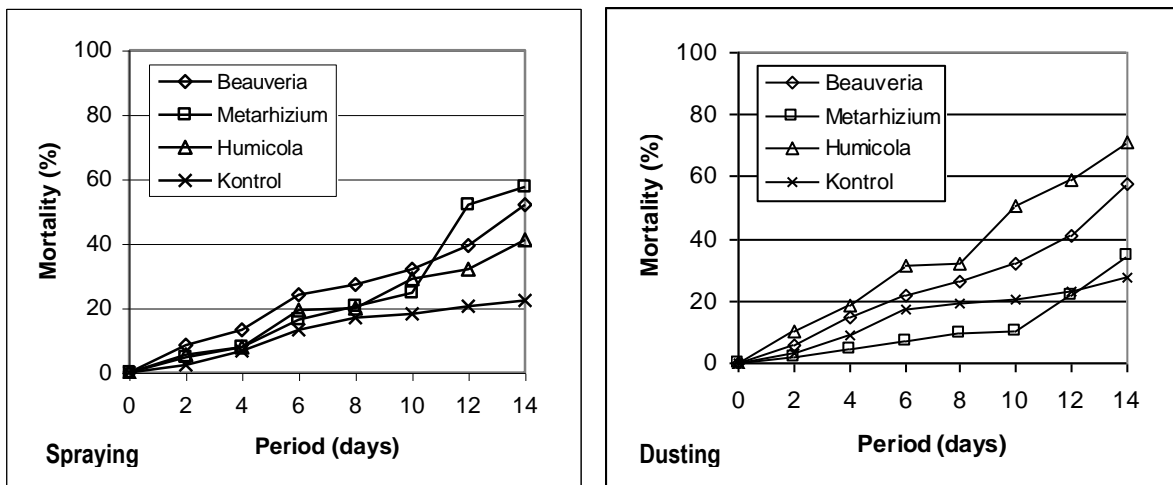


Figure 1. Termite's mortality by conidial powder formulation

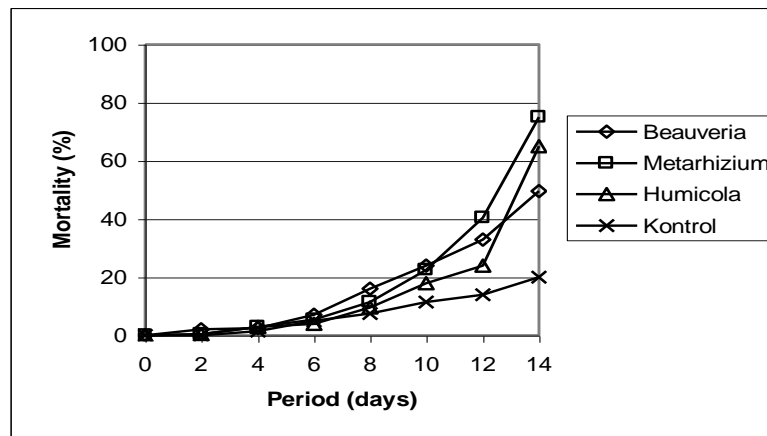


Figure 2. Termite's mortality by fungal crude extract

Hasil pengujian daya patogenitas cendawan *Humicola* sp., *M. anisopliae* dan *Beauveria* sp. terhadap rayap tanah *Coptotermes* sp. dengan aplikasi dua macam bahan infeksi dapat menyebabkan kematian rayap dengan mortalitas di atas kontrol. Aplikasi bahan infeksi formula tepung cendawan dengan aplikasi *spraying* dan *dusting* pada umumnya menyebabkan mortalitas rayap dibawah 60% (Gambar 1), kecuali untuk *Humicola* sp. dengan aplikasi *dusting* yaitu menyebabkan mortalitas rayap 70.91%. Pengujian bahan infeksi formula ekstrak kasar cendawan secara umum menyebabkan mortalitas rayap di atas 60% (Gambar 2) kecuali untuk cendawan *Beauveria* sp.

Dalam penelitian ini, cendawan *Metarhizium* dan *Humicola* memiliki kemampuan patogenik yang hampir sama yaitu dapat menyebabkan mortalitas rayap diatas 60%, terutama untuk bahan infeksi berupa ekstrak kasar cendawan, sedangkan *Beauveria* tidak menyebabkan mortalitas rayap yang cukup baik, yaitu hanya di bawah 60%. *Metarhizium* dan *Beauveria* sudah diidentifikasi sebagai cendawan entomopatogen dari kelas Hyphomycetes. Cendawan *Metarhizium* telah digunakan untuk pengendalian rayap dan serangga-serangga lainnya, sedangkan *Beauveria* biasanya digunakan untuk serangga pelubang kayu/*stem borers* (Langenwald dan Cherry 2000). Di dalam ARSef (USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures), *Humicola* terdaftar sebagai cendawan entomopatogen dengan inang Lepidoptera: Lymantriidae (Humber dan Hansen 2005). Selain itu hifa atau miselium *Humicola grisea* dilaporkan dapat mendekomposisi kitin dan menyerang keratin, sedangkan ekstrak miseliumnya bersifat toksik terhadap udang laut (Domsch *et.al.* 1980).

Mortalitas rayap yang lebih dari 60% pada aplikasi formula tepung dengan teknik *spraying* dan formula ekstrak kasar cendawan kemungkinan berhubungan dengan kemampuannya untuk mendegradasi kitin. Oleh karena itu, karakteristik cendawan *Humicola* perlu dievaluasi lebih lanjut untuk mengetahui kemampuannya sebagai cendawan entomopatogen terhadap rayap sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif dalam pengendalian rayap yang ramah lingkungan.

Dalam proses infeksi terhadap inang, konidia atau massa cendawan merupakan propagul yang memiliki peran penting untuk mengawali terjadinya infeksi. Produksi konidia dari suatu cendawan akan dimulai pada saat media atau substrat mulai mengalami penurunan nutrisi sehingga pertumbuhan fase vegetatif cendawan (hifa) akan berpindah ke fase generatif (spora/konidia). Berdasarkan hasil pengamatan hubungan konidia dengan daya patogenitas cendawan dapat ditarik suatu asumsi bahwa jumlah konidia tidak berbanding lurus dengan kemampuan patogen cendawan terhadap rayap. Hal ini ditunjukkan secara jelas oleh cendawan *Beauveria* yang memiliki konidia yang lebih banyak dibandingkan *Humicola*, namun secara umum

kemampuan patogennya terhadap rayap tidak lebih tinggi daripada *Humicola* akan tetapi menunjukkan nilai mortalitas dibawah 60%. Begitu juga dengan *Metarhizium* pada aplikasi formula tepung dengan teknik *dusting* yang memiliki nilai mortalitas paling kecil walaupun memiliki jumlah konidia paling banyak. Pada dasarnya sifat patogen cendawan tidak dipengaruhi oleh kuantitas konidia tetapi kualitas konidia yang berperan dalam proses infeksi.

Kesimpulan

Cendawan *Metarhizium* dan *Humicola* memiliki kemampuan patogenik yang hampir sama yaitu dapat menyebabkan mortalitas rayap diatas 60%, terutama untuk bahan infeksi berupa ekstrak kasar cendawan, sedangkan *Beauveria* tidak menyebabkan mortalitas rayap yang cukup baik, yaitu hanya di bawah 60%. Dalam proses infeksi cendawan terhadap rayap, kuantitas konidia tidak berbanding lurus dengan mortalitas rayap.

Daftar Pustaka

- Burges, H.D. 1998. Formulation of Microbial Pesticides. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers.
- Butt, T.M.; M.S. Goettel; B. Papierok. 1999. Directory of Specialists Involved in the Development of Fungi as Biocontrol Agents. Warley, West Midlands. Colin Butt Design & Print.
- Butt, T.M. 2000. Fungal Biological Control Agents. The Royal Society of Chemistry.
- Culliney, T.W.; J.K. Grace. 2000. Prospects for the Biological Control of Subterranean Termites (Isoptera: Rhinotermitidae), with Special Reference to *Coptotermes formosanus*. Bulletin of Entomological Research. Vol. 90 (1): 9-21.
- Domsch, K.H.; W. Gams; T.H. Anderson. 1980: Compendium of Soil Fungi. Volume 1. Academic Press London.
- Humber, R.A.; K.S. Hansen. 2005. ARSEF Index: Host by Fungus. Ithaca, NY: USDA-ARS Plant Protection Research Unit - US Plant, Soil & Nutrition Laboratory.
- Jenkins, N.E.; G. Heviefio; J. Langewald; A. Cherry; C.J. Lomer. 1998. Development of Mass Production Technology for Aerial Conidia for Use as Mycopesticides. Biocontrol News and Information. Vol. 19 (1): 21N-31N.
- Kartika, T.; S. Yusuf; E. Sukara; I. Guswenrivo; D. Tarmadi. 2006. Comparative Study on Seven Different Entomopathogenic Fungi on the Mortality of *Coptotermes* sp. Proceedings of The Third Conference of Pasific Rim Termite Research Group. Guangzhou, P. R. China, 6 & 7 March 2006.

Lacey, L.A.; R. Frutos; H.K. Kaya; P. Vails. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control* 21: 230-248.
Langenwald, J.; A. Cherry. 2000. Prospects for Microbial Pest Control in West Africa. *Biocontrol News and Information*. Vol. 21 (2): 51N-56N.

Moore-Landecker, E. 1996. *Fundamentals of the Fungi*. New Jersey, USA: Prentice-Hall, Inc.
Rusmin, S.; S. Djien Ko. 1974. Rice-grown *Rhizopus oligosporus* inoculum for tempeh fermentation. *Applied Microbiology*. Vol. 28 (3): 347-350.

Makalah masuk (*received*) : 06 Februari 2007
Diterima (*accepted*) : 30 April 2007
Revisi terakhir (*final revision*) : 13 Agustus 2007

Titik Kartika, Sulaeman Yusuf, Didi Tarmadi, Arief Heru Prianto dan Ikhsan Guswenrivo
UPT BPP Biomaterial - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
(*Research and Development Unit for Biomaterials – Indonesian Institute of Sciences*)
Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong, Bogor
Tel : 021-87914511
Fax : 021-87914510
E-mail : titik_kartika@yahoo.com