

Jalur Infeksi *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* Sebagai Pengendali Hayati *Oryctes rhinoceros* L.

Infection Pathways of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae for Biological Control of Oryctes rhinoceros L.

Dyah Nuning Erawati^{1*}, Irma Wardati², Suharto¹, Joni Murti Mulyo Aji¹,
Novita Cholifah Ida³, Yeni Suprapti⁴

¹Program Studi Produksi Ilmu Pertanian Universitas Jember

²Program Studi Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Negeri Jember

³Laboratorium Biosain Politeknik Negeri Jember

⁴Laboratorium Perlindungan Tanaman Politeknik Negeri Jember

*E-mail : dyah_nuning_e@polije.ac.id

ABSTRACT

Co-evolutionary studies of insect-pathogens have shown that entomopathogenic fungi have a more significant potential for oral toxicity in terms of virulence in the mouth infection of insect pests. Therefore, it is necessary to research finding the route of infection of B. bassiana and M. anisopliae through the mouth in the larvae of the rhinoceros beetle O. rhinoceros. This study aimed to analyze the path of disease of B. bassiana and M. anisopliae in O. rhinoceros larvae through the bait exposure method of entomopathogenic fungi. The study was conducted at the Plant Protection Laboratory Politeknik Negeri Jember using a single factor Completely Randomized Design (CRD) with B. bassiana and M. anisopliae isolates from Temanggung, Jember, and Jombang. Data analysis used Analysis of Variance and the Least Significant Difference Test at 5% level. The results showed that MJB isolates had the highest effectiveness, with the mortality rate of the test insects reaching 100% and the highest spore density with an average of 8.9×10^9 conidia/ml on day six after application. The hyphae abundant in the abdomen of cadaveric infected with M. anisopliae were different from the hyphae that grew more on the thorax of insects infected with B. bassiana, confirming previous research on the route of B. bassiana infection through oral toxicity. These results will help provide new information regarding potential pathways of disease of B. bassiana in O. rhinoceros larvae through oral toxicity mechanisms, which until now very few reported.

Keywords: Coleoptera, larvae, entomopathogenic fungi, oral infection

Disubmit : 24 Juni 2021, Diterima: 23 September 2021, **Disetujui** : 17 Desember 2021

PENDAHULUAN

Oryctes rhinoceros L. (Coleoptera) merupakan salah satu hama penting pada tanaman kelapa sawit yang menyerang tanaman kelapa sawit dengan merusak pelepah daun dan tajuk tanaman. Hal ini mengakibatkan produksi tandan buah segar mengalami penurunan sampai lebih dari 50% - 69% pada tahun pertama tanaman menghasilkan. Serangan larva *O. rhinoceros* juga dapat mematikan tanaman muda sebanyak 25% dari populasi (Aida, et al., 2020; Pradipta et al., 2020).

Pengendalian *Oryctes* dengan cendawan entomopatogen memperlihatkan hasil yang signifikan dengan tingkat mortalitas lebih dari 80% (Ibrahim, 2018; Saleem and Ibrahim, 2019). Erawati dan Wardati (2016)



Lisensi

Ciptaan disebarluaskan di bawah Lisensi Creative Commons Atribusi-BerbagiSerupa 4.0 Internasional.

melaporkan bahwa larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi cendawan entomopatogen menunjukkan penurunan aktivitas makan. Awal infeksi ditandai dengan warna kutikula tampak kusam, pucat dan bagian posterior berlekuk serta mengecil. Selanjutnya tubuh kadaver akan kaku serta mulai tumbuh hifa pada bagian thorak dan abdomen setelah 7-12 hari kematian larva akibat infeksi *B. bassiana* dan 5-10 hari akibat infeksi *M. anisopliae*.

B. bassiana dan *M. anisopliae* menghasilkan berbagai enzim pengurai, termasuk protease, kitinase, dan lipase, untuk memfasilitasi masuknya melalui penghalang besar kutikula serangga. Aktivitas proteolitik dari berbagai isolat telah mencerminkan virulensi terhadap inang. Bukti terbaru menunjukkan bahwa isolat cendawan entomopatogen yang berbeda menunjukkan variasi dalam produksi protease pengurai kutikula. Isolat dengan aktivitas proteolitik tinggi memiliki virulensi tinggi terhadap inangnya (Saleem and Ibrahim, 2019; Gustianingtyas, *et. al.*, 2020). Kematian inang setelah memakan dan menelan konidia sebagian besar disebabkan oleh infeksi melalui mulut atau kutikula yang terpapar di daerah anus dan invasi cepat ke kepala dan trakea menunjukkan bahwa *B. bassiana* memiliki potensi tinggi karena menunjukkan toksisitas oral yang lebih besar berdasarkan virulensi oleh infeksi oral yang berbagi dengan bakteri patogen (Mannino, *et. al.*, 2019). Lebih lanjut McGuire and Northfield, (2020) melaporkan bahwa kesesuaian wilayah, jenis cendawan entomopatogen, kisaran inang dan faktor lingkungan yang dominan pada kinerja patogen dapat diprediksi untuk keberhasilan pengendali hayati dari cendawan entomopatogen dalam menekan ledakan populasi serangga.

Hasil penelitian Biswas *et. al.* (2018) menunjukkan bahwa *B. bassiana* dapat menginduksi ekspresi gen inang yang berhubungan dengan toksisitas oral. Adaptasi kumbang terhadap infeksi mulut oleh *B. bassiana* mungkin telah menyebabkan terhadap resistensi silang positif pada kumbang yang berevolusi bersama pada infeksi *Bacillus thuringiensis*. Hasil ini mendukung fakta bahwa rute infeksi sangat penting dalam interaksi host-parasit dan respon fisiologis dari inang dan parasit, namun masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kajian jalur infeksi beberapa isolat *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dari daerah yang berbeda pada larva *O. rhinoceros* penting dilakukan dalam upaya eksplorasi biodiversitas pengendali hayati native di Indonesia. Penelitian ini memberikan perkembangan informasi terkait potensi *B. bassiana* dan *M. anisopliae* sebagai pengendali hayati *O. rhinoceros* melalui mekanisme toksisitas oral yang sampai saat ini masih sangat sedikit dilaporkan.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah larva uji uret *Oryctes rhinoceros*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, pakan hama, media PDA, alkohol, aquades, kertas saring, kapas, spon, kasa, kertas label. Alat yang digunakan yaitu *autoclave*, *laminar air flow*, boks serangga, neraca analitis, erlenmeyer, cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, oven, shaker, penangas air, mikropipet, *klonning plate*, *hand counter*, *haemocytometer*, gelas ukur, *magnetic stirrer*, kuas, mikroskop, dan pinset.

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Perlindungan Tanaman Politeknik Negeri Jember pada ketinggian tempat 89 m dpl dengan letak geografis S 809'34.884" E 113043'24.7944". Penelitian disusun berdasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal berupa paparan umpan bait *B. bassiana* dan *M. anisopliae* asal isolat Temanggung, Jember dan Jombang pada larva *O. rhinoceros* instar 3. Analisis data menggunakan Analisis Sidik Ragam dan analisis data lanjutan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 5%.

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan persiapan cendawan entomopatogen dan serangga uji. Isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan *M. anisopliae* asal Temanggung, Jember dan Jombang hasil pemurnian dari kadaver *O. rhinoceros* yang diperoleh dan diperbanyak dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Asal isolat dari daerah Jember memiliki ketinggian tempat 89 m dpl, Jombang 44 m dpl serta

Temanggung 675 m dpl. Isolat asal yang digunakan diisolasi dari ordo Coleoptera (*M. anisopliae* Jombang dan *B. bassiana* Jember), ordo Hemiptera (*M. anisopliae* Jember, *M. anisopliae* Temanggung, *B. bassiana* Jombang, *B. bassiana* Temanggung) untuk menjaga sifat pengendali hayati yang cenderung spesifik lokasi dan spesifik inang. Sedangkan persiapan serangga uji dengan mengumpulkan larva uji berupa uret dari *O. rhinoceros* dari lapang di kebun koleksi kelapa dan kelapa sawit Politeknik Negeri Jember pada ketinggian 89 meter dpl. Serangga uji yang akan digunakan dipelihara sampai mencapai instar 3 dan diseleksi keseragaman ukuran tubuh, normal dan sehat untuk menjaga homogenitas bahan. Selanjutnya melaparkan larva instar tiga *O. rhinoceros* sebagai serangga uji selama 24 jam sebelum pemaparan dengan cendawan entomopatogen. Larva uji selanjutnya ditempatkan di dalam boks serangga yang telah diisi media pakan yang telah tercampur dengan cendawan entomopatogen sesuai perlakuan.

Pengamatan terhadap gejala kematian serangga uji dengan mengamati perubahan warna kutikula serangga uji setelah mati akibat perlakuan. Pengamatan terhadap kematian serangga uji dengan menghitung jumlah serangga yang mati akibat perlakuan dalam satuan persentase. Mortalitas serangga uji (%) dikoreksi dengan rumus Abbot (WHO, 2009) yaitu :

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{X - Y}{100 - Y} \times 100$$

dimana X = persentase kematian perlakuan dan Y = persentase kematian kontrol.

Pengamatan terhadap kerapatan spora hasil pemurnian dengan menetapkan kerapatan spora cendawan entomopatogen dalam satuan jumlah spora/mililiter menggunakan *haemocytometer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Kematian Serangga Uji. Gejala kematian serangga uji dilakukan melalui pengamatan terhadap aktivitas dan perubahan warna kutikula sampai proses mumifikasi pada serangga uji. Larva *O. rhinoceros* instar 3 yang sehat dan normal mempunyai kutikula tubuh berwarna putih dengan bagian caput berwarna coklat kehitaman (Gambar 1A).

Serangga uji yang terinfeksi *B. bassiana* akan menurun aktivitasnya. Awal infeksi *B. bassiana* ditandai dengan warna kutikula tampak berkilat dan beraroma etanol. Selanjutnya warna kutikula akan memudar, kusam dan bagian posterior berlekuk serta mengecil. Selanjutnya tubuh kadaver akan kaku serta mulai tumbuh hifa pada bagian *caput* dan *thorax*. Hifa yang tumbuh di bagian kadaver dapat mengindikasikan dugaan bahwa infeksi bisa terjadi melalui alat mulut. Miselum berwarna putih akan tumbuh menyelimuti tubuh kadaver pada hari ke 6-11 setelah serangga uji mati (Gambar 1 B). Gejala kematian larva tersebut sesuai dengan laporan (Pedrini *et al.*, 2013) yang menyampaikan bahwa *Beauveria bassiana* menyerang inang serangga melalui produksi enzim untuk mengaktifkan alkana dengan oksidasi terminal menjadi alkohol, yang selanjutnya dioksidasi oleh alkohol dan aldehida dehidrogenase, yang produknya dapat memasuki jalur oksidasi β . *B. bassiana* mengandung setidaknya 83 gen yang mengkode sitokrom P450s (CYP), subset yang terlibat dalam oksidasi hidrokarbon. Jamur patogen serangga telah berevolusi mekanisme untuk mengatasi penghalang penetrasi. Temuan ini menguatkan dugaan bahwa cendawan entomopatogen berkapasitas mematikan inang melalui jalur infeksi alat mulut. Beberapa studi melaporkan bahwa hasil analisis filogenomik memperlihatkan bahwa *B. bassiana* memiliki lebih banyak racun seperti bakteri dan memungkinkan menginfeksi secara oral (Xiao *et al.*, 2012; Valero-jiménez A *et al.*, 2016; Mannino, *et.al.*, 2019).

Serangga uji yang terinfeksi *M. anisopliae* menunjukkan perubahan kutikula berwarna pucat merata pada seluruh tubuh dan larva uji akan mati dengan bagian posterior mengecil. Kutikula larva kusam dan tubuh larva menjadi kaku serta muncul hifa berwarna putih pada hari ke 3 setelah mati pada bagian *thorax*

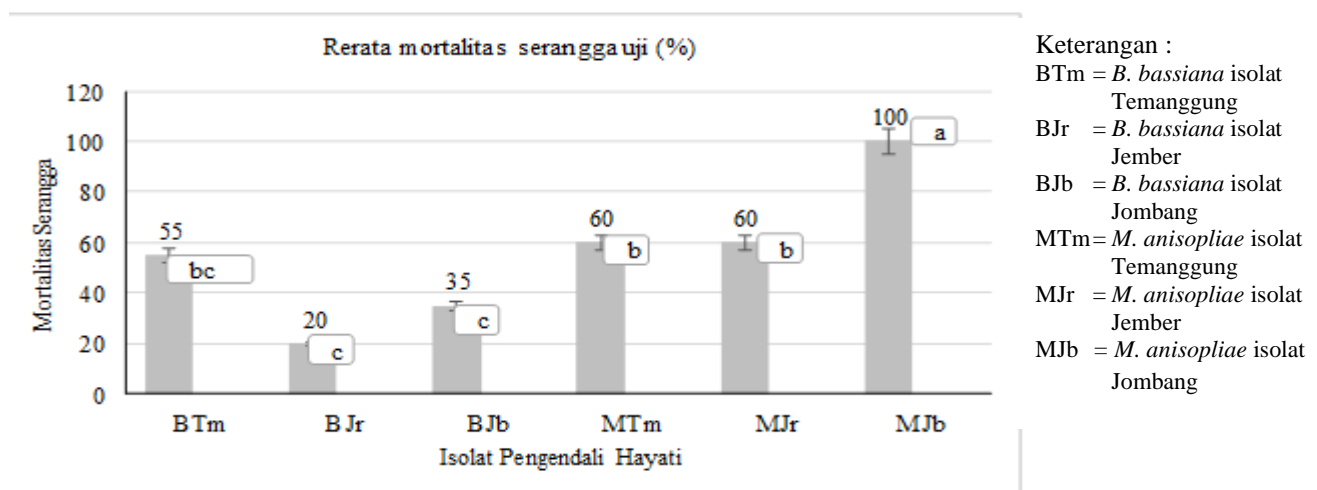
dan abdomen. Tubuh kadaver tertutup cendawan berwarna hijau pada hari ke 6 – 10 setelah mati (Gambar 1 C). Indriyanti *et al.*, (2017) menyatakan bahwa larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi *M. anisopliae* menunjukkan perubahan perilaku berupa malas, gerak lambat, kehilangan kemampuan koordinasi, penurunan aktivitas makan dan perubahan warna (dari putih menjadi kusam). Terdapat bercak nekrotik berwarna coklat tua pada bagian abdomen yang merupakan tanda terjadinya melanisasi yang mengindikasikan adanya infeksi jamur pada larva. Melanisasi merupakan bentuk pertahanan diri terhadap infeksi jamur yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan jamur di dalam tubuh larva. Bintik-bintik nekrotik berwarna coklat tua adalah melanin yang dihasilkan oleh senyawa fenol yang dikatalisis oleh enzim fenol oksidase.

Bedah kadaver yang terinfeksi *B. bassiana* dilakukan pada hari ke 9 setelah kematian serangga uji dan bedah kadaver *M. anisopliae* dilakukan pada hari ke 7 setelah kematian serangga uji untuk memastikan kematian serangga uji akibat infeksi cendawan entomopatogen. Hasil isolasi dan pemurnian dari kadaver terinfeksi kemudian diidentifikasi secara mikroskopis menunjukkan bahwa terdapat hifa dan spora *B. bassiana* (Gambar 1 D). Hifa dan spora *M. anisopliae* juga terdeteksi pada identifikasi mikroskopis (gambar 1 E). Morfologi hifa dan konidia sama seperti hasil laporan (Herlinda *et al.*, 2020), dimana konidia *B. bassiana* bersel satu dan berbentuk bulat sedangkan konidia *M. anisopliae* berbentuk silindris serta bersel satu (Agastya, dkk., 2018).



Gambar 1. (A) Larva *O. rhinoceros* sehat, (B) terinfeksi *B. bassiana*, (C) terinfeksi *M. anisopliae*, (D) konidia *B. bassiana*, (E) konidia *M. anisopliae*

Kematian Serangga Uji. Kemampuan cendawan entomopatogen sebagai pengendali hayati pada inang dapat dianalisis dengan mengamati tingkat kematian serangga uji. Isolat *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dari Temanggung, Jember dan Jombang yang diaplikasikan melalui metode pemaparan umpan bait ternyata mampu menyebabkan kematian larva *O. rhinoceros*.



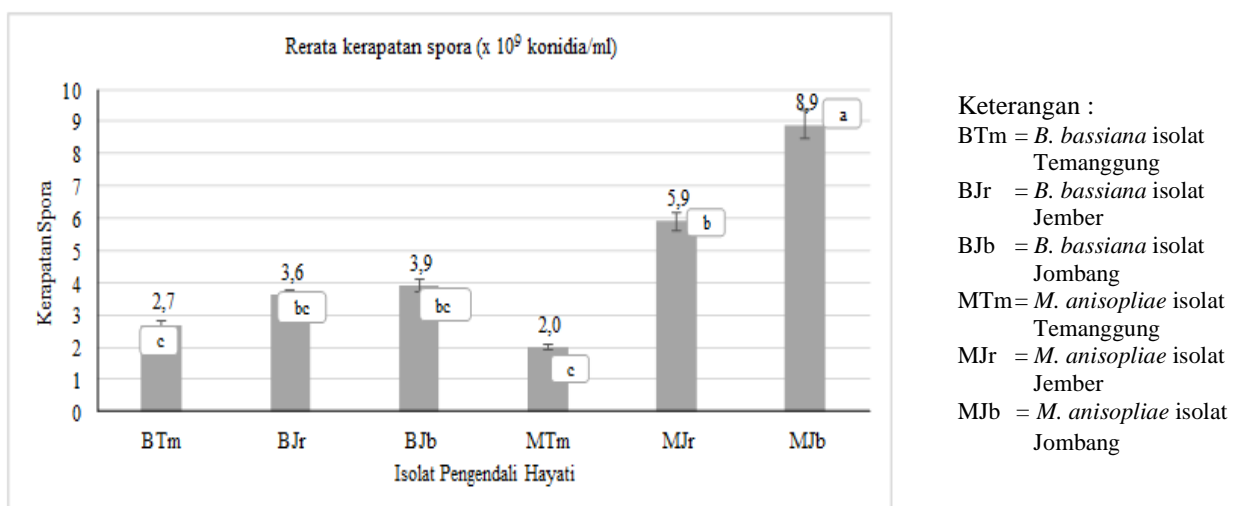
Gambar 2. Rerata tingkat kematian serangga uji yang terinfeksi cendawan entomopatogen (notasi huruf yang mengikuti angka rerata ditetapkan berdasarkan uji BNT 5%)

Gambar 2 memperlihatkan analisis tingkat kematian larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dengan tingkat kematian tertinggi pada perlakuan *M. anisopliae* isolat Jombang (MJb) yang mencapai tingkat kematian 100% pada hari ke 6 setelah infeksi.

Rerata tingkat kematian serangga uji karena infeksi *M. anisopliae* isolat Temanggung, Jember dan Jombang berkisar antara 60-100% dan lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi *B. bassiana* dengan rerata tingkat kematian berkisar antara 20-55% pada hari ke 6 meskipun tingkat kematian serangga uji akibat infeksi *B. bassiana* isolat Temanggung (BTm) berbeda tidak nyata dengan *M. anisopliae* isolat Temanggung (MTm) dan Jember (MJr) berdasarkan uji BNT 5%. Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Kichaoui, *et. al.*, (2017) bahwa persentase kematian larva tertinggi mencapai 100% setelah penyemprotan dengan *B. bassiana* dan 90% setelah penyemprotan dengan *M. anisopliae* pada hari ke 6 setelah aplikasi. Stadia larva merupakan stadia yang lebih rentan dalam kecepatan terinfeksi dan kematian dibandingkan dengan stadia imago.

Kemampuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dalam menyebabkan kematian larva *O. rhinoceros* memperlihatkan bahwa potensinya sebagai pengendali hayati sangat berpeluang untuk dikembangkan meskipun tetap ada batasan spesifik inang. Hal ini sesuai dengan laporan Suciatmih, dkk., (2015), bahwa aktivitas lipase dan protease dari cendawan entomopatogen dapat dijadikan sebagai kandidat untuk agen pengendalian serangga dan untuk uji bioasai pada pengembangan potensi pengendali hayati. Patogenisitas cendawan entomopatogenik dipengaruhi oleh kemampuannya untuk menghasilkan sekunder metabolit. Cendawan yang berkembang dalam hemolimfa serangga atau media cair dapat menghasilkan metabolit toksik, seperti enzim ekstraseluler, protein dan racun.

Kerapatan Spora. Penentuan kerapatan spora dapat digunakan sebagai deteksi kualitas dan viabilitas spora cendawan entomopatogen hasil perbanyakan pada media buatan. Isolasi dan pemurnian dari kadaver yang terinfeksi berpeluang untuk menjadi sumber inokulum *in vitro*. Analisis kerapatan spora hasil pemurnian dan perbanyakan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* secara *in vitro* dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) tertera pada Gambar 3.



Gambar 3. Rerata kerapatan spora pemurnian *B. bassiana* dan *M. anisopliae* (notasi huruf yang mengikuti angka rerata ditetapkan berdasarkan uji BNT 5%)

Kerapatan spora terbanyak dengan rerata 8.9×10^9 konidia/ml pada *M. anisopliae* isolat Jombang (MJb) yang berbeda nyata dengan semua perlakuan berdasar uji BNT 5%. Kecepatan MJb dalam membentuk spora berbanding lurus dengan kemampuannya untuk mematikan serangga uji. Dengan demikian MJb

menjadi salah satu kandidat terbaik untuk menjadi sumber inokulum yang efektif sebagai pengendali hayati larva *O. rhinoceros*, meskipun isolat cendawan entomopatogen yang lain juga berpotensi untuk dikembangkan.

Studi sebelumnya telah banyak melaporkan bahwa konidia yang terdapat pada kadaver yang telah terinfeksi cendawan entomopatogen bisa menjadi sumber inokulum yang potensial. Lebih lanjut (Khun *et al.*, 2021) menyatakan bahwa konidia *M. anisopliae* lebih cepat berkecambah dibanding konidia *B. bassiana* pada kelembaban relatif tinggi (99%). Hasil SEM pada kadaver imago *Kuschelorrhynchus macadamiae* yang terinfeksi *B. bassiana* dan *M. anisopliae* memperlihatkan bahwa jumlah konidia yang menempel di bagian kepala dan kaki lebih banyak dibandingkan dengan konidia yang menempel pada bagian tubuh yang lain. Lebih lanjut (Arsi, *et al.*, 2020) melaporkan bahwa proses perendaman pakan dengan cendawan entomopatogen berdampak terhadap kecepatan penyerapan oleh pakan. Serangga segera memakan pakan tersebut sehingga lebih memudahkan cendawan berkecambah di dalam tubuh serangga dan membuat serangga cepat mati. Hal ini menguatkan dugaan potensi jalur infeksi melalui toksisitas oral serangga inang dan perlu kajian lebih lanjut untuk memahami mekanismenya.

KESIMPULAN

Pemaparan larva *O. rhinoceros* sebagai serangga uji dengan metode pakan untuk mengkaji jalur infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan *M. anisopliae* asal isolat Temanggung, Jember dan Jombang memperlihatkan hasil bahwa semua isolat mampu menginfeksi dan menyebabkan kematian pada serangga uji. Kemampuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dalam menyebabkan kematian larva *O. rhinoceros* memperlihatkan bahwa potensinya sebagai pengendali hayati sangat berpotensi untuk dikembangkan meskipun tetap ada batasan spesifik inang sehingga kerusakan tanaman dan kehilangan hasil kelapa sawit dapat ditekan. Potensi jalur infeksi *B. bassiana* melalui infeksi oral masih perlu penelaahan lebih lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agastya, I. M. I., Ameliawati, P., dan Fikrinda, W., 2018. Eksplorasi dan identifikasi jamur patogen serangga di rhizosfer lahan kering kabupaten Malang. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), pp.13–17. Available at: <https://doi.org/10.25181/jppt.v18i1.673>.
- Aida, I.I., Rasdi, M.Z., Ismail, R., Ismeazilla, M. B., Faisol, M. K., Shakir, M.Z. and Fakriyah, N. A., 2020. Susceptibility and resistance of different host varieties of oil palm and coconut palm towards pest, rhinoceros beetle (*Oryctes rhinoceros*). *Asian Journal of Agriculture and Rural Development*, 10(1), pp. 56–67. doi: 10.18488/journal.1005/2020.10.1/1005.1.56.67.
- Arsi, Pujiastuti, Y., Kusuma, S. S. H dan Gunawan, B., 2020. Eksplorasi, isolasi dan identifikasi jamur entomopatogen yang menginfeksi serangga hama. *Jurnal Proteksi Tanaman Tropis*, 1(2), pp. 70–76. Available at: 10.19184/jppt.v1i2.18554.
- Biswas, T., Joop, G., and Rafaluk-Mohr, C., 2018. Cross-resistance: a consequence of bi-partite host-parasite coevolution. *Insects*, 9 (28), pp.1-15. Available at: 10.3390/insects9010028.
- Erawati, D. N. and Wardati, I., 2016. Teknologi pengendalian hayati *Metarhizium anisopliae* dan *Beauveria bassiana* terhadap hama kumbang kelapa sawit (*Oryctes rhinoceros*). Prosiding seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (hlm. 1-5). 14 November 2016. Jember : Polije.
- Gustianingtyas, M., Herlinda, S., Suwandi, Suparman, Hamidson, H., Hasbi, Setiawan, A., Verawaty, M., Elfita and Arsi, 2020. Toxicity of entomopathogenic fungal culture filtrate of lowland and highland soil of south sumatra (Indonesia) against Spodoptera litura larvae. *Biodiversitas*, 21(5), pp.1839–1849. Available at: 10.13057/biodiv/d210510.

- Herlinda, S., Efendi, R.A., Suharjo, R., Hasbi, Setiawan, A., Elfita and Verawaty, M., 2020. New emerging entomopathogenic fungi isolated from soil in south sumatra (Indonesia) and their filtrate and conidial insecticidal activity against *Spodoptera litura*. *Biodiversitas*, 21(11), pp.5102–5113. Available at: 10.13057/biodiv/d211115.
- Ibrahim, R.A., 2018. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi, commercial formulations, against the rhinoceros beetle , *Oryctes agamemnon arabicus* (coleoptera : scarabaeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 27(1), pp. 49-55.
- Indriyanti, D.R., Widiyaningrum, P., Haryuni, Slamet, M., and Maretta, Y.A., 2017. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* and entomopathogenic nematodes to control *Oryctes rhinoceros* larvae in the rainy season. *Pakistan Journal of Biological Science*, 20(7), pp. 320-327. Available at: 10.3923/pjbs.2017.320.327.
- Khun, K. K., Ash, G.J., Stevens M.M, Huwer, R.K., & Wilson, B.A.L, 2021. Transmission of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to adults of *Kuschelorrhynchus macadamiae* (Coleoptera : Curculionidae) from infected adults and conidiated cadavers', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group UK, 11(21), pp. 1–12. Available at: 10.1038/s41598-021-81647-0.
- Kichaoui, A.Y.E, Asaker, A. A. and El-hindi, M. W., 2017. Isolation , molecular identification and under lab evaluation of the entomopathogenic fungi *M . anisopliae* and *B . bassiana* against the red palm weevil *R. ferrugineus* in Gaza strip. *Advances in Microbiology* (7), pp. 109-124. Available at: 10.4236/aim.2017.71009.
- Mannino, M. C., Huarte-bonnet, C., Davyt-colo, B. & Pedrini, N., 2019. Is the insect cuticle the only entry gate for fungal infection? insights into alternative modes of action of entomopathogenic fungi. *Journal of Fungi*, 5(33), pp. 1-9. Available at:10.3390/jof5020033.
- Mcguire, A. V and Northfield, T. D., 2020. Tropical occurrence and agricultural importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4(6). Available at: 10.3389/fsufs.2020.00006.
- Pedrini, N., Ortiz-urquiza, A., Huarte-bonnet, C., Zhang, S & Keyhani, N.O., 2013. Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* : hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction. *Frontiers in Microbiology*, 4(24), pp. 1–18. doi: 10.3389/fmicb.2013.00024.
- Pradipta, A. P., Wagiman, F. X. and Witjaksono, 2020. The potency of collecting larvae of *Oryctes rhinoceros* L . (Coleoptera). *Agrivita Journal of Agricultural Science*, 42(1), pp. 153–159. Available at: <https://doi.org/10.17503/agrivita.v42i1.2489>.
- Saleem, A. and Ibrahim, R. A., 2019. Assessment of the virulence and proteolytic activity of three native entomopathogenic fungi against the larvae of *Oryctes agamemnon* (Burmeister) (Coleoptera : Scarabaeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29 (21). Available at: 10.1186/s41938-019-0120-1.
- Suciatmih, Kartika, T. and Yusuf, S., 2015. Jamur entomopatogen dan aktivitas enzim ekstraselulernya. *Berita Biologi*, 14(2), pp. 131–142.
- Valero-jiménez A, C., Faino, L., Veld, D.S., and Van Kan, J.A. L., 2016. Comparative genomics of *Beauveria bassiana* : uncovering signatures of virulence against mosquitoes. *BMC Genomics*, 17:986, pp. 1–11. doi: 10.1186/s12864-016-3339-1.
- Xiao, G., Ying, S., Zhang, P., Wang, Z., Zhang, S., Xie, X., Shang, Y., Leger R. J. S., Zhoo, G., Wang, C. & Feng, M., 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Scientific Reports*, 2:483. Available at:10.1038/srep00483.