

# Pengendalian Dini Hama Kepik Coklat pada Kedelai dengan Pemanfaatan Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii*

Yusmani Prayogo<sup>1</sup>

## Ringkasan

Kepik coklat (*Riptortus linearis*) merupakan salah satu hama pengisap polong kedelai yang sangat penting karena serangannya dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 80%. Pengendalian kepik coklat menggunakan insektisida kimia kurang efektif karena hanya mampu membunuh stadia nimfa dan imago. *Lecanicillium lecanii* merupakan cendawan entomopatogen yang cukup potensial digunakan sebagai agens pengendalian telur kepik coklat karena mampu menggagalkan penetasan telur (*ovicidal*). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kerentanan berbagai umur telur kepik coklat terhadap infeksi cendawan *L. lecanii*. Penelitian dilakukan di laboratorium patologi serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor dan laboratorium biologi LIPI (Cibinong) dari bulan Juli sampai September 2008. Perlakuan adalah perbedaan umur telur kepik coklat setelah diletakkan imago, yaitu: (1) < 1 hari (baru diletakkan), (2) 1 hari, (3) 2 hari, (4) 3 hari, (5) 4 hari, (6) 5 hari, dan (7) 6 hari. Setiap unit perlakuan adalah 100 butir telur kepik coklat diletakkan di dalam cawan Petri yang berdiameter 18 cm kemudian disemprot dengan suspensi konidia *L. lecanii* menggunakan kerapatan konidia  $10^7$ /ml. Dosis aplikasi adalah 2 ml per 100 butir telur per perlakuan per ulangan. Hasil penelitian menunjukkan, semakin tua umur telur kepik coklat semakin tahan terhadap infeksi *L. lecanii*. Telur yang baru diletakkan imago (umur 1 hari) sangat rentan terhadap infeksi *L. lecanii*, sedangkan telur yang berumur empat, lima, dan enam hari sangat tahan. Telur kepik coklat yang terinfeksi cendawan *L. lecanii* menjadi terlambat menetas hampir enam hari. Jika kejadian ini berlangsung di lapangan maka sangat menguntungkan bagi keselamatan polong dan biji kedelai dari serangan kepik coklat. Setiap telur kepik coklat yang tidak menetas akibat infeksi *L. lecanii* mampu memproduksi konidia hingga mencapai di atas  $7,25 \times 10^6$ /ml, yang merupakan sumber inokulum potensial untuk transmisi dan diseminasi patogen ke inang yang baru sehingga menciptakan epizooti di lapangan. Untuk menekan populasi kepik coklat hingga di bawah nilai ambang kendali dianjurkan aplikasi cendawan *L. lecanii* mulai umur 35 hari setelah tanam (HST) pada saat imago datang pertama kali untuk meletakkan telurnya.

---

<sup>1</sup> Peneliti pada Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang

**K**epik coklat (*Riptortus linearis*) F. (Hemiptera: Alydidae) merupakan salah satu jenis hama pengisap polong kedelai yang sangat penting di Indonesia, selain kepik hijau *Nezara viridula* dan kepik hijau pucat *Piezodorus hybneri* (Tengkano *et al.* 1992). Pengamatan Tengkano *et al.* (2003; 2005; 2006) di beberapa sentra produksi kedelai di Indonesia menunjukkan bahwa daerah sebaran kepik coklat sangat luas dan populasinya lebih tinggi dibandingkan dengan hama pengisap polong kedelai yang lain. Keberadaan kepik coklat perlu mendapat perhatian karena siklus hidupnya relatif pendek, hanya 29 hari, sehingga perkembangan populasinya sangat cepat. Seekor imago betina kepik coklat mampu memproduksi telur hingga mencapai 70 butir (Tengkano *et al.* 1992).

Hama kepik coklat datang pertama kalinya ke areal kedelai adalah pada waktu tanaman mulai membentuk bunga pada umur 35-42 hari setelah tanam (HST). Pada waktu tersebut, imago datang dengan tujuan untuk meletakkan telurnya. Telur diletakkan satu per satu pada permukaan daun bagian atas, permukaan daun bagian bawah, maupun organ tanaman lainnya (Tengkano *et al.* 1992). Telur yang baru diletakkan berwarna hijau dengan struktur kulit telur masih lentur, setelah beberapa jam berubah menjadi hijau gelap, kemudian berangsur-angsur berubah menjadi coklat dengan lapisan korion mengeras. Telur berbentuk bulat dengan diameter 1,2 mm. Pada bagian ujung telur terdapat lubang yang berbentuk cekung, yaitu mikropil yang berfungsi sebagai tempat masuknya sperma dari kantong spermateka pada waktu pembuahan sebelum telur diletakkan oleh imago.

Tujuh hari setelah diletakkan, telur menetas membentuk nimfa I. Stadia nimfa I berlangsung selama tiga hari kemudian berganti kulit (*moulting*) membentuk nimfa II. Nimfa II juga berlangsung selama tiga hari sebelum berkembang menjadi nimfa III. Baik stadia nimfa III maupun nimfa IV masing-masing berlangsung selama enam hari. Stadia nimfa V berlangsung delapan hari sebelum berkembang menjadi imago. Stadia nimfa dan imago mempunyai peluang yang sama untuk merusak seluruh fase pertumbuhan polong dan biji kedelai.

Hingga saat ini, teknologi pengendalian hama kepik coklat secara efektif belum tersedia dan 95% petani kedelai hanya mengandalkan efikasi insektisida kimia (Marwoto 1992). Pengendalian kepik coklat menggunakan insektisida kimia hanya mampu membunuh stadia nimfa dan imago. Sementara itu, struktur populasi kepik coklat di lapangan selalu tumpang tindih, yaitu ada stadia telur, stadia nimfa, dan stadia imago. Hal ini disebabkan karena stadia telur tidak dapat dikendalikan dengan insektisida kimia sehingga populasi kepik coklat di lapangan sulit ditekan. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif teknologi pengendalian lain yang mampu membunuh stadia telur sehingga populasi hama dapat ditekan lebih awal.

*Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) (Zare & Gams) merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang dapat digunakan sebagai

agens hayati untuk pengendalian kepik coklat pada kedelai (Prayogo 2004). Cendawan tersebut mampu menginfeksi semua stadia serangga, baik nimfa, imago, maupun telur. Pengendalian kepik coklat pada stadia telur menggunakan cendawan *L. lecanii* lebih menguntungkan karena (1) telur tidak bergerak sehingga suspensi konidia yang diaplikasikan dapat menginfeksi sasaran dibanding stadia nimfa maupun imago yang mobilitasnya sangat tinggi; (2) stadia telur belum mampu merusak polong dan biji kedelai; dan (3) cendawan *L. lecanii* dapat menggagalkan penetasan telur karena bersifat ovisidal, sedangkan senyawa insektisida kimia yang mampu bersifat ovisidal belum ada laporan. Namun, informasi kerentanan berbagai umur telur kepik coklat terhadap infeksi *L. lecanii* juga belum pernah dilaporkan.

Informasi kerentanan umur telur kepik coklat terhadap infeksi *L. lecanii* sangat diperlukan karena sebagai dasar untuk menentukan waktu dan frekuensi aplikasi yang tepat sehingga pengendalian menjadi lebih efektif dan efisien. Hal ini dapat dicapai karena keberadaan imago kepik coklat di lahan pertanian kedelai sudah dapat dipastikan pada saat tanaman berumur 35-42 hari setelah tanam (HST). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kerentanan berbagai umur telur kepik coklat terhadap infeksi cendawan entomopatogen *L. lecanii*.

## **Bahan dan Metode**

Penelitian dilakukan di laboratorium Patologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor (IPB) dan laboratorium Biologi LIPI, Cibinong, yang dimulai pada bulan Juli sampai September 2008. Percobaan disusun menggunakan rancangan acak lengkap dan masing-masing perlakuan diulang lima kali. Sebagai perlakuan adalah perbedaan umur telur kepik coklat setelah diletakkan imago, yaitu (1) 0 atau kurang satu hari, (2) satu hari, (3) dua hari, (4) tiga hari, (5) empat hari, (6) lima hari, dan (7) enam hari. Pelaksanaan penelitian adalah sebagai berikut:

### **Pembiakan kepik coklat untuk mendapatkan telur**

Telur kepik coklat yang berbeda umur sebagai perlakuan diperoleh dengan cara mengembangbiakkan nimfa maupun imago di dalam laboratorium. Nimfa dan imago kepik coklat diambil menggunakan jaring serangga di areal pertanian kedelai di Probolinggo, Jawa Timur, pada tahun 2008, kemudian dipelihara di dalam kurungan yang disungkup dengan kain kasa. Serangga diberi pakan kacang panjang yang sudah membentuk biji dan setiap dua hari pakan diganti dengan kacang yang masih segar. Kacang panjang yang baru diperoleh sebelumnya direndam di dalam air bersih selama 12 jam, kemudian dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan residu pestisida kimia,

selanjutnya ditiriskan untuk menghilangkan air yang masih ada. Di dalam sangkar diletakkan kumpulan benang-benang halus berwarna kuning yang berfungsi sebagai tempat penempelan telur yang baru diletakkan oleh imago. Pembiakan kepik coklat dilakukan terus-menerus hingga diperoleh telur di atas 5.000 butir setiap hari. Kemudian, telur yang dihasilkan dimasukkan ke dalam cawan petri berdiameter 18 cm setiap hari. Setiap cawan petri diisi 100 butir telur, dilakukan selama tujuh hari sesuai dengan perlakuan umur telur.

### **Perbanyak cendawan *L. lecanii***

Isolat cendawan *L. lecanii* yang digunakan adalah LI-JTM11 yang memiliki virulensi tinggi hasil penelitian pada tahun 2007. Isolat cendawan ditumbuhkan pada media *potato dextrose agar* (PDA) di dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Pada umur 21 hari setelah inokulasi (HSI), biakan cendawan di setiap cawan ditambah air 10 ml, kemudian koloni dikerok menggunakan kuas halus untuk mengambil konidia yang terbentuk. Suspensi konidia dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik, kemudian kerapatan konidia dihitung menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop untuk memperoleh kerapatan konidia  $10^7/\text{ml}$ .

### **Aplikasi *L. lecanii* pada telur kepik coklat**

Suspensi konidia yang sudah dihitung kemudian diaplikasikan pada telur kepik coklat yang sudah dipersiapkan sebagai perlakuan di dalam cawan petri berdiameter 18 cm. Dosis suspensi konidia *L. lecanii* adalah 2 ml per 100 butir telur, yang diaplikasikan dengan cara menyemprotkan pada seluruh bagian permukaan telur. Bagian dasar cawan dilapisi kertas *tissue* yang dilembabkan dengan air steril dan kelembabannya dipertahankan di atas 80% setiap hari. Kacang panjang segar yang sudah membentuk polong dipotong-potong berukuran 10 cm, kemudian dimasukan ke dalam cawan petri sebagai calon pakan yang disediakan bagi telur yang berhasil menetas. Setiap cawan diisi dua potong kacang panjang, diganti setiap dua hari sekali dengan ukuran yang sama.

Variabel yang diamati adalah: (1) jumlah telur yang tidak menetas setelah terinfeksi *L. lecanii* yang dihitung sejak awal aplikasi sampai umur 6 hari setelah aplikasi (HSA); (2) periode penetasan telur yang dihitung sejak aplikasi *L. lecanii* sampai telur menetas; (3) jumlah konidia yang diproduksi pada setiap telur yang tidak menetas yang dihitung pada setiap telur yang terkolonisasi *L. lecanii*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah air 10 ml. Selanjutnya tabung reaksi dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik, kemudian suspensi konidia pada masing-masing perlakuan dihitung kerapatannya menggunakan *haemocytometer*; (4) jumlah nimfa II kepik coklat yang mampu bertahan hidup dihitung sejak dari stadia telur.

Jumlah konidia *L. lecanii* dihitung menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop optik merk Olypmus, model CX21FSI. Pengamatan perkecambahan konidia dan proses infeksi *L. lecanii* pada struktur kulit telur (*chorion*) kepik coklat dilakukan menggunakan mikroskop elektron, merk JEOL (JAPAN) tipe JSM-5310LV.

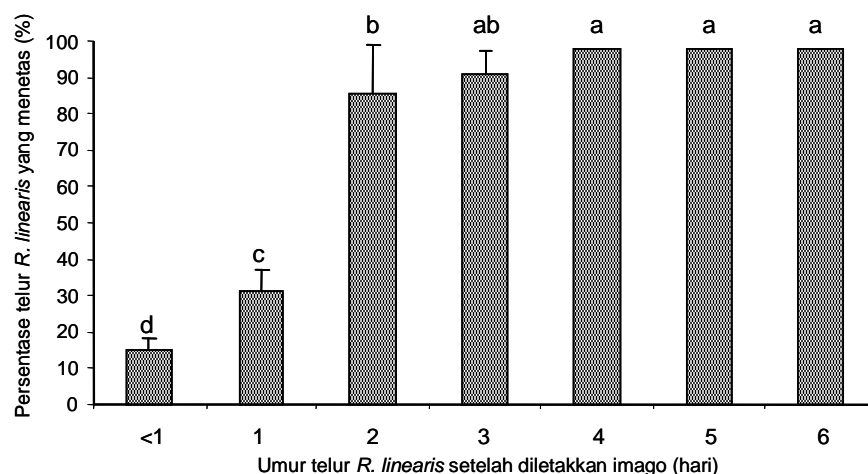
### Analisis data

Semua data yang diperoleh dianalisis menggunakan program MINITAB 14. Apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan maka analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf nyata 0,05.

## Hasil dan Pembahasan

### Kerentanan berbagai umur telur kepik coklat terhadap infeksi cendawan *L. lecanii*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan umur telur kepik coklat setelah diletakkan imago mempunyai kerentanan yang berbeda terhadap infeksi *L. lecanii*. Semakin lama telur diletakkan imago semakin tahan terhadap infeksi *L. lecanii*. Telur kepik coklat yang berumur empat, lima, dan enam hari setelah diletakkan imago apabila terinfeksi *L. lecanii* masih mempunyai peluang menetas hingga 100% (Gambar 1). Kejadian ini menginformasikan bahwa telur kepik coklat pada umur tersebut kurang efisien apabila dilakukan



Gambar 1. Jumlah telur kepik coklat pada berbagai umur yang menetas setelah terinfeksi *L. lecanii*.

pengendalian dengan aplikasi *L. lecanii* dibandingkan dengan telur yang berumur kurang satu hari maupun satu hari. Struktur korion telur yang sudah lama diletakkan imago telah mengalami melanisasi, sehingga korion mengeras dan konidia yang sudah menempel pada bagian tersebut sulit berkecambah. Menurut Wilson *et al.* (2008), melanisasi berperan penting dalam meningkatkan ketahanan serangga terhadap serangan patogen. Lebih lanjut dilaporkan Wilson *et al.* (2008), pengaruh melanisasi pada struktur telur *Spodoptera exempta* F. (Lepidoptera: Noctuidae) lebih besar perannya terhadap pertahanan diri dari infeksi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) dibandingkan dengan melanisasi pada stadia larva.

Pengamatan terhadap perkecambahan konidia yang menempel di permukaan korion telur berumur enam hari belum tampak konidia yang berkecambah hingga 24 jam setelah inokulasi (JSI). Walaupun telur kepik coklat yang terinfeksi *L. lecanii* pada umur empat, lima, dan enam hari masih ada konidia yang mampu berkecambah, tetapi karena struktur korion sudah mengeras maka tabung kecambah konidia *L. lecanii* yang terbentuk sulit melakukan penetrasi masuk ke dalam embrio. Dengan demikian, tabung kecambah yang berkembang membentuk apresorium akhirnya tidak mampu bertahan. Pada kondisi demikian, apabila suspensi konidia ditambah dengan bahan pembawa sebelum aplikasi maka cendawan masih mampu bertahan untuk melangsungkan hidupnya (Shi *et al.* 2006; Sahayaraj dan Namasisvayam 2008).

Telur yang berumur enam hari kurang rentan terhadap aplikasi cendawan, karena telur sudah mendekati waktu penetasan, bahkan struktur ujung telur sudah mulai pecah. Meskipun demikian, cendawan masih berpeluang menginfeksi nimfa yang sudah terbentuk. Hal ini disebabkan *L. lecanii* mampu menginfeksi stadia nimfa maupun imago selain stadia telur (Prayogo 2004; Prayogo *et al.* 2005). Apabila kondisi lingkungan kurang mendukung maka konidia yang sudah berkecambah dan berkembang membentuk apresorium akan mengalami plasmolisis, kemudian mengering dan akhirnya mati sebelum menginfeksi inang. Oleh karena itu, untuk mendukung keberhasilan pemanfaatan cendawan entomopatogen dalam pengendalian secara hayati diperlukan bahan pelindung, apalagi diaplikasikan di daerah kering (Williams *et al.* 2000; Verhaar *et al.* 2004; Lee *et al.* 2006).

Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan del-Prado *et al.* (2008) bahwa telur kutu kapuk kelapa *Aleurodicus cocois* (Curtis 1846) (Homoptera: Aleyrodidae) yang berumur tujuh hari lebih rentan terhadap infeksi *L. lecanii*. Hal ini ditandai oleh nimfa I yang mati hingga mencapai 82%, sedangkan telur yang berumur kurang satu hari sampai dua hari lebih tahan karena jumlah telur yang menetas dan berkembang menjadi nimfa II di atas 90%. Struktur telur *A. cocois* pada umur tujuh hari mulai pecah meskipun belum sepenuhnya, dan konidia yang diaplikasikan tidak hanya menempel pada bagian korion

terluar tetapi ada yang menempel pada embrio di dalam telur. Oleh karena itu, proses penetrasi dan infeksi dari cendawan lebih mudah terjadi karena embrio pada saat itu dalam kondisi yang masih sangat rentan (del-Prado *et al.* 2008).

Persentase telur yang menetas terendah terjadi pada perlakuan telur yang berumur kurang satu hari (baru diletakkan imago), hanya 15%. Dengan kata lain, efikasi *L. lecanii* dalam mengendalikan telur kepik coklat mencapai 85%. Aplikasi *L. lecanii* pada telur kepik coklat yang berumur satu hari mengakibatkan telur yang menetas hanya 31,2%. Tingginya persentase telur yang tidak menetas pada perlakuan telur umur kurang dari satu hari hingga satu hari disebabkan oleh struktur lapisan korion masih sangat lentur, sehingga tabung kecambah yang terbentuk lebih mudah penetrasi ke dalam embrio. Pada umur tersebut struktur korion telur sangat lentur dan berwarna hijau. Dengan pertambahan umur maka kondisi struktur kulit telur mulai mengeras dan mengalami perubahan warna menjadi hijau gelap, bahkan cenderung berwarna coklat setelah empat hari.

Telur yang baru diletakkan imago hingga berumur satu hari memperlihatkan struktur korion yang masih lentur sehingga akan mempermudah konidia *L. lecanii* menempel pada korion. Konidia yang menempel kemudian berkecambah dan berkembang membentuk apresorium untuk melakukan penetrasi secara aktif mendegradasi korion dengan perangkat enzim yang dimiliki cendawan atau melalui lubang mikrofil. Bagian di sekitar mikropil dilengkapi oleh lapisan gel yang diproduksi dari kelenjar asesori imago betina yang berfungsi sebagai sarana untuk melekatkan telur pada substrat. Pada kondisi di lapangan, gel tersebut berfungsi untuk melekatkan telur pada organ tanaman yang umumnya pada permukaan daun di sekitar sumber makanan yang tersedia, yaitu polong kedelai. Gel tersebut menguntungkan bagi proses pertumbuhan tabung kecambah konidia, karena kondisi di sekitar mikrofil menjadi lebih lembab sehingga kondusif bagi cendawan dalam proses penetrasi ke dalam telur, meskipun fenomena tersebut belum banyak dilaporkan. Menurut Sahlen (2000) dan Gaino *et al.* (2008), telur yang baru diletakkan sudah dibekali senyawa berbentuk gel yang dihasilkan dari kelenjar asesori imago betina yang berfungsi melekatkan telur pada suatu tempat di dekat sumber makanan yang tersedia bagi turunan yang akan terbentuk. Gel tersusun dari gliserol yang mengandung gula sehingga merupakan senyawa yang diperlukan cendawan untuk berkembang.

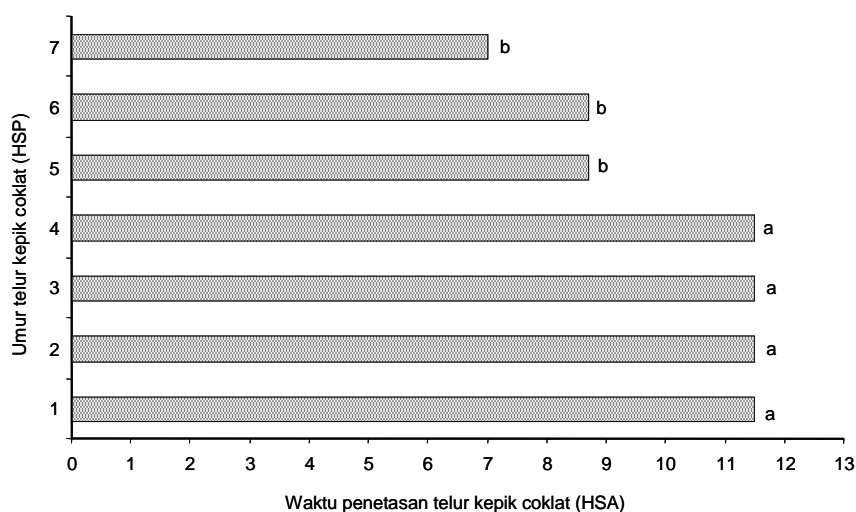
Telur serangga terdiri dari tiga lapisan, yaitu eksokorion yang mengandung karbohidrat, endokorion tersusun dari protein, dan lapisan kristalin yang banyak mengandung protein (dos-Santos & Gregorio 2003). Beberapa senyawa yang terkandung pada lapisan korion diperlukan oleh konidia meskipun harus melalui perombakan terlebih dahulu. Cendawan *L. lecanii* menghasilkan beberapa jenis enzim, meliputi protease, lipase, amilase, dan kitinase yang berfungsi sebagai perombak struktur dinding sel yang tersusun dari protein, lemak,

karbohidrat, dan kitin (Fenice *et al.* 1998; Liu *et al.* 2003; Lu *et al.* 2005; Wang *et al.* 2005).

Karbohidrat dan protein merupakan sumber nutrisi utama yang diperlukan bagi pertumbuhan cendawan entomopatogen (Barbosa *et al.* 2002; Gao *et al.* 2006). Setelah miselium terbentuk, cendawan mengeksploitasi sumber nutrisi yang ada di dalam telur. Pada kondisi tersebut telur sudah tidak normal atau embrio yang terbentuk di dalam telur sudah mati sehingga cendawan dalam fase saprogenesa. Fase selanjutnya, miselium tumbuh keluar menembus korion telur, kemudian miselium mengkolonisasi seluruh permukaan telur dan bersporulasi yang berfungsi untuk transmisi patogen ke inang yang sehat. Hasil penelitian Behnke dan Yendol (2006) mengindikasikan semua telur *Galleria mellonella* yang ada, baik telur sehat maupun yang sudah rusak, dapat diinfeksi oleh cendawan *Aspergillus flavus*. Keadaan tersebut menginformasikan bahwa telur merupakan sumber inang yang potensial bagi perkembangan cendawan di lapangan. Oleh karena itu, jika stadia telur dapat dikendalikan dengan cendawan entomopatogen maka peluang perkembangan hama dapat ditekan lebih awal sehingga ledakan hama dapat ditekan.

#### Periode waktu penetasan telur kepik coklat setelah terinfeksi *L. lecanii*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi cendawan *L. lecanii* berpengaruh nyata terhadap periode penetasan telur kepik coklat. Telur yang baru diletakkan (kurang satu hari) apabila terinfeksi *L. lecanii* akan menetas pada hari ke-11,5 (Gambar 2), sedangkan pada telur normal (tanpa infeksi) akan menetas



Gambar 2. Periode waktu penetasan telur kepik coklat setelah terinfeksi cendawan *L. lecanii*. Keterangan: HSP (hari setelah peletakan) dan HSA (hari setelah aplikasi).

tujuh hari setelah diletakkan imago. Dengan kata lain, telur akan terlambat menetas selama 4,5 hari dibandingkan dengan telur normal (tanpa infeksi). Keterlambatan periode penetasan juga terjadi pada telur kepik coklat yang terinfeksi *L. lecanii* pada umur satu, dua, dan tiga hari masing-masing pada hari ke-11,5. Telur kepik coklat yang berumur empat dan lima hari apabila terinfeksi *L. lecanii* akan menetas pada hari ke 8,7 atau terlambat sekitar 1,7 hari.

Menurut Hoddle (1999), aplikasi cendawan *V. lecanii* pada telur *B. tabaci* dan *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) menyebabkan penetasan telur akan terlambat dan peluang telur untuk menetas hanya 1%. Wang *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa telur *B. tabaci* yang terinfeksi *V. lecanii* akan terlambat menetas, bahkan penetasan telur gagal hingga 100%. Telur yang tidak menetas ditandai oleh perubahan warna menjadi kusam. Hal ini disebabkan karena cendawan entomopatogen menghasilkan toksin yang dapat bersifat ovisidal (Lacey *et al.* 1999; Lu *et al.* 2005). Liande *et al.* (2007) juga menyebutkan bahwa ekstrak kasar miselium *V. lecanii* mengandung dua jenis toksin dengan kode V3450 dan VP28 yang bersifat ovisidal dan larvisidal.

Hasil penelitian Soesanto dan Darsam (1993) menunjukkan bahwa aplikasi cendawan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* yang menginfeksi telur *Nezara viridula* (Hemiptera: Alydidae) juga mengakibatkan waktu penetasan telur menjadi terlambat dan jumlah telur yang menetas sangat terbatas. Hal ini disebabkan karena telur yang terinfeksi cendawan akan mengalami penghambatan dalam proses metabolisme sehingga proses pematangan embrio menjadi terhambat. Serangga yang keluar dari telur akhirnya mati karena secara fisiologis tumbuh tidak normal akibat infeksi cendawan dari fase embrio. Hoddle (1999) juga melaporkan bahwa telur *Rhipicephalus appendiculatus* dan *Amblyoma variegatum* (Acari: Ixodidae) yang terinfeksi cendawan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* akan mengalami penghambatan waktu penetasan. Lebih lanjut dilaporkan bahwa telur *R. appendiculatus* dan *A. variegatum* yang terinfeksi cendawan tidak menetas hingga 100%. Samuels *et al.* (2002) menguji cendawan *M. anisopliae* dan *B. bassiana* yang diaplikasikan pada telur *Blisus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae), akhirnya telur yang terinfeksi juga tidak menetas hingga 100%.

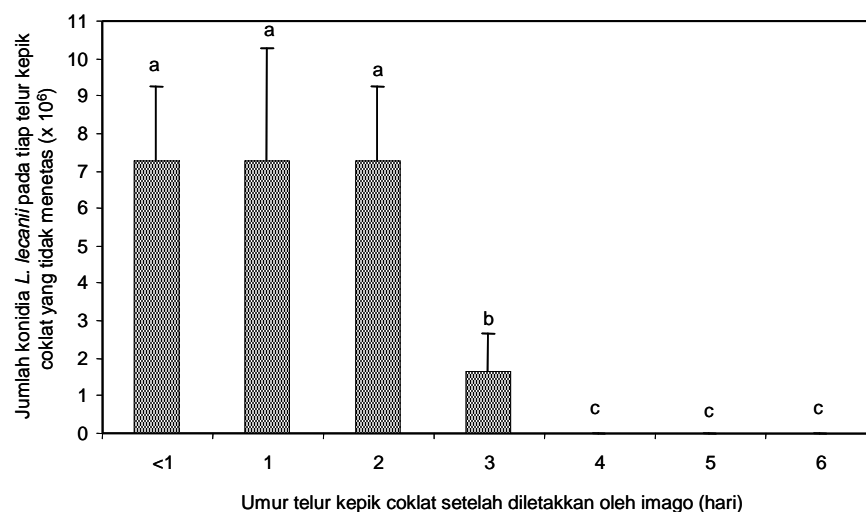
Hasil penelitian ini menginformasikan bahwa semakin muda umur telur kepik coklat terinfeksi cendawan *L. lecanii*, semakin lama periode penetasan telur dan tingkat penetasan telur semakin rendah. Keterlambatan periode penetasan telur akan mengakibatkan bergesernya perkembangan stadia kepik coklat. Di lapangan, kondisi tersebut akan sangat menguntungkan bagi keselamatan polong dan biji kedelai karena perkembangan stadia serangga tidak sesuai dengan perkembangan polong kedelai. Hal ini terjadi karena nimfa yang masih bertahan hidup akan kesulitan mendapatkan polong yang masih muda karena polong yang ada sudah mengalami proses pemasakan

biji, sehingga struktur polong dalam keadaan keras, akhirnya stilet serangga tidak berhasil eksploitasi biji di dalam polong.

### Produksi konidia *L. lecanii* pada telur kepik coklat yang tidak menetas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah konidia yang terbanyak terjadi pada telur kepik coklat yang terinfeksi *L. lecanii* pada umur kurang satu hari dan dua hari, masing-masing mencapai  $7,255 \times 10^6/\text{ml}$  (Gambar 3). Kemudian diikuti oleh perlakuan telur yang terinfeksi *L. lecanii* pada umur satu hari, yaitu  $7,251 \times 10^6/\text{ml}$ . Akan tetapi, jumlah konidia pada ketiga perlakuan tidak berbeda nyata. Jumlah konidia *L. lecanii* terendah terjadi pada telur yang terinfeksi pada umur tiga hari, hanya  $1,650 \times 10^6/\text{ml}$ . Pada telur yang berumur empat, lima, dan enam hari tidak ditemukan kolonisasi oleh cendawan *L. lecanii*.

Jumlah konidia yang diproduksi pada setiap telur yang tidak menetas sangat berperan sebagai sumber inokulum sekunder bagi perkembangan patogen di lapangan (Samuels and Coracini 2004). Semakin banyak jumlah konidia yang terbentuk pada telur yang tidak menetas semakin efektif agens hayati tersebut dalam menimbulkan epizooti pada hama inang (Purlong and Pell 2001; Ganga-Visalakshy *et al.* 2004). Konidia merupakan salah satu organ infeksi cendawan entomopatogen yang berperan utama dalam pemencaran dan proses infeksi (Wraight *et al.* 2001; Lerche *et al.* 2004). Menurut Fatiha *et al.* (2007), cendawan entomopatogen yang mampu bersporulasi dengan baik akan lebih menguntungkan karena isolat mampu



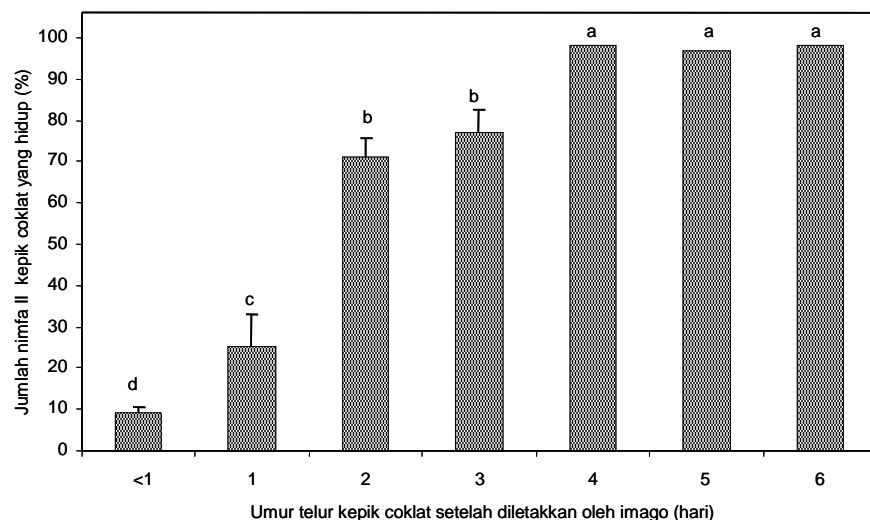
Gambar 3. Produksi konidia *L. lecanii* pada tiap telur kepik coklat yang tidak menetas.

menimbulkan epizooti dalam waktu yang lebih singkat. Untuk perbanyak dengan tujuan produksi massal maka bioinsektisida tersebut membutuhkan jumlah inokulum yang lebih sedikit sehingga lebih efisien. Di lapangan, sistem transmisi cendawan entomopatogen terjadi secara horizontal, artinya pindah dari serangga yang mati ke serangga inang sehat dengan bantuan angin, air, serangga, maupun aktivitas manusia (Chun and Mingguang 2004; Marcelino 2007).

### Kelangsungan hidup nimfa II kepik coklat dari telur yang terinfeksi *L. lecanii*

Peluang hidup nimfa kepik coklat untuk berkembang menjadi serangga dewasa hanya dibatasi pada stadia nimfa II. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa nimfa II yang berhasil hidup berpeluang besar berkembang menjadi imago. Dari penelitian diketahui bahwa kemampuan hidup nimfa II terendah terjadi pada perlakuan telur berumur kurang satu hari, hanya 9% (Gambar 4). Pada perlakuan tersebut jumlah nimfa I yang hidup awalnya 15%, setelah tiga hari sebagian serangga tidak dapat *moulting* karena tubuh serangga dikolonisasi miselium *L. lecanii*. Hal ini diduga karena embrio di dalam telur sebenarnya sudah terinfeksi cendawan sebelum telur menetas, sehingga perkembangan embrio terganggu dan tidak dapat berkembang menjadi serangga dewasa.

Infeksi *L. lecanii* pada telur mengakibatkan banyak nimfa I yang tidak dapat berkembang menjadi nimfa II kepik coklat, meskipun pada tubuh



Gambar 4. Persentase nimfa II kepik coklat yang masih hidup setelah terinfeksi *L. lecanii* pada stadia telur.

serangga tidak tampak kolonisasi miselium. Kematian serangga ditandai oleh rusaknya organ tubuh serangga, khususnya pada bagian abdomen yang telah berubah warna. Hal ini disebabkan karena serangga mengalami lisis pada struktur abdomen bagian dalam. Diduga, penyebab kerusakan struktur organ tersebut sebagai akibat dari reaksi toksin yang dihasilkan oleh *L. lecanii*. Cendawan *L. lecanii* menghasilkan toksin *beauvericin*, *dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid*, dan *cyclosporin* yang mampu mendegradasi dinding kutikula serangga (Charnley 2003a; 2003b; Murakoshi *et al.* 2005). Paralisis yang terjadi pada tubuh serangga muda yang diakibatkan oleh toksin dari cendawan entomopatogen juga sudah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Soman *et al.* 2001; Asaff *et al.* 2005; Liande *et al.* 2007).

Hasil penelitian Gindin *et al.* (2000) menunjukkan bahwa peluang untuk menetas telur *B. tabaci* yang terinfeksi *V. lecanii* sangat kecil. Meskipun telur masih mampu menetas namun nimfa yang terbentuk juga gagal melangsungkan hidupnya karena tubuh serangga diduga sudah terinfeksi cendawan. Cendawan *V. lecanii* mempunyai kelebihan, yaitu mampu menginfeksi stadia telur, nimfa, maupun imago pada banyak jenis serangga, khususnya *B. argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) (Hoddle 1999). Olivares-Bernabeu dan Lopez-Llorca (2002) juga melaporkan bahwa *V. lecanii* mampu menginfeksi telur nematoda parasit tanaman *Meloidogyne* spp. dan *Heterodera* spp. Pengamatan dengan mikroskop elektron menunjukkan bahwa hifa cendawan *L. lecanii* yang terbentuk mampu melakukan penetrasi ke dalam telur nematoda *Globodera pallida* (Stone) dan *Heterodera glycines* maupun *Trialeurodes vaporariorum* hanya dalam waktu 24 jam (Aviva & Sikora 1992; Aiuchi *et al.* 2008a & 2008b; Shinya *et al.* 2008a & 2008b). Telur yang terinfeksi *L. lecanii* tidak dapat melangsungkan hidupnya lebih lanjut.

Hasil penelitian ini menginformasikan bahwa telur kepik coklat yang baru diletakkan imago (<1-1 hari) sangat rentan terhadap infeksi *L. lecanii*. Oleh karena itu, untuk menekan perkembangan kepik coklat di lapangan sebaiknya dianjurkan untuk mengaplikasikan *L. lecanii* pada tanaman berumur sekitar 35 hari setelah tanam (HST). Hal ini didasarkan atas hasil monitoring Tengkanu *et al.* (1992) di lapangan. Pada umur tersebut imago kepik coklat datang pertama kali di pertanaman kedelai untuk meletakkan telurnya. Meskipun aplikasi *L. lecanii* pada telur kepik coklat yang berumur lebih tua kurang efektif dibandingkan dengan stadia telur yang lebih muda, namun telur yang berhasil dikolonisasi oleh cendawan dapat berperan sebagai sumber inokulum sekunder yang potensial bagi penyebaran patogen. Dengan demikian, sumber inokulum tersebut juga memberi kontribusi yang cukup besar dalam proses epizooti sehingga keberadaannya perlu diperhitungkan dalam mempertahankan populasi hama di lapangan.

## Kesimpulan

1. Semakin lama umur telur kepik coklat diletakkan oleh imago semakin tahan terhadap infeksi *L. lecanii*.
2. Telur kepik coklat yang baru diletakkan imago (<1-1 hari) rentan terhadap infeksi *L. lecanii* dan telur yang terinfeksi cendawan mengalami penghambatan waktu penetasan.
3. Aplikasi cendawan entomopatogen *L. lecanii* untuk pengendalian hama kepik coklat pada kedelai dianjurkan mulai umur 35 HST, bertepatan dengan datangnya imago untuk meletakkan telurnya.
4. Telur kepik coklat yang tidak menetas dan dikolonisasi oleh cendawan *L. lecanii* merupakan sumber inokulum sekunder yang potensial dan berfungsi sebagai sistem transmisi maupun diseminasi patogen di lapangan dalam menciptakan epizooti.

## Pustaka

- Aiuchi, D., S. Horie, and M. Koike. 2008a. *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) penetrate into *Trialeurodes vaporariorum* egg. 41<sup>st</sup> Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology and 9<sup>th</sup> International Conference on *Balciillus thuringiensis*. 3-7 Aug 2008. University of Warwick, Coventry, United Kingdom.
- Aiuchi, D., Y. Baba, K. Inami, R. Shinya, M. Tani, and M. Koike. 2008b. Variation in growth at different temperatures and production and size of conidia in hybrid strains of *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *J Appl Entomol Zool* 43(3):427-436.
- Asaff, A., C. Cerda-Gracia-Rojas, and M.de La. Torre. 2005. Isolation of dipicolinic acid as a insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Appl Microbiol and Biotechnol* 68(4):542-547.
- Aviva, U. and R.A. Sikora. 1992. Use of non-target isolates of the entomopathogenic *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas to control the potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone). *Nematol* 38(4):123-130.
- Barbosa, C.C., A.C. Monteiro, and A.C.B. Correia. 2002. Growth and sporulation of *Verticillium lecanii* isolates under different nutritional conditions. *Pesq Agropec Braz* 37(6):821-829.
- Behnke, C.N. and W.G. Yendol. 2006. Pathogenesis of an *Aspergillus flavus* infection of *Galleria mellonella* eggs. *Biol. Contr.* 14(2):177-184.

- Charnley, A.K. 2003a. 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?employeeenumber=573> [12 Sep 2008].
- Charnley, A.K. 2003b. Fungal pathogens of insects: Cuticle degrading enzymes and toxins. *Advances in Botanical Res.* 40:241-321.
- Chun, C. and F. Mingguang. 2004. Observation on the initial inoculum source and dissemination of entomophthorales-caused epizootics in populations of cereal aphids. *Sci China C Life Sci.* 47(1):38-43.
- del-Prado, E.N., J. Lannacone, and H. Gomez. 2008. Effect of two entomopathogenic fungi in controlling *Aleurodicus cocois* (CURTIS, 1846) (Homoptera: Aleyrodidae). *Chilean J. Agric. Res.* 68(1):21-30.
- dos-Santos, D.C. and E.A. Gregorio. 2003. Deposition of the eggshell layers in the sugar cane borer (Lepidoptera: Pyralidae): ultrastructure aspects. *Acta Micros.* 12(1):37-41.
- Fatiha, L., S. Ali, S. Ren, and M. Afzal. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on eggplant. *Pak Entomol.* 29(2):63-72.
- Fenice, M., L. Selbmann, R. di-Giambattista, and F. Federici. 1998. Chitinolytic activity at low temperature of an antarctic strain (A3) of *Verticillium lecanii*. *Res. in Microbiol.* 149(4):289-300.
- Ganga-Visalakshy, P.N., A. Manoj-Kumar, and A. Krisnamoorthy. 2004. Epizootics of fungal pathogen *Verticillium lecanii* Zimmermann on *Thrips palmi* Karny. *Insect Environ.* 10(3):134-135.
- Gaino, E., S. Piersanti, and M. Reboria. 2008. Egg envelop synthesis and chorion modification after oviposition in the dragonfly *Libellula depressa* (Odonata: Libellulidae). *Tissue and Cell* 40(5):317-324.
- 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.
- Gindin, G., N.U. Geschtovt, B. Racciah, and I. Barash. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. *Phytopar.* 28(3):231-242.
- Hodde, M.S. 1999. The biology and management of Silverleaf Whitefly *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown ornamentals. <http://www.biocontrol.urc.edu/bemisia.html#verticillium> [5 Sep 2008].
- Lacey, L.A., A.A. Kirk, L. Millar, G. Mercadier, and C. Vidal. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia*

*argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. Biol. Contr. Sci. and Technol. 9:9-18.

- Lee, J., S. Kang, C. Yoon, J. Kim, and D. Chei. 2006. *Verticillium lecanii* spore formulation using UV protectant and wetting agent and the biocontrol of cotton aphids. Mycopathol. 161(2):1041-1045.
- Lerche, S., U. Meyer, H. Sermann, and S. Buetther. 2004. Dissemination of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in a population of *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae). Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 69(3):195-200.
- Liande, W., H. Jian, Y. Minsheng, G. Xiong, and L. Bo. 2007. Toxicity and feeding deterrence of crude toxin extracts of *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Pest Manag. Sci. 63(4):381-387.
- 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 Microbio. Technol. 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.
- Marcelino, J.A.P. 2007. Epizootiology and phylogenetics of entomopathogenic. Theses & Dissertation. <http://hdl.handle.net/123456789/37> [1 Jan 2011].
- Marwoto. 1992. Masalah pengendalian hama kedelai di tingkat petani. Di *Dalam*: Marwoto, N. Saleh, Sunardi, A. Winarto (Eds.). Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Malang, 8-10 Agustus 1991. Balittan Malang. p.37-43.
- Murakoshi, S., A. Suzuki, M. Kanaoka, A. Isogai, M. Khinoe, and S. Tamura. 2005. Presence of toxic substance in fungus bodies of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. Appl. Entomol. and Zool. 13(2):97-102.
- Nahar, P.B., S.A. Kulkarni, M.S. Kulye, S.B. Chavan, G. Kulkarni, A. Rajendran, P.D. Yadav, Y. Shouche, and M.V. Deshpande. 2008. Effect of repeated in vitro subculturing on the virulence of *Metarhizium anisopliae* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Biol. Contr. Sci. and Technol. 18(4):337-355.
- Olivares-Bernabeu, C.M. and L.V. Lopez-Llorca. 2002. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. Rev. Iberoam Micol. 19:104-110.

- Purlong, M.J and J.K. Pell. 2001. Horizontal transmission of entomopathogenic fungi by the diamondback moth. *Biol. Contr.* 22:288-299.
- Prayogo, Y. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera: Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell (Araneida: Oxyopidae). [tesis]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2005. Kerentanan stadia nimfa hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera; Alydidae) terhadap jamur entomopatogen *Verticillium lecanii*. *J. Agrikultura.* 16(2):125-132.
- Sahayaraj, K. and S.K.R. Namasivayam. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. *African J. Biotechnol.* 7(12):1907-1910.
- Sahlen, G. 2000. Eggshell ultrastructure in *Onychogomphus forcipatus* (Odonata: Gomphidae). *International J. Insect Morphol. and Embryol.* 24(3):281-286.
- 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.
- Shinya, R., D. Aiuchi, A. Kushida, M. Tani, K. Kuramochi, and M. Koike. 2008a. Effect of fungal culture filtrates of *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) hybrid strain on *Heterodera glycines* eggs and juveniles. *Biol. Contr.* 16(5):245-251.
- Shinya, R., D. Aiuchi, A. Kushida, M. Tani, K. Kuramochi, and M. Koike. 2008b. Pathogenicity and its mode of action in different sedentary stages of *Heterodera glycines* (Tylenchida: Heteroderidae) by *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) hybrid strains. *J. Appl. Entomol. Zool.* 43(2):227-233.
- Samuels, R.I. and D.L.A. Coracini. 2004. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for the control of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae). *Sci Agric Piracicaba Braz* 61(3):271-275.
- Soman, A.G., J.B. Gloer, R.F. Angawi, D.T. Wicklow, and P.F. Dowd. 2001. Vertilecanins: A new phenopicolinic acid analogues from *Verticillium lecanii*. *J. Nat. Prod.* 64(2):189-192.
- Soesanto, L. dan Darsam. 1993. Mikroba entomopatogenik: patogenisitasnya terhadap telur *Nezara viridula* L. *Dalam*: E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, Y. Trisetyawati (Eds.). Simposium Patologi Serangga I. Yogyakarta, 12-13 Oktober 1993.

- Tengkano, W., M. Arifin, dan A.M. Tohir. 1992. Biokeologi, serangan dan pengendalian hama pengisap dan penggerek polong kedelai. *Dalam: Marwoto, N. Saleh, Sunardi, A. Winarto (Eds.). Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Malang, 8-10 Agustus 1991. Balittan Malang. p.117-153.*
- Tengkano, W., Supriyatin, Suharsono, Bedjo, Y. Prayogo, dan Purwanto. 2003. Status hama penyakit kedelai dan musuh alami di lahan kering masam. Laporan Hasil Penelitian Tahun 2003. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang.
- Tengkano, W., Sri Hardaningsih, Sumartini, Y. Prayogo, Bedjo, dan Purwanto. 2005. Status hama kedelai dan musuh alaminya di lahan kering masam Propinsi Lampung. Lokakarya dan Seminar Nasional Peningkatan Produksi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Mendukung Kemandirian Pangan. Malang, 26-27 Juli 2005.
- Tengkano, W., S. Hardaningsih, Sumartini, Y. Prayogo, Bedjo, dan Purwanto. 2006. Evaluasi status hama penyakit kedelai dan musuh alami sebagai agens hayati untuk pengendalian OPT pada kedelai. Laporan Hasil Penelitian 2006, Balikabi, Malang.
- 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.
- Wang, L., J. Huang, M. You, X. Guan, and B. Liu. 2005. Effects of toxins from two strains of *Verticillium lecanii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on bioattributes of a predatory ladybeetle *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae). *J. Appl. Entomol.* 129(1):32-38.
- Wang, L., J. Huang, M. You, X. Guan, and B. Liu. 2007. Toxicity and feeding deterrence of crude toxin extracts of *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 63(4):381-387.
- Williams, M.D.C., R.N. Edmondson, and Gill. 2000. The potential of some adjuvants in promoting infection with *Verticillium lecanii*: laboratory bioassays with *Myzus persicae*. *Ann. of App. Biol.* 137(3):337-343.
- Wilson, K., S.C. Cotter, A.F. Reeson, and J.K. Pell. 2008. Melanism and disease resistance in insects. *Ecol. Letters* 4(6):637-649.
- Wraight, S.P., M.A. Jackson, and S.L. de-Kock. 2001. Production, stabilization, and formulation of fungal biocontrol agents. *In: T.M. But, C. Jackson, N. Magan (Eds.). Fungi as biocontrol agents. United Kingdom: CABI Publishing. p. 253-287.*