

PENGARUH IRADIASI SINAR GAMMA [^{60}Co] TERHADAP *BACTROCERA CARAMBOLAE* DREW & HANCOCK *IN VITRO DAN IN VIVO*

Endang Sri Ratna¹, Kemas Usman², Indah Arastuti³, & Dadan Hindayana¹

¹Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor,
Jl. Kamper, Kampus IPB Darmaga, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat 16680

²Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian,
Jl. Kampung Utan - Setu, Cikarang Barat, Kabupaten Bekasi, Provinsi Jawa Barat 17520

³Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional,
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan 12440
E-mail: esratna@gmail.com

ABSTRACT

Effect of gamma irradiation [^{60}Co] against *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock in vitro and in vivo. *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock is one of the most important pests on guava fruit. According to a quarantine regulation in export-import commodities, irradiation treatment is a suitable methods for eradicating infested organism, which is relatively safe for the environment. The aim of this research was to determine mortality doses and an effective dose of [^{60}Co] gamma ray irradiation for the eradication purpose, and its implication on the survival of fruit fly *B. carambolae*. Two irradiation methods of *in vitro* dan *in vivo* were carried out, by exposing egg and 3rd instar larvae of *B. carambolae* obtained from the laboratory reared insect. Eleven doses of gamma ray irradiation of 0, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 450, and 600 Gy were applied, respectively. The level of 99% fruit fly mortality was estimated by the value of LD₉₉ using probit analysis and the number of larvae, pupae and adult survival were evaluated by analysis of variance (ANOVA), and the means compared by Tukey's test, at 5% of significance level. These result showed that the effective lethal dose (LD₉₉) of irradiation that could be successful to eradicate eggs and 3rd instar larvae *in vitro* were 2225 and 2343 Gy and *in vivo* were 3165 dan 3177 Gy, respectively. Almost all of the treated larvae survived and developed to pupae, therefore only the minimum irradiation dose of 30 Gy allowed the pupae to develop into adults.

Key words: *Bactrocera carambolae*, eradication, irradiation, LD₉₉

ABSTRAK

Pengaruh iradiasi sinar gamma [^{60}Co] terhadap *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock in vitro dan in vivo. *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock merupakan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) penting pada buah jambu biji. Sehubungan dengan regulasi karantina dalam lalulintas komoditas ekspor, iradiasi merupakan upaya membebaskan OPT dari komoditas tersebut yang relatif aman terhadap lingkungan. Penelitian ini bertujuan menentukan dosis lethal dan dosis efektif iradiasi sinar gamma [^{60}Co] untuk mengeradikasi lalat buah *B. carambolae*, serta mengamati implikasi terhadap keloloshidupannya. Dua metode pengujian *in vitro* dan *in vivo* masing-masing diaplikasikan terhadap telur dan larva instar 3 *B. carambolae* hasil perbanyakan laboratorium. Sebelas dosis perlakuan iradiasi diaplikasikan berturut-turut: 0, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 450, dan 600 Gy. Tingkat mortalitas 99% (LD₉₉) ditentukan melalui program probit, dan kemampuan keloloshidupan larva, pupa, dan imago dibedakan melalui uji Tukey pada taraf 5%. Hasil perlakuan menunjukkan bahwa dosis lethal iradiasi efektif (LD₉₉) berhasil mengeradikasi telur dan larva instar 3 berturut-turut sebesar 2225 dan 2343 Gy *in vitro*, serta 3165 dan 3177 Gy *in vivo*. Hampir seluruh larva perlakuan yang lolos hidup berhasil berkembang menjadi pupa, namun hanya dosis iradiasi terendah, yaitu 30 Gy saja yang dapat berkembang menjadi imago.

Kata kunci: *Bactrocera carambolae*, eradicasi, iradiasi, LD₉₉

PENDAHULUAN

Bactrocera carambolae Drew & Hancock adalah lalat buah Tephritidae yang perilakunya polifag, banyak menyebabkan kerusakan pada berbagai komoditas buah seperti jambu biji (*Psidium guajava*

L.) dan mangga (*Mangifera indica* L.) dengan inang utamanya belimbing (*Averrhoa carambola* L.) dan jambu air (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L. M. Perry) (Kapoor, 2005; Siwi *et al.*, 2006; Lemos *et al.*, 2014). Berdasarkan daerah persebarannya, lalat buah ini merupakan serangga karantina penting berkaitan

dengan ekspor buah-buahan (CAB International, 2007). Dalam upaya membebaskan komoditas ekspor buah jambu biji dari infestasi telur dan larva lalat buah, maka tindakan pemusnahan (eradikasi) kontaminan organisme tersebut perlu dilakukan untuk menghindari perkembangan populasi lebih lanjut hingga pelabuhan tujuan (IPPC, 2008; Hallman, 2011).

Perlakuan pemaparan sinar radioaktif (iradiasi) pancaran sinar gamma [^{60}Co] merupakan metode eradikasi yang paling cepat dan praktis diaplikasikan bagi buah kemasan ekspor, relatif tidak menyebabkan fitotoksitas atau kerusakan bahan seperti pada perlakuan suhu panas dan dingin, tidak meninggalkan residu yang berbahaya seperti perlakuan fumigasi, sehingga relatif lebih aman terhadap kesehatan dan lingkungan (Dória *et al.*, 2007; Follet *et al.*, 2008; Hallman, 2011). Iradiasi ini telah banyak dilakukan untuk mengeradikasi lalat buah pada berbagai komoditas karantina. Mansour & Franz (1996) melaporkan bahwa iradiasi sinar gamma dapat menyebabkan sterilitas telur *Ceratitis capitata*, kegagalan pembentukan pupa dan kemunculan imago pada buah mangga. Perlakuan dosis minimum iradiasi sinar gamma juga dilaporkan dapat menyebabkan sterilitas telur, menghambat perkembangan instar pradewasa, serta reproduksi imago *Anastrepha* spp., *B. jarvisi*, *B. tryoni* (Hallman & Loaharanu, 2002), dan perkembangan pupa *C. capitata* pada buah mangga (Torres-Rivera & Hallman, 2007). Odai *et al.* (2014) melaporkan bahwa iradiasi sinar gamma efektif digunakan untuk mengeradikasi hama karantina *B. invadens* pada buah mangga. Iradiasi sinar gamma dilaporkan menghambat perkembangan pupa *B. correcta* (Puanmanee *et al.*, 2010) dan menekan investasi larva *Ceratitis* spp. dan *Bactrocera* sp. pada buah jambu biji (Dória *et al.*, 2007; Kabbashi *et al.*, 2012).

Pengujian penerapan dosis perlakuan iradiasi sinar gamma untuk tindakan karantina terhadap lalat *B. carambolae* pada komoditas buah jambu biji belum pernah dilaporkan di Indonesia, sehingga pengujian efikasi iradiasi terhadap keberadaan lalat tersebut perlu dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan dosis lethal dan mengevaluasi keefektifan dosis minimum iradiasi sinar gamma [^{60}Co] untuk keperluan eradikasi lalat buah *B. carambolae*, serta mengamati implikasi terhadap keloloshidupannya.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Phytosanitary, Pusat Aplikasi Isotop Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional (PAIR-Batan),

Jakarta. Penelitian dilakukan mulai bulan Agustus sampai dengan Desember 2014.

Penyediaan Serangga Uji. Lalat buah *B. carambolae* diisolasi dari perbanyakan serangga di Laboratorium Phytosanitary, PAIR-Batan, Jakarta. Lalat tersebut dipelihara di dalam media pakan buatan mengikuti metode baku yang telah dikembangkan oleh Kuswadi *et al.* (1999). Telur dan larva instar 3 hasil perbanyakan generasi pertama digunakan sebagai stok serangga uji.

Penyediaan Media Uji In Vivo. Buah jambu biji, *P. guajava*, berdaging buah merah muda (*pink guava*) dengan kematangan 75% diambil dari perkebunan petani di daerah Bojong Gede, Jawa Barat. Buah jambu biji ditempatkan di dalam kantung plastik, kemudian disimpan di dalam lemari es pada suhu 15 °C di laboratorium. Buah dengan umur simpan satu hari digunakan sebagai media peneluran lalat pada pengujian *in vivo*.

Perlakuan Iradiasi terhadap Telur dan Larva Instar 3 secara In Vitro. Telur lalat buah *B. carambolae* berumur satu hari diisolasi dari populasi stok perbanyakan dan dipaparkan di permukaan kertas saring basah. Kertas berisi setiap seratus butir telur diletakkan di permukaan media pakan buatan yang berada di dalam sebuah kotak plastik bertutupkan kain kasa, berukuran 8×8×5 cm. Dua pengujian iradiasi diaplikasikan terhadap telur dan larva instar 3 berumur satu hari. Larva uji diperhitungkan dengan menginkubasikan telur selama lima hari di dalam media pakan buatan. Setiap kotak pakan yang telah berisi telur dan larva uji di dalamnya, satu persatu dimasukkan ke dalam mesin *Irradiator Gamma Chamber* 4000 A (kapasitas 4 L, laju dosis 45.0763 krad/jam) dan diberi perlakuan iradiasi sinar gamma sumber [^{60}Co] dengan dosis masing-masing 0, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 450, dan 600 Gy (Kabbashi *et al.*, 2012; Kuswadi 2011). Setiap perlakuan pemaparan diulang sebanyak tiga kali.

Segera setelah selesai penyinaran, pakan beserta telur dan larva uji dikeluarkan dari mesin iradiator dan dipelihara di dalam ruangan suhu ± 26 °C dengan kelembaban nisbi ± 70%. Jumlah telur yang tidak menetas pada permukaan media kertas saring diamati langsung 24 jam setelah pemaparan. Pengaruh penyinaran terhadap larva diamati dengan memindahkan telur berumur lima hari ke dalam wadah silinder plastik berukuran diameter 15 cm dan tinggi 20 cm yang dialasi serbuk gergaji kayu. Larva yang berhasil hidup akan berpindah dari media pakan ke dalam serbuk gergaji untuk berpupa yang selanjutnya diamati keberhasilan hidup imagonya. Jumlah larva yang gagal membentuk

pupa dan pupa yang ganti kulit (eklosi) jadi imago dihitung dengan membongkar pakan dan media serbuk gergaji di akhir percobaan. Perubahan morfologi telur dan larva akibat iradiasi juga diamati.

Perlakuan Iradiasi terhadap Telur dan Larva Instar 3 Secara *In Vivo*

Pada pengujian iradiasi *in vivo*, telur uji diperoleh dengan memaparkan sebuah jambu biji pada 15 pasang imago lalat buah *B. carambolae* berumur 17 hari setelah eklosi yang merupakan periode awal peletakan telur. Sebelum dipaparkan, buah jambu diberi penusukan dengan jarum untuk menentukan lokasi oviposisi mengikuti metode yang diuraikan Odai *et al.* (2014). Untuk mendapatkan 100 butir peletakan telur uji, pemaparan dilakukan selama 3 jam, pada pukul 06.00–09.00, di dalam kurungan kasa berukuran 20×20×20 cm. Setelah itu, buah yang telah diinfestasi telur dikeluarkan dari kurungan kasa, disimpan di dalam wadah silinder plastik yang beralaskan serbuk gergaji, kemudian dipelihara di dalam ruangan dengan suhu dan kelembaban sama seperti di atas.

Perlakuan iradiasi telur dan larva instar 3 berturut-turut diberikan pada telur berumur 24 jam dan lima hari setelah disisipkan pada buah. Sumber iradiasi dan dosis yang digunakan sama dengan perlakuan *in vitro*. Setiap perlakuan iradiasi diulang tiga kali. Variabel pengamatan yang diamati adalah persentase kematian (mortalitas) telur dan larva instar 3, dan keloloshidupan stadia pupa dan imago.

Analisis Data. Data mortalitas dan perkembangan pradewasa ditabulasi pada program komputer *Microsoft Excel* 2007, kemudian dianalisis pada program Minitab versi 16 dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk membedakan rata-rata hasil perlakuan iradiasi, persentase data kegagalan pembentukan pupa dan imago ditransformasi menggunakan arcsin untuk menormalisasikan distribusi dalam analisis ANOVA, dilanjutkan dengan uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%. Penentuan dosis letal 50% (LD_{50}) dan 99% (LD_{99}) diukur melalui analisis probit menggunakan program SAS (SAS Institute 2002). Data mortalitas perkembangan pradewasa dikoreksi menggunakan formula Abbott's (Finney, 1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Iradiasi terhadap Mortalitas Telur dan Larva Instar 3 *In Vitro* dan *In Vivo*. Berdasarkan hasil pengujian iradiasi sinar gamma *in vitro* dan *in vivo* terhadap *B. carambolae* diketahui bahwa semakin tinggi dosis iradiasi yang diaplikasikan menyebabkan semakin tinggi tingkat kematian telur dan larva instar 3 (Tabel 1).

Hasil kedua pengujian *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan bahwa, dosis perlakuan iradiasi terendah 30 Gy terhadap telur berturut-turut telah menunjukkan tingkat kematian telur 47% dan 36% yang nyata lebih tinggi dibandingkan kontrol. Tingkat mortalitas telur nyata

Tabel 1. Pengaruh iradiasi sinar gamma [^{60}Co] terhadap mortalitas telur dan larva instar 3 *B. carambolae* secara *in vitro* dan *in vivo*

Dosis (Gy)	Mortalitas telur \pm SD (%)		Mortalitas larva instar 3 \pm SD (%)	
	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>
0	1,7 \pm 0,6 a	0,6 \pm 0,7 a	2,3 \pm 2,1 a	0,6 \pm 0,1 a
30	47,0 \pm 3,6 b	35,8 \pm 1,5 b	14,0 \pm 4,0 b	1,1 \pm 0,3 a
50	48,0 \pm 3,5 bc	43,4 \pm 6,1 b	17,3 \pm 0,6 bc	1,9 \pm 0,1 ab
75	49,0 \pm 4,0 bcd	45,2 \pm 7,6 b	18,8 \pm 1,7 cd	5,2 \pm 3,4 ab
100	49,7 \pm 1,5 bcd	46,0 \pm 6,8 b	34,1 \pm 12,1 cde	11,7 \pm 4,9 ab
125	55,0 \pm 1,7 cde	48,7 \pm 9,6 b	39,0 \pm 14,1 cde	15,8 \pm 10,6 ab
150	56,0 \pm 0,0 de	56,3 \pm 17,0 b	40,2 \pm 12,5 cde	17,4 \pm 9,2 abc
175	56,0 \pm 2,0 de	57,5 \pm 22,0 b	41,2 \pm 8,0 de	27,5 \pm 10,4 bcd
200	61,7 \pm 1,1 e	62,1 \pm 10,5 b	50,3 \pm 7,6 def	28,2 \pm 22,3 bcd
300	99,7 \pm 0,6 f	98,8 \pm 2,4 c	76,2 \pm 5,8 def	53,9 \pm 29,0 cde
450	100,0 \pm 0,0 f	100,0 \pm 0,0 c	79,8 \pm 1,5 ef	59,3 \pm 14,2 de
600	100,0 \pm 0,0 f	100,0 \pm 0,0 c	95,4 \pm 0,6 f	72,1 \pm 5,9 e

Rata-rata persentase yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey dengan taraf 5%.

tertinggi dicapai mulai dosis 300 Gy sebesar 99,7% hingga 98,8% dan pada dosis 450 Gy dan lebih tinggi lagi tidak satupun telur yang hidup dan berkembang. Kemampuan iradiasi dalam menekan penetasan telur lalat buah *B. carambolae* relatif hampir mirip terjadi pada dosis terendah yang diaplikasikan oleh Mansour & Franz (1996) yang melaporkan bahwa dosis 20 Gy perlakuan *in vivo* telah dapat menekan penetasan telur lalat *C. capitata* pada buah mangga.

Hasil percobaan iradiasi sinar gamma terhadap larva menunjukkan tingkat ketahanan yang relatif meningkat dibandingkan terhadap telur. Tingkat kematian larva pada perlakuan *in vitro* maupun *in vivo* dengan nilai setara atau relatif sedikit lebih tinggi dari tingkat kematian telur, yaitu 50,3% dan 53,9% berturut-turut terjadi pada perlakuan dosis iradiasi sinar gamma sebesar 200 Gy dan 300 Gy. Menurut Hallman & Loaharanu (2002), tingkat toleransi serangga terhadap iradiasi pada umumnya meningkat seiring dengan perkembangan stadia pertumbuhannya. Mansour & Franz (1996) menyatakan bahwa telur lalat *C. capitata* yang baru menetas dan telur berumur 24 jam lebih rentan terhadap perlakuan iradiasi dibandingkan telur yang berumur 48 jam. Dosis minimum penghambat pembentukan pupa juga dilaporkan efektif pada 160 Gy saat diaplikasikan pada larva instar pertama dan dosis tersebut meningkat menjadi lebih besar dari 600 Gy saat diaplikasikan pada larva instar 3. Dória *et al.* (2007) melaporkan bahwa ketahanan perlakuan iradiasi paling tinggi terjadi pada larva instar 3 *C. capitata* yang diinvestasikan pada buah jambu biji dibandingkan larva instar pertama dan kedua, dan paling rentan pada telur. Oleh karena itu, dosis perlakuan iradiasi yang ditujukan untuk larva instar 3 tersebut sesuai digunakan untuk keperluan eradikasi dalam tindakan karantina buah terinvestasi lalat *B. carambolae* (Hallman & Loaharanu, 2002).

Kemampuan iradiasi sinar gamma dalam membunuh telur maupun larva lalat *B. carambolae* lebih jelas lagi ditunjukkan dengan dosis lethal yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Dosis letal iradiasi sinar gamma [^{60}Co] pada stadia telur dan larva instar 3 *B. carambolae* secara *in vitro* dan *in vivo*

Stadia	LD ₅₀ (Gy)		LD ₉₀ (Gy)		LD ₉₉ (Gy)	
	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>
Telur	71,2 (25,3-113,4)	82,7 (47,0-122,7)	474,3 (250,7-4014)	615,7 (313,0-4165)	2225,0 (704,9-169363,3)	3165,0 (961,9-112470,0)
Larva instar 3	158,1 (129,9-195,0)	334,3 (311,4-361,6)	698,3 (484,7-1254)	1156 (997,0-1373)	2343,0 (1295,0-6261,0)	3177,0 (2549,0-4113,0)

Hasil perlakuan iradiasi *in vitro* dan *in vivo*, menunjukkan bahwa dosis lethal yang dapat membunuh larva secara umum ditunjukkan dengan nilai LD₅₀, berturut-turut yaitu untuk telur berkisar 71,2 dan 82,7 dan larva berkisar 129,9 dan 311,4 Gy. Dosis iradiasi ini relatif lebih tinggi dibandingkan dosis yang diaplikasikan terhadap lalat *C. capitata* pada buah jambu biji dengan nilai LD₅₀ sebesar 103 Gy (Dória *et al.*, 2007).

Berdasarkan dokumen konvensi internasional standar penggunaan iradiasi terhadap keamanan buah dan sayuran, dinyatakan bahwa dosis minimum keamanan karantina sebesar 150 Gy merupakan dosis perlakuan iradiasi yang dapat diterima di Amerika Serikat untuk menghindari investasi serangga berkembang menjadi imago (ICGFI, 1991; 1999; USDA-APHIS, 2006). Dosis minimum iradiasi umumnya bervariasi bergantung pada jenis serangga dan buah yang terinfestasi. Sebagai contoh iradiasi larva instar 3 lalat buah *C. capitata* pada jeruk, pepaya, dan mangga berturut-turut memerlukan dosis minimum 40-200 Gy, 80-150 Gy, dan 100-225 Gy untuk menghindari pembentukan imago (Torres-Rivera & Hallman, 2007). Dosis efektif untuk tingkat keamanan karantina buah pada genus *Anastrepha* berkisar 50-60 Gy untuk buah mangga dan belimbing, genus *Bactrocera* berkisar 100-150 Gy dan 250 Gy untuk buah mangga dan pepaya, dan genus *Ceratitis* berkisar 100-150 Gy dan 218-500 Gy untuk buah mangga dan pepaya (Hallman & Loaharanu, 2002). Pada percobaan ini, nilai LD₅₀ telah memenuhi kriteria dosis minimum yaitu pada perlakuan larva instar 3 *in vitro*, sebaliknya pada perlakuan *in vivo* nilai LD₅₀ relatif lebih besar dari dosis minimum standar. Walaupun demikian, dosis perlakuan *in vivo* tersebut masih diharapkan efektif setelah keberhasilan stadia perkembangan serangga pasca iradiasi lebih lanjut diamati.

Perlakuan fitosanitari merupakan upaya keamanan karantina untuk mengeradikasi atau membebaskan organisme yang terinfestasi ke dalam bahan komoditas ekspor-impor. Untuk memenuhi kriteria tersebut, perlakuan iradiasi terhadap telur dan larva *-B.*

carambolae baik *in vitro* dan *in vivo* pada percobaan ini dinyatakan dengan nilai LD₉₀ berturut-turut berkisar 474,3-698,4 Gy dan 615-1156 Gy, dan nilai LD₉₉ berkisar 2225-2343 Gy dan 3165-3177 Gy (Tabel 2). Idealnya, iradiasi sinar gamma terhadap organisme yang akan dibebaskan menghendaki nilai probit 9 atau LD₉₉ untuk menentukan dosis yang menyebabkan kematian 99,68%, sehingga tidak satupun organisme sasaran dapat lolos hidup dari komoditas tersebut, walaupun demikian nilai LD₉₀ sering digunakan untuk menentukan dosis peracunan efektif dalam manajemen pengendalian organisme pengganggu tanaman (IPPC, 2003). Dória *et al.* (2007) melaporkan bahwa Nilai LD₉₀ perlakuan iradiasi terhadap larva instar 3 lalat buah *C. capitata* sebesar 1862 Gy. Kabbashi *et al.* (2012) menyatakan bahwa tingkat eradikasi (infestasi-zero) lalat *Ceratitis* spp. dan *Bactrocera* spp. untuk buah-buah pascapanen dicapai pada 2000 Gy. Nilai tersebut relatif masih tinggi dibandingkan perlakuan terhadap instar yang sama pada *B. carambolae*. Perlakuan dosis lethal berdasarkan nilai LD₉₀ dan LD₉₉ yang relatif tinggi seringkali menimbulkan kerusakan pada media perlakuan. Seperti contohnya, batas tingkat keamanan kerusakan terhadap mutu dan kualitas buah jambu biji dilaporkan sebesar 300 Gy (Reyes-Campos *et al.*, 2013) dan sayuran sebesar 1000 Gy (Mitcham, 1999). Oleh karena itu, penentuan dosis efektif fitosanitari diperlukan upaya toleransi penilaian bukan dari standar mortalitas akut, melainkan lebih

ditujukan kepada implikasi perlakuan iradiasi terhadap kegagalan perkembangan dan pertumbuhan serangga.

Pengaruh Iradiasi terhadap Perkembangan Pradewasa *B. carambolae*. Iradiasi sinar gamma *in vitro* dan *in vivo* terhadap telur dan larva *B. carambolae* berpengaruh terhadap kegagalan berganti kulit dan metamorfosis (Tabel 3). Pada perlakuan telur *in vitro*, dosis iradiasi yang menyebabkan kegagalan pembentukan pupa terendah terjadi pada 30 Gy yaitu mencapai 77,6%. Pada dosis 50-100 Gy, kegagalan pembentukan pupa meningkat hingga melebihi 90% dan pada dosis yang lebih tinggi lagi yaitu 125-600 Gy, tidak terbentuk pupa sama sekali. Kegagalan pembentukan pupa terendah juga dijumpai pada perlakuan *in vivo* yaitu 30 Gy, namun kerentanan terhadap iradiasi meningkat hingga kisaran 50-175 Gy dibandingkan perlakuan *in vivo*, dan kegagalan pembentukan pupa absolut terjadi pada dosis iradiasi 200-600 Gy. Menurut Thomas & Hallman (2011), pemaparan iradiasi seringkali berakibat terhadap perubahan perkembangan serangga termasuk ekdisis yang umumnya terjadi pada masa transisi, yaitu perubahan stadia larva ke pupa atau pupa ke imago. Semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan, maka keloloshidupan larva semakin rendah. Pemberian iradiasi dosis terendah 15 Gy dan tertinggi 30 Gy terhadap telur *A. ludens* menyebabkan kegagalan pembentukan pupa berturut-turut 65% hingga 81%.

Tabel 3. Pengaruh iradiasi sinar gamma [^{60}Co] pada stadia telur dan larva instar 3 *B. carambolae* terhadap kegagalan pembentukan pupa secara *in vitro* dan *in vivo*

Dosis (Gy)	Kegagalan pembentukan pupa \pm SD (%)			
	Perlakuan telur		Perlakuan larva instar 3	
	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>
0 (kontrol)	31,7 \pm 9,1 a	47,7 \pm 2,1 a	30,7 \pm 3,2 a	36,4 \pm 6,6 a
30	77,5 \pm 1,2 b	77,7 \pm 0,3 b	6,7 \pm 2,0 ab	7,4 \pm 4,9 ab
50	93,4 \pm 2,9 c	90,5 \pm 1,5 c	9,3 \pm 1,8 ab	11,8 \pm 3,5 ab
75	95,7 \pm 0,9 c	91,1 \pm 0,8 c	10,0 \pm 0,8 abc	10,9 \pm 10,5 ab
100	99,6 \pm 0,7 d	99,4 \pm 1,1 d	23,2 \pm 5,8 bcd	14,9 \pm 4,4 abc
125	100,0 \pm 0,0 d	97,5 \pm 4,3 d	27,6 \pm 13,7 bc	16,8 \pm 14,4 abc
150	100,0 \pm 0,0 d	100,0 \pm 0,0 d	27,6 \pm 5,0 bc	21,9 \pm 12,3 abc
175	100,0 \pm 0,0 d	96,9 \pm 2,8 d	25,6 \pm 4,7 bc	32,7 \pm 3,3 bcd
200	100,0 \pm 0,0 d	100,0 \pm 0,0 d	29,9 \pm 4,6 c	42,1 \pm 11,7 cde
300	100,0 \pm 0,0 d	100,0 \pm 0,0 d	52,9 \pm 1,2 d	60,2 \pm 24,2 de
450	100,0 \pm 0,0 d	100,0 \pm 0,0 d	76,9 \pm 0,6 e	64,8 \pm 5,7 e
600	100,0 \pm 0,0 d	100,0 \pm 0,0 d	96,7 \pm 0,6 f	71,1 \pm 0,5 e

Rata-rata persentase (data terkoreksi Abbott's formula, dilanjutkan dengan transformasi arcsin) yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan jenis perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey dengan taraf 5%.

Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pembentukan pupa relatif lebih lemah terhadap larva instar 3 ditunjukkan dengan kegagalan pembentukan pupa yang tidak mencapai 100% seperti terjadi pada telur (Tabel 3). Dosis terendah yang dapat dicapai untuk penghambatan pembentukan pupa di atas 50% terjadi pada 300 Gy pada kedua perlakuan *in vitro* maupun *in vivo*. Namun penghambatan yang melebihi 70% baru terjadi pada dosis 450 Gy pada perlakuan *in vitro* dan dosis tertinggi 600 Gy pada perlakuan *in vivo*. Perlakuan iradiasi sinar gamma terhadap penghambatan perkembangan imago pada nilai probit 9 semakin meningkat seiring dengan perkembangan stadia serangga, seperti misalnya pada telur, larva instar 1, dan larva instar 3 *B. latifrons* memerlukan dosis minimum berturut-turut 13,4; 17,5; dan 88,1 Gy (Follet *et al.*, 2011). Teknik artificial (*in vitro* dan *in vivo*) tidak menunjukkan perbedaan kegagalan pembentukan imago pada pemberian dosis 25 Gy berturut-turut sebesar 99 dan 98,5% (Hallman & Thomas, 2010).

Implikasi iradiasi sinar gamma juga berpengaruh pada keloloshidupan pupa untuk berkembang dan ganti kulit (eklosi) menjadi imago. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa seluruh dosis perlakuan iradiasi terhadap telur, termasuk dosis terendah 30 Gy nyata efektif dapat meng eradikasi lalat *B. carambolae* baik *in vitro* maupun *in vivo*, sedangkan pada perlakuan larva instar 3, dosis efektif eradikasi terjadi pada dosis 50 Gy (Tabel 4).

Thomas & Hallman (2011), melaporkan bahwa pemparan iradiasi pada dosis 30 Gy terhadap telur *Anastrepha ludens* mampu memberikan keloloshidupan imago sebesar 0,4%. Odai *et al.* (2014) melaporkan bahwa hasil uji konfirmasi probit 9 dinyatakan tidak ada satupun imago yang berhasil keluar dari pupa setelah larva instar 3 *B. invadens* dipaparkan dengan dosis iradiasi 68,5 Gy. Berdasarkan nilai penghambatan

99,9968% (probit 9) terhadap empat spesies lalat, dosis minimum 100 Gy untuk spesies lalat *A. ludens*, *A. oblique*, *A. serpentine*, dan 150 Gy terhadap *C. capitata* pada buah mangga, dan 150 Gy *B. latifrons* pada buah cabai paprika pascapanen direkomendasikan sebagai dosis generik terhadap pembebasan infestasi lalat (Bustos *et al.*, 2004). Seperti telah diuraikan di atas bahwa dosis minimum yang dianjurkan untuk keamanan karantina adalah 150 Gy (ICGFI, 1991; 1999; USDA-APHIS, 2006). Dosis yang diperoleh dari hasil percobaan ini sesuai dengan kebutuhan dosis generik untuk membebaskan imago lalat *B. carambolae* pada buah jambu biji, yaitu sebesar 50 Gy.

Pengaruh Iradiasi terhadap Morfologi Tubuh Lalat. Teknik iradiasi sinar gamma ini sangat sesuai digunakan untuk perlakuan karantina. Pada dosis yang relatif rendah, iradiasi telah menyebabkan penggelapan atau melanisasi integumen yang biasanya diikuti dengan abnormalitas morfologi tubuh dan kematian organisme hidup (Gambar 1).

Hasil percobaan iradiasi terhadap lalat *B. carambolae* menyebabkan penggelapan warna pada permukaan telur, larva, dan pupa, yaitu berubah menjadi cokelat dibandingkan kontrol yang tidak diberi iradiasi relatif berwarna putih kekuningan (Gambar 1A, B, C). Pupa yang lolos hidup dan dapat eklosi menjadi imago, namun hanya sebagian kepala atau tubuhnya saja yang menjorok keluar dari puparium (Gambar 1D). Bentuk tubuh imago yang berhasil eklosi seutuhnya dari pupa menjadi tidak sempurna, yaitu tampak bagian kepala, tungkai dan abdomen mengkerut dengan sayap keriput atau tidak membentang sempurna, dan beberapa saat setelah eklosi imago tersebut mati (Gambar 1D). Tingkat melanisasi akibat perlakuan iradiasi sinar gamma juga telah dilaporkan pada larva kumbang penggerek kacang hijau *Callosobruchus sinensis* (Supawan *et al.*, 2005)

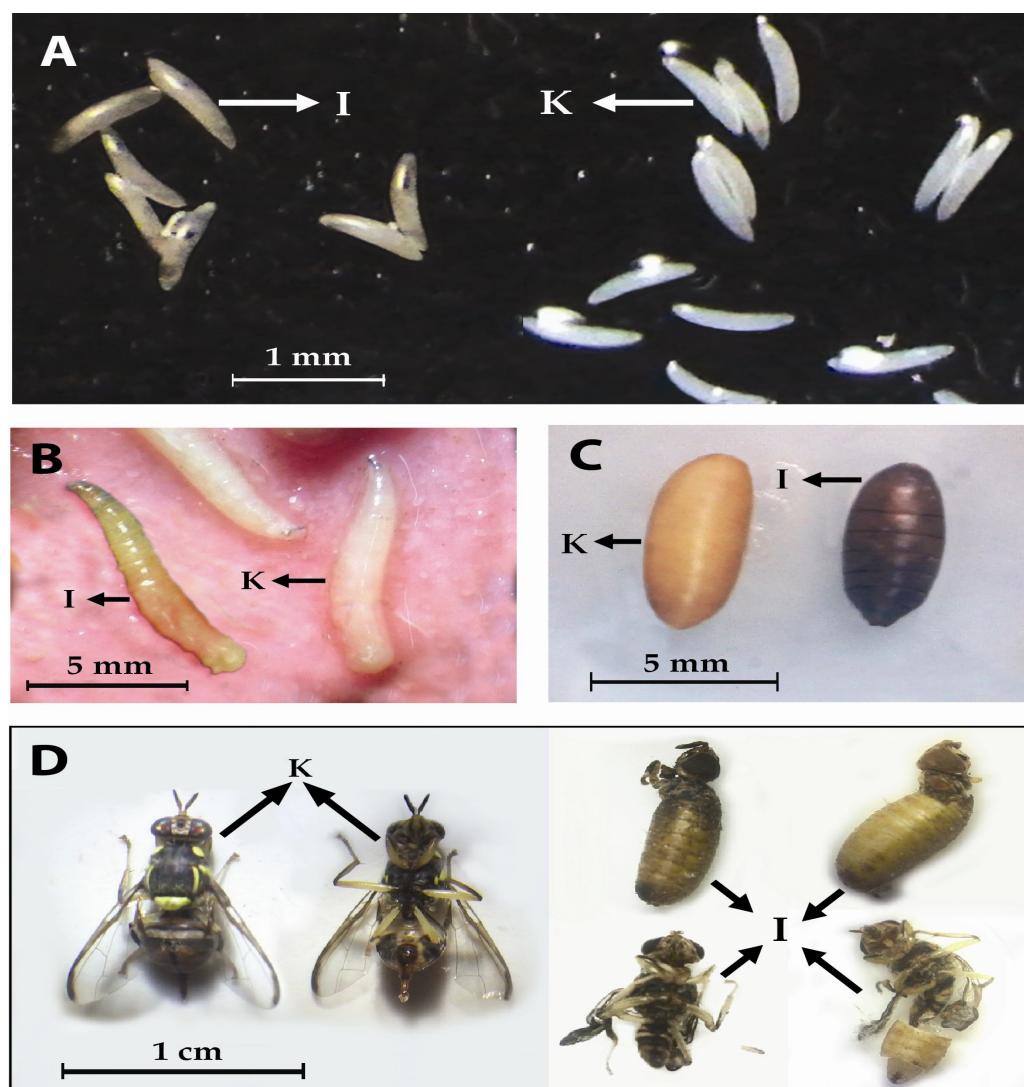
Tabel 4. Pengaruh iradiasi sinar gamma [^{60}Co] pada stadia telur dan larva instar 3 *B. carambolae* terhadap kegagalan pembentukan imago secara *in vitro* dan *in vivo*

Dosis (Gy)	Kegagalan pembentukan imago \pm SD (%)			
	Perlakuan telur		Perlakuan larva instar 3	
	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>	<i>In Vitro</i>	<i>In Vivo</i>
0 (kontrol)	32,7 \pm 0,0 a	52,0 \pm 1,8 a	28,3 \pm 1,5 a	37,0 \pm 0,4 a
30	100,0 \pm 0,0 b	100,0 \pm 0,0 b	98,1 \pm 0,8 b	98,8 \pm 1,6 b
50	100,0 \pm 0,0 b	100,0 \pm 0,0 b	100,0 \pm 0,0 b	100,0 \pm 0,0 b

Rata-rata persentase (data terkoreksi Abbott's formula, dilanjutkan dengan transformasi arcsin) yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan jenis perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey dengan taraf 5%.

dan telur serta larva lalat buah jambu *B. correcta* (Puanmanee *et al.*, 2010). Perlakuan iradiasi terhadap lalat buah *A. ludens* pada dosis rendah telah menyebabkan terhambatnya proses ekdisis dari larva ke pupa, yaitu hanya sampai terbentuk pupa kriptosepalik (larva berhasil metamorfosis dari larva ke pupa namun kepala belum berkembang masih invaginasi, bakal tungkai dan sayap terbentuk tetapi tidak menyatu dengan bagian toraks) atau pupa fanerosefalik (larva berhasil ekdisis, kepala pupa sudah terbentuk dan bakal tungkai dan sayap berkembang sempurna) (Hallman & Thomas, 2010; Thomas & Hallman, 2011). Apabila pupa berhasil eklosi menjadi imago, maka hanya sebagian tubuhnya saja yang mampu keluar dari puparium atau terbentuk imago, namun mati sebelum sayapnya membentang. Thomas & Hallman (2011), melaporkan

bahwa kinerja iradiasi terutama berawal pada penghambatan perkembangan otot larva saat proses metamorfosis bersamaan dengan hal tersebut terjadi penurunan kadar protein. Perlakuan iradiasi sinar gamma pada dosis 30 Gy menurunkan sepuluh kali lipat jumlah hemosit normal yang tidak diberi perlakuan iradiasi (Puanmanee *et al.*, 2010). Pengaruh iradiasi khususnya terjadi pada jaringan diakibatkan oleh adanya pemutusan DNA sel-sel organisme sasaran, sehingga terjadi ketidak-sempurnaan replikasi atau pembelahan sel (Crowder, 1986; Sardjono & Wibowo, 1987; Ferrier, 2010) Akibat lanjut dari kerusakan tersebut, sel kehilangan kemampuan untuk memperbanyak diri dan individu tidak mampu bertahan hidup. Perlakuan iradiasi sinar gamma sumber [^{60}Co] dosis 90 Gy terhadap stadium pra-dewasa lalat buah menyebabkan



Gambar 1. Perubahan morfologi lalat buah *B. carambolae* setelah perlakuan iradiasi. A = telur, B = larva instar 3, C = pupa, D = imago, I = perlakuan iradiasi, K = perlakuan kontrol (tanpa iradiasi)

abnormalitas bentuk organ sensori pada antenna dan sayap sehingga menyebabkan disorientasi perilaku kawin dan pencarian inang imago *B. zonata* (El-Akhdar & Afia, 2009) dan menyebabkan kerusakan sel germinal jaringan reproduksi imago jantan peach *B. carambolae* (Kuswadi, 2011). Perlakuan iradiasi dosis minimum terhadap lalat buah *B. carambolae* dapat memberikan keamanan tingkat sterilitas serangga yang lolos dari kematian akibat perlakuan radiasi.

SIMPULAN

Dosis lethal iradiasi sinar gamma [^{60}Co] terhadap mortalitas telur dan larva instar 3 *B. carambolae* secara *in vitro* dicapai pada nilai LD₅₀ berturut-turut sebesar 77,2 dan 158,1 Gy, dan LD₉₉ sebesar 2225 dan 2343 Gy, dan secara *in vivo* terjadi pada nilai LD₅₀ berturut-turut sebesar 82,7 dan 334,3 Gy, dan LD₉₉ sebesar 3165 dan 3177 Gy. Dosis minimum iradiasi sinar gamma [^{60}Co] sebesar 50 Gy termasuk dosis generik yang efektif meng eradikasi infestasi telur dan larva instar 3 *B. carambolae*. Iradiasi sinar gamma [^{60}Co] berimplikasi pada melanisasi integumen, abnormalitas morfologi tubuh imago dan kematian lalat *B. carambolae*.

SANWACANA

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Karantina Pertanian atas dukungan dana penelitian melalui biaya pendidikan SK Nomor 695/Kpts/KP.440/6/2014 tanggal 16 Juni 2014. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian atas masukan dan saran, serta Pusat Aplikasi Isotop Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional atas dukungan berupa fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Bustos ME, Enkerlin W, Reyes J, & Toledo J. 2004. Irradiation of mangoes as a postharvest quarantine treatment for fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 97(2): 286–292.
- [CAB International] Commonwealth Agricultural Bureau International. 2007. *Crop Protection Compendium* (CD-Rom). CAB International. Wallingford (UK).
- Crowder LV. 1986. Mutagenesis. In: Soetarso (Ed.). *Genetika Tumbuhan*. pp. 322–356. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Dória HOS, Albergaria NMMS, Arthur V, & de Bortoli SA. 2007. Effect of gamma radiation against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in guava fruits. *Bol. San. Veg. Plagas* 33(2): 285–288.
- El-Akhdar EAH & Afia YE. 2009. Functional ultrastructure of antennae, wings and their associated sensory receptors of peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) as influenced by the sterilizing dose of gamma irradiation. *J. Rad. Res. Appl. Sci.* 2(4): 797–817.
- Ferrier PA. 2010. Irradiation as a quarantine treatment. *Food Policy*. 35(6): 548–555.
- Finney DJ. 1971. *Probit Analysis 3rd Edition*. Cambridge University. Cambridge (UK).
- Follet PA, Phillips TW, Armstrong JW, & Moy JH. 2011. Generic phytosanitary radiation treatment for tephritid fruit flies provides quarantine security for *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 104(5): 1509–1513.
- Follet PA, Willink E, Gastaminza G, & Kairiyama E. 2008. Irradiation as an alternative quarantine treatment to control fruit flies in exported blueberries. *Rev. Ind. y Agric. de Tucuman* 85(2): 43–45.
- Hallman GJ. 2011. Phytosanitary applications of irradiation. *Comprehen. Rev. Food Sci. Food Saf.* (10): 143–151.
- Hallman GJ & Loaharanu P. 2002. Generic ionizing radiation quarantine treatments against fruit flies (Diptera: Tephritidae) proposed. *J. Econ. Entomol.* 95(5): 893–901.
- Hallman GJ & Thomas D. 2010. Ionizing radiation as a phytosanitary treatment against fruit flies (Diptera: Tephritidae): efficacy in naturally versus artificially infested fruit. *J. Econ. Entomol.* 103(4): 1129–1134.
- [ICGFI] International Consultative Group on Food Irradiation. 1991. Irradiation as a quarantine treatment of fresh fruits and vegetables. *ICGFI Document No. 13, International Atomic Energy Agency*. Vienna: Austria.
- [ICGFI] International Consultative Group on Food Irradiation. 1999. Enhancing food safety through irradiation. *ICGFI Document International Atomic Energy Agency*. Vienna: Austria.

- [IPPC] International Plant Protection Convention. 2003. International Standards for Phytosanitary Measures No.18: Guidelines for the Use of Irradiation as a Phytosanitary Measure. FAO. Rome.
- [IPPC] International Plant Protection Convention. 2008. Replacement or reduction of the use of methyl bromide as a phytosanitary measure. *Recommendation for the Implementation of the IPPC*. FAO. Rome.
- Kabbashi EEBM, Nasr OE, Musa SK, & Roshdi MAH. 2012. Use of gamma irradiation for disinfection of guava fruits flies *Ceratitis* spp. and *Bactrocera* sp. (Diptera: Tephritidae) in Khartoum State, Sudan. *Agri. Sci. Res. J.* 2(4): 177–182.
- Kapoor VC. 2005. Taxonomy and biology of economically important fruit flies of India. *Isr. J. Entomol.* 35-36(6): 459–475.
- Kuswadi AN. 2011. Kerusakan morfologis dan histologis organ reproduksi lalat buah *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) (Diptera; Tephritidae) jantan yang dimandulkan dengan iradiasi gamma. *J. Aplikasi Isotop Radiasi* 7(1): 1–9.
- Kuswadi AN, Nasution IA, Indarwatmi M, & Darmawi. 1999. Pembibitan massal lalat buah *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) dengan makanan buatan. Dalam: Pusat Studi Pengendalian Hayati Universitas Gadjah Mada (Ed.). *Panduan Seminar Nasional Pengendalian Hayati*. pp. 4–5 Yogyakarta, Indonesia. 12–13 Juli 1999.
- Lemos LDN, Adaime R, Barros CRDJ, & Deus EDG. 2014. New hosts of *Bactrocera carambolae* (Diptera: Tephritidae) in Brazil. *Fla. Entomol.* 97(2): 841–843.
- Mansour M & Franz G. 1996. Gamma radiation as a quarantine treatment for the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 89(5): 1175–1180.
- Mitcham B. 1999. *Irradiation as a Quarantine Treatment*. Perishables Handling Quarterly Issue. Department of Pomology UCD, Dublin August 1999.
- Odai BT, Wilson DD, Bah FBA, Torgby-Tetteh W, & Osae MY. 2014. Irradiation as a quarantine treatment against *Bactrocera invadens*, in *Mangifera indica*, L. in Ghana. *African J. Agric. Res.* 9(21): 1618–1622.
- Puanmanee K, Wongpiyasatid A, Sutantawong M, & Hormchan P. 2010. Gamma irradiation effect on guava fruit fly, *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 44: 830–836.
- Reyes-Campos R, Sandoval-Guillén J, Bustos-Griffin E, & Valdivia-López MaA. 2013. Irradiation effects on the chemical quality of guavas. [Abstract]. *Adv. J. Food Sci. Technol.* 5(2): 90–98.
- Sardjono & Wibowo D. 1987. *Mikrobiologi Pengelolaan Pangan*. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- SAS Institute. 2002. *SAS 9.1 TS Level 1 M3*. SAS Institute, Cary, NC.
- Siwi SS, Hidayat P, & Suputa. 2006. *Taksonomi dan Bioekologi Lalat Buah Penting di Indonesia (Diptera: Tephritidae)*. Laporan Kerjasama Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Biotehnologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Indonesia dan Department of Agriculture, Fisheries, and Forestry, Australia. Bogor.
- Supawan J, Hormchan P, Sutantawong M, & Wongpiyasatid A. 2005. Effects of gamma radiation on azuki bean weevil (*Callosobruchus chinensis* (L.)). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 38 :57–64.
- Thomas DB & Hallman GJ. 2011. Developmental arrest in Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) irradiated in grapefruit. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 104(6): 1367-1372. <http://dx.doi.org/> DOI: 10.1603/ANI1035. Diakses 24 Februari 2015.
- Torres-Rivera Z & Hallman GJ. 2007. Low-dose irradiation phytosanitary treatment against Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Fla. Entomol.* 90(2): 343–346.
- [USDA-APHIS] US Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection and Services. 2006. Treatments for Fruits and Vegetables. *Federal Register* 71: 4451–4464.