

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioreaktor Jamur Entomopatogen

Perbanyakan jamur entomopatogen dapat menggunakan media cair maupun padat. Bioreaktor untuk produksi jamur entomopatogen yang menggunakan media padat antara lain *tray bioreactors*, *packed column bioreactors* dan *drum bioreactors*, sedangkan bioreaktor dengan menggunakan cairan antara lain *continuous stirred-bioreactors*, *continuous flow stirred-tank reactors*, *plug-flow reactor* dan *fluidized-bed reactors* (Musoni *et al.*, 2015).

Perbanyakan jamur entomopatogen lebih efektif jika dilakukan secara *in vitro*. Oleh karena itu, penggunaan bioreaktor memberikan keuntungan dengan menyediakan lingkungan yang sesuai dan terkendali (Obregón *et al.*, 2017). Desain bioreaktor harus disesuaikan sedemikian rupa sehingga mendukung perkembangan jaringan, menjaga kelangsungan hidup sel dan fungsi seluler serta memberikan sinyal biokimia dan fisik jamur. Selain itu, terdapat prinsip-prinsip umum yang harus diperhatikan seperti kemudahan perakitan, sterilitas, pemilihan bahan biokompatibel, tidak beracun dan penggunaan pompa atau *actuator* (Dursun *et al.*, 2021).

2.2 Bait box

Bait box merupakan bioreaktor jamur entomopatogen yang didesain untuk meminimalkan kontaminasi dan menyediakan ruangan yang steril dengan bentuk kotak modifikasi dengan menerapkan prinsip LAF (*Laminar Air Flow*) (Gambar 2.1) digunakan sebagai ruangan untuk pengerjaan isolasi secara aseptik. *Bait box* terdiri dari dua unsur kata yaitu *bait* dan *box*. *Bait* dalam pengertiannya pada *cambridge dictionary* adalah segala sesuatu yang digunakan untuk mendorong suatu hal untuk melakukan sebuah hal. Bioreaktor *bait box* diartikan sebagai

sebuah kotak yang digunakan untuk mendorong pertumbuhan jamur entomopatogen pada sebuah media yang diletakkan didalam bait box. Prinsip teknik aseptik suatu ruangan berdasarkan aliran udara keluar sehingga kontaminasi udara dapat diminimalkan dan dengan penggunaan lampu UV untuk mensterilkan LAF (Ivayani *et al.*, 2020). Menurut Aisyah dan Astuti (2019), proses sterilisasi yang kurang memenuhi syarat dapat menjadi kendala dalam produksi agen hayati dikarenakan kontaminasi.



Gambar 2.1 Laminar air flow.

Bait box didesain sebagai peralatan perbanyakan jamur entomopatogen yang efektif, mudah dan efisien. *Bait box* merupakan alat yang digunakan untuk memperbanyak jamur entomopatogen dengan memanfaatkan teknik *bait method* yang sering digunakan dalam eksplorasi jamur entomopatogen, serta menyediakan media berupa kotak atau baki yang bertumpuk sebagai media perbanyakan. Baki dalam *bait box* disusun bertumpuk dengan baki pada bagian paling bawah digunakan sebagai starter. Penelitian Méndez-González *et al.* (2017), menggunakan baki bertumpuk dalam *tray bioreactor* dengan volume 60 x 60 x 200 cm untuk melakukan perbanyakan jamur *Beauveria bassiana*. Hasil penelitian menunjukkan dalam satu kali produksi dapat menghasilkan 3 kg jamur dengan menggunakan media beras. *Starter* perbanyakan jamur entomopatogen menggunakan media pertumbuhan jamur seperti media jagung, beras maupun lainnya yang dicampur dengan starter jamur entomopatogen. Media perbanyakan seperti beras dan jagung yang dimasukkan pada baki akan menjadi media pertumbuhan jamur, di mana

jamur akan tumbuh pada media yang berada di baki seperti pada metode *bait method*.

Bait method merupakan sebuah metode untuk memancing pembiakan jamur entomopatogen dari sebuah media ke media lainnya. Praktik *bait method* sering digunakan dalam eksplorasi jamur entomopatogen dengan menggunakan serangga untuk memancing jamur entomopatogen yang ada di tanah yang disebut *insect bait method* (Nunilahwati *et al.*, 2019). Penelitian Suciatmih *et al.* (2015), menggunakan rayap *Coptotermes* sp. dan ulat *Xystrocera festiva* Pascoe (Insecta: Coleoptera: Cerambycidae) sebagai umpan untuk mendeteksi dan mengisolasi jamur entomopatogen dari tanah rizosfer tanaman. Penelitian Arsi *et al.* (2020), menggunakan larva *Tenebrio molitor* sebagai perangkap jamur entomopatogen.

2.3 Stainless steel

Stainless steel digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan *bait box* sebagai kerangka alat. *Stainless steel* (Gambar 2.2) memiliki keunggulan yaitu tahan karat dan lebih mudah dibersihkan. Menurut Ningsih (2016), *stainless steel* menjadi bahan *food grade* yang mudah dibersihkan dari kontaminasi luar karena memiliki permukaan yang halus. Sifat keras dan ketahanan *stainless steel* memberikan dampak positif saat proses pembersihan komponen dilakukan. Hal tersebut menjadikan *stainless steel* dapat mendukung lingkungan aseptik untuk perkembangan jamur entomopatogen. Kondisi aseptik diperlukan untuk mendukung kegiatan laboratorium praktik dan penelitian. Aseptik adalah sistem untuk menjaga sterilitas dan mencegah kontaminasi dari sudut pandang teknis (Sari, 2022).



Gambar 2.2 *Stainless steel*.

2.4 Lampu Ultraviolet

Lampu ultraviolet (UV) digunakan untuk menciptakan kondisi aseptik pada *bait box* sebelum digunakan. Lampu UV (Gambar 2.3) dapat memancarkan sinar ultraviolet yang dapat membunuh mikroorganisme. Menurut Fitriyah *et al.* (2022), sinar ultraviolet (UV) adalah bagian dari spektrum elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 100 nm – 400 nm. Sinar UV-C yang mempunyai panjang antara 200 – 280 nm adalah wilayah *germicidal* efektif untuk membunuh bakteri dan virus. Sinar ultraviolet (UV) merupakan salah satu sinar yang memiliki daya radiasi yang bersifat letal bagi organisme. Oleh karena itu, radiasi UV sering digunakan pada tempat yang memiliki kondisi aseptik (Elisanti *et al.*, 2020).



Gambar 2.3 Lampu ultraviolet.

2.5 HEPA Filter

HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) filter (Gambar 2.4) digunakan untuk menyaring udara yang masuk melalui saluran udara ke dalam *bait box*. Penggunaan HEPA filter memastikan udara yang masuk ke dalam *bait box* tidak membawa partikel yang dapat mengontaminasi. HEPA filter dirancang untuk menyaring partikel polutan yang lebih kecil. Partikel tersebut akan terjebak (menempel pada fiber) melalui kombinasi dari 3 mekanisme yaitu difusi, *interception* dan *impaction*.

HEPA filter didesain untuk menangkap partikel yang sangat kecil secara efektif (Afian *et al.*, 2020).



Gambar 2.4 HEPA filter.

2.6 Jamur Entomopatogen

Hama jenis serangga merupakan kelompok hewan terbesar dalam menimbulkan kerusakan besar dalam pertanian. Ciri khas serangga yang menonjol adalah kerangka luarnya yang mengandung kitin, yang dapat ditembus oleh sebagian besar jamur entomopatogen. Jamur entomopatogen adalah salah satu jamur alami parasit yang dapat menyerang hama jenis serangga. Semua jamur entomopatogen sebagian besar bersifat patogen terhadap serangga. Jamur entomopatogen dapat mempertahankan keseimbangan agroekosistem karena dapat mengendalikan serangga yang menjadi hama tanaman (Ginting *et al.*, 2024).

Jamur entomopatogen mempunyai berbagai inang serangga dari larva akuatik hingga serangga dewasa. Jamur entomopatogen dapat menginfeksi 20 dari 31 ordo serangga dalam semua tahap perkembangan baik dalam fase telur, larva, pupa, nimfa dan dewasa (Araújo dan Hughes, 2016). Jamur entomopatogen menginfeksi serangga dengan cara masuk ke tubuh serangga inang melalui kulit, saluran pencernaan, spirakel dan lubang lainnya. Inokulum jamur yang menempel pada tubuh serangga inang akan berkecambah dan berkembang membentuk tabung kecambah, kemudian masuk menembus kulit tubuh (Hasyimuddin dan Sijid, 2018).

Serangga dapat dikendalikan oleh jamur entomopatogen dengan menginfeksi seluruh tubuh serangga dan memproduksi berbagai enzim ekstraseluler. Hal tersebut menjadikan jamur entomopatogen efisien, tidak berbahaya bagi manusia, meminimalkan residu pestisida dan aman bagi organisme bukan target (Shahid *et al.*, 2012). Menurut Sinha *et al.* (2016), jamur entomopatogen merupakan agen biokontrol yang potensial terutama karena kemampuan reproduksinya yang tinggi, aktivitas spesifik target, waktu generasi yang singkat dan kemampuan menghasilkan tahap istirahat atau fase saprobik yang dapat menjamin kelangsungan hidupnya lebih lama ketika tidak ada inang.

Menurut Mora *et al.* (2018), infeksi jamur entomopatogen pada serangga diawali dengan penyatuan propagul jamur ke kutikula serangga. Proses tersebut melibatkan mekanisme adhesi non-spesifik yang dikendalikan oleh sifat hidrofobik dinding sel konidia yang mengacu pada interaksi antara protein yang terletak di konidia dan permukaan hidrofobik eksoskeleton serangga yang rentan. Jamur entomopatogen harus menembus kutikula serangga yang terdiri atas jaringan polimer polisakarida yang dimasukkan ke dalam matriks protein (hingga 70%) agar infeksi berhasil. Cara jamur entomopatogen menembus serangga bergantung pada sifat kutikula, seperti ketebalan, sklerotisasi dan keberadaan zat anti-jamur dan nutrisi. Enzim yang terlibat dalam degradasi kutikula termasuk protease, kitinase dan lipase, masing-masing diperlukan untuk mendegradasi protein, kitin dan lipid. Setelah berada di dalam serangga, jamur harus menghadapi mekanisme respons sistem kekebalan tubuh serangga yang merupakan strategi pertahanan dan imunosupresif, seperti produksi racun atau perubahan struktural pada dinding sel. Jamur mengatasi mekanisme pertahanan serangga untuk menyelesaikan proses infeksi dengan mensintesis enzim protease yang dapat menurunkan sistem kekebalan humoral dan juga menggunakan depsipectida siklik maupun destruxin, yang merusak sistem otot dan tubulus malpighi, memengaruhi ekskresi dan menghambat kemampuan mereka untuk makan dan bergerak.

Jamur entomopatogen mempunyai banyak jenis berdasarkan filogenetik, morfologis dan spesies jamur yang beragam secara ekologis (R. Singh *et al.*, 2017).

Menurut Sinha *et al.* (2016), berdasarkan karakteristik umum jamur entomopatogen terbagi dalam 5 filum yaitu:

1. Filum *Oomycota*

Jamur ini mempunyai selulosa pada hifa *coenocytic*nya (tanpa kitin) dan mempunyai *zoospora biflagellate*. Reproduksi seksual terjadi pada hifa yang sama atau hifa yang berbeda antar gametangia. Filum *Oomycota* adalah parasit pada tumbuhan dan hewan, namun beberapa spesies bersifat saprofit.

2. Filum *Chytridiomycota*

Kelompok jamur ini hifanya bersifat *coenocytic*, dinding selnya terbuat dari kitin dan zoosporanya memiliki flagela tunggal. Berdasarkan perbandingan filogenetik rRNA, kelompok jamur ini dianggap basal. *Chytridiomycetes* yang menginfeksi serangga adalah dari ordo *Blastocladales*. genus *Coelomomyces*.

3. Filum *Zygomycota*

Jamur ini mempunyai miselium multiseluler, nonseptat, gametangia membentuk zigospora. Kelas *Trichomycetes* terdiri atas spesies yang sebagian besar terkait dengan serangga. Ordo *Entomophthorales* berisi lebih dari 200 spesies penginfeksi serangga.

4. Filum *Ascomycota* dan *Deuteromycota*

Miselium berbentuk *septate*, *haploid*, dan *ascospora* (spora seksual) terbentuk di tubuh buah. Biasanya delapan askospora diproduksi di setiap askus. Lebih dari 300 spesies entomopatogen terdapat di *Cordyceps*. Contoh paling umum di antaranya adalah *Aspergillus*, *Metarhizium*, *Hirsutella*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Culicinomyces*, *Lecanicillium*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium* dan lainnya.

5. Filum *Basidiomycota*

Jamur ini mempunyai miselium bercabang banyak, bersekat yang terdiri atas miselium primer dan sekunder. Hanya sedikit *Basidiomycetes* yang bersifat patogen terhadap serangga. *Uredinella* dan *Septobasidium* bersifat entomopatogen.

2.7 Jamur *Metarhizium* sp.

Jamur entomopatogen merupakan jamur yang mampu menginfeksi serangga target tertentu secara spesifik dengan efek samping dan risiko yang sangat rendah bagi serangga non target, salah satunya jamur *Metarhizium* sp. (Septiana, 2015). *Metarhizium* sp. adalah salah satu jamur patogen serangga yang dikenal sebagai jamur *green muscardine* karena mempunyai konidia (spora) berwarna hijau. Jamur *Metarhizium* sp. pertama kali diisolasi oleh Metschnikoff dari serangga hama yang menyerang tanaman gandum *Anisoplia austriaca* pada tahun 1879 dan diidentifikasi sebagai *Entomophthora anisopliae* dan pada tahun 1888 jamur ini digunakan pertama kali dalam pengendalian hama secara hayati. *Metarhizium anisopliae* merupakan jamur kosmopolitan serangga yang menjadi perhatian berbagai negara untuk mengendalikan hama serangga (Genthner dan Middaugh, 1995).

Koloni jamur *M. anisopliae* berwarna putih di awal pertumbuhan. Seiring bertambahnya umur, warna koloni akan berubah menjadi hijau gelap. Miselium *M. anisopliae* bersekat, konidiofor berlapis, bersusun tegak, dan bercabang yang dipenuhi oleh spora (Ilmiyah dan Rahma, 2021). *M. anisopliae* pada awal pertumbuhannya akan membengkak lalu mengeluarkan tabung-tabung kecambah (*appresorium*) yang kemudian memanjang selama 30 jam. Beberapa cabang tersebut membesar ke atas membentuk konidiofor yang pendek, bercabang, berdekatan dan saling melilit. Pembentukan konidia terdiri dari kuncup dan tunas yang memanjang pada kedua sisi konidiofor tersebut (Jarlina, 2019).

M. anisopliae mempunyai miselium yang bersekat, konidiofor bersusun tegak, berlapis dan bercabang yang dipenuhi konidia berbentuk bulat silinder, dengan kerapatan konidia jamur ($5,80 \times 10^6$). Karakter morfologi jamur sangat dipengaruhi oleh jenis spesies dan asal isolat. *M. anisopliae* asal tanaman padi dan jagung mempunyai miselium yang bersekat, konidiofor bersusun tegak, berlapis dan bercabang yang dipenuhi konidia. Konidia berbentuk bulat silinder atau lonjong. Warna isolat *M. anisopliae* asal tanaman padi tidak berbeda dengan isolat asal tanaman jagung yaitu berwarna hijau zaitun (W. Sari dan Rosmeita, 2020).

Jamur *Metarhizium* sp. efektif mengendalikan berbagai spesies serangga hama yang hidup di atas dan bawah permukaan tanah. *M. anisopliae* mampu menginfeksi hama tanaman dari Ordo *Coleoptera*, *Isoptera*, *Homoptera*, *Hemiptera* dan *Lepidoptera* (Akhsan *et al.*, 2021). *Metarhizium* sp. banyak diidentifikasi dari berbagai hama kumbang dari Ordo *Coleoptera*, dan dilaporkan paling efektif dalam menginfeksi Famili *Scarabaeidae* (*Coleoptera*) dibandingkan dengan jamur entomopatogen lainnya (Indrayani, 2017). Taksonomi *Metarhizium* sp. menurut Alexopoulos (1996) adalah:

Kingdom : Fungi
Divisi : Eumycota
Kelas : Deuteromycetes
Ordo : Moniliales
Famili : Moniliaceae
Genus : *Metarhizium*
Species : *Metarhizium anisopliae*

2.8 Faktor Perbanyakan Jamur Entomopatogen

Kegiatan produksi jamur entomopatogen sebagian besar dilakukan di laboratorium. D. Singh *et al.* (2017) menyebutkan bahwa keberhasilan penggunaan jamur entomopatogen dalam pengaplikasian pada tanaman dan keberhasilan produksi massal jamur entomopatogen di laboratorium adalah media atau substratnya. Ketersediaan media dalam skala besar merupakan persyaratan utama dalam program biokontrol. Perbanyakan jamur entomopatogen dipengaruhi oleh media yang baik dengan nutrisi yang cukup dan dalam kondisi yang steril atau terhindar dari kontaminasi. Media akan menjadi tempat pertumbuhan jamur entomopatogen yang menjadikan kondisi media yang optimal akan meningkatkan produktivitas perbanyakan jamur entomopatogen. Selain itu, untuk mengoptimalkan pertumbuhan konidia diperlukan kelembapan, pH, suhu dan aerasi yang tepat. Inokulan yang sesuai mempunyai potensi untuk mencegah beberapa masalah yang sering terjadi seperti produksi dan kualitas konidia yang rendah,

variabilitas yang tinggi antar kultur *batch* dan bahkan substrat yang lambat invasi, mengakibatkan produktivitas rendah dan risiko kontaminasi mikroba yang tinggi.

Media berperan penting sebagai tempat tumbuhnya mikroorganisme. Selain untuk menumbuhkan mikroorganisme, media dapat digunakan untuk isolasi dan perbanyakan serta untuk menguji sifat fisiologisnya dan menghitung jumlah mikroorganisme. Media pertumbuhan jamur entomopatogen harus mengandung senyawa organik sebagai sumber karbon, nitrogen, ion anorganik dan vitamin dalam jumlah yang cukup untuk mendukung pertumbuhan jamur (Liu *et al.*, 2018). Menurut Qisthi *et al.* (2021), sumber nutrisi merupakan faktor penentu pertumbuhan dan virulensi jamur entomopatogen karena laju perkecambahan, pertumbuhan dan sporulasi adalah indikator tingkat virulensi. Media buatan yang digunakan untuk perbanyakan jamur entomopatogen antara lain beras, jagung, bekatul, sekam *Czapek Dox Agar* (CZA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Sabouraud dextrose agar with Yeast extract* (SDAY) dan *Sabouraud Maltose Agar* (SMA) (Banu dan Rajalakshmi, 2014) dan *Savoured Dextrose Broth* (SDB) (R. Singh *et al.*, 2017).