

HISTOPATOLOGI HAMA KUMBANG BIRU METALIK (*Crysolina coeruleans*) PADA LAHAN KEDELAI TERAPLIKASI BIOPESTISIDA MIKROBA DAN NABATI

MT Asri*

*Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Surabaya Jl. Ketintang
Surabaya

Email: mahananiasri@unesa.ac.id

ABSTRAK

Crysolina coeruleans atau kumbang biru metalik merupakan salah satu hama yang sering ditemukan di lahan pertanian yang ditanami kedelai. Hama ini seringkali menimbulkan kerusakan pada daun kedelai karena akan melubangi daun kedelai yang diserang. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh dari penerapan biopestisida berbahan aktif mikroba yaitu virus *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus, jamur *Lecanidium lecanii* serta bahan nabati berupa ekstrak biji mimba terhadap struktur histologis hama di lahan kedelai. Biopestisida ini diketahui dapat mengendalikan beberapa hama yang terdapat di lahan kedelai. Salah satu dari hama yang terpengaruh biopestisida tersebut adalah *Crysolina coeruleans*. Efek dari penggunaan biopestisida tersebut terhadap kumbang biru metalik ini diamati secara histopatologis. Kumbang biru metalik yang ditemukan pada lahan kedelai yang telah diaplikasi biopestisida dipotong secara melintang pada bagian midgutnya. Potongan melintang midgut dipreparasi dengan metode parafin seri. Potongan midgut mempunyai ketebalan 4 μm dan diwarnai dengan Hematoksin-Eosin. Hasil studi histopatologis dari midgut kumbang biru metalik menunjukkan adanya PIB (*Polyhedra inclusion bodies*) dari SpltMNPV di lumen midgut dan spora *L. lecanii* yang sedang berkecambah terlihat di dekat sel otot. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa SpltMNPV maupun jamur *L. lecanii* dapat menginfeksi *Crysolina coeruleans* atau kumbang biru metalik.

Kata kunci: Histopatologis, *Crysolina coeruleans*, Biopestisida mikroba dan nabati

PENDAHULUAN

Crysolina coeruleans atau kumbang biru metalik tergolong ordo *Coleoptera*, family Chrysomelidae. Kumbang ini termasuk hama tanaman dengan cara memakan daunnya (fitofag) hingga memunculkan bekas berupa lubang kecil kecil. *Chrysolina coeruleans* yang ditemukan memakan daun mint di Inggris (Salisbury, 2012), hama ini juga menyerang daun tanaman kedelai.

Bioinsektisida mikroba yang di mix dengan bioinsetisida nabati sedang digalakkan untuk diterapkan oleh petani sebagai alternative insktisida kimia yang relatif tidak berpengaruh terhadap keseimbangan lingkungan. Salah satu bioinsektisida dengan bahan dasar mikroba seperti virus yang sedang dikembangkan untuk mengendalikan hama adalah SpltMNPV (*Spodoptera litura multiple nucleopolyhedrosis virus*) juga terdapat mikroba lain yaitu jamur *Lecanidium lecanii* serta bahan nabati berupa ekstrak biji mimba. Berdasarkan penelitian Asri dan Isnawati (2005) SpltMNPV pada konsentrasi 10^6 PIBs/ml (*Polyhedra inclusion bodies/ml*) efektif mengendalikan *S. litura* dengan mortalitas 80 – 90% di laboratorium dan konsentrasi 10^7 PIBs/ml di *greenhouse* (Asri, 2004). Penelitian Prayogo (2010) menunjukkan bahwa *L. lecanii* dapat menginfeksi kepik coklat pada stadia telur dengan keberhasilan menetas berkisar 10%. Pada kerapatan konidia $2,25 \times 10^8$ /ml. Biji mimba (*Azadirachta indica* A. Juss; Mileaceae), merupakan salah satu sumber bahan pestisida nabati yang dapat dimanfaatkan untuk pengendalian hama karena ekstraknya

mengandung senyawa aktif metabolit sekunder seperti *azadiraktin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin* dan *nimbidin*. *Azadirachtin* berperan sebagai *ecdysone blocker* suatu senyawa yang dapat menghambat kerja hormon ecdysone yang berfungsi dalam proses metamorfosa serangga, sehingga serangga akan terganggu pada proses pergantian kulit, proses perubahan dari telur menjadi larva, atau dari larva menjadi kepompong atau dari kepompong menjadi dewasa. Biasanya kegagalan dalam proses ini seringkali mengakibatkan kematian (Ruskin, 1993).

Histopatologi dari hama *C. coeruleans* atau kumbang biru metalik yang ada pada lahan tanaman kedelai teraplikasi dengan biopestisida mikroba dan nabati belum banyak diteliti. Informasi tentang Histopatologi ini perlu karena untuk mengetahui apakah biopestisida yang digunakan dapat digunakan juga untuk mengendalikan hama lain yang ada di ekosistem kedelai, mengingat bioinsektisida ini mengandung virus yang spesifik target.

METODE

Pembuatan preparat Histologis

Penelitian ini merupakan penelitian observasional. Observasi dilakukan pada slide histologis dari potongan melintang midgut kumbang biru metalik yang ditemukan pada lahan kedelai yang diaplikasi dengan biopestisida virus *SpltMNPV*, jamur serangga *Lecanidium lecani* dan ekstrak biji buah mimba. Biopestisida mikroba dan nabati yang digunakan diformulasi dengan senyawa foto-protectan Kaolin dan Ethyl-P- metoksinamat. Formula *SpltMNPV* : *Lecanidium lecani* : Ekstrak biji mimba yang ditambah 2 foto-protectan yaitu kaolin dan EPMS 15%, pada perbandingan 1:1:1:4:15% (Ratnasari, dkk, 2016) . Komposisi Suspensi *SpltMNPV* dengan dosis $2,7 \times 10^9$ PIBS/ml sebanyak 8,3 ml (Arifin, 1992) sedangkan konsentrasi spora jamurnya sebanyak 10^8 konidia/ml dengan volume 8,3 ml dan volume ekstrak daun mimbanya sebanyak 8,3 ml (Wawancara dengan staff di Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Dinas Pertanian Provinsi Jawa Timur di Mojokerto, 2016) dengan konsentrasi 20 g/l (Aradila, 2009)

Preparat histologis dibuat dengan menggunakan metode parafin seri yang dimodifikasi (Thamrin, *et al*, 2012). *Crysolina coeruleans* atau kumbang biru metalik yang ditemukan pada lahan kedelai teraplikasi biopestisida mikroba dan nabati di midgutnya dipotong melintang. Potongan midgut tersebut direndam dalam etanol 70% minimal 24 jam. potongan midgut kumbang biru metalik di dehidrasi dengan larutan alkohol seri 70% (4 - 20 menit), 80% (2 - 20 menit), 96% (1 - 20 menit) dan alkohol absolute (1- 20menit). Selanjutnya midgut diclearing dengan senyawa eugenol selama 24 jam. Sampel diletakkan dalam paraffin sampai beku dan dilakukan *Embedding*, *Triming* serta *Cutting* berukuran 4 mikron. Potongan midgut yang bagus dan utuh ditempelkan pada kaca benda berperekat Meyer albumin. Selanjutnya sampel direndam dalam xylol + KI 1%, 15 menit, xylol absolute (15 menit), alkohol seri (alkohol absolute, 96%, 80%, 70% masing masing selama 5 menit) sebelum pewarnaan Haematoksin-Eosin dilakukan. Proses Staining dilakukan menggunakan *Hematoksin* 10 menit, air mengalir 5 menit, etanol 70% 100 ml dan HCL 5 tetes selama 10 detik, serta akuades

selama 5 menit. Di warnai lagi dengan eosin, dicuci akuadest dan direndam dalam alkohol Seri (ethanol 70%, 80%, 96%, alkohol absolute), xylol 1 masing-masing 5 menit dan xylol 2 minimal 20 -30 menit. Di tutup dengan *cover glass* dan dilem dengan entelan.

Observasi Jaringan dan Organ *Crysolina coerulans* atau kumbang biru metalik

Preparat parafin seri yang didapatkan dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop Cahaya perbesaran 400 sampai 1000 kali, data dianalisis secara deskriptif. Pengamatan sel/jaringan/organ terinfeksi dilakukan pada midgut dengan jaringan/organ yang diamati adalah sel epitel midgut, sel lemak. Sel sel otot, sel syaraf, trachea dan pembuluh darah. Penentuan sel/jaringan/organ terinfeksi didasarkan pada ditemukannya *polyhedra inclusion bodies* dari *SpltMNPV* dan spora/hifa *Lecanisium lecani* disetiap sel/jaringan/organ tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil observasi berupa histopatogis midgut *C. coerulans* (kumbang biru metalik) menunjukkan adanya perbedaan struktur histologis midgut antara kumbang biru metalik yang tidak terinfeksi dan yang terinfeksi. Pada kontrol semua organ (lumen dan sel epitel midgut) masih dalam keadaan bersih dari virus atau jamur dan utuh (Tabel 1).

Tabel 1. Histopatologi potongan melintang midgut *C. coerulans* (kumbang biru metalik) pada lahan kedelai control dan teraplikasi biopestisida mikroba dan nabati.

No	Sel/Jaringan/Organ yang diamati	Kontrol		Lahan Teraplikasi Biopestisida	
		PIB <i>SpltMNPV</i>	Spora <i>L. lecani</i>	PIB <i>SpltMNPV</i>	Spora <i>L. lecani</i>
1.	Lumen Midgut	-	-	-	-
2.	Membrane Peritrofik	-	-	-	-
3.	Ephitel Midgut	-	-	+	-
4.	Trachea	-	-	-	-
5.	Pembuluh Darah	-	-	-	-
6.	Sel syaraf	-	-	-	-
7.	Jarinagn Otot	-	-	-	+
8.	Sel lemak	-	-	-	-
9.	Kutikula	-	-	-	-

Keterangan:

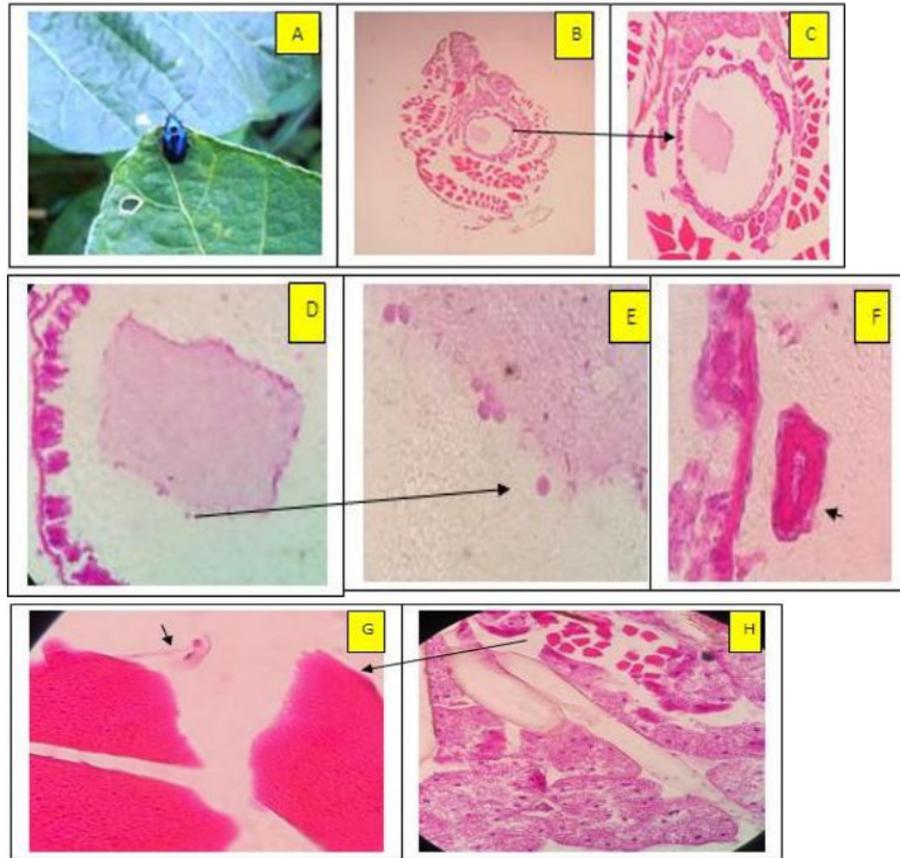
- = tidak terlihat PIB *SpltMNPV* dan hifa jamur *Lecanisium lecani*,

+ = terlihat PIB *SpltMNPV* dan hifa jamur *Lecanisium lecani*

Gambaran histopatologis dari sel/jaringan/organ *C. coerulans* (kumbang biru metalik) yang ditemukan di lahan kontrol dan lahan yang teraplikasi biopestisida. Berikut adalah gambar histologis dari jaringan/organ hama kumbang biru metalik yang terinfeksi dan yang tidak terinfeksi virus maupun jamur (Gambar 1).

Berdasarkan gambaran histopatologis (Gambar 1), terlihat adanya PIB (*Polyhedra inclusion bodies*) *SpltMNPV* pada berbagai organ *C. coerulans*. Organ *C. coerulans* yang

tidak terinfeksi oleh *SpltMNPV* adalah trachea, pembuluh darah, sel epitel midgut, sel lemak/fat body, dan sel syaraf. Dan organ yang terinfeksi adalah lumen midgut dan sel otot.



Gambar 1. (A) *Crysolina coeruleans* sedang di daun kedelai (B) penampang melintang midgut perbesaran 40x, (C) midgut perbesaran 400x (D) lumen midgut perbesaran 400x (E) Spora *L. lecani* di lumen midgut perbesaran 400x (F) pembuluh darah perbesaran 400x (G) Spora berkecambah ke otot perbesaran 400x dan (H) sel lemak yang rusak oleh ekstrak biji mimba perbesaran 400x.

Midgut mempunyai cairan lumen, membran peritrofik, dan lapisan epitel. Pada Lumen midgut *C. coeruleans* terlihat telah terinfeksi oleh *SpltMNPV* karena di dalamnya terlihat adanya PIB *SpltMNPV*. Lumen Midgut berisi cairan yang berada di tengah midgut. Lumen ini diselubungi oleh sel epitel yaitu sel di midgut yang pertama kali diserang oleh *SpltMNPV*. Lumen ini potensial ditemukannya PIB virus. Hal ini disebabkan lumen ini berhubungan dengan saluran pencernaan, yang dimulai dari mulut serangga. Apabila kumbang ini memakan daun kedele yang telah disemprot dengan bioinsektisida virus maka PIB dari *SpltMNPV* akan dengan mudah masuk ke dalam lumennya. Hal ini sesuai dengan gambar histomikrograf yang diperoleh dari Prasad dan Yogita (2006) bahwa SINPV pertama kali masuk saluran pencernaan adalah menuju lumen

midgut kemudian merusak membran peritrofik, membran basal, lapisan epitel, menyebar ke fat body dan sel otot. Di dalam lumen polyhedra *SpltMNPV* akan pecah oleh kondisi alkalis. pH midgut (saluran pencernaan tengah) serangga biasanya berkisar antara 6,0-8,0 dan pada larva Lepidoptera, kisaran pH umumnya 8,0-10,0 (Batubara, 2002). Selanjutnya multiplenucleocapsid (MNPV) keluar, dan MNPV menyerang sel epitel midgut.. MNPV mempunyai enzim endopeptidase/ metalloproteinase/ *enhancins* yang bertugas mencerna musin, salah satu komponen dari membran peritrofik, sehingga membran peritrofik bisa hancur (Rohrmann, 2008). MNPV selanjutnya masuk ke dalam membran basal midgut, kemudian menyerang sel epitel yang terdiri atas 3 macam sel yaitu sel kolumnar, sel goblet dan stem sel (Garcia *et al*, 2001; Hakim *et al*, 2009). Sel epitel ini akan hancur dan *SpltMNPV* akan menyebar ke sel epitel yang ada pada organ disekitar midgut serangga seperti sel lemak dan sel otot.

Spora jamur yang berada pada biopestisida setelah masuk menuju lumen midgut maka sporanya akan menyebar dan menyerang *sel otot*. *sel otot* terdapat di bagian dorsal dan ventral dari midgut *C. Coerulans*. Pada sel otot terlihat adanya spora dari *Lecanisium lecanii* yang sedang berkecambah. Spora ini dapat berkembang di sel otot karena sel ini dekat dengan midgut. Terdapat 2 jenis otot yaitu Otot longitudinal dan Otot melingkar yang telah berkembang dan berfungsi menggerakkan makanan menuju saluran pencernaan bagian belakang (Batubara, 2022). Sel otot ini kaya nutrisi karena lokasinya dekat dengan saluran yang membawa makanan serangga. Hal ini yang menyebabkan spora jamur *L. lecanii* dapat berkecambah dengan baik karena semua senyawa yang diperlukan untuk perkecambahan seperti air, dan nutrisi tersedia.

KESIMPULAN

Crysolina coerulans yang terinfeksi *SpltMNPV* hasil perbanyakannya secara *in vitro*, secara histopatologis memperlihatkan adanya *Polyhedra inclusion bodies SpltMNPV* di lumen midgut dan terdapat spora yang sedang berkecambah di lumen midgut. Sedangkan organ yang tidak ditemukan adanya PIB dan spora *L. lecanii* adalah membrane peritrofik, epitel midgut, trachea, pembuluh darah, dan sel syaraf.

DAFTAR PUSTAKA

- Aradila, A.S. (2009). Uji Efektifitas Larvasida Ekstrak Ethanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. Laporan Akhir. Penelitian Universitas Diponegoro.
- Arifin, M. (1992). Peranan Musuh Alami Ulat Grayak *Spodoptera litura* pada Berbagai Kondisi Lingkungan Pertanian Kedelai. Pros. Sem. Biol. Das. II. 207-254 (1991).
- Asri, M.T. (2004). Perbanyakannya *SpltMNPV* Secara *in vitro* pada Larva *S. litura*. Laporan Penelitian. Tidak di Publikasi. Unesa. Surabaya
- Asri, M.T dan Isnawati, (2005). Efektivitas dan Karakterisasi *SpltMNPV* yang Telah Terpotong Material Genetiknya. Laporan Penelitian. Tidak di Publikasi. Unesa. Surabaya
- Batubara, R. (2002). Fisiologi Serangga Hutan (Sistem Pencernaan Serangga). Fakultas Pertanian. Program Ilmu Kehutanan. Universitas Sumatera Utara
- Garcia J.J., Guo-un I.I., Jiang Zhong., Robert Granados. (2001). Primary and Continuous

- Midgut Cell Cultures From *Pseudodactia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). In vitro-Cell Dev-Biol-Animal 37:353-359. Society for in vitro Biology
- Hakim R S., Silvia Caccia., Marcia Loeb., Guy Smagghe. (2009). Primary culture of insect midgut cells. In vitro-Cell Dev-Biol-Animal. DOI 10.1007/s.11626-009.9126.7. Society for in vitro Biology
- Prasad Arti, Yogita Wardhwani, 2006. Pathogenic virus and Insect Tissues : an Effective way of Pest Control. Current Science, Vol.91 No. 6.
- Ratnasari, E. Asri Wijiastuti, Winarsih. 2015. Pemanfaatan Biopestisida Mikroba Dan Nabati Dalam Formula Foto-Protektan Yang Efektif Untuk Mengendalikan Hama Kedelai Dan Aman Bagi Agroekosistem. Laporan Penelitian Unggulan Perguruan tinggi. Surabaya. Universitas Negeri Surabaya.
- Rohrmann, G. 2008. Baculovirus Molecular Biology. Chapter 3. The Baculovirus Replication Cycle: Effects on Cells and Insects. Department of Microbiology, Oregon State University, Corvallis. pp.33-43
- Ruskin FR, 1993. *Neem: A Tree for Solving Global Problems*. Washington D.C: National Academy Press.
- Salisbury A., Chris Malumphy and Andrew J. Halstead. 2012. First Record Of Blue Mint Beetle *Chrysolina coerulans* (Scriba, 1791) (Chrysomelidae) Breeding in Britain. Thecoleopterist 21 (1): 35-37
- Thamrin, M., Isnawati dan Djoko Budiono, 2012. Mekanisme Infeksi *Spodoptera litura Nuclear Polyhedrosis virus (SplMNPV)* pada Sel Line Epithel Usus Ulat Grayak (*Spodoptera litura*). Laporan Penelitian Fundamental tahun ke 2. Tidak dipublikasikan. Unesa Surabaya