

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 7, Nomor 2, Juli 2020

**KEEFEKTIFAN BIOINSEKTISIDA BERBASIS CENDAWAN ENTOMOPATOGEN
Talaromyces pinophilus DAN MINYAK NABATI TERHADAP
HAMA PENGGEREK BUAH KOPI**

***THE EFFECTIVENESS OF BIOINSECTICIDE BASED ON ENTOMOPATHOGENIC FUNGI OF
Talaromyces pinophilus AND VEGETABLE OIL ON COFFEE BERRY BORER***

* Khaerati, Gusti Indriati, Edi Wardiana

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

* khaeratirahim@gmail.com

(Tanggal diterima: 19 Juni 2020, direvisi: 15 Juli 2020, disetujui terbit: 24 Juli 2020)

ABSTRAK

Hama penggerek buah kopi (PBKo), *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), merupakan salah satu hama utama penyebab kehilangan hasil pada tanaman kopi. Hama ini secara langsung menyerang buah kopi, baik yang belum maupun yang telah matang. Cendawan entomopatogen merupakan salah satu agens hayati potensial untuk PBKo, aman bagi lingkungan dan tidak mematikan organisme yang bukan sasaran. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi, mulai bulan Juni sampai Oktober 2018. Tujuan penelitian adalah untuk menguji keefektifan bioinsektisida berbasis cendawan entomopatogen *Talaromyces pinophilus* (CETP) dan minyak nabati terhadap hama PBKo. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 31 perlakuan dan 3 ulangan. Ke-31 perlakuan tersebut terdiri dari 9 formula bioinsektisida berbasis CETP dan minyak nabati, kontrol positif (formula bioinsektisida berbasis CETP dan air), dan kontrol negatif (insektisida kimia Klorpirifos). Peubah yang diamati meliputi: aktivitas enzim CETP, keefektifan minyak nabati sebagai bahan pembawa, mortalitas kumbang PBKo, persentase serangan, persentase buah yang tergerak, dan jumlah lubang gerakan per 10 buah kopi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula bioinsektisida berbasis CETP menghasilkan enzim kitinase dan protease yang berpotensi sebagai agens hayati pengendali PBKo secara *in vitro*. Minyak kedelai dinilai paling efektif sebagai bahan pembawa dalam memformulasi CETP. Formula S69MK30 dan S79MK20 masing-masing dengan konsentrasi 7,50% berpotensi tinggi sebagai agens hayati pengendali PBKo. Formula lainnya yang dinilai cukup potensial adalah S69MKT30 dengan konsentrasi 7,50%.

Kata kunci: Bahan pembawa; *Hypothenemus hampei*; kitinase, minyak nabati; pengendalian hayati; protease

ABSTRACT

The coffee berry borer (CBB) *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), is one of the main pests that cause yield losses in coffee plants. This pest directly attacks the coffee berries, both immature and ripe. The entomopathogenic fungi is one of the potential biological agents for CBB, environmentally friendly and does not kill non-target organisms. The study was conducted at the Integrated Laboratory, Industrial and Beverage Crop Research Institute, from June to October 2018. The aim of this study was to examine the effectiveness of bioinsecticide based on entomopathogenic fungus of *Talaromyces pinophilus* (EFTP) and vegetable oil on CBB. The completely randomized design with 31 treatments and 3 replications was used in this study. The 31th of treatments consisted of 9 formulas of bioinsecticide based on EFTP and vegetable oil, control-positive (bioinsecticide based on

EFTP and water), and control- negative (Klorpirifos insecticide). Variables observed were the activities of EFTP enzyme, effectiveness of vegetable oil as a carrier material, mortality of CBB beetles, percentage of CBB attacks, percentage of hollow berries, and number of holes per 10 coffee berries. Results showed that the formula of bioinsecticide based on EFTP produce the chitinase and protease enzymes which were potential as biological agents to control CBB in vitro. Soybean oil is the most effective as a carrier material in formulating EFTP. The formula of S69MK30 and S79MK20 in concentration of 7.50% respectively have the highest potential as biological agents to control CBB. Other potential formula is S69MKT30 in concentration of 7.50%.

Keywords: Biocontrol; carrier material; chitinase; *Hypothenemus hampei*; protease; vegetable oil

PENDAHULUAN

Hypothenemus hampei (Coleoptera : Curculionidae: Scolytinae) merupakan hama penggerek buah kopi (PBKo) yang dapat menyebabkan penurunan hasil. Hal ini terjadi karena hama ini langsung menyerang buah kopi. Buah kopi diserang sejak masih muda, yang buahnya dalam keadaan lunak, sampai dengan buah matang dan lewat matang yang berwarna hitam, baik yang masih di pohon maupun yang telah gugur di atas tanah sekitar delapan minggu setelah berbunga hingga panen. Oleh karena itu, serangan hama PBKo sangat merugikan karena dapat menurunkan produktivitas dan kualitas biji secara nyata.

Upaya pengendalian hama PBKo yang umum dilakukan menggunakan insektisida kimia, tetapi cara ini relatif sulit karena hampir semua stadium perkembangan serangga *H. hampei* berada di dalam buah kopi, sehingga aplikasi insektisida kurang efektif (Damon, 2000). Upaya pengendalian yang perlu dilakukan adalah pengendalian hama terpadu (PHT) dengan memadukan beberapa cara yaitu secara kultur teknis, pengendalian fisik mekanik, dan penggunaan agens hayati. Salah satu komponen PHT yang perlu terus dikembangkan adalah penggunaan agens hayati cendawan entomopatogen yang merupakan salah satu alternatif metode pengendalian hama PBKo ramah lingkungan. Menurut Sultana, Kumar, & Yanar (2017), penggunaan agens hayati tidak akan merusak lingkungan dan tidak mematikan organisme bukan sasaran. Prayogo (2006) juga menyatakan bahwa aplikasi cendawan entomopatogen pada tanaman perkebunan mudah menyesuaikan diri dan berkembang sesuai dengan kondisi lingkungan setempat.

Entomopatogen yang dapat mengendalikan PBKo diantaranya *Beauveria bassiana* yang dapat mematikan serangga PBKo paling tinggi 75,6% di India (Haraprasad, Niranjana, Prakash, Shetty, & Wahab, 2001) dan *Metarhizium anisopliae* pada konsentrasi 10^8 /ml mampu mematikan serangga PBKo di atas 50% (Balakrishnan & Naik, 2014). Sedangkan, *Talaromyces pinophilus* merupakan salah satu jenis cendawan yang dilaporkan telah banyak dimanfaatkan dalam pengendalian hama karena memiliki banyak metabolit sekunder (Zhai *et al.*, 2016). Metabolit sekunder cendawan *T. pinophilus* toksik terhadap *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) pada tanaman kacang babi

(*Vicia faba*) (Vinale *et al.*, 2017), *Pratylenchus zeae* pada tanaman padi (Kisaakye, 2014), *Lasiodiplodia theobromae* penyebab *dieback* pada tanaman pala (Sussana, Sinaga, Wiyono, & Triwidodo, 2018), dan *Pythium aphanidermatum* serta *Rhizoctonia solani* penyebab *damping-off* pada tanaman mentimum (Kazerooni, Rethinasamy, & Al-Sadi, 2019). Di samping sebagai agens hayati pengendali hama dan penyakit tanaman, cendawan *T. pinophilus* juga dapat berfungsi sebagai agens hayati pelarut fosfat (*phosphate solubilizing fungi*) sehingga dapat meningkatkan ketersediaan hara P di dalam tanah (Maity, Pal, Chandra, & Singh, 2014; Sembiring, Elfati, Sutarta, & Sabrina, 2015; Sembiring, Jefri, Sakiah, & Wahyuni, 2018; Majumder *et al.*, 2019).

Sampai saat ini banyak tersedia formula agens hayati sebagai pengendali hama dan/atau penyakit tanaman dalam bentuk serbuk yang dicairkan dengan menggunakan air (akuades). Penggunaan air sebagai agens formulasi telah banyak digunakan karena tidak beracun, cukup banyak tersedia, murah, dan dapat digunakan dengan alat penyemprot hidrolik yang sederhana. Air dapat dengan mudah mensuspensi konidia hidrofilik dan lipofilik dengan penggunaan surfaktan sederhana (Polar, Kairo, Moore, Pegram, & John, 2005). Namun demikian, ditinjau dari segi keefektifannya dalam mengendalikan hama dan/atau penyakit, ternyata formula berbasis air masih lebih rendah bila dibandingkan dengan formula berbasis minyak (Alves, Bateman, Gunn, Prior, & Leather, 2002; Malsam, Kilian, Oerke, & Dehne, 2002; Vega-Aquino, Sanchez-Peña, & Blanco, 2010; Lopes, Pauli, Mascarin, & Faria, 2011; Camargo *et al.*, 2012; Kirubakaran, Sathish-Narayanan, Revathi, Chandrasekaran, & Senthil-Nathan, 2014; Batta, 2016; Nithya & Reji Rani, 2017; Lopes & Faria, 2019). Penelitian bertujuan untuk menguji keefektifan bioinsektisida berbasis cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dan minyak nabati terhadap hama PBKo *Hypothenemus hampei*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balai penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri) Sukabumi, Jawa Barat, mulai bulan Juni sampai Oktober 2018. Bahan yang digunakan adalah cendawan *T. pinophilus*, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato*

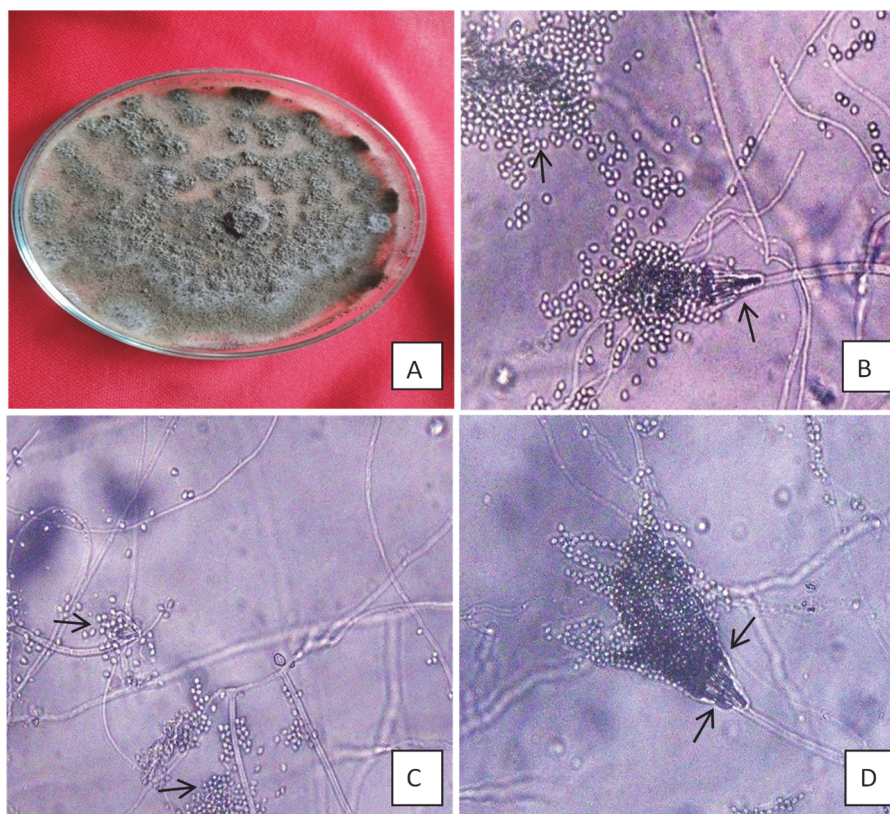
Dextrose Broth (PDB), beras, alkohol, spirtus, aluminium foil, tissu, gliserol, sukrosa, , akuades, tween 80, minyak jagung, minyak kacang tanah, minyak kedelai, garam *Sodium Lignosulfonik Acid*, NaOH, HCl, K₂HPO₄ 0,7g, KH₂PO₄ 0,3 g, MgSO₄·7H₂O 0,5g, FeSO₄·7H₂O 0,01g, ZnSO₄ 0,001g, MnCl₂ 0,001g, Koloida I kitin 0,2%, Agar 2%, *Czapek Dox Broth* (CDB) terdiri dari: NaNO₃ 3 g, K₂HPO₄ 1 g, MgSO₄ 0.5g, KCl 0.5g, dan FeSO₄.

Pembiakan Kumbang Penggerek Buah Kopi

Pembiakan kumbang PBKo dilakukan dengan cara mengoleksi buah kopi yang terserang hama PBKo serta ditambah buah yang sehat sebagai pakan yang diperoleh dari kebun kopi di sentra produksi kopi di Jawa Barat. Buah disterilkan di laboratorium mengikuti metode Pérez, Infante, & Vega (2005) dengan tujuan menghilangkan cendawan yang terbawa dari lapang. Buah dicuci dengan sabun selama 15 menit, lalu dicuci

sampai bersih dengan air mengalir. Buah direndam di dalam larutan sodium hypochlorit 2% selama 10 menit, lalu dicuci dengan air destilasi. Tahap berikutnya, buah direndam kembali dalam larutan potassium sorbate 2% selama 5 menit, lalu dicuci bersih dengan air destilasi. Buah dikeringanginkan sebelum digunakan untuk perbanyakan, lalu dipindahkan ke dalam kotak plastik dengan penutup dari kasa.

Setiap kotak plastik dilapisi dengan campuran gipsum dan arang aktif untuk menjaga kelembaban dan mencegah buah mengkerut. Menurut Jaramillo *et al.* (2009), dengan cara seperti itu, buah kopi dapat bertahan selama 90 hari setelah pengambilan dari lapang. Setiap tiga hari sekali bagian dalam kotak plastik diperciki air untuk menjaga kelembabannya. Bekas gerakan PBKo dibersihkan setiap 2 hari sekali. Kotak plastik diletakkan pada rak-rak pemeliharaan pada suhu ruang. PBKo hasil pembiakan dengan umur sekitar 1 bulan selanjutnya digunakan untuk pengujian.



Gambar 1. Cendawan *T. pinophilus* dengan kode GeneBank MF683084 yang digunakan dalam penelitian. (A) koloni cendawan pada media PDA, (B) konidia dan konidiopora, (C) konidia, dan (D) konidiopora. (B, C, dan D pembesaran 400x)

Figure 1. The *T. pinophilus* fungi with GeneBank code of MF683084 that used in the study. (A) fungal colonies on PDA media, (B) conidia and conidiophores, (C) conidia, (D) conidiophores. (B, C, and D magnification 400x).

Sumber Asal Isolat, Pemurnian, dan Indektifikasinya

Isolat yang digunakan berasal dari hasil eksplorasi tahun 2013 di perkebunan karet daerah Pelabuhan Ratu, Sukabumi, Jawa Barat. Hasil pengujian pendahuluan dengan metode *duaculture* terhadap isolat yang diperoleh menunjukkan hasil yang memuaskan untuk uji antagonis. Selanjutnya isolat dimurnikan di Laboratorium Terpadu Balittri.

Pada tahun 2018, isolat hasil pemurnian dibawa ke Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor, untuk dilakukan identifikasi. Hasil identifikasi dengan menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan peruntutan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) menunjukkan isolat yang diuji merupakan cendawan entomopatogen *Talaromyces pinophilus* (CETP) isolat MC dengan tingkat *homology* atau kemiripan (*similarity*) sebesar 99%. Setelah didaftarkan di *DNA Data Bank of Japan (DDBJ)/National Center For Biotechnology Infomation (NCBI)* mendapat kode akses GeneBank MF683084 (Gambar 1). Bentuk konidia dan konidioporanya memiliki kesamaan dengan *T. pinophilus* NRRL 62415 hasil koleksi dan identifikasi Peterson & Jurjević (2019).

Perbanyakkan Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) pada Media Beras

Beras dicuci bersih, dikukus setengah matang lalu didinginkan dalam wadah plastik. Media beras sebanyak 50 g dimasukkan ke dalam kantong plastik bening tahan panas, disterilisasi di dalam autoklaf selama 35 menit dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Setelah dingin, media tersebut diinokulasi *T. pinophilus*. Inokulasi dilakukan dengan cara meletakkan 2-3 potongan cendawan dari media PDA (diameter 0,9 mm) ke dalam

kantong beras. Semua tahapan dilakukan pada kondisi steril dalam *laminar air flow*.

Penyiapan Suspensi Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) untuk Pengujian

Cendawan *T. pinophilus* yang dikulturkan pada media beras kemudian dibuat suspensi untuk bahan formulasi, serta untuk mengetahui jumlah kerapatan dan viabilitas spora. Penyiapan suspensi cendawan dengan tahapan: (1) 100 g media yang ditumbuhi cendawan ditambahkan 300 ml akuades steril, kemudian ditumbuk hingga halus menggunakan mortar, (2) suspensi konidia disaring menggunakan kasa nilon halus, (3) suspensi konidia yang lolos dari saringan ditambahkan larutan perata Tween 80 sebanyak 0,05%, (4) suspensi konidia yang telah ditambah larutan perata kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan dikocok selama 30 detik menggunakan vortex hingga homogen, dan (5) mengukur kerapatan spora menggunakan *Haemocytometer* dan mikroskop hingga diperoleh kerapatan yang diinginkan. Rumus untuk menghitung kerapatan spora adalah: $P = [t/(n \cdot 0,25)] \cdot 10^6$; P = produksi spora, t = spora di dalam jumlah kotak sampel, n = jumlah sampel yang diamati, dan 0,25 = faktor koreksi

Pembuatan Formula Bioinsektisida Berbasis Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dan Minyak Nabati

Suspensi cendawan *T. pinophilus* yang diperoleh dari media beras akan diformulasikan dengan minyak nabati. Minyak nabati yang digunakan adalah minyak jagung, minyak kacang tanah, dan minyak kedelai. Formulasi dibuat berdasarkan metode Angelo *et al.*, (2010) dan Camargo *et al.* (2012). Terdapat 9 formula dengan kode dan komposisi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dalam bentuk cair berbasis minyak nabati
Table 1. Composition of the entomopathogenic fungi of *T. pinophilus* (EFTP) formulas in vegetable oil-based liquid form

Kode formula	Komposisi formula				
	Suspensi <i>T. pinophilus</i> (%)	Minyak jagung (%)	Minyak kacang tanah (%)	Minyak kedelai (%)	Tween 80 (%)
S89MJ10	89	10	-	-	1
S79MJ20	79	20	-	-	1
S69MJ30	69	30	-	-	1
S89MKT10	89	-	10	-	1
S79MKT20	79	-	20	-	1
S69MKT30	69	-	30	-	1
S89MK10	89	-	-	10	1
S79MK20	79	-	-	20	1
S69MK30	69	-	-	30	1

Pengujian Aktivitas Enzim Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP)

1. Uji Aktivitas Enzim Kitinase

Pengujian aktivitas kitinase dari CETP sesuai metode Suryanto, Patonah, & Munir (2010), yaitu dengan mencampur media K_2HPO_4 0,7g, KH_2PO_4 0,3 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 g, $ZnSO_4$ 0,001 g, $MnCl_2$ 0,001 g, koloidal kitin 0,2%, dan agar 2% dengan akuades sehingga volumenya menjadi 1 liter. Nilai pH diatur hingga mencapai 6,8 dengan menambahkan NaOH dan media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit. Media kitin agar dituang ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm kemudian diinokulasi dengan masing-masing 1 potongan cendawan (diameter 0,9 mm) dan diinkubasi pada suhu ruang ($27^\circ C$) selama 3 hari.

Aktivitas kitinase diindikasikan dengan adanya zona bening di sekitar masing-masing koloni cendawan.

2. Uji Aktivitas Enzim Protease

Susu skim digunakan sebagai substrat untuk menguji aktivitas protease dengan menggunakan metode Widhyastuti & Dewi (2001). Sebanyak 20 g susu skim dilarutkan dalam 400 ml akuades kemudian dipasteurisasi ($63^\circ C$ selama 30 menit), dan 24 g agar dilarutkan dalam 600 ml akuades steril. Selanjutnya, kedua larutan tersebut dicampurkan hingga homogen. Medium protease dituangkan ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm kemudian diinokulasi dengan masing-masing isolat cendawan dan diinkubasikan pada suhu ruang ($27^\circ C$) selama 3 hari. Aktivitas protease ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar masing-masing koloni cendawan.

Tabel 2. Daftar formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) sebagai perlakuan

Table 2. The list of entomopathogenic fungi of *T. pinophilus* (EFTP) formulas as treatment

Kode formula	Konsentrasi (%), Dosis (ml/l)	Komposisi formula				
		Suspensi <i>T. pinophilus</i> (%)	Minyak jagung (%)	Minyak kacang tanah (%)	Minyak kedelai (%)	Tween 80 (%)
S89MJ10	2,50	89	10	-	-	1
S89MJ10	5,00	89	10	-	-	1
S89MJ10	7,50	89	10	-	-	1
S79MJ20	2,50	79	20	-	-	1
S79MJ20	5,00	79	20	-	-	1
S79MJ20	7,50	79	20	-	-	1
S69MJ30	2,50	69	30	-	-	1
S69MJ30	5,00	69	30	-	-	1
S69MJ30	7,50	69	30	-	-	1
S89MKT10	2,50	89	-	10	-	1
S89MKT10	5,00	89	-	10	-	1
S89MKT10	7,50	89	-	10	-	1
S79MKT20	2,50	79	-	20	-	1
S79MKT20	5,00	79	-	20	-	1
S79MKT20	7,50	79	-	20	-	1
S69MKT30	2,50	69	-	30	-	1
S69MKT30	5,00	69	-	30	-	1
S69MKT30	7,50	69	-	30	-	1
S89MK10	2,50	89	-	-	10	1
S89MK10	5,00	89	-	-	10	1
S89MK10	7,50	89	-	-	10	1
S79MK20	2,50	79	-	-	20	1
S79MK20	5,00	79	-	-	20	1
S79MK20	7,50	79	-	-	20	1
S69MK30	2,50	69	-	-	30	1
S69MK30	5,00	69	-	-	30	1
S69MK30	7,50	69	-	-	30	1
<i>T. pinophilus</i> (K1)	2,50	100	-	-	-	-
<i>T. pinophilus</i> (K2)	5,00	100	-	-	-	-
<i>T. pinophilus</i> (K3)	7,50	100	-	-	-	-
Insektisida Klorpirifos (K4)	2,00	-	-	-	-	-

Keterangan: S = suspensi; MJ = minyak jagung; MKT = minyak kacang tanah; MK = minyak kedelai; K = kontrol

Notes : S = suspension; MJ = maize oil; MKT = groundnut oil; MK = soybean oil; K = control

Uji Efikasi Formula Berbasis Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dan Minyak Nabati terhadap Hama PBKo Secara *In Vitro*

Penelitian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 31 perlakuan dan tiga ulangan. Ke-31 perlakuan tersebut terdiri dari 9 jenis formula (Tabel 1) dengan konsentrasi masing-masing 2,50%, 5,00%, dan 7,50%; kontrol positif (suspensi cendawan *T. pinophilus* tanpa minyak) dengan konsentrasi masing-masing 2,50%, 5,00%, dan 7,50%, serta kontrol negatif (insektisida kimia Klorpirifos) dengan dosis 2,00 ml/l (Tabel 2).

Metode pengujian pada kumbang PBKo dengan cara menyempatkan formula CETP ke buah kopi sehat (bebas gerakan PBKo) sampai buah basah terkena perlakuan formula. Kemudian, buah tersebut dipindahkan ke wadah yang telah disiapkan sebagai pakan dan diinokulasikan imago PBKo. Wadah disimpan pada tempat yang gelap. Setiap satuan percobaan terdiri dari 10 buah kopi dan 15 ekor imago PBKo. Pengamatan dilakukan terhadap: aktivitas enzim pada cendawan entomopatogen, keefektifan minyak nabati sebagai bahan pembawa formula, mortalitas kumbang PBKo, tingkat serangan PBKo, banyaknya buah yang tergerek, dan jumlah lubang gerakan per 10 buah kopi. Pengamatan terhadap perkembangan hama PBKo dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi (HSA). Setelah hari ke-7 pengamatan, buah yang telah diberi perlakuan dibelah untuk diamati perkembangannya.

Uji Efikasi Formula Berbasis Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dan Minyak Nabati terhadap Hama PBKo Secara *In Vitro*

Penelitian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 31 perlakuan dan tiga ulangan. Ke-31 perlakuan tersebut terdiri dari 9 jenis formula (Tabel 1) dengan konsentrasi masing-masing 2,50%, 5,00%, dan 7,50%; kontrol positif (suspensi cendawan *T. pinophilus* tanpa minyak) dengan konsentrasi masing-masing 2,50%, 5,00%, dan 7,50%, serta kontrol negatif (insektisida kimia Klorpirifos) dengan dosis 2,00 ml/l (Tabel 2).

Metode pengujian pada kumbang PBKo dengan cara menyempatkan formula CETP ke buah kopi sehat (bebas gerakan PBKo) sampai buah basah terkena perlakuan formula. Selanjutnya, buah tersebut dipindahkan ke wadah yang telah disiapkan sebagai pakan dan diinokulasikan imago PBKo. Wadah disimpan pada tempat yang gelap. Untuk setiap satuan percobaan terdiri dari 10 buah kopi dan 15 ekor imago PBKo.

Pengamatan dilakukan terhadap: aktivitas enzim pada cendawan entomopatogen, keefektifan minyak nabati sebagai bahan pembawa formula, mortalitas kumbang PBKo, tingkat serangan PBKo, banyaknya buah yang tergerek, dan jumlah lubang gerakan per 10 buah kopi. Pengamatan terhadap perkembangan hama PBKo dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi (HSA). Setelah hari ke-7 pengamatan, buah yang telah diberi perlakuan kemudian dibelah untuk diamati perkembangannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

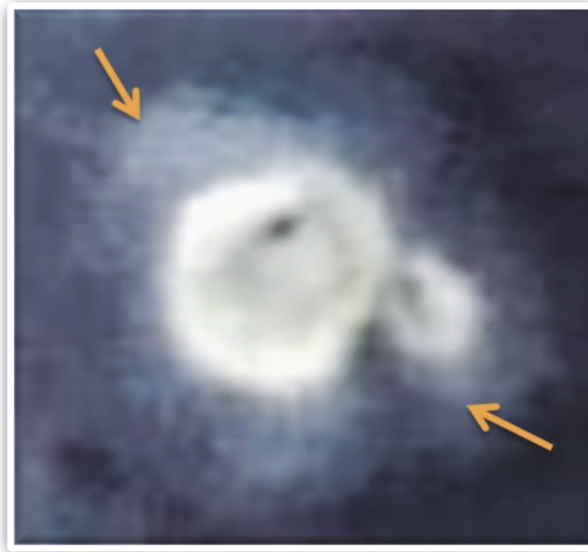
Aktivitas Enzim Kitinase dan Protease Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP)

Cendawan entomopatogen dalam proses infeksi serangga dikaitkan karena adanya kemampuan produksi enzim ekstraseluler. Enzim penting yang disekresikan oleh cendawan entomopatogen diantaranya adalah lipase, kitinase dan protease (Mondal, Baksi, Koris, & Vatai, 2016). Hasil uji aktivitas enzim kitinase dan protease diketahui bahwa isolat *T. pinophilus* menunjukkan kemampuan menghasilkan enzim kitinase dan protease (Tabel 3). Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian (Abdel-Rahim & Abo-Elyousr, 2018) yang menyimpulkan bahwa *T. pinophilus* menghasilkan enzim kitinase, lipase dan protease. Selanjutnya, Sánchez-Pérez, Barranco-Florido, Rodríguez-Navarro, Cervantes-Mayagoitia, & Ramos-López (2014), Mondal, *et al.* (2016), dan Abdel-Rahim & Abo-Elyousr (2018) menegaskan bahwa cendawan entomopatogen yang memiliki aktivitas enzim kitinase dapat berfungsi sebagai agen biokontrol terhadap hama/serangga yang memiliki komponen kitin pada dinding sel. Sedangkan, enzim protease menurut Harrison & Bonning (2010) memiliki fungsi toksisitas terhadap serangga. Siklus toksisitasnya dimulai dari bagian *midgut* serangga kemudian menuju ke *hemocoel* (rongga tubuh) dan bagian kutikula.

Tabel 3. Aktivitas enzim cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP)

Table 3. The enzym activities of the *T. pinophilus* entomopathogenic fungi (EFTP)

Cendawan	Aktivitas enzim	
	Kitinase	Protease
<i>T. pinophilus</i>	+	+



Gambar 2. Zona bening pada media kitin
Figure 2. Clear zone on chitin media

Kemampuan CETP dalam mengendalikan hama PBKo didukung oleh adanya enzim kitinase dan protease. Hal ini terlihat pada saat uji aktivitas kitinase; bahwa pada media kitin memperlihatkan adanya zona bening yang terbentuk karena adanya kemampuan CETP dalam menghidrolisis kitin (Gambar 2). Oleh karena itu, diduga bahwa enzim kitinase yang dihasilkan cendawan tersebut dapat mendegradasi pada bagian cangkang/eksoskeleton *H. hampei*.

Enzim kitinase, lipase dan protease yang dihasilkan *T. pinophilus* memegang peranan penting dalam inisiasi proses mikoparasitisme seperti aktivitas dalam penetrasi dan pendegradasi dinding sel (Gan *et al.*, 2007; Hartl, Zach, & Seidl-Seiboth, 2012; Langner *et al.*, 2015; Mondal *et al.*, 2016; Abdel-Rahim & Abo-Elyousr, 2018). Enzim cendawan hidrolitik, seperti kitinase dan protease, memiliki aktivitas yang penting dalam menginfeksi inang dan mendegradasi kutikula epidermis dan *trachea* inang (Merzendorfer & Zimoch, 2003; Khan, Guo, Shi, Mijit, & Qiu, 2012). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa kitin yang ditambahkan pada minyak kacang tanah sebagai bahan pembawa dalam memformulasi cendawan entomopatogenik *Lecanicillium lecanii*, memegang peranan penting dalam menjaga viabilitas spora serta dalam meningkatkan efek virulensi. Peranan ini disebabkan karena kitin menghasilkan enzim kitinase yang memiliki fungsi sebagai pendegradasi (Nithya & Reji Rani, 2017). Kematian inang umumnya karena kombinasi dari berkurangnya nutrisi, invasi organ, dan adanya toksin yang dihasilkan cendawan entomopatogen. Proses penetrasi terjadi secara mekanis dan kimiawi dengan

mengeluarkan enzim dan toksin, diantaranya enzim kitinase yang dihasilkan oleh cendawan *T. pinophilus* (Butt & Goettel, 2009). Serangga yang terinfeksi cendawan pada umumnya menjadi lemah dan tidak aktif, dua atau tiga hari kemudian mengalami kematian, dan jika kondisi lingkungan mendukung maka tubuhnya ditumbuhi oleh miselium cendawan. Pada umumnya, semua cairan tubuh serangga habis digunakan cendawan, sehingga menyebabkan serangga mati dengan tubuh yang mengeras seperti mumi (Prayogo, 2006).

Pengaruh Formula Berbasis Cendawan Entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dan Minyak Nabati terhadap Hama PBKo Secara *In Vitro*

1. Mortalitas kumbang PBKo dan nilai Lethal Time 90% (LT_{90})

Hasil uji formula CETP terhadap imago PBKo menunjukkan bahwa cendawan entomopatogen mampu menginfeksi dan menyebabkan mortalitas kumbang *H. hampei* (Tabel 4). Mortalitas PBKo mulai terjadi pada hari ke-1, dan mortalitas paling tinggi pada hari ke-1 dan ke-2 setelah aplikasi. Hal ini menunjukkan bahwa CETP dalam 24 jam sudah dapat menyebabkan kematian imago *H. hampei*. Kemampuan ini sama dengan cendawan entomopatogen lainnya seperti *B. bassiana* (Alves, Tamai, Rossi, & Castiglioni, 2005).

Tabel 4. Pengaruh perlakuan formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) terhadap mortalitas kumbang hama PBKo secara kumulatif hingga hari ke-7 setelah aplikasi (HSA)

Table 4. The effect of entomopathogenic fungi formulas of *T. pinophilus* (EFTP) on the mortality of CBB beetles cumulatively until 7th days after application (DAA)

Kode Formula	Konsentrasi (%) Dosis (ml/l)	Mortalitas kumbang hama PBKo (%) secara kumulatif hingga						
		1 HSA	2 HSA	3 HSA	4 HSA	5 HSA	6 HSA	7 HSA
S89MJ10	2,50	8,89	17,78	17,78	17,78	17,78	17,78	20,00
S89MJ10	5,00	6,67	11,11	13,33	13,33	13,33	13,33	15,56
S89MJ10	7,50	40,00	48,90	48,90	48,90	48,90	48,90	48,90
S79MJ20	2,50	17,80	26,70	31,10	31,10	31,10	31,10	35,60
S79MJ20	5,00	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	11,11
S79MJ20	7,50	24,44	31,11	37,78	37,78	42,20	42,20	42,20
S69MJ30	2,50	26,70	37,80	37,80	42,20	42,20	42,20	46,70
S69MJ30	5,00	31,10	37,80	37,80	37,80	37,80	40,00	40,00
S69MJ30	7,50	26,70	35,60	35,60	35,60	35,60	35,60	35,60
S89MKT10	2,50	11,11	17,78	28,89	31,11	31,11	31,11	31,11
S89MKT10	5,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	22,20	24,40
S89MKT10	7,50	8,89	13,33	15,56	15,56	15,56	17,78	22,22
S79MKT20	2,50	35,60 a	37,80	37,80	40,00	40,00	40,00	44,40
S79MKT20	5,00	6,67	6,67	8,89	8,89	8,89	8,89	8,89
S79MKT20	7,50	13,33	17,78	20,00	22,22	24,44	31,11	35,56
S69MKT30	2,50	42,20 a	42,20	51,10	53,30 c	53,30 c	55,60	55,60
S69MKT30	5,00	28,89	40,00	46,70	53,33 c	53,33 c	55,56 c	60,00 c
S69MKT30	7,50	53,33 a	60,00 ac	62,22 ac	62,22 ac	62,22 ac	62,22 ac	62,22 c
S89MK10	2,50	20,00	22,22 ac	22,22 ac	22,22	22,22	22,22	22,22
S89MK10	5,00	35,56 a	55,56 ac	55,56 ac	55,56 ac	55,56 c	55,56 c	60,00 c
S89MK10	7,50	64,40 a	64,40	64,40	64,40 c	64,40 ac	64,40 ac	64,40 c
S79MK20	2,50	0,00	2,22	6,67	6,67	6,67	8,89	8,89
S79MK20	5,00	46,67 a	71,11 acd	71,11 acd	71,11 acd	71,11 acd	71,11 abcd	77,78 acd
S79MK20	7,50	73,33 abcd	80,00 abcd	80,00 abcd	84,44 abcd	84,44 abcd	84,44 abcd	88,89 abcd
S69MK30	2,50	44,44 a	44,44	48,89	51,11 c	51,11 c	55,56 c	55,56
S69MK30	5,00	35,56 a	57,78 ac	57,78 ac	60,00 ac	60,00 c	60,00 ac	60,00 c
S69MK30	7,50	82,20 abcd	82,20 abcd	82,20 abcd	84,44 abcd	84,44 abcd	84,44 abcd	84,44 abcd
K1	2,50	0,00	6,67	6,67	11,11	13,33	13,33	15,56
K2	5,00	15,56	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	24,44
K3	7,50	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	11,11
K4	2,00	13,33	13,33	15,56	15,56	15,56	15,56	15,56

Keterangan: (a) berbeda nyata dengan K1 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 2,50%), (b) berbeda nyata dengan K2 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 5,00%), (c) berbeda nyata dengan K3 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 7,50%), dan (d) berbeda nyata dengan K4 (insektisida klorpirifos, dosis 2,00 ml/l), berdasarkan uji Dunnett pada taraf 5%; HSA = hari setelah aplikasi

Notes : (a) significantly different from K1 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 2,50%), (b) significantly different from K2 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 5,00%), (c) significantly different from K3 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 7,50%), and (d) significantly different from K4 (Klorpirifos insecticide, in dose of 2ml/l), based on Dunnett's test at 5% level; DAA = days after application

Tabel 5. Hasil analisis regresi probit untuk menduga nilai lethal time 90% (LT₉₀)

Table 5. Result of probit regression analysis to estimate the value of lethal time 90% (LT₉₀)

Formula S79MK20			Formula S69MK30		
Hari ke-	Nilai duga Z	Nilai duga peluang mortalitas (%)	Hari ke-	Nilai duga Z	Nilai duga peluang mortalitas (%)
1	0,15	53,95	1	0,92	82,12
5	0,48	68,44	5	0,99	83,89
10	0,90	81,59	10	1,09	86,21
15	1,32	90,66	15	1,18	88,10
20	1,74	95,91	21	1,30	90,32
30	2,58	99,51	30	1,47	92,82

Keterangan: $Z_{24} = 0,063 + 0,084 X$ ($R^2 = 0,89$; $p < 0,01$) dan $Z_{27} = 0,898 + 0,019 X$ ($R^2 = 0,75$; $p < 0,05$)

Notes : $Z_{24} = 0.063 + 0.084 X$ ($R^2 = 0.89$; $p < 0.01$) and $Z_{27} = 0.898 + 0.019 X$ ($R^2 = 0.75$; $p < 0.05$)

Tabel 6. Hasil uji kontras orthogonal bahan pembawa untuk memformulasi cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) terhadap mortalitas hama PBKo secara kumulatif hingga hari ke-7 setelah aplikasi (HSA)

Table 6. The result of orthogonal contrast test of carrier materials for formulating the entomopathogenic fungus of *T. pinophilus* (EFTP) on the CBB mortality cumulatively until 7th days after application (DAA)

Perlakuan yang dikontraskan	Mortalitas hama PBKo (%) secara kumulatif hingga						
	1 HSA	2 HSA	3 HSA	4 HSA	5 HSA	6 HSA	7 HSA
MJ	20,99	28,15	29,63	30,12	30,62	30,86	32,84
(K1+K2+K3)	7,41	11,11	11,11	12,59	13,13	13,13	17,04
MJ	20,99	28,15	29,63	30,12	30,62	30,86	32,84
K4	13,33	13,33	15,53	15,53	15,53	15,53	15,53
MKT	24,00	27,78	31,33 *	32,89 *	33,11 *	34,67 *	36,67 *
(K1+K2+K3)	7,41	11,11	11,11	12,59	13,13	13,13	17,04
MKT	24,00	27,78	31,33	32,89	33,11	34,67	36,67
K4	13,33	13,33	15,53	15,53	15,53	15,53	15,53
MK	47,78 **	57,22 **	58,33 **	59,72 **	59,72 **	60,56 **	62,50 **
(K1+K2+K3)	7,41	11,11	11,11	12,59	13,13	13,13	17,04
MK	47,78 *	57,22 **	58,33 **	59,72 **	59,72 **	60,56 **	62,50 **
K4	13,33	13,33	15,53	15,53	15,53	15,53	15,53
(K1+K2+K3)	7,41	11,11	11,11	12,59	13,13	13,13	17,04
K4	13,33	13,33	15,53	15,53	15,53	15,53	15,53

Keterangan: MJ = minyak jagung; MKT = minyak kacang tanah; MK = minyak kedelai; K1, K2 dan K3 = suspensi dengan bahan pembawa air, dengan konsentrasi masing-masing 0,25%; 0,50% dan 0,75%; K4 = Insektisida Klorpirifos; HSA = hari setelah aplikasi; * dan ** masing-masing nyata pada taraf 5% ($p < 0,05$) dan 1% ($p < 0,01$)

Notes : MJ = corn oil; MKT = groundnut oil; MK = soybean oil; K1, K2 and K3 = suspension with water as carrier materials, in concentration of 0.25%, 0.50% and 0.75% respectively; K4 = Klorpirifos insecticide; DAA = days after application; * and ** significant at 5% ($p < 0.05$) and 1% ($p < 0.01$) level respectively

Perlakuan CETP menyebabkan mortalitas lebih tinggi dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa formula CETP sangat efektif dalam mengendalikan PBKo. Perlakuan formula CETP yang dapat menyebabkan mortalitas PBKo $\geq 80\%$ pada hari ke-7 setelah aplikasi, diantaranya formula nomor 24 (S79MK20 dengan dosis 7,50%) dan 27 (S69MK30 dengan dosis 7,50%). Kedua perlakuan formula tersebut dinilai sangat potensial, karena dapat menyebabkan mortalitas hama PBKo paling tinggi, yaitu masing-masing 88,89% dan 84,44% pada hari ke-7 (Tabel 4), dan nilai LT_{50} masing-masing terjadi pada hari ke-15 dan ke-21 (Tabel 5). Nilai LT_{50} untuk kedua formula tersebut telah tercapai pada hari ke-1 setelah aplikasi, namun hari berikutnya mulai kelihatan terjadi penurunan laju mortalitas (Tabel 5). Hal ini memberikan indikasi bahwa untuk lebih meningkatkan keefektifannya perlu dilakukan pengulangan aplikasi, walaupun hal ini masih perlu dibuktikan melalui penelitian-penelitian berikutnya. Kematian imago PBKo yang disebabkan oleh infeksi cendawan membutuhkan beberapa tahap proses untuk sampai mematikan serangga, yaitu penempelan konidia pada tubuh serangga, perkecambahan, penetrasi, invasi, dan kolonisasi dalam hemosel, jaringan dan organ. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Sari & Widyaningrum (2014).

2. Pengaruh jenis minyak nabati sebagai bahan pembawa dalam memformulasi cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP)

Hasil analisis menunjukkan bahwa bahan pembawa dari minyak nabati (kecuali minyak jagung) lebih baik bila dibandingkan dengan bahan pembawa air (perlakuan K1, K2, dan K3) (Tabel 6). Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Alves *et al.* (2002), Malsam *et al.* (2002), Vega-Aquino *et al.* (2010), Lopes *et al.* (2011), Camargo *et al.* (2012), Kirubakaran *et al.* (2014), Batta (2016), Nithya & Reji Rani (2017), dan Lopes & Faria (2019).

Dari ketiga jenis minyak nabati yang digunakan, ternyata minyak kedelai memiliki kemampuan yang paling baik digunakan sebagai bahan formulasi cendawan CETP. Hal ini diduga karena minyak kedelai mampu menstabilkan formula dengan lebih baik serta dapat menghasilkan konidia cendawan relatif lebih banyak dibandingkan dengan minyak jagung maupun kacang tanah. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian tentang formulasi *B. bassiana* dengan bahan pembawa minyak kedelai untuk mengendalikan hama pada tanaman sawit. Minyak kedelai yang digunakan sebagai bahan pembawa dapat menghasilkan konidia yang lebih banyak dan dalam aplikasinya di lapangan relatif tahan terhadap sengatan sinar ultra violet (Moslim, Wahid, Ali, & Kamarudin, 2004). Demikian juga apabila minyak kedelai dicampur dengan asam ferulat (*ferulic acid*) untuk memformulasi *B.*

bassiana, ternyata mampu mempertahankan diri terhadap sinar ultra violet dalam pengendalian hama tanaman kubis dan kacang buncis (Behle, Compton, Laszlo, & Shapiro-Ilan, 2009). Minyak kedelai sebagai bahan pembawa dalam memformulasi agens hayati *M. anisopliae* memiliki kemampuan yang sama dengan bahan pembawa komersial dalam mempertahankan viabilitas konidia (Alves *et al.*, 2002). Pada umumnya, bahan pembawa yang terbuat dari minyak nabati, termasuk minyak kedelai, memiliki sifat fisiko-kimia yang mampu menstabilkan formula, baik pada kondisi lingkungan yang berbeda maupun untuk periode waktu yang cukup lama, sehingga dapat meningkatkan keefektifan formula (Mola & Afkari, 2012; Latifian, 2018).

3. Tingkat serangan, persentase buah yang tergetek, dan jumlah lubang gerakan PBKo

Hasil pengamatan persentase serangan menunjukkan bahwa perlakuan formula dengan kode S79MK20 dan S69MK30 sangat potensial dalam menekan tingkat serangan hama PBKo. Pada kedua formula tersebut, persentase tingkat serangan PBKo hanya 26,67% pada hari ke-7 setelah aplikasi dan lebih rendah dibandingkan dengan seluruh kontrol. Formula lainnya yang dinilai cukup potensial adalah S69MKT30 dengan persentase tingkat serangan PBKo sebesar 35% (Tabel 7).

Tabel 7. Pengaruh perlakuan formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) terhadap tingkat serangan hama PBKo secara kumulatif hingga hari ke-7 hari setelah aplikasi (HSA)

Table 7. The effect of entomopathogenic fungi formulas of *T. pinophilus* (ETFP) on the attack level of CBB cumulatively until 7th days after application (DAA)

Kode Formula	Konsentrasi (%), Dosis (ml/l)	Tingkat serangan hama PBKo (%) secara kumulatif hingga						
		1 HSA	2 HSA	3 HSA	4 HSA	5 HSA	6 HSA	7 HSA
S89MJ10	2,50	65,00	70,00	70,00	85,00	90,00	90,00	90,00
S89MJ10	5,00	60,00	75,00	80,00	85,00	85,00	85,00	85,00
S89MJ10	7,50	40,00	40,00	40,00	50,00	50,00	50,00	50,00
S79MJ20	2,50	35,00	46,67	50,00	55,00	60,00	60,00	60,00
S79MJ20	5,00	55,00	60,00	75,00	75,00	75,00	75,00	75,00
S79MJ20	7,50	35,00	45,00	48,30	50,00	55,00	55,00	55,00
S69MJ30	2,50	35,00	50,00	55,00	55,00	60,00	60,00	60,00
S69MJ30	5,00	40,00	55,00	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
S69MJ30	7,50	30,00	30,00 b	30,00 b	35,00 bc	45,00	60,00	60,00
S89MKT10	2,50	40,00	50,00	65,00	75,00	85,00	90,00	90,00
S89MKT10	5,00	45,00	60,00	68,33	68,33	80,00	85,00	85,00
S89MKT10	7,50	40,00	60,00	65,00	70,00	75,00	85,00	85,00
S79MKT20	2,50	25,00	50,00	55,00	65,00	65,00	70,00	70,00
S79MKT20	5,00	60,00	65,00	70,00	70,00	80,00	85,00	85,00
S79MKT20	7,50	35,00	45,00	60,00	70,00	75,00	75,00	75,00
S69MKT30	2,50	25,00	25,00 bd	30,00	40,00	40,00 c	40,00	40,00
S69MKT30	5,00	15,00 b	25,00 bd	35,00 b	35,00 bc	40,00 c	40,00	50,00
S69MKT30	7,50	25,00	25,00 bd	25,00 bcd	35,00 bc	35,00 bcd	35,00 bcd	35,00 bcd
S89MK10	2,50	40,00	46,67	53,33	66,67	70,00	73,33	73,33
S89MK10	5,00	33,33	60,00	63,33	63,33	63,33	63,33	66,67
S89MK10	7,50	23,33	43,33	50,00	53,33	53,33	56,67	56,67
S79MK20	2,50	56,67	70,00	73,33	73,33	73,33	86,67	90,00
S79MK20	5,00	23,33	46,67	46,67	50,00	50,00	53,33	53,33
S79MK20	7,50	13,33 b	20,00 bd	23,33 bcd	23,33 abcd	23,33 abcd	26,67 abcd	26,67 abcd
S69MK30	2,50	40,00	53,33	70,00	76,67	76,67	80,00	83,33
S69MK30	5,00	36,67	53,33	53,33	56,67	56,67	56,67	60,00
S69MK30	7,50	6,67 ab	20,00 bd	20,00 abcd	26,67 abcd	26,67 abcd	26,67 abcd	26,67 abcd
K1	2,50	50,00	55,00	65,00	80,00	80,00	80,00	80,00
K2	5,00	60,00	75,00	80,00	85,00	85,00	85,00	85,00
K3	7,50	50,00	60,00	75,00	86,67	88,33	88,33	88,33
K4	2,00	46,67	70,00	73,33	80,00	83,33	86,67	86,67

Keterangan: (a) berbeda nyata dengan K1 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 2,50%), (b) berbeda nyata dengan K2 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 5,00%), (c) berbeda nyata dengan K3 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 7,50%), dan (d) berbeda nyata dengan K4 (insektisida klorpirifos, dosis 2,00 ml/l), berdasarkan uji Dunnett pada taraf 5%; HSA = hari setelah aplikasi

Notes : (a) significantly different from K1 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 2,50%), (b) significantly different from K2 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 5,00%), (c) significantly different from K3 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 7,50%), and (d) significantly different from K4 (Klorpirifos insecticide, in dose of 2ml/l), based on Dunnett's test at 5% level; DAA = days after application

Tabel 8. Pengaruh perlakuan formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) terhadap persentase buah yang berlubang akibat gerakan PBKo secara kumulatif hingga hari ke-7 setelah aplikasi (HSA)

Table 8. The effect of entomopathogenic fungi formulas of *T. pinophilus* (EFTP) on the percentage of hollow berries due to CBB attack cumulatively until 7th days after application (DAA)

Kode formula	Konsentrasi (%), Dosis (ml/l)	Persentase buah berlubang hama PBKo secara kumulatif hingga						
		1 HSA	2 HSA	3 HSA	4 HSA	5 HSA	6 HSA	7 HSA
S89MJ10	2,50	66,67	70,00	70,00	86,67	90,00	90,00	90,00
S89MJ10	5,00	66,67	76,67	80,00	86,67	86,67	86,67	86,67
S89MJ10	7,50	40,00	40,00	40,00	50,00	50,00	50,00	50,00
S79MJ20	2,50	33,33	43,33	50,00	53,33	60,00	60,00	60,00
S79MJ20	5,00	53,33	60,00	73,33	73,33	73,33	73,33	73,33
S79MJ20	7,50	33,33	40,00	43,33	46,67	53,33	53,33	53,33
S69MJ30	2,50	33,33	46,67	50,00	53,33	56,67	56,67	56,67
S69MJ30	5,00	40,00	53,33	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
S69MJ30	7,50	30,00	30,00 b	30,00 b	33,33 bc	50,00	60,00	60,00
S89MKT10	2,50	40,00	50,00	63,33	73,33	83,33	90,00	90,00
S89MKT10	5,00	43,33	60,00	70,00	66,67	76,67	83,33	83,33
S89MKT10	7,50	40,00	53,33	63,33	66,67	73,33	80,00	83,33
S79MKT20	2,50	26,67	50,00	53,33	63,33	63,33	70,00	70,00
S79MKT20	5,00	60,00	63,33	70,00	70,00	80,00	83,33	83,33
S79MKT20	7,50	33,33	43,33	60,00	73,33	73,33	73,33	73,33
S69MKT30	2,50	23,33	23,33 bd	30,00 b	36,67	40,00	40,00	40,00
S69MKT30	5,00	16,67 b	23,33 bd	33,33 b	33,33 bc	40,00	40,00	50,00
S69MKT30	7,50	23,33	23,33 bd	23,33 abcd	33,33 bc	33,33 b	33,33 bc	33,33
S89MK10	2,50	40,00	46,67	53,33	66,67	70,00	73,33	73,33
S89MK10	5,00	33,33	60,00	63,33	60,00	60,00	63,33	66,67
S89MK10	7,50	23,33	43,33	50,00	53,33	53,33	56,67	56,67
S79MK20	2,50	56,67	70,00	73,33	73,33	73,33	86,67	90,00
S79MK20	5,00	23,33	60,00	46,67	50,00	50,00	53,33	53,33
S79MK20	7,50	13,33 b	20,00 bd	23,33 abcd	23,33 abcd	23,33 abc	26,67 abc	26,67 abc
S69MK30	2,50	40,00	53,33	70,00	76,67	76,67	80,00	83,33
S69MK30	5,00	36,67	53,33	53,33	56,67	56,67	56,67	60,00
S69MK30	7,50	6,67 abcd	20,00 bd	20,00 abcd	26,67 abc	26,67 abc	26,67 abc	26,67 abc
K1	2,50	46,67	56,67	70,00	80,00	80,00	80,00	80,00
K2	5,00	60,00	73,33	80,00	83,33	86,67	86,67	86,67
K3	7,50	46,67	60,00	73,33	83,33	83,33	83,33	83,33
K4	2,00	46,67	70,00	73,33	73,33	73,33	73,33	73,33

Keterangan: (a) berbeda nyata dengan K1 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 2,50%), (b) berbeda nyata dengan K2 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 5,00%), (c) berbeda nyata dengan K3 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 7,50%), dan (d) berbeda nyata dengan K4 (insektisida klorpirifos, dosis 2,00 ml/l), berdasarkan uji Dunnett pada taraf 5%; HSA = hari setelah aplikasi

Notes : (a) significantly different from K1 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 2,50%), (b) significantly different from K2 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 5,00%), (c) significantly different from K3 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 7,50%), and (d) significantly different from K4 (Klorpirifos insecticide, in dose of 2ml/l), based on Dunnett's test at 5% level; DAA = days after application

Pengamatan terhadap persentase buah yang tergerek PBKo menunjukkan bahwa perlakuan formula dengan kode S79MK20 dan S69MK30 cukup potensial, walaupun masih sama dengan perlakuan K4 (insektida kimia Klorpirifos). Pada hari ke-7 setelah aplikasi, kedua formula tersebut (S79MK20 dan S69MK30) memperlihatkan persentase buah yang tergerek PBKo masing-masing sebesar 26,67%, sedangkan untuk formula S69MKT30 sebesar 33,33% (Tabel 8). Pengamatan terhadap banyaknya lubang gerakan pada hari ke-7 setelah aplikasi, ternyata ditemukan 3,33-27,00 lubang per 10 buah kopi. Formula S79MK20 dan S69MK30 masing-masing pada konsenrasi 7,50%

memperlihatkan jumlah lubang gerakan paling rendah, yaitu masing-masing 4,67 dan 3,33 lubang, walaupun formula S79MK20 tidak berbeda dengan perlakuan K4 (insektida kimia Klorpirifos). Demikian juga dengan perlakuan formula S69MKT30 jumlah lubang gerakannya relatif rendah, yaitu 5,67 lubang, walaupun masih sama dengan perlakuan K4 (insektida kimia Klorpirifos) (Tabel 9).

Berdasarkan data-data yang diperoleh menunjukkan bahwa formula S79MK20 dan S69MK30 merupakan formula paling efektif dalam mengendalikan hama PBKo, karena dapat menyebabkan mortalitas paling tinggi, dengan persentase tingkat serangan, persentase

buah yang tergerek, dan jumlah lubang gerekkan paling rendah. Formula lainnya yang dinilai cukup potensial adalah formula S69MKT30. Formula S79MK20 dan S69MK30 menggunakan minyak kedelai, sedangkan formula S69MKT30 menggunakan minyak kacang tanah sebagai bahan pembawa. Penambahan minyak kedelai dan/atau kacang tanah pada formula entomopatogen

memiliki peran dan fungsi dalam proses stabilisasi suspensi serta sebagai perekat ditubuh imago PBKo sehingga keefektifannya lebih meningkat. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Alves *et al.* (2002), Moslim *et al.* (2004), Behle *et al.* (2009), Mola & Afkari (2012), dan Latifian (2018).

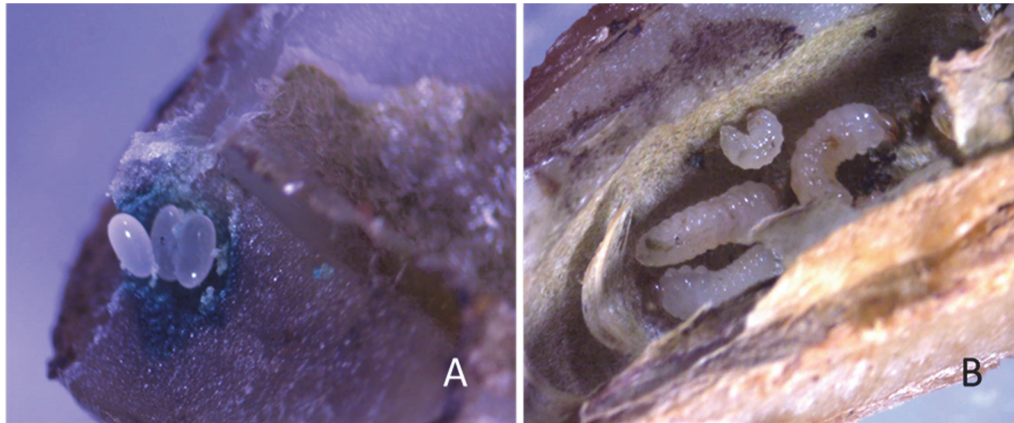
Tabel 9. Pengaruh perlakuan formula cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) terhadap jumlah lubang akibat gerkkan PBKo per 10 buah kopi secara kumulatif mulai sampai hari ke-7 setelah aplikasi (HSA)

Table 9. The effect of entomopathogenic fungi formulas of *T. pinophilus* (EFTP) on the number of holes due to CBB attack per 10 coffee berries cumulatively until 7th days after application (DAA)

Kode formula	Konsentrasi (%), Dosis (ml/l)	Jumlah lubang gerkkan per10 buah kopi secara kumulatif hingga						
		1 HSA	2 HSA	3 HSA	4 HSA	5 HSA	6 HSA	7 HSA
S89MJ10	2,50	9,00	15,00	15,00	15,67	18,00	19,00	19,00
S89MJ10	5,00	9,33	15,00	19,00	19,00	21,67	24,33	24,33
S89MJ10	7,50	6,00	7,00	10,00	10,00	11,00	11,33	11,33
S79MJ20	2,50	4,67	9,00	10,00	10,33	14,00	16,00	16,00
S79MJ20	5,00	6,00	12,00	13,33	16,00	16,33	20,00	20,67
S79MJ20	7,50	5,67	6,33	8,00	8,33	11,00	13,33	13,67
S69MJ30	2,50	7,00	7,33	8,00	11,33	14,67	15,33	16,00
S69MJ30	5,00	5,33	9,00	9,33	10,00	10,67	10,33	10,33
S69MJ30	7,50	5,33	7,00	8,33	8,67	11,33	11,67	12,00
S89MKT10	2,50	6,00	8,67	12,00	15,00	16,67	20,00	21,67
S89MKT10	5,00	7,33	9,67	12,67	13,67	18,00	21,00	23,00
S89MKT10	7,50	7,00	10,67	11,00	15,67	16,33	22,00	23,00
S79MKT20	2,50	3,67	12,00	13,33	14,00	15,33	18,33	19,00
S79MKT20	5,00	8,33	11,00	11,00	11,33	12,33	15,67	16,67
S79MKT20	7,50	5,67	9,67	9,67	12,00	14,00	15,00	15,33
S69MKT30	2,50	5,00	5,33	7,00	7,67	11,33	11,33	11,33
S69MKT30	5,00	2,00 abcd	3,33	5,00	5,33	6,67	8,67	9,00
S69MKT30	7,50	3,33	4,00	4,00 ab	5,00 abc	5,00 bc	5,67 c	5,67 abc
S89MK10	2,50	6,33	8,33	10,33	12,33	13,33	14,67	15,33
S89MK10	5,00	3,67	7,33	8,67	9,67	9,67	11,00	11,67
S89MK10	7,50	3,00	6,33	6,33	7,33	7,33	10,00	10,00
S79MK20	2,50	8,00	11,33	16,33	17,33	17,33	19,00	21,67
S79MK20	5,00	2,67	8,67	8,67	9,33	9,33	9,33	10,00
S79MK20	7,50	1,67 abcd	2,67 abcd	3,00 abcd	3,33 abcd	3,33 abcd	4,33 abc	4,67 abc
S69MK30	2,50	4,67	7,67	10,67	13,00	13,00	13,67	14,33
S69MK30	5,00	4,67	7,33	9,33	10,33	10,33	11,67	12,67
S69MK30	7,50	0,67 abcd	2,67 abcd	2,67 abcd	3,00 abcd	3,00 abcd	3,33 abcd	3,33 abcd
K1	2,50	7,67	11,33	15,67	17,33	17,67	22,00	23,33
K2	5,00	9,00	12,67	15,33	17,67	19,67	21,67	23,67
K3	7,50	7,33	8,33	14,00	18,33	21,33	26,00	27,00
K4	2,00	8,00	12,67	13,33	13,33	15,00	15,00	15,67

Keterangan: (a) berbeda nyata dengan K1 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 2,50%), (b) berbeda nyata dengan K2 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 5,00%), (c) berbeda nyata dengan K3 (100% suspensi dengan bahan pembawa air, konsentrasi 7,50%), dan (d) berbeda nyata dengan K4 (insektisida klorpirifos, dosis 2,00 ml/l), berdasarkan uji Dunnett pada taraf 5%; HSA = hari setelah aplikasi

Notes : (a) significantly different from K1 (100% of suspension with water as carrier materiass, in concentration of 2,50%), (b) significantly different from K2 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 5,00%), (c) significantly different from K3 (100% of suspension with water as carrier materials, in concentration of 7,50%), and (d) significantly different from K4 (Klorpirifos inecticide, in dose of 2ml/l), based on Dunnett's test at 5% level; DAA = days after application



Gambar 3. (A) telur dan (B) larva PBKo pada perlakuan kontrol (CETP dengan air sebagai bahan pembawa)
Figure 3. (A) eggs and (B) larvae of CBB in control treatments (ETP with water as carrier material)

Setelah selesai pengamatan mortalitas, tingkat serangan dan persentase lubang gerakan, selanjutnya dilakukan pembelahan buah kopi untuk diamati bagian dalamnya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa buah kopi yang diberi perlakuan formula S79MK20 dan S69MK30 hanya ditemukan lubang gerakan saja (tanpa adanya telur, larva dan pupa), sedangkan pada perlakuan kontrol, terutama K1, K2 dan K3, ditemukan telur sebanyak 4-9 buah dan larva sebanyak 2-30 buah (Gambar 3). Hal ini memberikan indikasi adanya penghambatan terhadap perkembangbiakan hama *H. hampei* dalam buah kopi yang telah diberikan perlakuan formula S79MK20 dan S69MK30.

KESIMPULAN

Cendawan entomopatogen *T. pinophilus* (CETP) dengan kode akses GeneBank MF683084 menghasilkan enzim kitinase dan protease yang potensial sebagai agens hayati dalam mengendalikan kumbang penggerek buah kopi (PBKo) secara *in vitro*. Minyak kedelai sebagai bahan pembawa dalam memformulasi bioinsektisida berbasis cendawan *T. pinophilus* memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan dengan minyak kacang tanah maupun minyak jagung. Formula bioinsektisida S69MK30 (69% suspensi *T. pinophilus* + 30% minyak kedelai + 1% Tween 80) dan S79MK20 (79% suspensi *T. pinophilus* + 20% minyak kedelai + 1% Tween 80) masing-masing pada konsentrasi 7,50% merupakan formula yang paling berpotensi dalam mengendalikan PBKo, karena dapat menyebabkan mortalitas hama paling tinggi (tingkat mortalitas >50% pada hari pertama, dan nilai LT₅₀ masing-masing dicapai pada hari ke-15 dan ke-21), serta tingkat serangan dan jumlah lubang gerakan paling rendah. Formula lainnya yang dinilai cukup potensial adalah S69MKT30 (69%

suspensi *T. pinophilus* + 30% minyak kacang tanah + 1% Tween 80) pada konsentrasi 7,50%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pusat Penelitian Biologi - LIPI, yang telah membantu dalam mengidentifikasi secara molekuler cendawan *T. pinophilus*. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para Teknisi Litkayasa dan Laboran di Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri) yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

KONTRIBUSI PENULIS

1. Khaerati (Kontributor Utama)
2. Gusti Indriati (Kontributor Utama)
3. Edi Wardiana (Kontributor Anggota)

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rahim, I. R., & Abo-Elyousr, K. A. M. (2018). *Talaromyces pinophilus* strain AUN-1 as a novel mycoparasite of *Botrytis cinerea*, the pathogen of onion scape and umbel blights. *Microbiological Research*, 212–213(November 2017), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.004>.
- Alves, R. T., Bateman, R. P., Gunn, J., Prior, C., & Leather, S. R. (2002). Effects of different formulations on viability and medium-term storage of *Metarhizium anisopliae* conidia. *Neotropical Entomology*, 31(1), 91–99. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2002000100013>.

- Alves, S. B., Tamai, M. A., Rossi, L. S., & Castiglioni, E. (2005). *Beauveria bassiana* pathogenicity to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. *Experimental and Applied Acarology*, 37(1–2), 117–122. <https://doi.org/10.1007/s10493-005-0314-y>.
- Angelo, I. C., Fernandes, É. K. K., Bahiense, T. C., Perinotto, W. M. S., Moraes, A. P. R., Terra, A. L. M., & Bittencourt, V. R. E. P. (2010). Efficiency of *Lecanicillium lecanii* to control the tick *Rhipicephalus m.icroplus*. *Veterinary Parasitology*, 172(3–4), 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.038>.
- Balakrishnan, M. M., & Naik, P. R. (2014). Infectivity of ten *Metarhizium anisopliae* isolates to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(5), 246–249.
- Batta, Y. A. (2016). Invert emulsion: Method of preparation and application as proper formulation of entomopathogenic fungi. *MethodsX*, 3, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2016.02.001>.
- Behle, R. W., Compton, D. L., Laszlo, J. A., & Shapiro-Ilan, D. I. (2009). Evaluation of soysscreen in an oil-based formulation for UV protection of *Beauveria bassiana* conidia. *Journal of Economic Entomology*, 102(5), 1759–1766. <https://doi.org/10.1603/029.102.0505>.
- Butt, T. M., & Goettel, M. S. (2009). Bioassays of entomogenous fungi. *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*, (June), 141–195. <https://doi.org/10.1079/9780851994222.0141>.
- Camargo, M. G., Golo, P. S., Angelo, I. C., Perinotto, W. M. S., Sá, F. A., Quinelato, S., & Bittencourt, V. R. E. P. (2012). Effect of oil-based formulations of acaripathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 188(1–2), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.012>.
- Damon, A. (2000). A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) . *Bulletin of Entomological Research*, 90(6), 453–465. <https://doi.org/10.1017/s0007485300000584>.
- Gan, Z., Yang, J., Tao, N., Liang, L., Mi, Q., Li, J., & Zhang, K.-Q. (2007). Cloning of the gene *Lecanicillium psalliotae* chitinase *Lpchil* and identification of its potential role in the biocontrol of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(6), 1309–1317. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1111-9>.
- Gaspersz, V. (1992). *Teknis analisis dalam penelitian percobaan*. (pp. 329-333). Penerbit Tarsito, Bandung.
- Haraprasad, N., Niranjana, S. R., Prakash, H. S., Shetty, H. S., & Wahab, S. (2001). *Beauveria bassiana* - A potential mycopesticide for the efficient control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in India. *Biocontrol Science and Technology*, 11(2), 251–260. <https://doi.org/10.1080/09583150120035675>.
- Harrison, R. L., & Bonning, B. C. (2010). Proteases as insecticidal agents. *Toxins*, 2(5), 935–953. <https://doi.org/10.3390/toxins2050935>.
- Hartl, L., Zach, S., & Seidl-Seiboth, V. (2012). Fungal chitinases: diversity, mechanistic properties and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 533–543. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3723-3>.
- Jaramillo, J., Chabi-Olaye, A., Kamonjo, C., Jaramillo, A., Vega, F. E., Poehling, H. M., & Borgemeister, C. (2009). Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: Predictions of climate change impact on a tropical insect pest. *PLoS ONE*, 4(8), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006487>.
- Kazerooni, E. A., Rethinasamy, V., & Al-Sadi, A. M. (2019). *Talaromyces pinophilus* inhibits *Pythium* and *Rhizoctonia* - induced damping-off of cucumber. *Journal of Plant Pathology*, 101, 377–383.
- Khan, S., Guo, L., Shi, H., Mijit, M., & Qiu, D. (2012). Bioassay and enzymatic comparison of six entomopathogenic fungal isolates for virulence or toxicity against green peach aphids *Myzus persicae*. *African Journal of Biotechnology*, 11(77), 14193–14203. <https://doi.org/10.5897/ajb12.1592>.
- Kirubakaran, S. A., Sathish-Narayanan, S., Revathi, K., Chandrasekaran, R., & Senthil-Nathan, S. (2014). Effect of oil-formulated *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the rice leafhopper *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(8), 977–992. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.828388>.
- Kisaakye, J. (2014). *Talaromyces sp. as a potential bio-control agent against Pratylenchus zeae infection of rice (Oryza sativa L.)*. (Master's Thesis, Dept. Biology, Faculty of Science, Ghent University).
- Langner, T., Öztürk, M., Hartmann, S., Cord-Landwehr, S., Moerschbacher, B., Walton, J. D., & Göhrea, V. (2015). Chitinases are essential for cell separation in *Ustilago maydis*. *Eukaryotic Cell*, 14(9), 846–857. <https://doi.org/10.1128/EC.00022-15>.

- Latifian, M. (2018). Physicochemical properties affects on different oil formulations on fungus *Metarhizium anisopliae* for control of *Oryctes elegans*. *Journal of Entomology*, 15(2), 83–92. <https://doi.org/10.3923/je.2018.83.92>.
- Lopes, R. B., & Faria, M. (2019). Influence of two formulation types and moisture levels on the storage stability and insecticidal activity of *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, 29(5), 437–450. <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1566436>.
- Lopes, R. B., Pauli, G., Mascarin, G. M., & Faria, M. (2011). Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil-based formulation. *Biocontrol Science and Technology*, 21(2), 125–137. <https://doi.org/10.1080/09583157.2010.534548>.
- Maity, A., Pal, R. K., Chandra, R., & Singh, N. V. (2014). *Penicillium pinophilum*-A novel microorganism for nutrient management in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Scientia Horticulturae*, 169, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.02.001>.
- Majumder, M. S. I., Islam, M. K., Akamine, H., Sano, A., Onjo, M., & Hossain, M. A. (2019). Comparative study of phosphate solubilization potential of *Talaromyces pinophilus* strains. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(6), 14973–14984. https://doi.org/10.15666/aeer/1706_1497314984.
- Malsam, O., Kilian, M., Oerke, E. C., & Dehne, H. W. (2002). Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. *Biocontrol Science and Technology*, 12(3), 337–348. <https://doi.org/10.1080/09583150220128121>.
- Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: Structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, 206(24), 4393–4412. <https://doi.org/10.1242/jeb.00709>.
- Mola, L. F., & Afkari, R. (2012). Effects of different vegetable oils formulations on temperature tolerance and storage duration of *Beauveria bassiana* conidia. *African Journal of Microbiology Research*, 6(22), 4707–4711. <https://doi.org/10.5897/ajmr11.1372>.
- Mondal, S., Baksi, S., Koris, A., & Vatai, G. (2016). Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18(2), 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.psra.2016.10.001>.
- Moslim, R., Wahid, M. B., Ali, S. R. A., & Kamarudin, N. (2004). The effect of oils on germination of *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin and its infection against the oil palm bagworm, *Metisa plana* (Walker). *Journal of Oil Palm Research*, 16(2), 78–87.
- Nithya, P. R., & Reji Rani, O. P. (2017). Evaluation of carrier materials for formulating entomopathogenic fungus *Lecanicillium Lecanii* (Zimmermann) Zare and Gams. *Journal of Biological Control*, 31(1), 50–55. <https://doi.org/10.18311/jbc/2017/15556>.
- Pérez, J., Infante, F., & Vega, F. E. (2005). Does the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) have mutualistic fungi? *Annals of the Entomological Society of America*, 98(4), 483–490. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2005\)098\[0483:dtcbbc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2005)098[0483:dtcbbc]2.0.co;2).
- Peterson, S.W., & Jurjević, Z. (2019). The *Talaromyces pinophilus* species complex. *Fungal Biology*, 123, 745–762.
- Polar, P., Kairo, M. T. K., Moore, D., Pegram, R., & John, S. A. (2005). Comparison of water, oils and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarhizium anisopliae* for use in control of *Boophilus microplus*. *Mycopathologia*, 160(2), 151–157. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0120-4>.
- Prayogo, Y. (2006). Upaya mempertahankan keefektifan cendawan entomopatogen untuk mengendalikan hama tanaman pangan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25(2), 47–54. <https://doi.org/10.21082/bulpalawija.v0n10.2005.p53-65>.
- Sánchez-Pérez, L. C., Barranco-Flrido, J. E., Rodríguez-Navarro, S., Cervantes-Mayagoitia, J. F., & Ramos-López, M. Á. (2014). Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. *Advances in Enzyme Research*, 02(02), 65–76. <https://doi.org/10.4236/aer.2014.22007>.
- Sari, L.A., & Widyaningrum, T. (2014). Uji patogenitas spora jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap mortalitas hama *Hypothenemus hampei* (Ferrari) sebagai bahan ajar biologi SMA kelas X. *JUPEMASI-PBIO*, 1(1), 26–32. ISSN: 2407-1269.
- Sembiring, M., Elfiati, D., Sutarta, E. S., & Sabrina, T. (2015). Peningkatan ketersediaan fosfat dan produksi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dengan menggunakan *Talaromyces pinophilus* indigenous dan pupuk SP36 pada Andisol terdampak erupsi Gunung Sinabung. *Jurnal Pertanian Tropik*, 2(3), 323–329.

- Sembiring, M., Jefri, Sakiah, & Wahyuni, M. (2018). The inoculation of mycorrhiza and *Talaromyces pinophilus* toward the improvement in growth and phosphorus uptake of oil palm seedlings (*Elaeis guineensis* Jacq.) on saline soil media. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(4), 617–622.
- Sultana, R., Kumar, S., & Yanar, D. (2017). Application of entomopathogenic fungi for insect pests control. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6), 07–13.
- Suryanto, D., Patonah, S., & Munir, E. (2010). Control of fusarium wilt of chili with chitinolytic bacteria. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(1), 5–8. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.1.5>.
- Sussana, Sinaga, M. S., Wiyono, S., & Triwidodo, H. (2018). Pemanfaatan cendawan antagonis in situ sebagai agens biokontrol *Lasioidiplodia theobromae* penyebab dieback pada pala di Aceh Selatan. *Jurnal Pertanian Tropik*, 58, 447–454.
- Vega-Aquino, P., Sanchez-Peña, S., & Blanco, C. A. (2010). Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(3), 145–149. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.12.002>
- Vinale, F., Nicoletti, R., Lacatena, F., Marra, R., Sacco, A., Lombardi, N., ... Woo, S. L. (2017). Secondary metabolites from the endophytic fungus *Talaromyces pinophilus*. *Natural Product Research*, 31(15), 1778–1785. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1290624>.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S.B., & Taylor, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., & White, T.J. (eds). *PCR protocols* (pp, 315-322). Academic, San Diego.
- Widhyastuti, N. & Dewi, R. M. (2001). *Isolasi bakteri proteolitik dan optimasi produksi protease*. Laporan Teknik Proyek Inventarisasi dan Karakterisasi Sumberdaya Hayati. Pusat Penelitian Biologi - LIPI. Bogor.
- Zhai, M.-M., Li, J., Jiang, C.-X., Shi, Y.-P., Di, D.-L., Crews, P., & Wu, Q.-X. (2016). The bioactive secondary metabolites from *Talaromyces* species. *Natural Products and Bioprospecting*, 6(1), 1–24. <https://doi.org/10.1007/s13659-015-0081-3>.