

UJI PROTEOLITIK CENDAWAN ENTOMOPATOGEN *Penicillium* sp. ASAL KECOA (*Periplaneta americana*)

Ahmad Ikhsanudin^{(1)*}, Emantis Rosa⁽²⁾, C.N Ekowati⁽³⁾

⁽¹⁾Mahasiswa Jurusan Biologi, FMIPA,
Universitas Lampung, Bandar Lampung, 35141

ahmadikhsanudin21@yahoo.com, emantisrosa@gmail.com, ecoli.lacto@gmail.com

Diterima (09 September 2019), Direvisi (10 September 2019)

Abstract. Cockroaches (*Periplaneta americana*) are the insect vectors of disease that can cause adverse effects on human health. Control cockroach excessive use of insecticides can lead to residues in the environment and resistance cockroach. Therefore it is necessary to control the use of alternatives such as by biological agents such as entomopathogenic fungi. The entomopathogenic fungi must penetrate via the integument of a cockroach to reach the hemocoel. Proteins are the molecules responsible for integument strength in cockroach, the entomopathogenic fungi must synthesize the proteases to degrade proteins. The study begins with the isolation of entomopathogenic fungi using the moist chamber method with cockroach as insect bait. Fungus that grow on cockroaches are cultured and cultured and purified on Potato Dextrose Agar (PDA) medium and then identified. Identification was carried out through macroscopic observations including colony color and diameter and microscopic observations including conidia, conidiophores, hyphae, vesicles, fialids, and leg cells. The result of isolation and identification obtained namely is *Penicillium* sp. The next step from this research is protease enzymatic activity test on PDA add anlene 1%. The clear zone formed is measured to show the activity of proteases produced by *Penicillium* sp.

Keywords: cockroaches, entomopathogenic fungal, *Penicillium* sp., proteases.

Abstrak. Kecoa (*Periplaneta americana*) merupakan salah satu serangga vektor yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan pada manusia. Pengendalian kecoa menggunakan insektisida berlebihan dapat meninggalkan residu pada lingkungan dan menimbulkan resistensi pada kecoa. Oleh karena itu, diperlukan pengendalian lain menggunakan agen hayati seperti cendawan entomopatogen. Cendawan entomopatogen harus melakukan penetrasi melalui integumen kecoa untuk masuk ke dalam hemocoel. Protein merupakan salah satu molekul yang bertanggung jawab terhadap kekuatan integumen kecoa. Cendawan entomopatogen harus menyintesis protease untuk menghancurkan protein. Penelitian ini menggunakan metode moist chamber untuk mengisolasi cendawan entomopatogen dengan kecoa sebagai umpan. Cendawan yang tumbuh pada kecoa dikultur dan dimurnikan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan kemudian diidentifikasi. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan makroskopis yang meliputi warna koloni dan diameter serta pengamatan mikroskopis yang meliputi bentuk konidia, konidiofor, tipe hifa, vesikel, fialid, dan sel kaki. Hasil isolasi dan identifikasi didapatkan isolat *Penicillium* sp. Langkah selanjutnya uji aktivitas enzimatis protease menggunakan media PDA yang ditambah 1% skim milk. Zona jernih yang terbentuk menunjukkan aktivitas protease yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp.

Kata kunci: cendawan entomopatogen, kecoa, *Penicillium* sp., protease.

PENDAHULUAN

Kecoa merupakan salah satu serangga yang hidup pada kisaran habitat yang luas (kosmopolitan). Selain itu, kecoa juga

mempunyai daya reproduksi yang cukup tinggi. Dalam seminggu dihasilkan kira-kira 15-90 ootecha yang berisi sekitar 15 butir telur untuk setiap ootecha [1]

Peran kecoa diantaranya adalah sebagai vektor pembawa penyakit yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan pada manusia. [2]. Cara pengendalian yang biasa digunakan adalah secara kimiawi menggunakan insektisida kimia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), insektisida yang sering digunakan dalam mengendalikan kecoa diantaranya Prophetamphos, Permethrin, Dichlorvos, Diazinon, dan insektisida kimia lainnya. Walaupun dapat mengendalikan kecoa, hal tersebut dapat menimbulkan masalah lain seperti mencemari lingkungan, menimbulkan resistensi vektor dan menyebabkan matinya hewan yang bukan sasaran [3]

Oleh karena itu, diperlukan upaya pengendalian hayati dengan memanfaatkan bahan alami yang lebih ramah lingkungan. Salah satu alternatif yang bisa dilakukan yaitu pemanfaatan cendawan entomopatogen sebagai agen hayati pengendali kecoa. Cendawan entomopatogen merupakan golongan cendawan yang mengakibatkan kematian serangga. Selain menghasilkan toksin, cendawan entomopatogen juga menghasilkan beberapa enzim ekstraselluler seperti kitinase, protease, dan lipase yang digunakan cendawan untuk menginvasi tubuh serangga target.

Pada penelitian ini, akan berfokus pada cendawan entomopatogen penghasil protease. Salah satu jenis protease yang dihasilkan cendawan entomopatogen adalah substilisin protease yang mampu mendegradasi integumen dari serangga [4].

Untuk itu, dilakukan penelitian untuk mengisolasi cendawan entomopatogen asal kecoa yang mampu menghasilkan protease.

METODE PENELITIAN

Persiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya cawan Petri, tabung reaksi, neraca analitik digital, ose jarum, bunsen, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, mikroskop, vortex mixer, haemocytometer, autoclave, *Biological Safety Cabinet* (BSC) dan inkubator.

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya kecoa, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), antibiotik *chloramphenicol*, *Lactophenol Cotton Blue* (LCB), susu anlene, aquades, alkohol 70%, spritus, kapas, tissue, kain kasa, dan *cling wrap*.

Isolasi Cendawan Entomopatogen

Isolasi cendawan entomopatogen menggunakan metode *Moist Chamber*. Kecoa yang telah mati diletakkan cawan Petri yang berisi tissue yang sudah dilembabkan menggunakan aquades steril. Lalu diinkubasi pada suhu 25-28°C selama 7 hari diinkubator.



Gambar 1. Isolasi cendawan entomopatogen menggunakan metode Moist Chamber

Pemurnian Cendawan Entomopatogen

Cendawan yang tumbuh pada tubuh kecoa dimurnikan menggunakan media PDA. Cendawan yang mempunyai warna yang berbeda diinokulasikan kedalam media PDA menggunakan ose jarum. Lalu diinkubasi pada suhu 25-28°C selama 7 hari diinkubator. Pemurnian dilakukan sampai

mendapatkan cendawan yang hanya mempunyai satu warna.

Identifikasi Cendawan Entomopatogen

Cendawan entomopatogen yang telah murni diamati secara mikroskopis menggunakan metode *slide culture* [5]. Metode ini menggunakan potongan media PDA yang diletakkan dalam *object glass* dalam cawan Petri. Lalu, cendawan entomopatogen dititik menggunakan ose jarum pada media PDA dan ditutup menggunakan *cover glass*. Selanjutnya diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 25-28°C. Setelah isolat tumbuh, *cover glass* diangkat dan diletakkan pada *object glass* baru yang telah ditetesi menggunakan LCB, lalu diamati menggunakan mikroskop. Selanjutnya, diidentifikasi menggunakan buku identifikasi menurut Barnett dan Hunter (1998).

Uji Proteolitik Isolat Cendawan Entomopatogen

Uji proteolitik menggunakan media PDA (200 g kentang, 20 g dextrose, 15 g agar, 1 l aquades). Lalu disterilisasi dalam autoclave selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan antibiotik *chloramphenicol* (500 mg/l) dan susu anlene 1%. Cendawan entomopatogen diinokulasikan dalam cawan Petri yang sudah berisi media uji menggunakan ose jarum. Lalu diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 25-28°C. Aktivitas proteolitik diamati dari terbentuknya zona jernih yang terdapat disekitar koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi cendawan entomopatogen asal kecoa didapatkan satu genus (kode P2) yang termasuk dalam genus *Penicillium*.



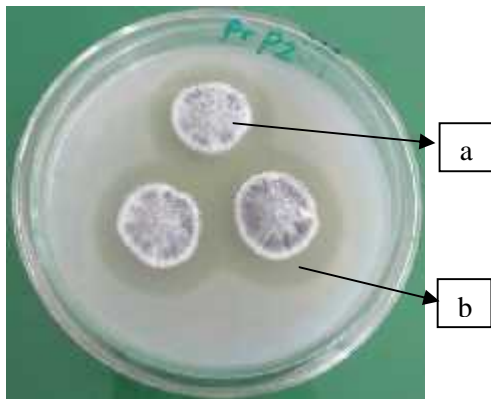
Gambar 2. Hasil pemurnian cendawan entomopatogen asal kecoa (*P. americana*) pada media PDA.

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis, koloni berwarna abu-abu. Sedangkan berdasarkan pengamatan mikroskopis, mempunyai konidia yang berbentuk bulat (globose), konidiofor bercabang, hifa bersekat, tidak mempunyai vesikel dan sel kaki, dan mempunyai fialid tunggal (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil pengamatan mikroskopis *Penicillium* sp.

Isolat *Penicillium* sp. yang didapatkan diuji aktivitas proteolitiknya menggunakan media uji dan didapatkan luas zona jernih sebesar 1,5 cm (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil Uji Proteolitik *Penicillium* sp.
(a) koloni *Penicillium* sp. (b) zona jernih yang terbentuk

Terbentuknya zona jernih disekitar koloni dikarenakan adanya aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp. yang dapat mendegradasi kasein dalam skim milk sebagai substrat protease [6] sehingga terbentuk zona jernih disekitar koloni cendawan. Cendawan proteolitik mampu memproduksi enzim protease yang berperan dalam proses hidrolisis kasein menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino yang larut dalam media. Aktivitas proteolitik yang semakin tinggi ditunjukkan dengan semakin luas zona jernih yang terbentuk [7].

KESIMPULAN

Hasil isolasi cendawan entomopatogen termasuk golongan *Penicillium* sp. yang mempunyai aktivitas proteolitik sebesar 0,6.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Steven et al. 2013. *Entomological notes*. Department of Entomology. The Pennsylvania State University.
- [2] Cornwell PB. 1968. *The cockroach*. Vol. 1. London. Hutchinson.
- [3] World Health Organization. 1970. Tentative instructions for determining the susceptibility or resistance of cockroaches to insecticides. *Technical Report Series*. No. 443. Geneva. 130-133.
- [4] Ali, Shaukat. 2011. Production and Regulation of Extracellular Proteases from the Entomopathogenic Fungus *Metarhiziumanisopliae* (Cordycipitaceae; Hipocreales) in the Presence of Diamondback Moth Cuticle. Pakistan. *J. Zool.*, vol. 43 (6), pp. 1203-1213.
- [5] Sundari. 2012. Suatu Model Pengembangan Media Pembelajaran *Slide Culture* untuk Pengamatan Struktur Mikroskopis Kapang pada Mata Kuliah Mycology. *Jurnal Bioedukasi*. 1(1): 39-47
- [6] Susanti, E. 2002. *Petunjuk Praktikum Biokimia*. Jurusan Kimia FMIPA UM. Malang.
- [7] Irena, A. 2010. *Isolasi dan Optimasi Protease Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Tangkuban Perahu Bandung*. Unpublished Thesis, Departemen Biokimia FMIPA IPB. Bogor.