

## Viabilitas dan Infektivitas Formulasi Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* sebagai Biopestisida Pengendalian Telur Kepik Coklat *Riptortus linearis*

Yusmani Prayogo<sup>1</sup> dan Teguh Santoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian  
Jl. Raya Kendalpayak Km. 8. Kotak Pos 66 Malang 65101  
Email: manik\_galek@yahoo.com

<sup>2</sup>Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor  
Jl. Meranti, Kampus IPB, Dramaga Bogor

Naskah diterima 24 Oktober 2011 dan disetujui diterbitkan 14 Maret 2013

### **ABSTRACT. Viability and infectivity of Entomopathogenic Fungi *Lecanicillium lecanii* Formulation as Biopesticide to Control Eggs of Pod Sucking Bug *Riptortus linearis*.**

*Lecanicillium lecanii* fungus is an effective entomopathogenic fungus to control soybean pod sucking bug. The fungi is able to parasitize spore of pathogens that cause major diseases of soybean, such as rust, downy mildew, and powdery mildew. The study was aimed to determine the 12 formulations that can maintain spore viability and infectivity for 12 months. The formulations used talk, kaolin, sweet potato flour, cassava flour, rice flour, corn flour, soybean flour, mungbean flour, peanut flour, potato flour, molasses, peanut oil, and soybean oil based medium. Each medium was sterilized and mixed individually with conidia suspension of *L. lecanii* to form powder formulations that contained  $10^7$  conidia/ml. The spore viability and infectivity were tested after storing the formulations for twelve months. The result showed that viability and infectivity of spores in the formulation was lower with the longer period of storage. Viability of conidia in the formulation decreased to the lowest 20% after 12 months storage, especially that in peanut powder formulation. The spore viability in the cassava flour formulation was the highest (95%). Infectivity of the *L. lecanii* formulation using cassava flour to inhibit egg hatching of brown stink bug was 60% after 12 months storage. The viability and infectivity of *L. lecanii* spores in powder formulation was better than those in liquid formulations.

**Keywords:** *L. lecanii*, spore formulation, viability, infectivity, *Riptortus linearis* egg.

**ABSTRAK.** *Lecanicillium lecanii* merupakan cendawan entomopatogen yang efektif terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis*. Cendawan ini juga mampu memparasitasi beberapa spora patogen utama penyakit kedelai, yaitu karat daun, embun bulu, dan embun tepung. Penelitian dilakukan untuk memperoleh formulasi yang dapat mempertahankan viabilitas dan infektivitas spora *L. lecanii* setelah disimpan selama 12 bulan. Perlakuan adalah 12 formulasi spora dengan bahan pembawa yang talk, kaolin, tepung ubi jalar, tepung ubi kayu, tepung beras, tepung jagung, tepung kedelai, tepung kacang hijau, tepung kacang tanah, tepung kentang, molase, minyak kacang tanah, dan minyak kedelai. Masing-masing bahan disterilisasi secara terpisah, kemudian dicampur dengan suspensi konidia *L. lecanii* dan dikeringkan, sehingga terbentuk formulasi tepung yang mengandung  $10^7$  konidia/g formulasi. Formulasi disimpan dan diuji viabilitas dan infektivitas konidianya setiap bulan hingga 12 bulan. Hasil penelitian menunjukkan viabilitas dan infektivitas konidia *L. lecanii* semakin menurun dengan semakin lamanya formulasi disimpan. Viabilitas konidia menurun

hingga 20% setelah disimpan selama 12 bulan, terutama pada formulasi dengan tepung kacang tanah. Viabilitas konidia pada formulasi dengan tepung ubi kayu sangat tinggi, mencapai 95%. Setelah disimpan selama 12 bulan formulasi konidia masih mampu menggagalkan penetasan telur kepik coklat hingga 50%, bahkan pada formulasi dengan tepung ubi kayu mencapai 60%. Viabilitas dan infektivitas konidia *L. lecanii* dalam formulasi berbentuk tepung lebih baik daripada dalam formulasi cair.

**Kata kunci:** *L. lecanii*, formulasi, viabilitas, infektivitas, telur *R. linearis*.

**L***ecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimmermann) Zare & Gams merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang prospektif digunakan sebagai bioinsektisida untuk mengendalikan berbagai jenis hama, terutama dari kelompok ordo Homoptera, meliputi *Aphis gossypii* (Glover), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Brevibrevicoryne brassicae* (L.), *Aleurodiscus cocois* Curtis, dan *Myzus persicae* (Sulzer) (Kim *et al.* 2007). Hasil penelitian Prayogo (2009) menunjukkan bahwa cendawan *L. lecanii* juga efektif membunuh serangga hama kepik coklat mulai stadia telur, nimfa maupun imago. Sebanyak 80% telur kepik coklat yang terinfeksi cendawan *L. lecanii* tidak mampu menetas karena cendawan ini bersifat ovisidal (toksik terhadap telur). *L. lecanii* juga dapat digunakan sebagai agens pengendalian penyakit yang disebabkan oleh cendawan yang bersifat obligat, yaitu karat daun (*Phakopsora pachyrhizi*), downy mildew (*Peronospora manshurica*), dan powdery mildew (*Microspora diffusa*).

Peluang keberhasilan pengendalian kepik coklat dengan cendawan *L. lecanii* pada stadia telur lebih besar. Hal ini disebabkan karena telur tidak bergerak sehingga lebih mudah dibidik dan suspensi konidia cendawan yang diaplikasikan berhasil mengenai sasaran, dibandingkan dengan pengendalian pada stadia nimfa dan imago yang memiliki mobilitas sangat tinggi. Stadia telur belum merusak polong dan biji kedelai. Saat ini

belum ditemukan senyawa insektisida yang bersifat ovisidal terhadap telur kepik coklat. Selain itu, waktu aplikasi dapat dipastikan karena telur kepik coklat umumnya diletakkan pada organ tanaman kedelai ketika tanaman menjelang berbunga. Oleh karena itu, *L. lecanii* prospektif dikembangkan sebagai salah satu bioinsektisida untuk pengendalian telur kepik coklat.

Pengembangan bioinsektisida dari cendawan entomopatogen dalam skala luas memerlukan produksi secara massal dengan teknik formulasi yang tepat agar produk yang dihasilkan memiliki viabilitas dan infektivitas yang tetap stabil apabila diaplikasikan di lapangan. Menurut Kumar *et al.* (2005), jenis formulasi yang tepat menentukan viabilitas dan efikasi dari cendawan entomopatogen sebagai bioinsektisida. Selain itu, jenis formulasi media yang sesuai dan tepat dapat mempertahankan viabilitas dan efikasi bioinsektisida dalam rentang waktu yang lebih lama (Verhaar *et al.* 2004). Tujuan utama dari formulasi bioinsektisida adalah untuk mempertahankan mikroorganisme sebagai bahan aktif tetap hidup, baik dalam keadaan dorman maupun aktif tumbuh, memanipulasi kondisi untuk produksi formula secara besar-besaran dan proses pengiriman, memelihara aktivitas organisme yang diintroduksi, dan menekan pertumbuhan kontaminan yang potensial.

Derakshan *et al.* (2008a) mengemukakan bahwa stabilitas efikasi formulasi agens hayati dapat dipertahankan apabila bahan formula yang digunakan mengandung cukup nutrisi dan bahan pembawa. Formulasi bioinsektisida yang umum digunakan adalah dalam bentuk cair (*liquid*) dan tepung (*powder*). Pada perkembangan lebih lanjut, formulasi cendawan entomopatogen cukup bervariasi, baik dalam bentuk cair, butiran, maupun tepung (Daoust *et al.* 2004; Samodra and Ibrahim 2006). Hasil penelitian Derakshan *et al.* (2008a) menunjukkan bahwa formulasi cair menggunakan bahan tetes tebu (*molase*) mampu mempertahankan viabilitas cendawan *L. lecanii* di atas 88% setelah disimpan 12 bulan. Sementara itu, formulasi konidia dalam bentuk tepung (*powder*) yang dicampur dengan talk, tepung tapioka, dan kaolin mampu mempertahankan viabilitas cendawan *Metarhizium anisopliae* di atas 80% setelah 7 bulan dalam penyimpanan (Samodra and Ibrahim 2006). Batta (2003) melaporkan bahwa formulasi konidia *M. anisopliae* dengan minyak kelapa dan minyak kedelai dapat mempertahankan viabilitas cendawan lebih dari 30 bulan.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tingkat viabilitas dan infektivitas berbagai jenis formulasi cendawan entomopatogen *L. lecanii* setelah disimpan 12 bulan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium entomologi Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi), Malang, mulai dari bulan Januari sampai Desember 2010. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 12 perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan adalah formulasi konidia cendawan *L. lecanii* pada 12 jenis bahan pembawa, yaitu (1) talk, (2) kaolin, (3) tepung ubi jalar, (4) tepung ubi kayu, (5) tepung beras, (6) tepung jagung, (7) tepung kedelai, (8) tepung kacang hijau, (9) tepung kacang tanah, (10) molase, (11) minyak kacang tanah, dan (12) minyak kedelai.

### Pembuatan Formulasi Cendawan *L. lecanii*

Isolat cendawan *L. lecanii* yang digunakan adalah LI-JTM11 yang memiliki virulensi tertinggi dari hasil eksplorasi pada tahun 2009 (Prayogo 2009). Isolat cendawan LI-JTM11 diperbanyak dengan menumbuhkan pada media PDA (*potato dextrose agar*) dengan komposisi (200:20:1000) di dalam tabung *Erlenmeyer*. Masing-masing tabung *Erlenmeyer* yang berisi media diinokulasi dengan suspensi konidia *L. lecanii* sebanyak 10 ml yang mengandung kerapatan konidia  $10^6$ /ml. Setiap hari masing-masing tabung *Erlenmeyer* dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 15 rpm/jam selama 21 hari.

Pada umur 21 hari setelah inokulasi (HSI), biakan cendawan di dalam *Erlenmeyer* diambil sepertiga bagian atas dan disisakan dua pertiga bagian bawah, yaitu bagian supernatan yang mengandung kumpulan konidia *L. lecanii*. Kumpulan konidia *L. lecanii* dicampur dengan masing-masing tepung sebagai perlakuan kemudian dikeringkan di dalam *laminair flow cabinet* 24 jam sehingga membentuk *powder*. Formulasi minyak nabati yang digunakan juga dicampur dengan suspensi konidia *L. lecanii* dalam bentuk cair. Tepung dan minyak sebagai bahan perlakuan sebelumnya disterilisasi di dalam *autoclave* selama 30 menit pada temperatur  $121^\circ\text{C}$ . Setiap dua gram formulasi tepung atau dua ml minyak nabati masing-masing perlakuan apabila diencerkan dengan air 1.000 ml mengandung konidia *L. lecanii*  $10^7$ /ml. Masing-masing perlakuan dimasukkan ke dalam botol secara aseptik di dalam *laminair flow cabinet*, selanjutnya disimpan pada suhu kamar ( $27^\circ\text{C}$ ).

### Pengembangbiakan Serangga Uji

Serangga kepik coklat *Riptortus linearis* dipelihara untuk mendapatkan kelompok telur yang digunakan sebagai unit percobaan. Imago dan nimfa kepik coklat diperoleh dari pertanaman kedelai di KP Kendalpayak, Malang.

Nimfa dan imago kepik coklat yang sudah dikumpulkan kemudian dimasukkan ke dalam sangkar berupa kerangka besi dengan tinggi 40 cm dan diameter 30 cm yang disungkup kain kasa. Serangga diberi pakan kacang panjang yang sudah membentuk polong, setiap dua hari pakan diganti dengan kacang baru yang masih segar. Pemeliharaan serangga uji dilakukan hingga memperoleh telur minimal 4.000 butir/hari. Telur kepik coklat yang baru diletakkan imago dikumpulkan, kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri berdiameter 18 cm, 100 butir/cawan. Telur-telur yang ada di dalam cawan merupakan unit percobaan yang sudah siap untuk diaplikasi dengan masing-masing perlakuan.

#### Uji Viabilitas Formulasi *L. lecanii*

Viabilitas konidia cendawan *L. lecanii* diuji setiap bulan dengan mengkulturkan konidia yang sudah terformulasi ke dalam media biakan PDA di dalam cawan Petri. Formulasi dalam bentuk tepung diambil 2 g, sedangkan formulasi cair diambil 2 ml, kemudian diencerkan dengan air sebanyak 1.000 ml, dikocok menggunakan *shaker* selama 30 detik, selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan Petri steril. Setiap cawan diisi 1 ml suspensi konidia, kemudian ditambah dengan media PDA 10 ml. Cawan diputar-putar di atas meja *laminar flow cabinet* agar suspensi konidia bercampur homogen dengan media biakan. Semua perlakuan disimpan pada suhu ruang dan didiamkan selama 4 hari. Viabilitas konidia dalam formulasi diuji setiap bulan dengan mengamati jumlah koloni *L. lecanii* yang tumbuh.

#### Uji Infektivitas Formulasi *L. lecanii*

Infektivitas dari masing-masing formulasi konidia *L. lecanii* diuji dengan mengaplikasikan setiap formulasi pada kelompok telur kepik coklat yang baru diletakkan imago berdasarkan metode yang dikembangkan Prayogo (2009). Masing-masing formulasi sebagai perlakuan dicampur dengan 2 g/l air kemudian diaplikasikan pada telur kepik coklat yang berumur 1 hari (100 butir/perlakuan/ulangan) yang diletakkan di dalam cawan Petri berdiameter 18 cm. Dosis 2 ml/100 butir telur diaplikasikan dengan cara menyemprotkan pada seluruh permukaan telur. Dasar cawan dilapisi kertas tisu yang dilembabkan dengan air steril. Kelembaban kertas tisu di dalam cawan di atas 80% setiap hari. Dalam setiap cawan Petri diisi potongan kacang panjang segar yang sudah berbiji sebagai pakan nimfa kepik coklat yang sudah menetas dari telur setelah disemprot dengan masing-masing formulasi. Uji infektivitas setiap formulasi cendawan dilakukan setiap bulan. Variabel yang diamati adalah jumlah telur yang

tidak menetas setelah diaplikasi dengan formulasi *L. lecanii* yang dihitung mulai saat aplikasi sampai dengan umur 10 hari, waktu penetasan telur kepik coklat, dan jumlah nimfa II kepik coklat yang mampu hidup.

Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam menggunakan program MINITAB versi 14. Perbedaan antarperlakuan diidentifikasi dengan uji jarak berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf nyata 0,05.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Viabilitas Formulasi *L. lecanii*

Viabilitas cendawan entomopatogen menggambarkan kemampuan daya tumbuh konidia sebelum diaplikasikan ke serangga inang. Cendawan entomopatogen yang sudah diformulasikan ke dalam berbagai bahan formula dapat diketahui daya viabilitasnya setiap bulan dari jumlah konidia yang mampu membentuk tabung kecambah (*germ tube*) atau konidia yang tumbuh membentuk koloni jika konidia ditumbuhkan di dalam media biakan. Formulasi cendawan *L. lecanii* yang disimpan selama satu bulan, viabilitasnya belum mengalami penurunan yang mencolok. Viabilitas formulasi *L. lecanii* tertinggi dicapai oleh perlakuan formula tepung ubijalar dan tepung ubi kayu, yaitu 98% (Tabel 1). Namun kedua perlakuan tidak berbeda nyata dengan formulasi *L. lecanii* dalam molase (97%), talk (95%), kaolin (94%), tepung beras (93%), tepung jagung (95%), tepung kedelai (95%), dan tepung kacang hijau (95%).

Formulasi *L. lecanii* yang sudah tersimpan selama dua bulan juga terus mengalami penurunan viabilitas meskipun hanya di bawah 5%. Viabilitas formulasi *L. lecanii* tertinggi dicapai oleh formula yang berasal dari tepung ubi kayu (98%), diikuti oleh formula talk, ubi jalar, tepung beras, tepung jagung, tepung kedelai, tepung kacang tanah, dan molase berturut-turut 92%; 92%; 92%; 94%; 93%; 94% dan 93%. Viabilitas formulasi cendawan *L. lecanii* yang disimpan selama tiga bulan hampir sama dengan yang disimpan dua bulan karena hanya mengalami penurunan 6%.

Semakin lama formulasi cendawan disimpan semakin menurun viabilitasnya. Viabilitas formulasi cendawan *L. lecanii* yang sudah disimpan lima bulan masih tergolong cukup tinggi karena masih di atas 80%. Viabilitas konidia cendawan *L. lecanii* tertinggi terjadi pada formulasi tepung ubi kayu, yaitu 97%, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan formulasi talk dan tepung ubi jalar. Penyimpanan formulasi *L. lecanii* dalam tepung ubi kayu hingga 12 bulan masih memiliki

Tabel 1. Viabilitas konidia *L. lecanii* pada berbagai jenis formula setelah disimpan selama 12 bulan

Perlakuan	Viabilitas konidia <i>L. lecanii</i> setelah disimpan pada bulan ke...n (%) *											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Talk	95 ab	92 abc	88 bc	90 ab	90 ab	92 ab	91 ab	89 bc	88 bc	85 bc	85 bcd	81 cd
Kaolin	94 ab	91 bc	92 abc	89 ab	88 b	88 cde	88cde	86 def	86 bcde	84 bcd	84 bcde	84 bc
Tepung ubi jalar	98 a	92 abc	92 abc	88 ab	86 b	86 efg	86 efg	86 def	87 bcd	85 bc	83 bcde	84 bc
Tepung ubi kayu	98 a	98 a	96 a	96 ab	97 a	96 a	96 a	96 a	96 a	95 a	96 a	95 a
Tepung beras	93 b	92 abc	91 abc	90 ab	88 b	86 ef	85 ef	85 def	84 ef	82 cd	82 cde	81 cd
Tepung jagung	95 ab	94 abc	92 abc	91 ab	89 ab	87 def	87 def	87 de	88 bc	85 bcd	83 bcde	83 cd
Tepung kedelai	95 ab	93 abc	92 abc	91 ab	89 b	90 bcd	90 bcd	88 bcd	86 bcde	87 b	80 e	80 cd
Tepung k. hijau	95 ab	94 ab	89 abc	87 ab	85 b	91 bc	90 bcd	91 b	88 b	87 b	86 b	87 b
Tepung k. tanah	93 b	93 abc	91 abc	87 ab	87 b	82 g	81 g	83 fg	84 ef	81 d	80 e	79 d
Molase	97 a	94 ab	95 ab	91 ab	86 b	85 efg	85 efg	86 def	85 cde	87 b	86 bc	83 bc
Minyak k. tanah	92 b	88 c	86 c	85 b	84 b	84 fg	84 fg	84 efg	84 def	83 bcd	84 bcde	83 bc
Minyak kedelai	93 b	91 bc	90 abc	90 ab	86 b	84 fg	84 fg	82 g	82 f	82 cd	81 de	81 cd
LSD (0,05)	4,51	6,05	7,02	9,05	8,52	3,65	3,88	3,25	2,79	3,84	2,99	4,03

\* Data ditransformasi ke arc sin  $\sqrt{x}$  sebelum uji sidik ragam. Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji DMRT,  $\alpha = 0.05$ ).

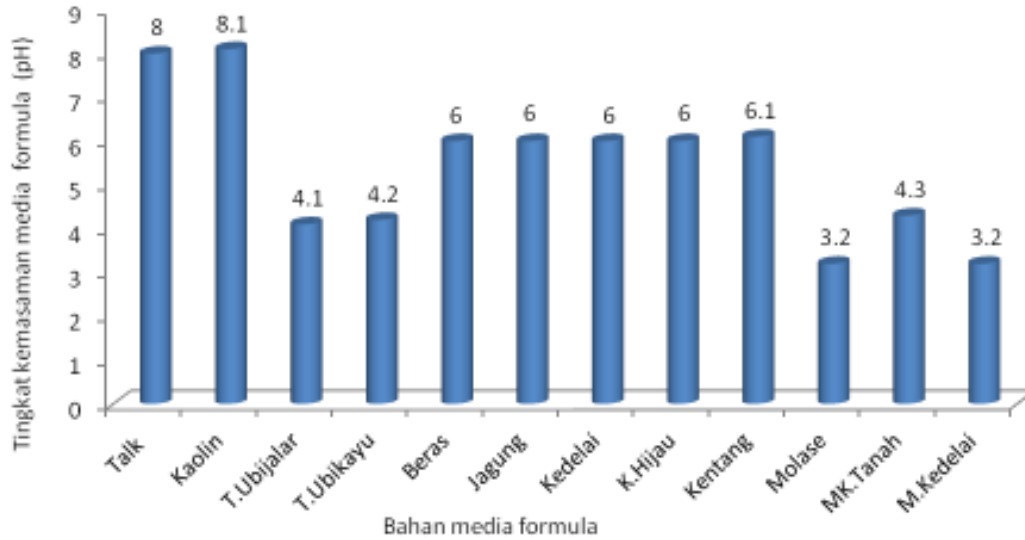
kemampuan yang baik dalam melindungi dan mempertahankan konidia, viabilitasnya masih di atas 95%.

Setelah 12 bulan penyimpanan, viabilitas formulasi cendawan *L. lecanii* terendah terjadi pada perlakuan formula tepung kacang tanah, yaitu 79%. Formulasi dari bahan lain memiliki viabilitas yang lebih tinggi dari formula tepung kacang tanah, tetapi lebih rendah daripada formula tepung ubi kayu. Kerusakan konidia cendawan entomopatogen yang disimpan di dalam formulasi biasanya terjadi pada struktur dinding konidia, yaitu lisis, sehingga isi sel mengalami dehidrasi.

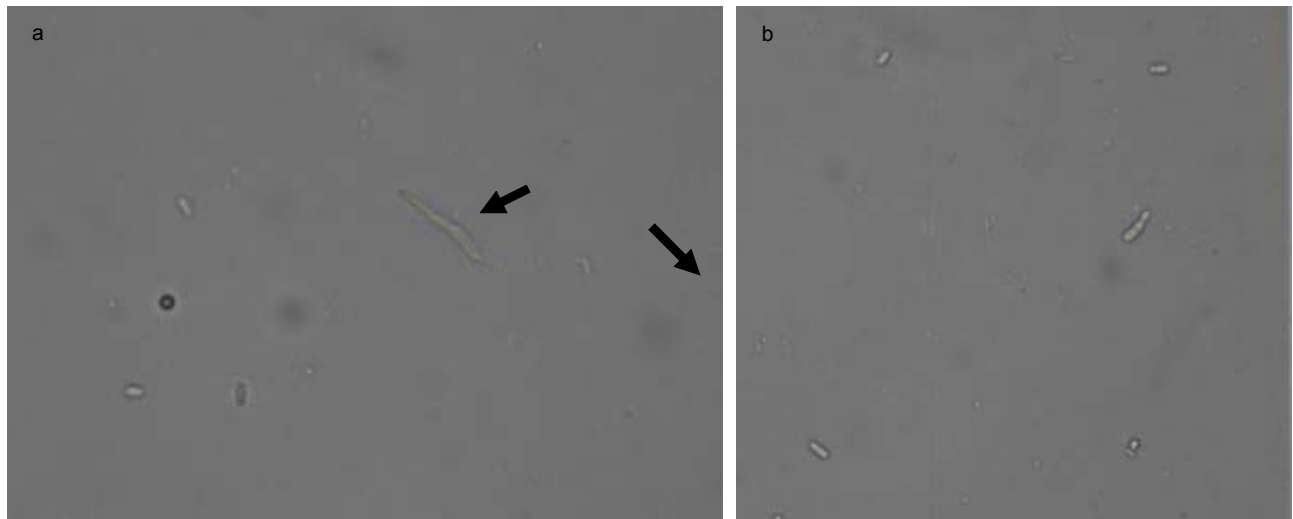
Formula media yang berasal dari tepung ubi kayu lebih baik dibandingkan dengan formula yang lain. Diduga salah satu penyebab penurunan viabilitas cendawan setelah disimpan berkaitan dengan kandungan pH masing-masing formula. Kandungan pH tepung ubi kayu agak masam dibandingkan dengan pH talk, kaolin, tepung beras, tepung jagung, tepung kedelai, tepung kacang hijau, dan tepung kacang tanah (Gambar 1). Namun tidak setiap formula yang memiliki pH rendah berkorelasi positif terhadap viabilitas cendawan dalam proses penyimpanan. Fenomena ini terjadi pada pH perlakuan molase, minyak kedelai, dan minyak kacang tanah yang memiliki viabilitas lebih rendah dibandingkan dengan formula dari tepung. Namun viabilitas konidia cendawan lebih rendah setelah dikulturkan pada media tumbuh. Keadaan ini diduga karena pada formula cair banyak konidia cendawan yang sudah membentuk tabung kecambah, sehingga pada waktu dikulturkan di media tumbuh sudah kehilangan viabilitas.

Formulasi cendawan *L. lecanii* pada media yang memiliki pH  $\geq 4$ , setelah diuji viabilitas konidianya, lebih rendah dibandingkan dengan formula yang memiliki kandungan pH lebih rendah. Hasil penelitian ini mendukung penelitian Wes-Watson dan Schal (2002) bahwa pH 4 cukup baik untuk mempertahankan perkecambahan konidia cendawan entomopatogen sebagai agens biologis. Chavao dan Kadam (2010) melaporkan adanya indikasi *L. lecanii* yang terformulasi di media yang mengandung gliserol dan minyak kacang tanah dengan pH rendah memiliki daya perkecambahan konidia yang lebih tinggi dibandingkan dengan pH yang agak basa. Liu *et al.* (2003) menyatakan bahwa pH 4 sangat sesuai untuk meningkatkan produksi enzim kitinase bagi cendawan *V. lecanii*. Enzim kitinase tersebut diperlukan dalam proses pendegradasi struktur inang pada waktu proses penetrasi sel inang (Ramirez-Coutino *et al.* 2006). Oleh karena itu, pemilihan jenis bahan formula yang akan digunakan dalam memformulasi cendawan entomopatogen menentukan eksistensi konidia yang menjadi organ infeksi untuk pengendalian hama.

Formulasi *L. lecanii* yang viabilitasnya rendah pada formulasi tepung kacang tanah dan tepung kacang hijau setelah diinkubasi di dalam air selama 10 jam belum menunjukkan indikasi terbentuknya tabung kecambah (Gambar 2). Bahkan konidia yang diinkubasi hingga 24 jam belum menampakkan tanda-tanda berkecambah. Dengan demikian, konidia tersebut akan mati apabila diaplikasikan di lapangan. Hasil penelitian ini berbeda dengan laporan Silva *et al.* (2006) yang mengindikasikan bahwa cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, dan *Paecilomyces* sp. yang



Gambar 1. Tingkat kemasaman (pH) beberapa formula konidia *L. lecanii*.



Gambar 2. Konidia *L. lecanii* dalam formulasi tepung ubi kayu yang membentuk tabung kecambah setelah diinkubasi di dalam air selama 10 jam (a) dan konidia *L. lecanii* pada formuasi tepung kacang hijau (b).

diformulasikan dengan minyak nabati memiliki viabilitas lebih baik dibandingkan dengan formula dalam bentuk tepung yang berasal dari bahan alami. Hal ini disebabkan karena minyak nabati banyak mengandung gliserol sehingga senyawa tersebut mampu melindungi struktur konidia dari faktor lingkungan yang kurang mendukung, khususnya desikasi apabila formulasi cendawan entomopatogen tersebut diaplikasikan di lapangan (Ganga-Visalakshy *et al.* 2005, Rangel *et al.* 2008). Oleh karena itu, formulasi yang tepat diperlukan untuk mempertahankan viabilitas konidia sebagai agens hayati

untuk disimpan dalam rentang waktu yang lama seperti yang dikatakan Consolo *et al.* (2003). Formulasi agens hayati yang tepat menurut Patel *et al.* (2002) dan Leland *et al.* (2004) memiliki beberapa kelebihan, antara lain: (1) dapat mempertahankan stabilitas agens (konidia) selama penyimpanan maupun pendistribusian, (2) meningkatkan persistensi agens di lapangan, (3) mempermudah aplikasi produk tersebut di lapangan, (4) melindungi agens dari faktor lingkungan yang kurang mendukung, dan (5) menambah aktivitas agens pada target inang.

**Infektivitas Formulasi *L. lecanii* pada Telur Kepik Coklat**

Infektivitas cendawan *L. lecanii* yang sudah diformulasikan dapat diketahui dengan cara uji aplikasi suspensi konidia cendawan tersebut yang sudah diencerkan dengan air pada sekelompok telur kepik coklat yang baru diletakkan imago. Infektivitas formulasi *L. lecanii* setelah disimpan selama satu bulan cukup tinggi, karena jumlah telur kepik coklat yang tidak menetas di atas 80% (Tabel 2). Infektivitas cendawan semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Fenomena ini terjadi pada semua jenis

formula yang diuji, kecuali formula yang berasal dari tepung ubi kayu yang memiliki infektivitas agak stabil.

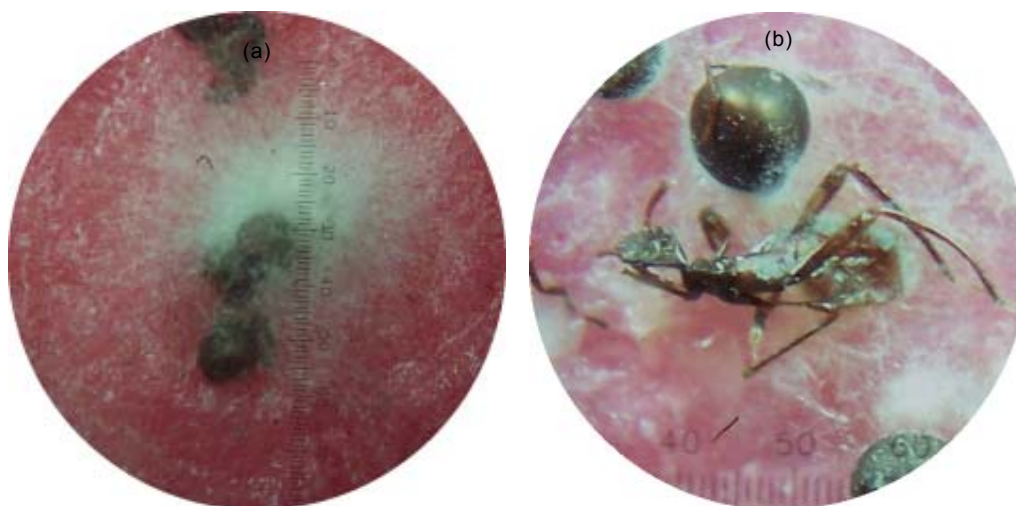
Telur kepik coklat yang diaplikasi dengan suspensi formulasi cendawan *L. lecanii* ditandai oleh kolonisasi miselium cendawan yang berwarna putih dan telur akhirnya tidak dapat menetas (Gambar 3a). Telur kepik coklat yang berhasil menetas setelah terinfeksi *L. lecanii* dan berkembang menjadi nimfa I, tidak dapat berkembang menjadi nimfa II (Gambar 3b) karena cendawan menginfeksi embrio di dalam telur. Cendawan *L. lecanii* yang diformulasi dalam tepung ubi kayu selama 11 bulan simpan masih mampu

Tabel 2. Persentase telur kepik coklat yang tidak menetas setelah terinfeksi formulasi cendawan *L. lecanii* yang tersimpan 12 bulan

Perlakuan	Telur kepik coklat yang tidak menetas setelah terinfeksi formulasi <i>L. lecanii</i> yang disimpan pada bulan ke.....n (%) *											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Talk	74 bcd	64 def	53 d	50 fgh	48 e	50 ef	50 ef	49 b	47 e	45 f	43 fg	43 fg
Kaolin	75 bcd	66 cdef	66 ab	60 cde	60 ab	60 b	60 b	61 a	60 a	57 cd	56 ab	56 ab
Tepung ubi jalar	78 ab	74 abc	73 a	73 a	60 ab	59 b	60 b	57 abc	61 a	58 bcd	55 abc	55 abc
Tepung ubi kayu	80 a	72 abcd	72 a	64 bcd	61 a	67 a	67 a	61 a	62 a	64 a	60 a	60 a
Tepung beras	74 bcd	69 bcde	61 bc	54 ef	54 bc	54 cde	53 cde	54 bc	54 b	60 abc	48 de	47 de
Tepung jagung	73 cd	72 abcd	69 a	54 efg	56 ab	53 de	52 de	52 cd	50 cde	54 de	45 ef	45 ef
Tepung kedelai	72 d	59 f	46 e	46 gh	41 d	47 f	47 f	43 e	40 f	37 g	38 g	37 g
Tepung k. hijau	75 bcd	61 ef	45 e	45 h	58 ab	57 b	58 b	58 ab	48 de	45 f	48 def	47 de
Tepung kentang	80 a	76 ab	73 a	67 abc	55 ab	56 bcd	56 bcd	53 cd	53 bc	52 e	50 cde	50 cde
Molase (t. tebu)	80 a	79 a	58 cd	59 de	55 ab	54 cde	53 cde	57 abc	52 bc	49 ef	49 def	49 def
Minyak k. tanah	78 ab	65 def	58 cd	58 de	56 ab	57 bc	57 bc	53 cd	51 bcd	53 de	51 bcd	51 bcd
Minyak kedelai	76 abc	73 a	68 ab	68 ab	57 ab	59 b	59 b	59 ab	52 bc	54 de	50 de	50 de
LSD (0,05)	4,1	8,4	7,1	8,2	6,3	4,9	4,9	5,0	3,7	5,2	5,2	5,2

\*Data ditransformasi ke arc sin  $\sqrt{x}$  sebelum uji sidik ragam.

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji DMRT,  $\alpha = 0.05$ ).



Gambar 3. Telur kepik coklat yang terinfeksi *L. lecanii* dan tidak menetas (a) dan nimfa I kepik coklat yang tidak dapat berganti kulit (*moulting*) membentuk nimfa II (b) akibat infeksi *L. lecanii*.

menggagalkan penetasan telur kepik coklat hingga di atas 60%. Jumlah telur kepik coklat yang tidak menetas akibat infeksi *L. lecanii* yang terformulasi dalam tepung ubi kayu, lebih banyak dibandingkan dengan efikasi cendawan *L. lecanii* yang baru diperoleh dari lapangan (Prayogo 2009). Keadaan tersebut diduga karena isolat yang diperoleh dari lapangan masih dipengaruhi oleh berbagai cekaman, antara lain pengaruh residu kimiawi dari sistem budi daya tanaman dan senyawa metabolit sekunder tanaman (Klingen *et al.* 2002, Sudirman *et al.* 2008).

Tingkat efikasi, desikasi, toleransi maupun persistensi konidia cendawan entomopatogen sebagai agens hayati di lapangan tidak hanya dipengaruhi oleh bahan maupun jenis formulasi yang digunakan, tetapi berkaitan dengan komposisi kandungan nutrisi pada media yang digunakan dalam perbanyakannya sebelum konidia tersebut diformulasikan (Lakshmi *et al.* 2001). Menurut Soundarapandian dan Chandra (2007), viabilitas dan infektivitas konidia yang sudah diformulasikan tidak hanya ditentukan oleh jenis bahan formula yang digunakan namun juga dipengaruhi oleh bahan pembawa dalam proses penyimpanan.

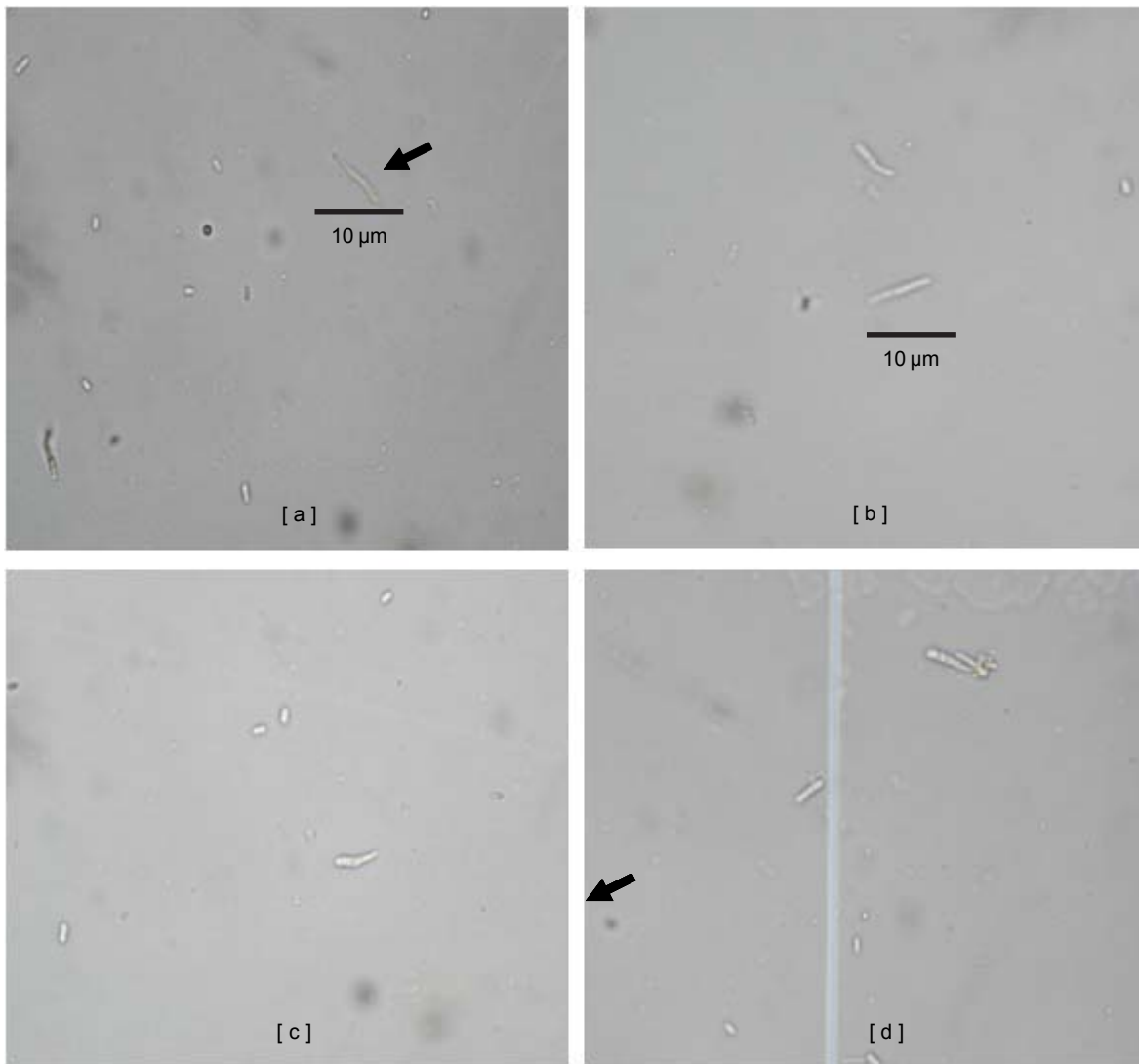
Secara umum, viabilitas berkorelasi positif dengan tingkat infektivitas cendawan. Kondisi ini juga dapat dilihat pada viabilitas formulasi *L. lecanii* dalam tepung ubi kayu yang lebih besar dan mampu menggagalkan penetasan telur kepik coklat selama pengujian. Namun terdapat beberapa kenyataan yang agak berbeda dari hasil penelitian ini, yaitu formula jagung yang memiliki viabilitas tinggi memiliki daya infektivitas lebih rendah dibandingkan dengan formula ubi kayu. Sebaliknya, pada formula molase yang memiliki viabilitas lebih rendah mampu menghasilkan daya infektivitas yang lebih tinggi. Hal ini diduga disebabkan oleh pengaruh senyawa enzim yang dihasilkan konidia cendawan pada saat proses pembentukan kecambah. Cendawan *L. lecanii* memproduksi dua senyawa metabolit, yaitu *dipicolonic acid* dan *cyclodepsipeptide* (Cloyd 2003, Lu *et al.* 2005). Pada proses tersebut senyawa mukopolisakarida memegang peranan penting dalam proses proliferasi konidia. Proses selanjutnya adalah cendawan melakukan penetrasi dan menembus integumen, cendawan membentuk tabung kecambah (*appressorium*) (Bye & Charnley 2007). Penembusan dilakukan secara mekanis atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim dan toksin (Isaka *et al.* 2005; Murakoshi 2005). Cendawan *L. lecanii* mampu memproduksi beberapa jenis enzim, meliputi protease, lipase, dan kitinase yang digunakan untuk mendegradasi struktur dinding sel inang yang tersusun dari protein, lemak, karbohidrat, dan kitin.

Pembentukan tabung kecambah konidia pada formula tepung jagung lebih cepat terjadi dan lebih panjang jika diinkubasi di dalam air dibandingkan dengan formula lain (Gambar 4). Hal ini dapat dilihat dari panjangnya perkecambahan konidia yang dapat berkembang hampir membentuk hifa. Diduga senyawa enzim pada konidia sudah banyak yang tereskplotasi pada waktu pembentukan tabung kecambah, sehingga jumlahnya berkurang dan mengakibatkan cendawan akan kesulitan melakukan penetrasi dan menembus lapisan korion telur. Sebaliknya, pada formulasi molase dengan daya kecambah yang rendah diduga sebagian besar konidia belum berkecambah, sedangkan pada saat konidia diaplikasikan dan menempel di permukaan korion telur, maka konidia berkecambah dan selanjutnya melakukan penetrasi. Oleh karena itu, perlakuan formula molase memiliki daya infektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula tepung jagung. Untuk mengatasi kondisi tersebut maka daya infektivitas formula jagung dapat dipertahankan dengan mempersingkat waktu pencampuran formula dengan air sebelum diaplikasikan ke serangga hama.

Menurut Safavi *et al.* (2007), cendawan entomopatogen membutuhkan media tumbuh maupun bahan pembawa dengan kandungan gula yang tinggi selain protein. Media dengan kadar gula yang tinggi akan meningkatkan virulensi cendawan entomopatogen (Gao *et al.* 2006, Shi *et al.* 2006). Formula yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan makanan yang banyak mengandung karbohidrat seperti talk, beras, ubi kayu, ubi jalar, jagung, molase, dan protein seperti kacang tanah dan kedelai. Karbohidrat merupakan sumber utama energi yang terdapat dalam bentuk zat tepung (amilum) dan zat gula (mono dan disakarida). Zat gula dimanfaatkan sebagai makanan bagi cendawan.

Formula ubi kayu menunjukkan viabilitas dan infektivitas lebih tinggi karena memiliki kandungan amilum (pati) yang tinggi dibandingkan dengan bahan yang lain, yaitu mencapai 80% (Smart *et al.* 2005). Pati akan dipecah oleh enzim amilase cendawan menjadi glukosa yang kemudian digunakan sebagai bahan makanan (Charnley 2003).

Daya viabilitas dan infektivitas formulasi minyak kedelai dan kacang tanah termasuk rendah, namun memiliki keunggulan. Menurut Ganga-Visalakshy *et al.* (2005), penggunaan minyak nabati pada saat aplikasi mampu memacu pertumbuhan *L. lecanii*, terutama pada daerah yang mempunyai kelembaban rendah. Oleh karena itu, minyak nabati sangat baik diaplikasikan di lapangan yang penguapannya tinggi oleh terik sinar matahari. Minyak nabati berperan dalam merefleksikan matahari yang datang, sehingga konidia yang



Gambar 4. Tabung kecambah dari konidia *L. lecanii* yang diformulasikan pada tepung jagung (a & b), formulasi molase (c) dan formulasi tepung ubikayu (d).

diaplikasikan akan terlindung kelembabannya dan cepat berkecambah.

Umur telur kepik coklat yang digunakan sebagai unit percobaan juga menentukan tingkat infektivitas formulasi cendawan. Umur telur kepik coklat yang sangat rentan terhadap infeksi cendawan *L. lecanii* kurang satu hari hingga satu hari. Fenomena ini pernah dibuktikan oleh Prayogo (2009) bahwa telur kepik coklat yang berumur kurang dari satu hari hingga satu hari apabila terinfeksi cendawan *L. lecanii* hanya akan menetas tidak lebih dari 20%. Hal ini disebabkan oleh struktur korion (kulit telur) masih sangat lentur dan di sekitar mikropil (lubang alami telur) terdapat senyawa gel yang akan meningkatkan kelembaban konidia cendawan sehingga kondusif bagi cendawan

berpenetrasi ke dalam telur. Menurut Sahlen (2000) dan Gaino *et al.* (2008), telur serangga yang baru diletakkan dibekali dengan senyawa berbentuk gel yang dihasilkan oleh kelenjar asesori imago betina, yang berfungsi untuk melekatkan telur pada suatu tempat (organ tanaman) di dekat sumber makanan yang tersedia seperti polong.

Semakin lama telur serangga yang diletakkan oleh imago, semakin mengeras struktur korion telur, karena korion mengalami proses melanisasi (Prayogo 2009). Melanisasi akan menghambat proses penetrasi tabung kecambah konidia cendawan entomopatogen pada struktur korion telur (Wilson *et al.* 2008). Lebih lanjut dilaporkan bahwa melanisasi pada struktur telur *Spodoptera exempta* (F.) lebih besar perannya dalam mempertahankan diri dari infeksi cendawan *B. bassiana*



(Bals.) dibandingkan dengan proses melanisasi struktur integumen pada stadia larva.

Formulasi cendawan entomopatogen bertujuan untuk mencegah pertumbuhan konidia di dalam media formulasi dengan kemampuan viabilitas yang tinggi, selain untuk mempermudah cara aplikasi. Salah satu pemacu perkecambahan dan pertumbuhan konidia adalah air sehingga dalam formulasi ini dibuat agar mengandung air yang rendah seperti tepung dan minyak (Luz *et al.* 2004, Derakhshan *et al.* 2008b). Bahan makanan hanya digunakan untuk bertahan hidup bagi konidia sebagai konservatif, bukan untuk berkecambah dan tumbuh sehingga diharapkan mampu bertahan hidup sampai beberapa bulan penyimpanan (Maniscalco *et al.* 2009).

### KESIMPULAN

1. Semakin lama waktu formulasi cendawan *L. lecanii* disimpan semakin menurun viabilitas dan infektivitasnya. Formulasi *L. lecanii* yang disimpan 12 bulan masih memiliki viabilitas di atas 60%.
2. Viabilitas *L. lecanii* dalam formula tepung lebih baik dibandingkan dengan formula dalam bentuk cair. Tepung ubi kayu merupakan formula terbaik untuk mempertahankan viabilitas dan infektivitas *L. lecanii* di dalam penyimpanan.
3. Formulasi *L. lecanii* dalam kaolin dan tepung ubi jalar mempunyai viabilitas dan infektivitas hampir setara dengan formula tepung ubi kayu.
4. Formulasi *L. lecanii* pada minyak nabati kacang tanah dan minyak kedelai berpeluang besar digunakan karena selain memiliki viabilitas yang cukup tinggi juga mampu melindungi persistensi konidia di lapangan.

### DAFTAR PUSTAKA

Batta, Y.A. 2003. Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protec* 22(2):415-422.

Bye, N.J. and A.K. Charnley. 2007. Regulation of cuticle degrading subtilisin proteases from the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium* spp.: implications for host specificity. *Archives of Microbiol.* 189(1): 81-92.

Charnley, K. 2003. Fungal pathogens of insects from mechanisms of pathogenicity to host defense. Department of Biology & Biochemistry University of Bath. <http://www.bath.ac.uk/expertice/showperson.php?employeenumber=573> [3 Mar 2011].

Chavao, B.P. and J.R. Kadam. 2010. Effect of liquid formulations of *Pochonia* (= *Verticillium*) *lecanii* (Zimm.) Viegas on viability and virulence against mealy bug. *Ann. of Plant Protect Sci.* 18(1):163-174.

Cloyd, R. 2003. The entomopathogen *Verticillium lecanii*. *Midwest Biological Control News.* University of Illinois. <http://www.extension.umn.edu/distribution/horticulture/DG7373.html> [22 Mar 2005].

Consolo, V.F., G.L. Salemo, and C.M. Beron. 2003. Pathogenicity, formulation and storage of insect pathogenic hyphomycetous fungi tested against *Diabrotica speciosa*. *Biocontr.* 48(6):705-712.

Daoust, R., M.G. Ward, and D.W. Roberts. 2004. Effect of formulation on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. *J. of Invertebr. Pathol.* 41(2):151-160.

Derakhshan, A., R.J. Rabindra, B. Ramanujam, and M. Rahimi. 2008a. Evaluation of different media and methods of cultivation on the production and viability of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. *Pak. J. of Biol. Sci.* :1-4.

Derakhshan, A., R.J. Rabindra, and B. Ramanujam. 2008b. Effect of storage conditions of formulations on viability of *Verticillium lecanii* (Zimm) Viegas and its virulence to *Brevicoryne brassicae* (L.). *J Biol Sci* 8:498-501.

Gaino, E., S. Piersanti, and M. Rebor. 2008. Egg envelop synthesis and chorion modification after oviposition in the dragonfly *Libellula depressa* (Odonata: Libellulidae). *Tissue and Cell* 40(5):317-324.

Ganga-Visalakshy, P.N., A. Krishnamoorthy, and A. M. Khumar. 2005. Effects of plant oils and adhesive stickers on the mycelia growth and conidiation of *Verticillium lecanii* a potential entomopathogen. *Phytopar* 33(4):367-369.

Gao, L., M.H. Sun, X.Z. Liu, and S. Che. 2006. Effect of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycol. Res.* 111(1):87-92.

Isaka, M., P. Kittakoop, K. Kirtikara, N.L. Hywel-Jones, and Y. Thebtaranonth. 2005. Bioactive substances from insect pathogenic fungi. *Acc. Chem. Res.* 38:813-823.

Kim, J.J., M.S. Goettel, and D.R. Gillespie. 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and cucumber powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Control* 40(3):327-332.

Klingen, I., A. Hajek, R. Meadow, and J.A.A. Renwick. 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. *Biol. Contr.* 47:411-425.

Kumar, P.S., L. Singh, and H. Tabassum. 2005. Potential use of polyethylene glycol in the mass production of nonsynnematos and synnematos strains of *Hirsutiella thompsonii* Fisher in submerged culture. *J. Biol. Control* 19(2):105-113.

Lakshmi, S.M., P.L. Alagammai, and K. Jayaraj. 2001. Studies on Mass Culturing of the Entomopathogen Whitehalo Fungus *Verticillium lecanii* on Three Grain Media and Its Inefficacy on *Helicoverpa armigera*. In: Igbachimuthu S, Sen S (eds.) *Microbials In Insect Pest Management*, Oxford and IBH publishing Pvt Ltd, New Delhi. p:23-27.

Leland, J.E., M.S. Stoneville, R.B. Behle, and I.L. Peoria. 2004. Formulation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with resistance to UV degradation for control of *Tarnished* plant bug *Lygus lineolaris*. *Beltwide Cotton Conferences*, San Antonio, TX, January 5-9. p:1800-1808.

- Liu, B.L., P.M. Kao, Y.M. Tzeng, and K.C. Feng. 2003. Production of chitinase from *Verticillium lecanii* F091 using submerged fermentation. *Enzyme and Microbiol. Technology* 33(4):410-415.
- Lu, Z.X., A. Laroche, and H.C. Huang. 2005. Isolation and characterization of chitinases from *Verticillium lecanii*. *Can J Microbiol* 51(12):1045-1055.
- Luz, C., L.F.N. Rocha, G.V. Nery, B.P. Magalhaes, and M.S. Tigano. 2004. Activity of oil formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 211-218.
- Maniscalco, D.P., M.D.de. Rienzo, L.T. Silva, and B.D. Dorta. 2009. A granular formulation of *Nomuraea rileyi* Farlow (Samson) for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Interciencia* 34(2):1-7.
- Murakoshi, S. 2005. Persence of toxic substance in fungus bodies of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. *Appl. Entomol. and Zool.* 13(2): 97-102.
- Patel, A.V., T. Rose, and K.D. Vorlop. 2002. Encapsulation of *Hirsutella rhossiliensis* in hollow beads based on sulfoethyl cellulose to control plant parasitic nematodes. *Landbauforschung Volkenrode* 241:145-150.
- Prayogo, Y. 2009. Kajian cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (Viegas) Zare & Gams untuk menekan perkembangan telur hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera: Alydidae). [disertasi], Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor.
- Ramirez-Coutino, L., M. D.C. Marin-Cervantes, S. Huerta, S. Revah, and K. Shirai. 2006. Enzymatic hydrolysis of chitin in the production of oligosaccharides using *Lecanicillium fungicola* chitinase. *Procc. Biochem.* 41:1106-1110.
- Rangel, D.E.N., D.G. Alston, and D.W. Roberts. 2008. Effects of physical and nutritional stress conditions during mycelial growth on conidial germination speed, adhesion to host cuticle and virulence of *Metarhizium anisopliae* an entomopathogenic fungus. *Mycol. Res.* 112(11):1355-1361.
- Safavi, S.A., F.A. Shah, A.K. Pakdel, G.R. Rasoulilian, A.R. Bandani, and T.M. Butt. 2007. Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiol. Letters* 270(1):116-123.
- Sahlen, G. 2000. Eggshell ultrastructure in *Onychogomphus forcipatus* (Odonata: Gomphidae). *International J. Insect Morphol. and Embryol.* 24(3):281-286.
- Samodra, H. And Y. Ibrahim. 2006. Effects of dust formulations of three entomopathogenic fungal isolates against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in rice grain. *J. Biosains* 17(1):1-7.
- Shi, Z., M. Li, and L. Zang. 2006. Effects of nutrients on germination of *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) conidia and infection of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). *Biol. Contr. Sci. and Technol.* 16(6):599-606.
- Silva, R.Z.D., P.M.O.J. Neves, P.H. Santoro, and E.S.A. Cavagunchi. 2006. Effect of agrochemicals based on vegetable and mineral oil on the viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., and *Paecilomyces* sp. *Bainier. Bioassay* 1(1):1-6.
- Smart, N.O., S.E. Vaikasen, and A.M. Bamgbose. 2005. Nutrient composition of cassava affals and cassava sievates collected from location in edo state Nigeria. *Pak J. of Nutrit.* 4(4):262-264.
- Soundarapandian, P and R. Chandra. 2007. Mass production of endomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) in the laboratory. *Res. J. of Microbiol.* 2(9):690-695.
- Sudirman, L.I., Y. Prayogo, Yunimar, and S. Ginting. 2008. Effect of leaf litters and soils on viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Hayati J. Biosci.* 15(3):93-98.
- Verhaar, M.A., T. Hijwegen, and J.C. Zadoks. 2004. Improvement of the efficacy of *Verticillium lecanii* used in biocontrol of *Sphaerotheca fuliginea* by addition of oil formulation. *Biol. Contr.* 44(1):73-87.
- Wes-Watson, L.Z.D. and C. Schal. 2002. Synergism between *Metarhizium anisopliae* (Deutromycotina: Hyphomycetes) and boric acid against the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Biol. Cont.* 23:296-302.
- Wilson, K., S.C. Cotter, A.F. Reeson, and J.K. Pell. 2008. Melanism and disease resistance in insect. *Ecol. Letters* 4(6):637-649.