

## Karakterisasi Proteolitik Fungi Entomopatogen *Aspergillus* sp. dari Kecoa *Periplaneta americana*

Ferly Apriliani\*, Emantis Rosa\*, C.N. Ekowati\*, Tundjung Tripeni Handayani\*

\*) Biologi FMIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Lampung, Indonesia

Email : ferlyapriliani6@gmail.com

### ABSTRACT

*Periplaneta americana* cockroach is an insect that becomes a vector of disease. Generally Indonesian people control cockroaches with chemicals that are at risk of poisoning humans and are not environmentally friendly. To reduce the risk, the steps taken are by using one biological controller with fungi *Aspergillus* sp. which is entomopathogenic. The fungus used must have proteolytic activity to be able to break down proteins which are one of the constituent compounds of the pest body. Results from proteolytic characterization of *Aspergillus* sp. showed that *Aspergillus* sp. has proteolytic activity with a proteolytic index of 0,708

**Keyword:** *Aspergillus* sp., proteolytic, *Periplaneta americana* cockroach

### PENDAHULUAN

Kecoa jenis *Periplaneta americana* termasuk ke dalam golongan serangga Orthoptera yang masih berkerabat dengan Belalang. Kecoa merupakan vektor dari beberapa penyakit karena tubuh kecoa membawa patogen seperti *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., dan bakteri patogen lainnya. Cara yang ditempuh oleh masyarakat dalam memberantas kecoa ini yaitu dengan menggunakan insektisida kimia. Untuk mengurangi penggunaan insektisida kimia dalam memberantas kecoa yaitu menggunakan agen hayati berupa fungi entomopatogen.

Fungi entomopatogen merupakan bioinsektisida yang dapat menyerang cakupan inang yang luas dan tepat sasaran. Kemampuan fungi entomopatogen dalam mematikan kecoa ini dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah karakter fisiologis fungi itu sendiri.

*Aspergillus* sp. termasuk dalam kelas Ascomycetes yang mudah ditemukan di alam, bersifat saprofit. *Aspergillus* berkembang biak dengan membentuk hifa dan konodiofora yang membentuk spora. Koloni berwarna putih kekuningan hingga kehitaman. Koloni berbentuk rantai bulat. Reproduksi fungi ini dapat secara seksual dan aseksual (Yosmed, 2010).

Fungi *Aspergillus* terdiri dari beberapa jenis diantaranya adalah *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* dan *Aspergillus parasitivus*.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fungi *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasitivus* dapat digunakan sebagai biopestisida karena memiliki kemampuan dalam menghasilkan mitokosin untuk membunuh serangga (Meitry & Rudias, 2015).

Kandungan protein pada serangga merupakan komponen yang digunakan sebagai salah satu sumber nutrisi dari fungi proteolitik, seperti *Aspergillus* sp. Oleh karena itu, dilakukan karakterisasi *Aspergillus* sp. proteolitik dari kecoa.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Adapun bahan yang digunakan adalah aquades, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), spiritus, *Potato dextrose Broth* (PDB), alkohol 70%, kecoa, susu anlene, cawan petri, bunsen, ose jarum, *autoclave*.

#### 1. Isolasi Fungi Entomopatogen

Metode yang dilakukan untuk isolasi menggunakan metode *Moist Chamber*.

Langkah pertama yaitu kecoa direndam pada alkohol 70% selama 30menit. Kemudian dibilas dengan aquades. Bagian-bagian tubuh kecoa seperti kepala, sayap, perut dan kaki dipisah-pisahkan. Bagian-bagian tersebut diletakkan pada cawan petri steril yang telah dialasi oleh tissue steril dan ditetesi aquades steril. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada tempat yang lembab dengan suhu ruang 25<sup>0</sup>-27<sup>0</sup>C. Setelah diinkubasi, fungi yang tumbuh pada tiap-tiap bagian kecoa kemudian diisolasi dan dimasukkan pada media buatan untuk pemurnian.

## 2. Pemurnian Isolat Fungi Entomopatogen

Koloni fungi yang memiliki morfologi berbeda diinokulasi pada media PDA miring pada, kemudian diinkubasi selama 7 hari dengan suhu 25-28<sup>0</sup>C sebagai persediaan isolat. Biakan murni fungi yang didapatkan, kemudian diidentifikasi berdasarkan Alexopoulos et al., (1996). Identifikasi fungi dilakukan dengan mengamati beberapa karakter morfologi baik secara makroskopis(warna, bentuk, dan arah pertumbuhan koloni) maupun secara mikroskopis (percabangan konidiofor dan bentuk konidia cendawan).

## 3. Uji Protease Fungi Entomopatogen

Susu skim digunakan sebagai subtrat untuk menguji aktivitas enzim protease. Uji kualitatif enzim protease adalah dengan cara menginokulasikan isolat fungi entomopatogen pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) + susu Anlene 1% dengan metode titik, kemudian diinkubasi pada suhu ruang (25-28<sup>0</sup>C) selama 3 hari. Jika terbentuk zona bening disekitar koloni fungi pada permukaan media, maka menunjukkan hasil positif aktivitas enzim protease.

## 4. Penentuan Indeks Proteolitik

Penentuan indeks proteolitik dari hasil uji fisiologis dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Agustien, 2010):

$$IP = \frac{D1-D2}{D2}$$

Keterangan : D1= Diameter zona jernih  
D2= Diameter koloni fungi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan dengan metode *moist chamber* diperoleh koloni fungi *Aspergillus* sp. yang kemudian dimurnikan dan dilakukan pengamatan secara mikroskopis. Hasil isolasi yang dimurnikan dan pengamatan ditunjukkan oleh gambar 1 dan gambar 2.



Gambar 1. Koloni fungi *Aspergillus* sp. pada media PDA yang telah dimurnikan



Gambar 2. Morfologi fungi *Aspergillus* sp. secara mikroskopis dengan teknik *slide culture*

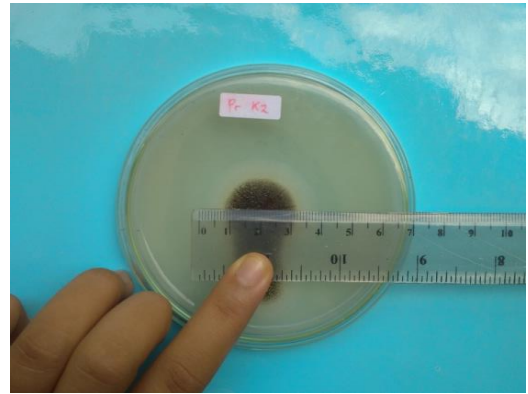
## B. Pembahasan

Fungi yang menginfeksi serangga disebut Fungi Entopatogenik. Saat ini telah dikenal lebih dari 750 spesies fungi entopatogenik dan sekitar 100 genera fungi. Berbeda dengan virus, fungi patogen masuk ke dalam tubuh serangga tidak melalui saluran makanan tetapi langsung masuk ke dalam tubuh melalui kulit atau integumen. Setelah konidia fungi masuk ke dalam tubuh serangga, fungi memperbanyak diri melalui pembentukan hife dalam jaringan epicutikula, epidermis, hemocoel serta jaringan-jaringan lainnya, dan pada akhirnya semua jaringan dipenuhi oleh miselia fungi.

*Aspergillus* sp. merupakan salah satu jenis agensia pengendali hayati yang telah dilaporkan mampu bersifat antagonis dan dapat mematikan serangga hama. *Aspergillus* sp. dilaporkan mampu bersifat patogen terhadap beberapa hama salah satunya adalah *Helopeltissp.* (Pasarudkk., 2014)

Fungi entomopatogen dapat mematikan serangga hama dengan hifa dari spora yang masuk ke rongga dalam tubuh inang karena bantuan enzim dan tekanan mekanik. Akhirnya seluruh tubuh serangga inang penuh dengan propagul dan bagian yang lunak dari tubuhnya akan ditembus keluar dan mendapatkan pertumbuhan hifa di luar tubuh serangga inang. Pertumbuhan hifa eksternal akan menghasilkan konidia yang masak dan disebarkan ke lingkungan kemudian menginfeksi serangga hama yang sehat (Prayogo dan Tengkan, 2005)

Ciri-ciri fungi yang terdapat pada cawan petri yaitu menghasilkan spora berwarna hitam dengan warna putih disekitar tepi koloni yang menyebar di medi PDA. Setelah itu dilakukan pengamatan mikroskopis dengan menggunakan teknik *slide cultur*. Hasil pengamatan mikroskopis didapatkan ciri fungi dengan hifa yang tidak bersekat dan konidia bersekat. Berdasarkan ciri yang diperoleh dapat diketahui bahwa fungi yang didapatkan termasuk dalam genus *Aspergillus* (Schlegel, 1994).



Gambar 3. Hasil uji proteolitik fungi *Aspergillus* sp. dan pengukuran zona jernih

Hasil uji proteolitik menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni. Fungi dapat mendegradasi susu anlene sehingga terbentuk zona jernih di sekitar koloni. Hasil aktivitas enzim protease diukur dengan indeks proteolitik. Semakin tinggi nilai indeks yang diperoleh maka semakin besar produksi enzim ekstraseluler. Gambar 3 menunjukkan zona jernih yang terbentuk dan hasil perhitungannya yang diperoleh yaitu sebesar 0,708.

## KESIMPULAN

Isolat yang didapatkan merupakan fungi yang termasuk ke dalam genus *Aspergillus* dan merupakan fungi proteolitik dengan indeks proteolitik sebesar 0,708.

## SARAN

Perlu dilakukan uji karakteristik yang lain seperti uji aktivitas kitinase dan aktivitas lipase untuk menunjang potensi fungi *Aspergillus* untuk dijadikan sebagai pengendali hayati kecoa.

## REFERENSI

- Agustien, A. 2010. Protease Bakteri Termofilik. Universitas Padjajaran PRESS. Bandung.
- Meitry, T. & Rudias 2015. Isolasi dan identifikasi cendawan berguna asal poso potensinya sebagai agens pengendali serangga hama. *AgroPet*, 12(2002): 23–30.

- Pasaru, F., Alam, A., Kuswinanti, T., Mahfudz & Shahabuddin. 2014. Prospective of entomopathogenic fungi associated with *Helopeltis* spp. (Hemipter: Miridae) on cacao Plantation. *International Journal of Current Research and Academic Review* 2(11): 227
- Prayogo, Y dan W. Tengkan. 2005. *Pengaruh Media Tumbuh terhadap Daya Berkecambah, Sporulasi, dan Virulensi Metarhizium anisopliae (Metchnikoff) Sorokin Isolat Kendal payak pada Larva Spodoptera litura*. Hlm:123-131. *Dalam: Bintoro, P., Umiyati, P. Widiyaningrum & I. O. Utami (Editor). Jurnal Pengembangan Ilmu-ilmu Pertanian SAINTEKS*. Vol. XI (3): 65-81.
- Schlegel, H. G. 1999., *Mikrobiologi Umum*, 202 Edisi ke-6. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Yosmed, H. 2010. Isolasi Cendawan Entomopatogen Pada Serangga Terinfeksi di Daerah Pertanian Kecamatan X Koto Tanah Datar. *Jurnal Saintek*, II(2): 99 – 1.