

Aktivitas Enzimatik Cendawan dari Lalat *Bactrocera dorsalis* sebagai Kandidat Cendawan Entomopatogen

(Activity of Enzyme by Isolated Fungi from *Bactrocera dorsalis* as Entomopathogenic Fungi Candidate)

Rizka Dwi Damayanti^{1*}, Emantis Rosa², Wawan Abdullah Setiawan²

(Diterima Oktober 2023/Disetujui Juli 2024)

ABSTRAK

Enzim ekstraseluler yang dihasilkan cendawan dapat berfungsi sebagai alat skrining kandidat entomopatogen. Kemampuan sekresi enzim menjadi hal penting dalam menentukan tingkat virulensi suatu cendawan entomopatogen. Penelitian ini bertujuan melihat potensi isolat cendawan melalui aktivitas kitinolitik, lipolitik, dan proteolitik dari lima isolat cendawan entomopatogen yang diisolasi dari imago *Bactrocera* sp. asal tanaman jeruk. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Lampung. Aktivitas enzimatik diketahui melalui metode pengamatan zona jernih yang terbentuk pada media agar. Uji kuantitatif berdasarkan perhitungan nilai indeks enzimatik menunjukkan bahwa *Nigrospora* sp. (IB1) memiliki aktivitas lipolitik, isolat *Penicillium* sp. 2 (IB5) memiliki aktivitas kitinolitik, lipolitik, dan proteolitik. Adapun isolat *Penicillium* sp. 1 (IB2), *Phytopthora* sp. (IB3), dan *Gliocladium* sp. (IB4) tidak memperlihatkan aktivitas ketiga enzim tersebut.

Kata kunci: *Bactrocera* sp., bioinsektisida, cendawan entomopatogen, enzim

ABSTRACT

Extracellular enzymes produced by fungi can serve as a screening tool for entomopathogen candidates. Enzyme secretion ability is important in determining the virulence level of an entomopathogenic fungus. This study aims to see the potential of fungal isolates through chitinolytic, lipolytic, and proteolytic activities of five entomopathogenic fungal isolated from *Bactrocera* sp. imago from citrus plants. The research was carried out at the Microbiology Laboratory of the Department of Biology at the University of Lampung. Enzymatic activity is known through the method of observing the clear zone formed on agar media. Quantitative tests based on the calculation of enzymatic index values showed that *Nigrospora* sp. (IB1) had lipolytic activity, *Penicillium* sp. 2 (IB5) isolates had chitinolytic, lipolytic, and proteolytic activities. The isolates of *Penicillium* sp. 1 (IB2), *Phytopthora* sp. (IB3), and *Gliocladium* sp. (IB4) did not show the activity of the three enzymes.

Keywords: *Bactrocera* sp., bioinsecticide, entomopathogenic fungi, enzyme

PENDAHULUAN

Budi daya tanaman jeruk (*Citrus* sp.) memiliki tantangan dalam hal serangan hama, salah satu hama yang sangat merugikan ialah *Bactrocera* sp. Hama tersebut menyerang langsung bagian buah tanaman jeruk yang menjadi penyebab gagal panen. Tanaman yang diserang lalat buah sulit diketahui karena gejala awal serangan hanya berupa titik hitam kecil pada bagian kulit buah (Wijaya *et al.* 2018). Teridentifikasi empat jenis *Bactrocera* yang menyerang tanaman jeruk, antara lain *B. papayae*, *B. carambolae*, *B. umbrosus*, dan *B. calumniata*, dengan tingkat

kerusakan yang disebabkan masuk kedalam kategori sedang 48% dan berat 52% (Santoso *et al.* 2017)

Pengendalian hama *Bactrocera* sp. telah lama diupayakan, mulai dari cara sederhana seperti membungkus buah jeruk dengan kertas, plastik, daun kelapa, bahkan anyaman bambu (Halid 2016). Saat ini, hama banyak dikendalikan dengan cara kimia memakai insektisida sintetik yang penggunaannya berdampak negatif karena mencemari lingkungan, matinya hewan yang bukan target, dan memicu terjadinya resistensi (Suciatmih *et al.* 2015). Untuk itu, diperlukan teknik pengendalian populasi *Bactrocera* sp. secara ramah lingkungan dengan menggunakan insektisida hidup, salah satunya dengan memanfaatkan cendawan entomopatogen sebagai bioinsektisida.

Cendawan entomopatogen merupakan cendawan yang diisolasi dari tanah atau tubuh serangga (Rai *et al.* 2014). Cendawan ini memiliki keunikan tersendiri jika dibandingkan dengan mikroorganisme patogen lainnya pada serangga, cendawan dapat menyerang serangga target melalui kutikula tanpa perlu masuk ke

¹ Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No.1, Gedong Meneng, Kec. Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141

² Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No.1, Gedong Meneng, Kec. Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141

* Penulis Korespondensi: Email: rzkdwidy@gmail.com

tubuh serangga secara oral (Pedrini *et al.* 2007). Beberapa jenis cendawan entomopatogen yang efektif sebagai musuh alami *Bactrocera* sp. antara lain *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, dan *Isaria fumosorosea* (Hamzah *et al.* 2021; Irsad *et al.* 2023). Cendawan entomopatogen mampu menginfeksi serangga pada berbagai stadia. Tingkat keberhasilan virulensi suatu cendawan entomopatogen tergantung pada proses invasi dan penetrasi cendawan pada eksoskeleton inang. Selama proses degradasi integumen serangga, cendawan entomopatogen menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler (Shahid *et al.* 2012) seperti kitinase, protease, dan lipase (Xiao *et al.* 2012).

Faktor lain yang berperan dalam proses infeksi adalah spora, adhesi dan invasi, pertahanan inang, dan faktor lingkungan (suhu, pH, dan kelembapan) (Bihal *et al.* 2023). Infeksi cendawan entomopatogen diawali dengan pelepasan spora dalam jumlah yang besar sehingga permukaan spora lengket dan terjadi adhesi. Selanjutnya, spora berkecambah lalu memulai penetrasi eksoskeleton serangga dengan relatif cepat dan berkembang biak melalui hemokel dan menyerang berbagai jaringan otot, atau jaringan lain dari tubuh inang untuk menghancurkan sistem kekebalan inang (Vega & Kaya 2012). Kutikula serangga tersusun dari struktur yang kompleks; 70% kutikula serangga terdiri atas protein. Epikutikula serangga yang menjadi penghalang pertama tubuh serangga dari serangan cendawan bersifat hidrofobik yang mengandung lipid. Bagian eksoskeleton tubuh serangga disusun oleh kitin (Mondal *et al.* 2016). Dengan demikian, tingkat aktivitas enzim juga dapat menjadi alat diagnostik untuk pemilihan agen pengendali hayati yang efisien.

Penelitian ini bertujuan menilai aktivitas kitinolitik, lipolitik, dan proteolitik dari lima isolat cendawan yang diisolasi dari tubuh *Bactrocera dorsalis*. Isolat dengan indeks enzimatik tertinggi berpotensi masuk kedalam golongan cendawan entomopatogen yang dapat dijadikan sebagai bahan bioinsektida.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan isolat cendawan yang telah diisolasi menggunakan metode *moist chamber*, yaitu bangkai imago *Bactrocera* sp. diletakkan ke dalam cawan Petri berisikan tisu yang sudah diteteskan akuades steril (Damayanti *et al.* 2024). Hal tersebut dimaksudkan agar kondisi cawan Petri tetap lembab dan cendawan dapat tumbuh dengan maksimal. Cendawan yang digunakan ialah *Nigrospora* sp. (IB1), *Penicillium* sp. 1 (IB2), *Phytophthora* sp. (IB3), *Gliocladium* sp. (IB 4), dan *Penicillium* sp. 2 (IB 5). Aktivitas enzimatik diuji dengan membuat tiga titik pada permukaan medium agar dengan jarum ose dan diulang sebanyak lima kali. Uji aktivitas enzimatik semua cendawan yang diamati pada hari ke-7 inkubasi. Aktivitas enzimatik dideteksi dengan terbentuknya zona jernih.

Uji Aktivitas Kitinolitik

Aktivitas kitinolitik diuji menggunakan campuran media PDA ditambah 1% koloid kitin. Kemudian media disterilisasi selama 15 menit dan diberi antibiotik kloramfenikol 50 µg/mL. Media dituang ke dalam cawan Petri lalu diinokulasikan isolat cendawan entomopatogen dan diinkubasi pada suhu ruang 27–30 °C selama 7 hari. Untuk memvisualkan zona jernih yang terbentuk, biakan cendawan direndam dalam merah kongo 0,1% selama 3 menit lalu dibilas dengan NaCl 1 M (Suryadi *et al.* 2016).

Uji Aktivitas Lipolitik

Uji lipolitik dilakukan dengan menumbuhkan cendawan pada media PDA yang ditambahkan 1% minyak zaitun, 0,04% merah metil, dan 1,5% Tween 80, kemudian disterilisasi selama 15 menit dan diberi antibiotik kloramfenikol. Medium dituang ke dalam cawan Petri lalu diinokulasikan isolat cendawan entomopatogen dan diinkubasi pada suhu ruang 27–30 °C selama 7 hari (Ikhsannudin 2020).

Uji Aktivitas Proteolitik

Kemampuan proteolitik cendawan menggunakan media PDA yang disterilisasi selama 15 menit dan diberi antibiotik kloramfenikol lalu ditambahkan 1% susu skim yang dipasteurisasi selama 15 menit pada suhu 60 °C. Medium dituang ke dalam cawan Petri lalu diinokulasikan isolat cendawan entomopatogen dan diinkubasi pada suhu ruang 27–30 °C selama 5–7 hari (Apriliani *et al.* 2019).

Penentuan Indeks Enzimatik

Aktivitas enzimatik dari suatu isolat dapat ditetapkan dengan mengukur nilai indeks enzimatiknya (IE). Pada penelitian ini IE dihitung berdasarkan diameter koloni dan diameter zona jernih yang dihasilkan oleh isolat cendawan (Gambar 1).

Diameter zona jernih dan diameter koloni cendawan diukur sebagai berikut (Rosa *et al.* 2020).

$$Dz = \frac{AB + CD}{2}$$

$$Dk = \frac{ab + cd}{2}$$

$$RDz = \frac{Dz1 + Dz2 + Dz3}{3}$$

$$Rdk = \frac{Dk1 + Dk2 + Dk3}{3}$$

Indeks enzimatik didasarkan pada diameter dengan rumus Lechuga *et al.* (2016) yang dimodifikasi:

$$IE = \frac{RDz - Rdk}{Rdk}$$

Keterangan:

AB, CD : Diameter zona jernih (mm)

ab, cd : Diameter koloni cendawan (mm)

Dz : Rata-rata diameter zona jernih (mm)

- Dk : Rata-rata diameter koloni cendawan (mm)
 IE : Indeks enzimatik
 RDz : Rata-rata total diameter zona jernih (mm)
 Rdk : Rata-rata total diameter koloni cendawan (mm)

Selain pengukuran diameter koloni dan diameter zona jernih yang dihasilkan oleh isolat cendawan, indeks enzimatik dapat ditentukan dengan mengukur luas koloni dan luas zona jernih yang terbentuk. Luas koloni dan luas zona jernih dapat dihitung dengan menggunakan metode gravimetri. Metode membuat replika bentuk koloni dan zona jernih pada plastik mika bening. Kemudian replika tersebut dipotong dan ditimbang menggunakan neraca analitik. Luas koloni dan zona jernih dapat dihitung dengan menggunakan rumus Qatrunga (2020).

$$\text{Luas} = \frac{\text{Bobot replika koloni}}{\text{Bobot kertas } 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}} \times 1\text{cm}^2$$

Penentuan indeks enzimatik berdasarkan luas dapat diukur dengan rumus Agustien (2010).

$$\text{IE} = \frac{\text{Luas zona jernih} - \text{Luas koloni}}{\text{Luas koloni}}$$

Analisis Data

Nilai rata-rata indeks enzimatik kitinolitik, lipolitik, dan proteolitik setiap isolat cendawan entomopatogen dibandingkan dan disajikan dalam bentuk grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

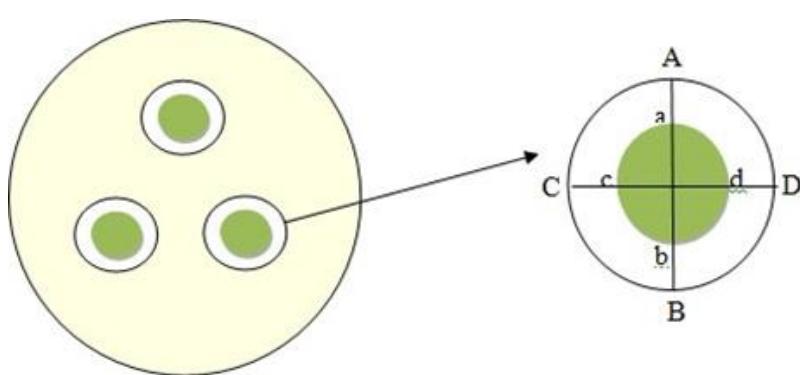
Uji aktivitas enzimatik menunjukkan bahwa dari lima isolat cendawan entomopatogen, hanya isolat

Penicillium sp. 2 (IB 5) yang memperlihatkan aktivitas kitinolitik. Dua isolat yang memiliki aktivitas lipolitik ialah *Nigrospora* sp. (IB1) dan *Penicillium* sp. 2 (IB 5). Adapun 3 isolat lainnya, yaitu *Penicillium* sp. 1 (IB2), *Phytophthora* sp. (IB3), dan *Gliocladium* sp. (IB 4) tidak terdeteksi menunjukkan aktivitas kitinolitik, lipolitik, maupun proteolitik (Tabel 1).

Kemampuan isolat cendawan entomopatogen dalam menghasilkan enzim dilihat dari zona jernih yang terbentuk. Pada uji aktivitas kitinolitik (Gambar 2), isolat *Penicillium* sp. 2 (IB 5) membentuk zona jernih. Zona jernih terbentuk karena enzim kitinase menghidrolisis koloid kitin sebagai substrat pada ikatan β-1,4-glikosidik kitin menjadi N-asetil-glukosamin (Chen et al. 2010). Xie et al. (2021) juga melaporkan bahwa *P. oxalicum* mempunyai aktivitas kitinase.

Aktivitas lipolitik (Gambar 3) menunjukkan ada 2 isolat yang mampu menghasilkan enzim lipase, yaitu *Nigrospora* sp. dan *Penicillium* sp. 2. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona jernih karena enzim lipase yang dihasilkan isolat mampu menghidrolisis lipid menjadi asam lemak bebas (Nugroho et al. 2022). Hal ini sejalan dengan temuan Suciatmih et al. (2015), bahwa isolat *Penicillium* sp. mampu menghasilkan zona jernih. Begitu pula dengan isolat *Nigrospora* sp. yang telah terbukti menghasilkan zona jernih pada uji aktivitas lipolitik oleh Toghueo et al. (2017).

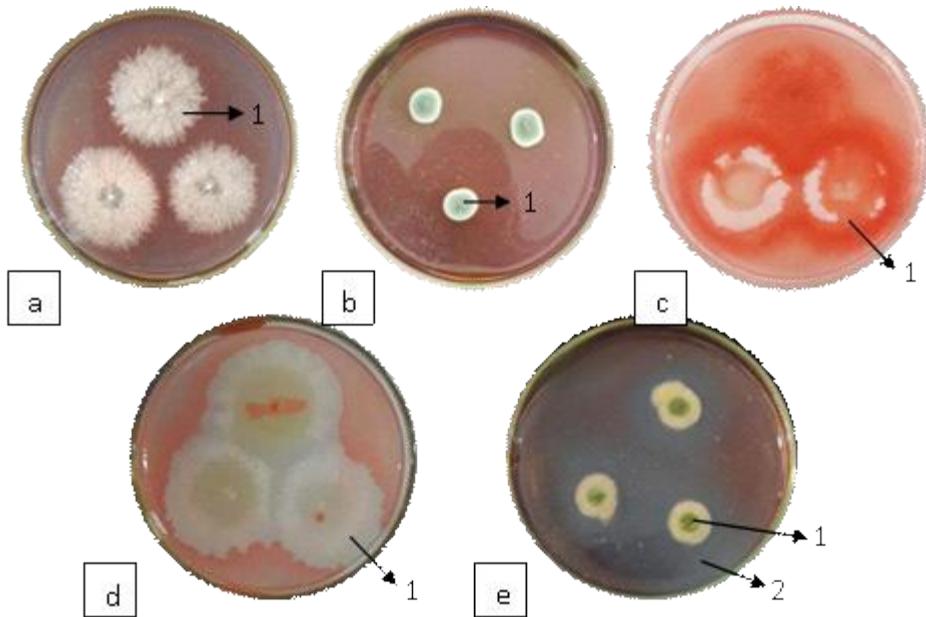
Pada uji aktivitas proteolitik (Gambar 4), isolat yang menghasilkan enzim protease juga ditandai dengan terbentuknya zona jernih. Pada penelitian ini, hanya isolat *Penicillium* sp. 2 (IB 5) yang mampu membentuk zona jernih. Sebelumnya, aktivitas proteolitik isolat *Penicillium* sp. pernah diuji oleh Suciatmih et al. (2015) dengan hasil yang sama. Zona jernih ini terbentuk karena hidrolisis polimer protein yang terkandung dalam substrat, yaitu susu skim, menjadi peptida dan



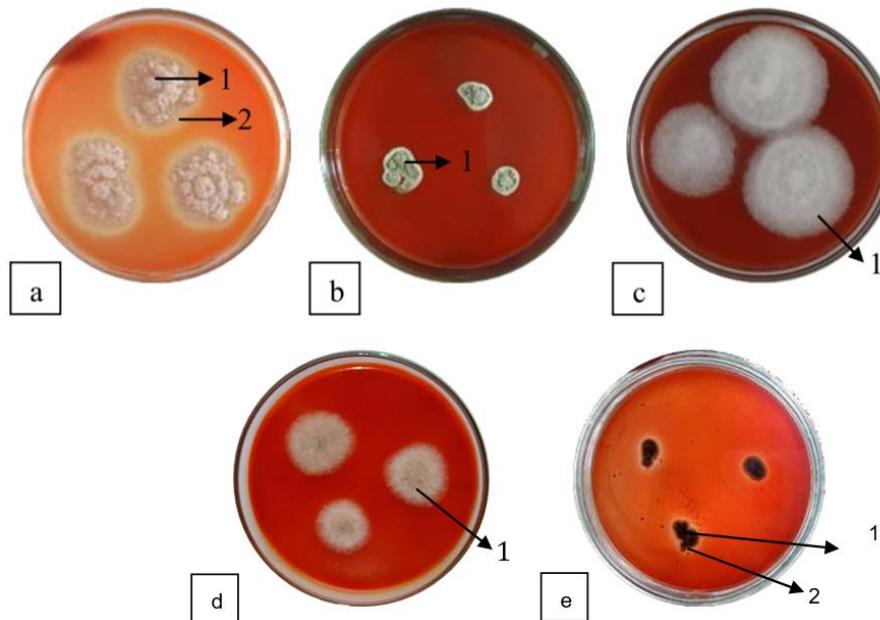
Gambar 1 Pengukuran diameter koloni dan zona jernih.

Tabel 1 Hasil uji aktivitas enzimatik

Kode	Cendawan entomopatogen	Aktivitas enzimatik		
		Kitinolitik	Lipolitik	Proteolitik
IB1	<i>Nigrospora</i> sp.	-	+	-
IB2	<i>Penicillium</i> sp. 1	-	-	-
IB3	<i>Phytophthora</i> sp.	-	-	-
IB4	<i>Gliocladium</i> sp.	-	-	-
IB5	<i>Penicillium</i> sp. 2	+	+	+



Gambar 2 Uji Kitinase Isolat Cendawan *Nigrospora* sp. (a), *Penicillium* sp. 1 (b), *Phytophthora* sp. (c), d. *Gliocladium* sp., dan e. *Penicillium* sp. 2; 1. Koloni cendawan, 2. Zona jernih.



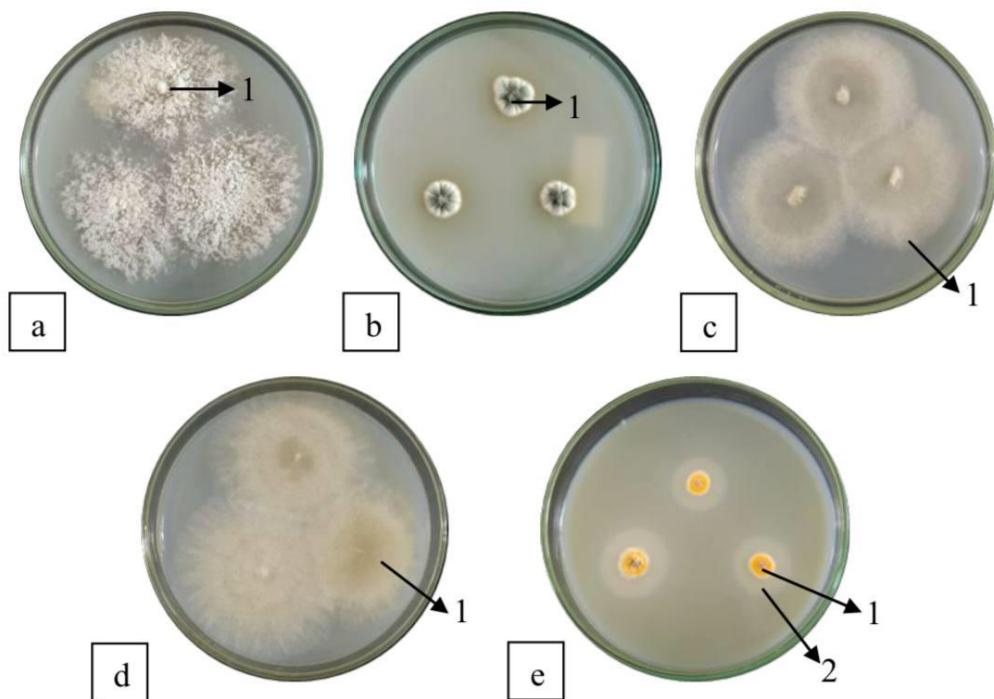
Gambar 3 Uji lipolitik: a. *Nigrospora* sp., b. *Penicillium* sp. 1, c. *Phytophthora* sp., d. *Gliocladium* sp., dan e. *Penicillium* sp. 2; 1. Koloni cendawan, 2. Zona jernih.

monomer asam amino oleh enzim protease yang dihasilkan cendawan (Nurkasana & Widodo 2015).

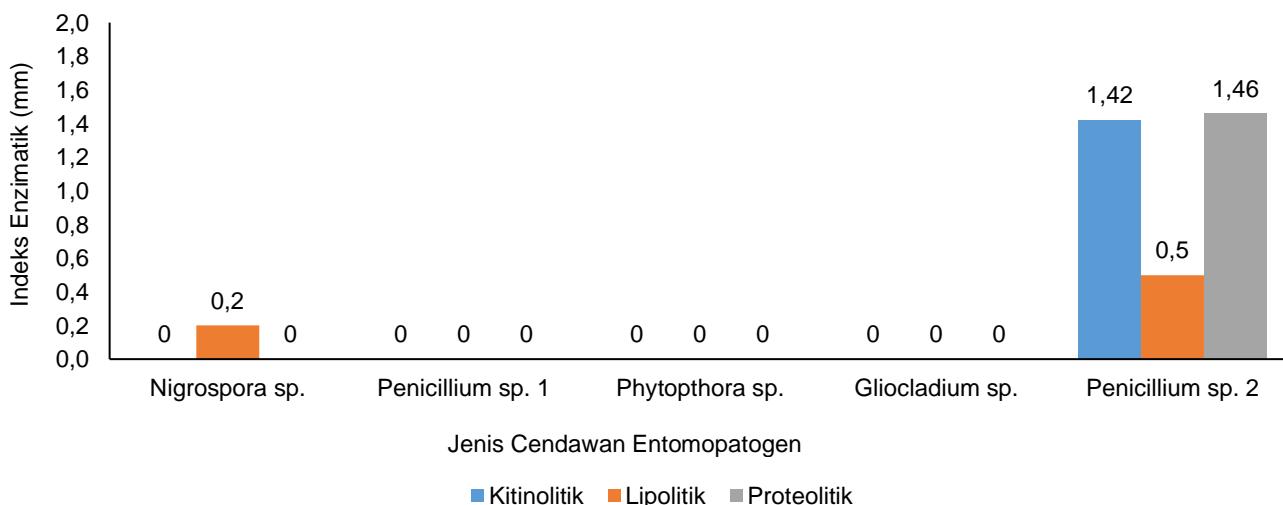
Perbedaan karakteristik enzim yang dihasilkan oleh isolat cendawan dapat terjadi karena faktor gen dari cendawan dan lingkungan. Figueroa *et al.* (2024) membuktikan bahwa media kultur juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim suatu cendawan. Hal ini tergantung pada kemampuan media yang digunakan dalam memenuhi nutrisi mendorong perkembahan konidia dan menginduksi produksi enzim. Menurut penelitian Scorsetti *et al.* (2012) suhu inkubasi juga dapat mempengaruhi luas tumbuh jamur pada media

uji. Pada penelitian ini media uji diinkubasi pada ruangan yang terkadang suhu kurang stabil.

Nilai indeks enzimatik berdasarkan diameter zona (Gambar 5) menggambarkan bahwa isolat *Penicillium* sp. 2 memiliki nilai indeks enzimatik tertinggi, yaitu indeks kitinolitik 1,42 indeks lipolitik 0,5, dan indeks proteolitik 1,46. Isolat *Nigrospora* sp. hanya menghasilkan enzim lipase dengan nilai indeks lipolitik 0,2. Indeks enzimatik berdasarkan luas (Gambar 6) menunjukkan bahwa isolat *Penicillium* sp. 2 memiliki nilai indeks enzimatik tertinggi, yaitu indeks kitinolitik 5,53 indeks lipolitik 2,23, dan indeks proteolitik 4,62.



Gambar 4 Uji proteolitik: a. *Nigrospora* sp., b. *Penicillium* sp. 1, c. *Phytophthora* sp., d. *Gliocladium* sp., dan e. *Penicillium* sp. 2; 1. Koloni cendawan, 2. Zona jernih.

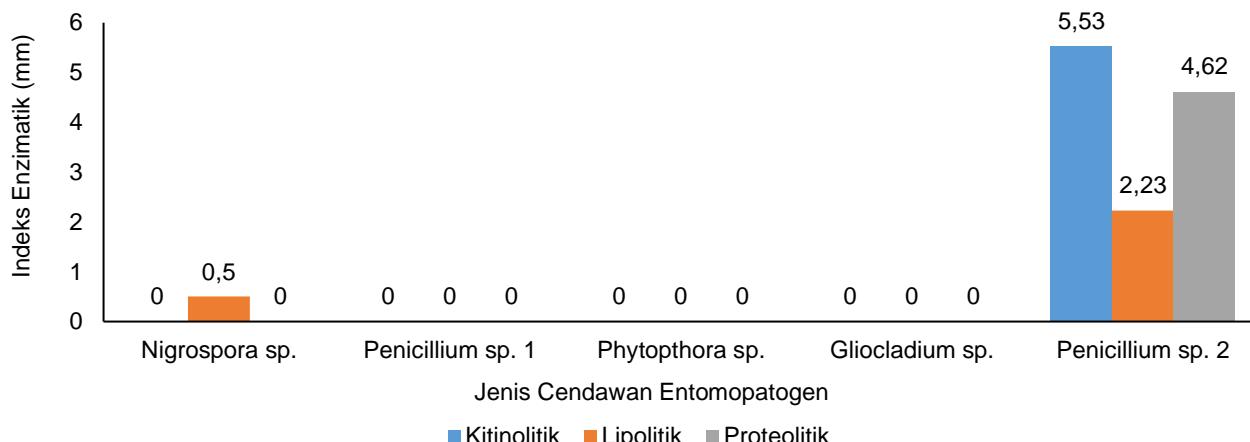


Gambar 5 Indeks enzimatik (kitinolitik, proteolitik, dan lipolitik) isolat cendawan entomopatogen berdasarkan perhitungan diameter (mm).

Isolat *Nigrospora* sp. hanya menghasilkan enzim lipase dengan nilai indeks lipolitik 0,5. Sementara itu, *Penicillium* sp. 1, *Phytophthora* sp., dan *Gliocladium* sp. tidak memperlihatkan aktivitas kitinolitik, lipolitik, maupun proteolitik. Nilai indeks enzimatiknya baik berdasarkan diameter maupun luas ditetapkan 0. Nilai indeks enzimatik mengindikasikan kemampuan isolat untuk menghasilkan enzim. Semakin tinggi nilai indeks enzimatik, semakin tinggi pula aktivitas enzim yang dihasilkan oleh suatu isolat (Apriliani *et al.* 2019).

KESIMPULAN

Melalui penelitian ini berhasil ditemukan isolat dengan genus *Penicillium* sp. (IB5) yang menghasilkan aktivitas kitinolitik, proteolitik, dan lipolitik. Adapun isolat dengan genus *Nigrospora* sp. (IB1) hanya mampu menghasilkan aktivitas lipolitik. Kedua isolat tersebut berpotensi menjadi bioinsektisida *Bactrocera* sp. Penelitian ini perlu dilanjutkan untuk menilai efektivitasnya terhadap cendawan entomopatogen guna mengendalikan populasi *Bactrocera* sp.



Gambar 6 Indeks enzimatik (kitinolitik, proteolitik, dan lipolitik) isolat cendawan entomopatogen berdasarkan perhitungan luas

DAFTAR PUSTAKA

- Agustien A. 2010. Protease bakteri termofilik [Skripsi]. Bandung (ID): Universitas Padjajaran.
- Apriliani F, Rosa E, Ekowati CN, Handayani TT. 2019. Karakterisasi proteolitik fungi entomopatogen *Aspergillus* sp. dari kecoa *Periplaneta Americana*. Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Biologi Indonesia. 25: 25–27 Agu 2019.
- Bihal R, Al-Khayri JM, Banu AN, Kudesia N, Ahmed FK, Sarkar R, Arora A, Abd-Elsalam KA. 2023. Entomopathogenic fungi: An eco-friendly synthesis of sustainable nanoparticles and their nanopesticide properties. *Microorganisms*. 11: 1617–1641. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061617>
- Chen JK, Shen CR, Liu CL. 2010. N-acetylglucosamine: Production and applications. *Marine Drugs*. 8(9): 2493–2516. <https://doi.org/10.3390/md8092493>
- Damayanti RD, Rosa E, Setiawan WA, Handayani TT. 2024. Isolation and Identification of Fungi from *Bactrocera dorsalis* Candidate Entomopathogenic Fungi. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. 11(1): 13–22. <https://doi.org/10.23960/jbekh.v11i1.359>
- Figueroa LBP, Mamani RCC, Souza DC, Alves JCS, Ferreira ACB, Moreira TF, Terra WC, Soares FEF. 2024. Enzyme production by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* and their application in the control of nematodes (*Haemonchus* spp. and *Meloidogyne incognita*) in vitro. *Journal of Natural Pesticide Research*. 8(1): 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jnapere.2024.100077>
- Halid, Erna. 2016. Pengendalian lalat buah pada tanaman jeruk pamelo pangkep menggunakan berbagai jenis perangkap di Desa Padang Lampe, Kecamatan Marang, Kabupaten Pangkep. *Jurnal Agrotan*. 2(1): 1–7.
- Hamzah AM, Mohsin AU, Naeem M, Khan MA. 2021. Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) against *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) under controlled and open-field conditions on bitter gourd. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 31(144): 1–8. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00490-7>
- Ikhsanudin A. 2020. Efektivitas cendawan entomopatogen sebagai bioinsektisida terhadap kecoa (*Periplaneta americana*) [skripsi]. Bandar Lampung (ID): Universitas Lampung.
- Irsad, Shahid M, Haq E, Mohamed A, Rizvi PQ, Kolanthasamy E. 2023. Entomopathogen-based biopesticides: Insights into unraveling their potential in insect pest management. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1208237>
- Lechuga, Eugenia GO, Isela QZ, Katiushka AN. 2016. Detection of extracellular enzymatic activity in microorganism isolated from waste vegetable oilcontaminated soil using plate methodologies. *African Journal of Biotechnology*. 15(11): 408–416. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14991>
- Mondal S, Baksi S, Koris A, Vatai G. 2016. Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*. 18(2): 85–99.
- Nugroho SA, Wardana R, Fatimah T, Mastuti L, Lia I, Novenda. 2022. Hidrolisis lemak oleh enzim lipase pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*). *Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*. 7(1): 81–89. <https://doi.org/10.32528/bioma.v7i1.7368>

- Nurkasnah S, Widodo. 2015. The effect of different media content on protease activity *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biotropika*. 3(2): 104–106.
- Pedrini N, Crespo R, Juarez, MP. 2007. Biochemistry of Insect Epicuticle Degradation by Entomopathogenic Fungi. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 146(1–2): 124–137. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.08.003>
- Qatrunada V. 2020. Isolasi dan seleksi Actinomycetes dari tanah penghasil enzim hidrolase sebagai kandidat probiotik [skripsi]. Bandar Lampung (ID): Universitas Lampung.
- Rai D, Updhyay V, Mehra P, Rana M, Pandey AK. 2014. Potential of entomopathogenic fungi as biopesticides. *Indian Journal of Scientific Research and Technology*. 2(5): 7–13. <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2014.01380.1>
- Rosa E, Ekowati CN, Handayani TT, Ikhsanudin A, Apriliani F, Arifiyanto A. 2020. Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of American cockroaches (*Periplaneta americana*). *Biodiversitas*. 21(11): 5276–5282. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211131>
- Sastono W, Wijaya IN, Adnyana IMM. 2017. Uji Efektivitas Perangkap Kuning Berperekat dan Atrakta terhadap Serangan Lalat Buah pada Pertanaman Jeruk di Desa Katung, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. *Jurnal Egroekoteknologi Tropika*. 6(4): 443–448.
- Shahid AA, Rao AQ, Bakhsh A, Husnain T. 2012. Entomopathogenic Fungi as Biological Controllers: New Insights Into Their Virulence and Pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*. 64(1): 21–42. <https://doi.org/10.2298/ABS1201021S>
- Scorsetti AC, Eliades LA, Stenglein SA, Cabello MN, Pelizza SA, Saprrat MCN. 2012. Pathogenic and Enzyme Activities of The Entomopathogenic Fungus *Tolypocladium cylindrospororum* (Ascomycota: Hypocreales) from Tierra del Fuego, Argentina. *Rev Biol Trop*. 60(2): 833–841. <https://doi.org/10.15517/rbt.v60i2.4006>
- Suciati mih, Kartika T, Yusuf S. 2015. Jamur entomopatogen dan aktivitas enzim ekstraselulernya. *Berita Biologi*. 14(3): 131–142.
- Toghueo RMK, Zabalgogeazcoa I, Vázquez de Aldana BR, Boyon F. 2017. Enzymatic activity of endophytic fungi from the medicinal plants *Terminalia catappa*, *Terminalia mantaly*, and *Cananga odorata*. *South African Journal of Botany*. 109: 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.021>
- Vega FE, Kaya HK. 2012. *Insect Pathology*: Ed. ke-2. China (CH): Elsevier.
- Wijaya IN, Adiartayasa W, Dwipananda IGB. 2018. Kerusakan dan kerugian akibat serangan lalat buah (Diptera: Tephritidae) pada pertanaman jeruk. *Agrotrop*. 8(1): 65–70.
- Xiao G, Ying SH, Zheng P, Wang ZL, Zhang S, Xie XQ, Shang Y, Leger RJS, Zhao GP, Wang C, Feng MG. 2012. Genomic Perspectives on the Evolution of Fungal Entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Scientific Reports*. 2(438): 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep00483>
- Xie X, Fu X, Yan X, Peng W, Kang L. 2021. A broad-specificity chitinase from *Penicillium oxalicum* k10 exhibits antifungal activity and biodegradation properties of chitin. *Marine Drugs*. 19(7): 356. <https://doi.org/10.3390/md19070356>