



Aktivitas *Larvasida Beauveria bassiana* Hasil *Passage* melalui *Tenebrio molitor* terhadap Larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*

Indri Ramayanti^{1*}, Miranti Dwi Hartanti², Putri Aprilia Kusuma Widyanti³, Pingkan Ayu Putri Arta⁴, Fakhira Anisha⁵

¹Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Palembang, Indonesia

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang, Indonesia

³⁻⁵Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Palembang, Indonesia

*Penulis Korespondensi: indri_ramayanti@um-palembang.ac.id

Abstract. Dengue and lymphatic filariasis remain major mosquito-borne public health problems. Repeated use of chemical larvicides may select resistant vector populations and raises concerns regarding environmental safety. *Beauveria bassiana* is an entomopathogenic fungus with potential for biological control; however, prolonged in vitro maintenance may alter its pathogenicity. This laboratory experiment assessed *Beauveria bassiana* after passage through *Tenebrio molitor* against third-instar *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae. Passage-derived conidial suspensions at 1×10^6 , 1×10^8 , and 1×10^{10} spores/mL were tested in three replicates of 30 larvae each. Cumulative mortality was recorded daily for seven days and analyzed by one-way analysis of variance followed by Tukey's honestly significant difference test at the 5% level. Lethal times were estimated from the time-mortality relationship. On day 7, mortality reached 98.89% at 1×10^{10} spores/mL in both species. The shortest LT50 was 4.91 days in *Ae. aegypti* and 3.90 days in *Cx. quinquefasciatus*. Differences among treatments were detected from day 1 in *Ae. aegypti* and from day 3 in *Cx. quinquefasciatus*. Higher conidial concentrations were associated with greater mortality and shorter lethal times. These findings demonstrate the larvicidal activity of passage-derived *B. bassiana*. Nevertheless, the specific effect of passage cannot be distinguished from the concentration effect without matched non-passaged comparators at all concentrations.

Keywords: *Aedes Aegypti*; *Beauveria Bassiana*; *Culex Quinquefasciatus*; Entomopathogenic Fungus; Insect Passage.

Abstrak. Demam berdarah dengue dan filariasis limfatik masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting. Penggunaan larvasida kimia secara berulang dapat menyeleksi populasi vektor yang resisten dan menimbulkan persoalan keamanan lingkungan. *Beauveria bassiana* merupakan jamur entomopatogen yang berpotensi dikembangkan sebagai agen pengendali hayati, meskipun pemeliharaan in vitro yang berkepanjangan dapat mengubah sifat patogenikanya. Penelitian eksperimental laboratorium ini menilai aktivitas *Beauveria bassiana* hasil *passage* melalui *Tenebrio molitor* terhadap larva instar III *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Suspensi konidia hasil *passage* pada konsentrasi 1×10^6 , 1×10^8 , dan 1×10^{10} spora/mL diuji dalam tiga ulangan, masing-masing terdiri atas 30 larva. Mortalitas kumulatif dicatat setiap hari selama tujuh hari dan dianalisis menggunakan ANOVA satu arah yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur Tukey pada taraf 5%. Lethal time diestimasi berdasarkan hubungan waktu dan mortalitas. Pada hari ke-7, mortalitas mencapai 98,89% pada konsentrasi 1×10^{10} spora/mL pada kedua spesies. LT50 terpendek adalah 4,91 hari pada *Ae. aegypti* dan 3,90 hari pada *Cx. quinquefasciatus*. Perbedaan antarkelompok terdeteksi sejak hari ke-1 pada *Ae. aegypti* dan sejak hari ke-3 pada *Cx. quinquefasciatus*. Peningkatan konsentrasi konidia diikuti oleh mortalitas yang lebih besar dan waktu kematian yang lebih singkat. Temuan ini membuktikan aktivitas larvasida *B. bassiana* hasil *passage*. Namun, pengaruh khusus *passage* belum dapat dipisahkan dari pengaruh konsentrasi tanpa pembandingan isolat tanpa *passage* pada seluruh konsentrasi.

Kata kunci: *Aedes Aegypti*; *Beauveria Bassiana*; *Culex Quinquefasciatus*; Jamur Entomopatogen; Passage Serangga.

1. LATAR BELAKANG

Demam berdarah dengue dan filariasis limfatik masih menimbulkan beban kesehatan yang bermakna di wilayah tropis dan subtropis. Hingga 30 April 2024, World Health Organization mencatat lebih dari 7,6 juta kasus dengue, termasuk lebih dari 16.000 kasus berat dan 3.000 kematian. Pada filariasis limfatik, sekitar 657 juta penduduk di 39 negara masih

tinggal di wilayah yang memerlukan kemoterapi preventif. Besarnya populasi yang tetap berisiko menegaskan bahwa pengendalian vektor masih merupakan bagian penting dalam pencegahan kedua penyakit tersebut (World Health Organization, 2024a, 2024b).

Aedes aegypti merupakan vektor utama virus dengue, sedangkan *Culex quinquefasciatus* berperan dalam transmisi filariasis limfatik, terutama di kawasan perkotaan dan semi-perkotaan. Stadium larva merupakan sasaran yang strategis karena habitat akuatiknya relatif terbatas dan lebih mudah dijangkau dibandingkan nyamuk dewasa. Kendala utama pendekatan berbasis bahan kimia adalah berkembangnya resistensi. Resistensi multipel pada *Cx. quinquefasciatus* telah dilaporkan di berbagai wilayah dan berpotensi menurunkan keberhasilan intervensi insektisida (Hafez, 2023; Talipouo et al., 2021; Unlu et al., 2024). Keadaan ini mendorong pengembangan agen biologis dengan mekanisme kerja yang berbeda.

Beauveria bassiana merupakan jamur entomopatogen yang banyak dikaji sebagai kandidat larvasida biologis. Infeksi diawali oleh adhesi konidia pada permukaan inang, diikuti perkecambahan, pembentukan tabung kecambah dan struktur penetrasi, serta invasi kutikula melalui tekanan mekanik dan kerja enzim hidrolitik. Di dalam hemokoele, jamur berproliferasi, memanfaatkan nutrisi inang, memodulasi respons imun, dan menghasilkan metabolit yang mengganggu homeostasis serangga. Virulensi *B. bassiana* ditentukan oleh interaksi antara kemampuan penetrasi, regulasi imun, produksi metabolit, dan adaptasi metabolisme jamur (Sessa et al., 2024; Wang et al., 2021).

Pada larva nyamuk, patogenesis *B. bassiana* tidak hanya berlangsung melalui kutikula. Bitencourt et al. (2023) memperlihatkan keterlibatan usus dan hemosit larva *Aedes aegypti* serta perubahan aktivitas fenoloksidase selama infeksi. Dengan demikian, kematian larva merupakan hasil interaksi antara dosis inokulum, keberhasilan kolonisasi, dan kapasitas pertahanan inang. Deng et al. (2024) juga melaporkan bahwa ekspresi toksin Cyt1Aa pada *B. bassiana* meningkatkan aktivitas terhadap nyamuk *Aedes*, yang menunjukkan pentingnya karakter biologis isolat dalam menentukan efektivitasnya.

Bukti eksperimental terbaru mendukung aktivitas larvasida *B. bassiana* terhadap nyamuk. Pada larva instar III *Ae. aegypti*, Quintero-Zapata et al. (2021) melaporkan mortalitas serta gangguan perkembangan pada individu yang bertahan hidup. Kirsch dan Tay (2022) menemukan pengaruh terhadap mortalitas larva dan preferensi oviposisi *Aedes albopictus*. Pada *Cx. quinquefasciatus*, Kataki et al. (2024) menunjukkan aktivitas larvasida *B. bassiana* dan peningkatan efek ketika dikombinasikan dengan *Lecanicillium lecanii*. Variasi hasil antarpencobaan terutama dipengaruhi oleh isolat, konsentrasi, stadium larva, formulasi, dan cara aplikasi.

Isolat asal Sumatera Selatan juga memperlihatkan aktivitas terhadap berbagai stadium nyamuk. Ramayanti et al. (2022) melaporkan patogenisitas jamur entomopatogen terhadap telur, larva, dan nyamuk dewasa *Cx. quinquefasciatus*, sedangkan penelitian berikutnya menunjukkan aktivitas serupa terhadap *Ae. aegypti* (Ramayanti et al., 2023). Pemanfaatan isolat lokal penting karena kesesuaian biologis dengan lingkungan asal dapat memengaruhi performanya. Meski demikian, virulensi sangat bervariasi antar-isolat. Praprotnik et al. (2021) menemukan rentang virulensi yang luas terhadap *Tenebrio molitor*, sementara Sain et al. (2024) menunjukkan bahwa keragaman strain *B. bassiana* berkaitan dengan perbedaan mortalitas, sporulasi, dan kecepatan kematian inang. Subkultur berulang pada media buatan dapat memengaruhi daya kecambah, sporulasi, dan virulensi jamur entomopatogen. Zhang et al. (2023) mengaitkan degenerasi patogenisitas *B. bassiana* dengan infeksi mikovirus. Mutu inokulum karena itu tidak cukup dinilai dari kepadatan konidia, tetapi juga dari viabilitas, kecepatan perkecambahan, karakter permukaan, dan stabilitas genetik. *Passage* melalui serangga digunakan untuk memulihkan kontak patogen–inang dan menyeleksi propagul yang tetap mampu menginfeksi serta berkembang di dalam tubuh inang.

Tenebrio molitor sering digunakan sebagai inang model karena mudah dipelihara, tersedia sepanjang tahun, dan menghasilkan kadaver yang mendukung sporulasi. Praprotnik et al. (2021) menunjukkan bahwa *T. molitor* dapat digunakan untuk membedakan virulensi berbagai isolat jamur, sedangkan Wang et al. (2022) melaporkan variasi potensi virulensi antar-isolat dalam kompleks *B. bassiana*. Sampai saat ini, informasi mengenai aktivitas *B. bassiana* setelah *passage* melalui *T. molitor* terhadap *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dalam satu rancangan percobaan masih terbatas.

Penelitian ini bertujuan menilai mortalitas kumulatif serta LT50 dan LT95 larva instar III *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* setelah paparan *B. bassiana* hasil *passage* melalui *T. molitor* pada konsentrasi 1×10^6 , 1×10^8 , dan 1×10^{10} spora/mL. *B. bassiana* tanpa *passage* pada konsentrasi 1×10^6 spora/mL digunakan sebagai pembanding. Hipotesis penelitian adalah bahwa peningkatan konsentrasi konidia akan meningkatkan mortalitas dan memperpendek waktu kematian. Pengaruh *passage* secara independen hanya dapat dinilai pada konsentrasi yang memiliki pembanding setara.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk menilai aktivitas larvasida *Beauveria bassiana* hasil *passage* melalui *Tenebrio molitor* terhadap larva instar III *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Isolat *B. bassiana*

merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang. Telur atau larva nyamuk diperoleh dari Loka Laboratorium Kesehatan Masyarakat Baturaja, Kabupaten Ogan Komering Ulu, Sumatera Selatan. Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang dengan nomor 086/EC/KBHKKI/FK-UMP/XI/2024.

Kelompok perlakuan terdiri atas *B. bassiana* hasil *passage* pada konsentrasi 1×10^6 , 1×10^8 , dan 1×10^{10} spora/mL. *B. bassiana* tanpa *passage* pada konsentrasi 1×10^6 spora/mL digunakan sebagai kelompok pembanding. Setiap unit percobaan berisi 30 larva instar III dan masing-masing kelompok diuji dalam tiga ulangan, sehingga digunakan 90 larva untuk setiap kelompok pada masing-masing spesies.

Passage dan reisolasi *B. bassiana* melalui *T. molitor* dilakukan menggunakan 1.000 g tanah perkebunan yang telah dibungkus aluminium foil dan disterilisasi dalam oven pada suhu 200 °C selama 20 menit. Setelah mencapai suhu ruang, tanah dimasukkan ke dalam wadah plastik yang berisi 30 larva *T. molitor*.

Suspensi spora *B. bassiana* disemprotkan pada permukaan tanah sekali sehari sampai ditemukan larva *T. molitor* yang menunjukkan tanda infeksi. Kadaver dipindahkan ke ruang lembap untuk merangsang pertumbuhan miselium dan sporulasi eksternal. Setelah sterilisasi permukaan, jaringan kadaver diinokulasikan pada media GYA. Koloni dengan morfologi yang sesuai dengan *B. bassiana* diremajakan dan digunakan sebagai sumber konidia hasil *passage*.

Konidia dari koloni yang telah bersporulasi dipanen dan disuspensikan dalam akuades steril. Setelah dihomogenkan, suspensi diencerkan secara bertingkat dengan memindahkan 1 mL suspensi ke dalam 9 mL akuades steril. Pengenceran dilanjutkan sampai jumlah konidia berada dalam rentang hitung haemocytometer.

Suspensi pengenceran dimasukkan ke ruang hitung haemocytometer, ditutup dengan cover glass, dan diamati menggunakan mikroskop. Kerapatan spora dihitung berdasarkan jumlah konidia pada kotak yang diamati, volume ruang hitung, dan faktor pengenceran. Suspensi kemudian disesuaikan menjadi 1×10^6 , 1×10^8 , dan 1×10^{10} spora/mL.

Bioassay dilakukan pada larva instar III *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*. Tiga puluh larva ditempatkan dalam gelas plastik berdiameter sekitar 7 cm dan tinggi 9 cm yang berisi 100 mL akuades. Ke dalam setiap wadah ditambahkan 10 mL suspensi konidia sesuai perlakuan. Konsentrasi *B. bassiana* hasil *passage* adalah 1×10^6 , 1×10^8 , dan 1×10^{10} spora/mL, sedangkan kelompok pembanding menerima *B. bassiana* tanpa *passage* pada konsentrasi 1×10^6 spora/mL.

Setiap perlakuan diuji dalam tiga ulangan dan posisi wadah diacak. Mortalitas dicatat setiap 24 jam selama tujuh hari. Larva dinyatakan mati apabila tidak bergerak setelah stimulasi mekanik ringan. Jumlah larva mati pada setiap wadah digunakan untuk menghitung mortalitas kumulatif.

Mortalitas dinyatakan sebagai persentase jumlah larva mati terhadap jumlah larva yang diuji. Mortalitas kumulatif disajikan sebagai persentase pada setiap hari pengamatan. Analisis dilakukan menggunakan R versi 4.1.2 melalui RStudio. Sebelum ANOVA, data persentase ditransformasi dengan arcsine square root dan asumsi normalitas residual serta homogenitas varians diperiksa.

Mortalitas antarperlakuan pada setiap hari dianalisis menggunakan ANOVA satu arah. Hasil yang bermakna pada taraf 5% dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur Tukey. Nilai F, nilai p, BNJ 5%, dan notasi huruf superskrip dilaporkan pada tabel. Nilai dengan huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

LT50 dan LT95 diestimasi dari hubungan waktu–mortalitas. Interval kepercayaan 95% harus diperoleh dari model yang digunakan, bukan dari uji BNJ. Nilai LT95 yang melampaui tujuh hari diperlakukan sebagai ekstrapolasi di luar periode observasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mortalitas kumulatif larva *Aedes aegypti*

Tabel 1. Persentase mortalitas kumulatif larva *Aedes aegypti* (%)

Perlakuan	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
1 × 10 ⁶ spora/mL	0,00	3,33 ^b	8,89 ^b	17,78 ^{ab}	25,56 ^{ab}	40,00 ^a	55,56 ^a	75,56 ^a
1 × 10 ⁸ spora/mL	0,00	6,67 ^a	13,33 ^a	21,11 ^a	28,89 ^a	42,22 ^a	63,33 ^a	85,56 ^a
1 × 10 ¹⁰ spora/mL	0,00	6,67 ^a	13,33 ^a	20,00 ^a	26,67 ^a	43,33 ^a	64,44 ^a	98,89 ^a
Kontrol positif	0,00	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
Kontrol negatif	0,00	3,33 ^b	7,78 ^b	14,44 ^b	21,11 ^b	32,22 ^b	44,44 ^b	58,89 ^b
F hitung	0,00 ^{ns}	8,43 [*]	138,30 [*]	303,55 [*]	195,55 [*]	442,44 [*]	979,07 [*]	1012 [*]
p-value	—	2 × 10 ⁻⁵	1,04 × 10 ⁻⁸	2,17 × 10 ⁻¹⁰	1,90 × 10 ⁻⁹	3,34 × 10 ⁻¹¹	6,42 × 10 ⁻¹³	5,44 × 10 ⁻¹³
BNJ 5%	—	2,98	3,41	3,00	4,47	3,83	3,30	2,24

Keterangan: H = hari pengamatan; H0 = sebelum perlakuan; H1–H7 = hari ke-1 sampai hari ke-7 setelah perlakuan; ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Data persentase ditransformasi menggunakan transformasi arcsine sebelum analisis.

Pada hari ke-0, seluruh kelompok *Ae. aegypti* menunjukkan mortalitas yang sama. ANOVA mendeteksi perbedaan antarkelompok sejak hari ke-1 sampai hari ke-7, dengan nilai F berturut-turut 8,43; 138,30; 303,55; 195,55; 442,44; 979,07; dan 1012 (seluruh $p < 0,05$).

Pada hari ke-7, mortalitas tertinggi secara numerik diperoleh pada konsentrasi 1×10^{10} spora/mL, yaitu 98,89%. Meskipun demikian, ketiga konsentrasi *B. bassiana* berada dalam kelompok BNJ yang sama sehingga tidak berbeda nyata satu sama lain. Seluruh perlakuan *B. bassiana* berbeda nyata dari kedua kelompok kontrol.

Mortalitas kumulatif larva *Culex quinquefasciatus*

Tabel 2. Persentase mortalitas kumulatif larva *Culex quinquefasciatus* (%)

Perlakuan	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
1×10^6 spora/mL	0,00	7,78	17,78	30,00 ^{ab}	42,22 ^b	54,44 ^b	65,56 ^b	78,89 ^{bc}
1×10^8 spora/mL	0,00	8,89	21,11	33,33 ^a	45,56 ^{ab}	57,78 ^{ab}	70,00 ^{ab}	85,56 ^b
1×10^{10} spora/mL	0,00	8,89	21,11	36,67 ^a	52,22 ^a	66,67 ^a	81,11 ^a	98,89 ^a
Kontrol	0,00	7,78	16,67	24,44 ^b	33,33 ^c	43,33 ^c	53,33 ^c	64,44 ^c
F hitung	0,00 ^{ns}	0,33 ^{ns}	1,86 ^{ns}	8,45 [*]	13,29 [*]	17,56 [*]	18,88 [*]	22,50 [*]
p-value	—	0,80	0,21	$7,31 \times 10^{-3}$	$1,79 \times 10^{-3}$	$7,03 \times 10^{-4}$	$5,48 \times 10^{-4}$	$2,97 \times 10^{-4}$
BNJ 5%	—	—	—	5,11	5,70	6,06	7,47	13,29

Keterangan: H = hari pengamatan; H0 = sebelum perlakuan; H1–H7 = hari ke-1 sampai hari ke-7 setelah perlakuan; ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Data persentase ditransformasi menggunakan transformasi arcsine sebelum analisis.

Pada *Cx. quinquefasciatus*, mortalitas antarkelompok belum berbeda pada hari ke-0 sampai hari ke-2. Perbedaan mulai terdeteksi pada hari ke-3 dan bertahan hingga hari ke-7, dengan nilai F berturut-turut 8,45; 13,29; 17,56; 18,88; dan 22,50 (seluruh $p < 0,05$).

Pada hari ke-7, konsentrasi 1×10^{10} spora/mL menghasilkan mortalitas 98,89% dan berbeda nyata dari seluruh kelompok lain. Konsentrasi 1×10^8 spora/mL berbeda dari konsentrasi tertinggi dan kontrol. Konsentrasi 1×10^6 spora/mL tidak berbeda dari 1×10^8 spora/mL maupun kontrol karena masih memiliki notasi huruf yang sama.

Pola mortalitas pada kedua spesies memperlihatkan karakter kerja khas jamur entomopatogen. *B. bassiana* tidak menimbulkan kematian secara cepat seperti larvasida neurotoksik, tetapi melalui tahapan infeksi yang berlangsung bertahap. Konidia terlebih dahulu melekat pada permukaan tubuh larva, berkecambah, membentuk struktur penetrasi, menembus integumen, kemudian berkembang di dalam tubuh inang. Kolonisasi jaringan dan gangguan fisiologis yang terjadi setelahnya berujung pada kematian larva. Dalam lingkungan akuatik, keberhasilan infeksi tidak hanya ditentukan oleh jumlah konidia, tetapi juga oleh viabilitas inokulum, suhu, pH, kandungan bahan organik, sedimentasi propagul, dan aktivitas larva di dalam air (Rocha et al., 2022; Wang et al., 2021).

Patogenesis *B. bassiana* melibatkan sejumlah faktor yang bekerja secara bersamaan. Enzim protease, kitinase, dan lipase berperan dalam degradasi kutikula, sedangkan kemampuan memanfaatkan sumber karbon dan lipid inang mendukung pertumbuhan jamur setelah mencapai hemokoele. Pada tahap ini, keberhasilan infeksi turut ditentukan oleh kemampuan jamur menghadapi respons imun inang. Sessa et al. (2024) menunjukkan adanya perubahan ekspresi gen yang berkaitan dengan virulensi selama pemanfaatan lipid serangga. Di samping itu, metabolit sekunder seperti beauvericin, bassianolide, dan oosporein dapat mengganggu fungsi seluler dan keseimbangan fisiologis serangga, meskipun besarnya efek bergantung pada strain jamur dan jenis inang (Wang et al., 2021).

Pada *Ae. aegypti*, perbedaan mortalitas antarkelompok sudah tampak sejak hari pertama. Pada hari ke-7, mortalitas meningkat dari 75,56% pada konsentrasi 1×10^6 spora/mL menjadi 98,89% pada konsentrasi 1×10^{10} spora/mL. Walaupun secara numerik konsentrasi tertinggi memberikan mortalitas terbesar, ketiga konsentrasi masih berada dalam kelompok B₁ yang sama. Dengan demikian, pada akhir pengamatan belum terdapat perbedaan yang bermakna di antara ketiga konsentrasi tersebut. Penilaian efektivitas karena itu tidak cukup hanya berdasarkan mortalitas akhir, tetapi juga perlu mempertimbangkan kecepatan kerja, viabilitas konidia, kestabilan efek, dan efisiensi dosis.

Hasil penelitian ini sejalan dengan Quintero-Zapata et al. (2021), yang melaporkan bahwa paparan *B. bassiana* pada larva instar III *Ae. aegypti* meningkatkan mortalitas dan memengaruhi perkembangan larva yang bertahan hidup. Rocha et al. (2022) juga menunjukkan bahwa beberapa isolat jamur hipokreal yang diperoleh dari nyamuk dan habitat larvanya memiliki aktivitas terhadap *Ae. aegypti*.

Temuan tersebut diperkuat oleh penelitian Ramayanti et al. (2023), yang menguji jamur entomopatogen asal Sumatera Selatan terhadap telur, larva, dan nyamuk dewasa *Ae. aegypti*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa isolat lokal, termasuk *B. bassiana*, memiliki aktivitas patogen pada lebih dari satu stadium perkembangan nyamuk. Hasil itu penting karena memperlihatkan bahwa jamur entomopatogen asal Sumatera Selatan tidak hanya berpotensi menekan populasi larva, tetapi juga dapat memengaruhi stadium telur dan dewasa. Dalam penelitian ini, penggunaan isolat *B. bassiana* hasil *passage* melalui *Tenebrio molitor* memperluas temuan sebelumnya dengan menunjukkan bahwa mortalitas larva dapat mencapai 98,89% pada konsentrasi 1×10^{10} spora/mL.

Kesamaan hasil antara penelitian terdahulu dan penelitian ini memperkuat bukti bahwa *B. bassiana* mempunyai aktivitas biologis terhadap *Ae. aegypti*. Penelitian Ramayanti et al. (2023) menegaskan spektrum patogenisitas isolat lokal pada berbagai stadium perkembangan,

sedangkan penelitian ini memberikan informasi lebih lanjut mengenai pola konsentrasi–respons, mortalitas kumulatif, serta waktu yang diperlukan untuk mencapai mortalitas 50% dan 95%.

Pola yang berbeda terlihat pada *Culex quinquefasciatus*. Pada dua hari pertama, mortalitas antarkelompok belum berbeda bermakna. Perbedaan mulai tampak sejak hari ketiga dan berlanjut hingga akhir pengamatan. Pada hari ke-7, konsentrasi 1×10^{10} spora/mL menghasilkan mortalitas 98,89% dan berbeda nyata dari kelompok lain. Pada *Cx. quinquefasciatus*, peningkatan mortalitas seiring bertambahnya konsentrasi konidia terlihat lebih konsisten dibandingkan pada *Ae. aegypti*. Hal ini menunjukkan bahwa larva *Cx. quinquefasciatus* cenderung lebih peka terhadap peningkatan kerapatan konidia.

Hasil tersebut mendukung laporan Ramayanti et al. (2022) mengenai patogenisitas isolat jamur entomopatogen asal Sumatera Selatan terhadap telur, larva, dan nyamuk dewasa *Cx. quinquefasciatus*. Kataki et al. (2024) juga melaporkan aktivitas *B. bassiana* terhadap larva *Cx. quinquefasciatus*, dengan efek yang lebih kuat ketika dikombinasikan dengan *Lecanicillium lecanii*.

Perbedaan kecepatan kematian antara kedua spesies tidak hanya berkaitan dengan dosis, tetapi juga dengan respons biologis inang. Bitencourt et al. (2023) menunjukkan bahwa infeksi *B. bassiana* pada *Ae. aegypti* melibatkan interaksi dengan usus dan hemosit serta memengaruhi aktivitas fenoloksidase. Hemosit, melaninisasi, dan produksi molekul antimikroba merupakan bagian dari pertahanan awal serangga terhadap invasi jamur. Kekuatan respons tersebut dapat berbeda antarindividu dan antarspesies, sehingga larva yang menerima inokulum serupa tidak selalu mati pada waktu yang sama. Deng et al. (2024) juga menunjukkan bahwa peningkatan faktor toksik pada *B. bassiana* dapat memperkuat aktivitas terhadap nyamuk *Aedes*. Dengan demikian, hasil infeksi merupakan hasil interaksi antara dosis, karakter jamur, dan kemampuan pertahanan inang.

Lethal Time 50% (LT₅₀) dan Lethal Time 95% (LT₉₅) Larvasida *Beauveria bassiana* Hasil Passage terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*

Tabel 3. LT₅₀ dan LT₉₅ larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus* setelah paparan *Beauveria bassiana*

<i>Aedes aegypti</i>	LT ₅₀ (hari)	LT ₉₅ (hari)
1×10^6 spora/mL hasil <i>passage</i>	5,49 ^c	9,41 ^c
1×10^8 spora/mL hasil <i>passage</i>	5,06 ^d	8,98 ^{cd}
1×10^{10} spora/mL hasil <i>passage</i>	4,91 ^d	8,84 ^d
1×10^6 spora/mL tanpa <i>passage</i>	6,05 ^b	9,97 ^b
F hitung	1428,00*	853,50*
p-value	$9,78 \times 10^{-14}$	$1,27 \times 10^{-12}$
BNJ 5%	0,073	0,079

<i>Aedes aegypti</i>	LT50 (hari)	LT95 (hari)
<i>Culex quinquefasciatus</i>	LT50 (hari)	LT95 (hari)
1 × 10 ⁶ spora/mL hasil <i>passage</i>	4,69 ^{ab}	8,85 ^{bc}
1 × 10 ⁸ spora/mL hasil <i>passage</i>	4,40 ^{bc}	8,55 ^b
1 × 10 ¹⁰ spora/mL hasil <i>passage</i>	3,90 ^c	8,05 ^a
1 × 10 ⁶ spora/mL tanpa <i>passage</i>	5,31 ^a	9,15 ^c
F hitung	16,41*	22,50*
p-value	8,85 × 10 ⁻⁴	2,97 × 10 ⁻⁴
BNJ 5%	0,14	13,29†

Keterangan: LT50 dan LT95 masing-masing menunjukkan waktu yang diperlukan untuk menyebabkan kematian 50% dan 95% larva. Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama pada kolom dan spesies yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5%. *Passage* menunjukkan isolat *B. bassiana* yang telah dimurnikan kembali melalui *Tenebrio molitor*. * berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$.

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap nilai LT50 dan LT95 pada kedua spesies nyamuk. Pada larva *Aedes aegypti*, waktu tersingkat untuk mencapai mortalitas 50% adalah 4,91 hari, sedangkan waktu tersingkat untuk mencapai mortalitas 95% adalah 8,84 hari. Kedua nilai tersebut diperoleh pada perlakuan *Beauveria bassiana* hasil *passage* dengan konsentrasi 1 × 10¹⁰ spora/mL.

Pada larva *Culex quinquefasciatus*, perlakuan *B. bassiana* hasil *passage* pada konsentrasi 1 × 10¹⁰ spora/mL juga menghasilkan waktu kematian tersingkat, dengan LT50 sebesar 3,90 hari dan LT95 sebesar 8,05 hari. Nilai LT95 pada konsentrasi tersebut berbeda nyata dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Sebaliknya, kelompok tanpa *passage* menunjukkan LT95 paling panjang, yaitu 9,15 hari.

Secara umum, peningkatan konsentrasi konidia diikuti oleh pemendekan LT50 dan LT95 pada kedua spesies. Pada konsentrasi tertinggi, waktu kematian larva *Cx. quinquefasciatus* lebih singkat dibandingkan *Ae. aegypti*. Temuan ini menunjukkan bahwa, dalam kondisi penelitian ini, larva *Cx. quinquefasciatus* cenderung lebih peka terhadap isolat *B. bassiana* yang digunakan.

Hasil analisis *lethal time* menunjukkan bahwa konsentrasi 1 × 10¹⁰ spora/mL menghasilkan LT50 paling singkat pada kedua spesies, yaitu 4,91 hari pada *Ae. aegypti* dan 3,90 hari pada *Cx. quinquefasciatus*. Pola ini sesuai dengan prinsip dosis infeksi. Semakin tinggi kerapatan konidia, semakin besar peluang konidia berkontak dengan permukaan tubuh larva dan membentuk beberapa titik infeksi secara bersamaan. Kondisi tersebut mempercepat penetrasi, kolonisasi jaringan, dan gangguan fisiologis. Hubungan antara peningkatan virulensi dan pemendekan LT50 juga dilaporkan pada pengujian *B. bassiana* terhadap *T. molitor* dan kelompok Coleoptera lainnya (Praprotnik et al., 2021; Sarker et al., 2024).

Nilai LT50 *Cx. quinquefasciatus* yang lebih pendek daripada *Ae. aegypti* menunjukkan bahwa larva *Cx. quinquefasciatus* mengalami kematian lebih cepat pada kondisi uji ini. Perbedaan tersebut mungkin dipengaruhi oleh karakter kutikula, pola berenang, posisi larva di permukaan air, perilaku makan, mikrobiota usus, dan respons imun. Perbedaan kerentanan ini kemungkinan mencerminkan interaksi antara karakter isolat, sifat biologis larva, dan kondisi media uji.

Proses *passage* melalui serangga secara teoritis dapat membantu mempertahankan sifat infeksi yang berkurang selama pemeliharaan pada media buatan. Tubuh inang memberikan tekanan seleksi terhadap propagul yang mampu melekat, menembus kutikula, bertahan dari respons imun, memanfaatkan nutrisi, dan kembali bersporulasi pada kadaver. Praprotnik et al. (2021) menunjukkan adanya variasi virulensi yang luas di antara isolat *Beauveria* dan *Metarhizium* terhadap *T. molitor*, termasuk isolat *B. bassiana* yang mampu menyebabkan mortalitas tinggi. Variasi tersebut menunjukkan bahwa respons terhadap *passage* sangat bergantung pada karakter isolat dan interaksinya dengan inang yang digunakan.

Pada penelitian ini, kelompok hasil *passage* pada konsentrasi 1×10^6 spora/mL menunjukkan mortalitas lebih tinggi dan waktu kematian lebih singkat dibandingkan kelompok tanpa *passage* pada konsentrasi yang sama. Secara biologis, hasil tersebut mendukung dugaan bahwa *passage* melalui *T. molitor* membantu mempertahankan sifat infeksi dan virulensi *B. bassiana*.

Keberhasilan pengembangan *B. bassiana* sebagai larvasida biologis tidak hanya bergantung pada virulensi isolat, tetapi juga pada formulasi yang digunakan. Bitencourt et al. (2024) melaporkan bahwa enkapsulasi konidia dalam alginat dapat mempertahankan penghantaran *B. bassiana* pada habitat akuatik dan menurunkan kelangsungan hidup larva *Ae. aegypti*. Formulasi semacam ini penting karena konidia dalam suspensi air dapat mengalami sedimentasi, penurunan viabilitas, atau berkurangnya peluang kontak dengan larva. Formulasi yang tepat dapat mempertahankan konsentrasi efektif lebih lama dan meningkatkan efisiensi penggunaan inokulum.

Mortalitas tinggi yang diperoleh dalam kondisi laboratorium memberikan dasar bagi pengembangan penelitian selanjutnya. Pada kondisi semi-lapangan dan lapangan, efektivitas jamur akan dipengaruhi oleh radiasi ultraviolet, perubahan suhu, pergantian air, kandungan bahan organik, sedimentasi, dan kompetisi dengan mikroorganisme lain. Oleh karena itu, penelitian berikutnya perlu diarahkan pada penentuan konsentrasi minimum efektif, persistensi inokulum, formulasi yang sesuai, keamanan terhadap organisme non-target, dan kelayakan produksi dalam skala yang lebih besar.

Potensi *B. bassiana* juga tidak terbatas pada mortalitas larva. Kirsch dan Tay (2022) menunjukkan bahwa paparan jamur entomopatogen dapat memengaruhi perilaku oviposisi nyamuk. Hasil tersebut membuka kemungkinan bahwa penggunaan *B. bassiana* dapat memengaruhi dinamika populasi melalui lebih dari satu mekanisme, yaitu peningkatan mortalitas larva dan perubahan perilaku reproduksi. Penelitian ini memberikan dasar awal bagi pengembangan *B. bassiana* sebagai salah satu komponen pengendalian vektor terpadu, terutama bila didukung oleh standarisasi inokulum, formulasi yang stabil, dan pengujian pada kondisi yang mendekati habitat alami.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Beauveria bassiana hasil *passage* melalui *Tenebrio molitor* menunjukkan aktivitas larvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Mortalitas meningkat selama masa pengamatan dan cenderung lebih tinggi pada konsentrasi konidia yang lebih besar. Pada hari ke-7, konsentrasi 1×10^{10} spora/mL menghasilkan mortalitas tertinggi sebesar 98,89% pada kedua spesies.

Pada *Ae. aegypti*, perbedaan mortalitas antarkelompok telah terdeteksi sejak hari ke-1, tetapi ketiga konsentrasi *B. bassiana* tidak berbeda nyata pada hari ke-7. Pada *Cx. quinquefasciatus*, perbedaan mulai terdeteksi pada hari ke-3, dan konsentrasi 1×10^{10} spora/mL menghasilkan mortalitas tertinggi pada akhir pengamatan. Nilai LT50 terpendek diperoleh pada konsentrasi 1×10^{10} spora/mL, yaitu 4,91 hari pada *Ae. aegypti* dan 3,90 hari pada *Cx. quinquefasciatus*.

Hasil ini mendukung potensi *B. bassiana* sebagai agen larvasida biologis. Namun, pengaruh independen *passage* terhadap virulensi belum dapat dipastikan karena isolat tanpa *passage* tidak diuji pada seluruh konsentrasi. Penelitian selanjutnya perlu menggunakan rancangan pembandingan yang setara, inokulum terstandarisasi, konfirmasi mikologis, serta analisis *survival*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fordex APPKM Competition 2024 atas dukungan pendanaan penelitian, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang, serta Loka Laboratorium Kesehatan Masyarakat Baturaja atas dukungan bahan biologis dan fasilitas penelitian.

DAFTAR REFERENSI

- Bitencourt, R. O. B., Corrêa, T. A., Santos-Mallet, J., Carolino, A. T., & Samuels, R. I. (2023). *Beauveria bassiana* interacts with gut and hemocytes to manipulate *Aedes aegypti* immunity. *Parasites & Vectors*, 16, 71. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05655-x>
- Bitencourt, R. O. B., Queiroz, R. R. S., Ribeiro, A., Ribeiro, Y. R. S., Boechat, M. S. B., Carolino, A. T., ... Samuels, R. I. (2024). Encapsulation of *Beauveria bassiana* conidia as a new strategy for the biological control of *Aedes aegypti* larvae. *Scientific Reports*, 14, 31894. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-83036-9>
- Deng, S. Q., Li, N., Yang, X. K., Lu, H. Z., Liu, J. H., Peng, Z. Y., ... Chen, C. (2024). Recombinant *Beauveria bassiana* expressing *Bacillus thuringiensis* toxin Cyt1Aa: A promising approach for enhancing *Aedes* mosquito control. *Microbiology Spectrum*, 12(7), e03792-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03792-23>
- Hafez, A. M. (2023). First comprehensive report of the resistance of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) to commonly used insecticides in Riyadh, Saudi Arabia. *Heliyon*, 9(1), e12709. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12709>
- Kataki, A. S., Baldini, F., & Naorem, A. S. (2024). Evaluation of synergistic effect of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium lecanii* on the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *PLOS ONE*, 19(9), e0308707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308707>
- Kirsch, J. M., & Tay, J. W. (2022). Larval mortality and ovipositional preference in *Aedes albopictus* induced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Medical Entomology*, 59(5), 1687–1693. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac084>
- Praprotnik, E., Lončar, J., & Razinger, J. (2021). Testing virulence of different species of insect-associated fungi against yellow mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) and their potential growth stimulation to maize. *Plants*, 10(11), 2498. <https://doi.org/10.3390/plants10112498>
- Quintero-Zapata, I., Flores-González, M. S., Luna-Santillana, E. J., Arroyo-González, N., & Gandarilla-Pacheco, F. L. (2021). Late effects of *Beauveria bassiana* on larval stages of *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e237789. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.237789>
- Ramayanti, I., Herlinda, S., Muslim, A., & Hasyim, H. (2022). First report of entomopathogenic fungi from South Sumatra: Pathogenicity to egg, larvae, and adult of *Culex quinquefasciatus*. *Biodiversitas*, 23(11), 5695–5702. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231120>
- Ramayanti, I., Herlinda, S., Muslim, A., & Hasyim, H. (2023). Entomopathogenic fungi from South Sumatra (Indonesia): Pathogenicity to egg, larvae, and adult of *Aedes aegypti*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(1), 35–47. <https://doi.org/10.4308/hjb.30.1.35-47>
- Rocha, L. F. N., Rodrigues, J., Martinez, J. M., Pereira, T. C. D., Neto, J. R. C., Montalva, C., ... Luz, C. (2022). Occurrence of entomopathogenic hypocrealean fungi in mosquitoes and their larval habitats in Central Brazil, and activity against *Aedes aegypti*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 194, 107803. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2022.107803>

- Sain, S. K., Kranthi, S., Kranthi, K. R., Monga, D., Paul, D., & Prasad, Y. G. (2024). Diversity study of *Beauveria bassiana* species for finding the most virulent strain to manage *Bemisia tabaci* in cotton. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108, 364. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13188-1>
- Sarker, S., Choi, H. W., & Lim, U. T. (2024). Evaluation of new strain (AAD16) of *Beauveria bassiana* recovered from Japanese rhinoceros beetle: Effects on three coleopteran insects. *PLOS ONE*, 19(1), e0296094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0296094>
- Sessa, L., Oberti, H., Abreo, E., & Pedrini, N. (2024). *Beauveria bassiana* transcriptomics reveal virulence-associated shifts during insect lipid assimilation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108, 23. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12898-2>
- Talipouo, A., Mavridis, K., Nchoutpouen, E., Djiappi-Tchamen, B., Fotakis, E. A., Kopya, E., & Antonio-Nkondjio, C. (2021). High insecticide resistance mediated by different mechanisms in *Culex quinquefasciatus* populations from the city of Yaoundé, Cameroon. *Scientific Reports*, 11, 7322. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86850-7>
- Unlu, I., Buckner, E. A., Medina, J., Vasquez, C., Cabrera, A., Romero-Weaver, A. L., & Estep, A. S. (2024). Insecticide resistance of Miami-Dade *Culex quinquefasciatus* populations and initial field efficacy of a new resistance-breaking adulticide formulation. *PLOS ONE*, 19(2), e0296046. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0296046>
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P., & Gong, M. (2021). The toxins of *Beauveria bassiana* and the strategies to improve their virulence to insects. *Frontiers in Microbiology*, 12, 705343. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>
- Wang, Y., Fan, Q., Wang, D., Zou, W. Q., Tang, D. X., Hongthong, P., & Yu, H. (2022). Species diversity and virulence potential of the *Beauveria bassiana* complex and *Beauveria scarabaeidicola* complex. *Frontiers in Microbiology*, 13, 841604. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.841604>
- World Health Organization. (2024a). Dengue: Global situation. *Disease Outbreak News*. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518>
- World Health Organization. (2024b). Lymphatic filariasis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lymphatic-filariasis>
- Zhang, Z., Guo, W., Lu, Y., Kang, Q., Sui, L., Liu, H., & Li, Q. (2023). Hypovirulence-associated mycovirus epidemics cause pathogenicity degeneration of *Beauveria bassiana* in the field. *Virology Journal*, 20, 255. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02217-6>