

# BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 1, No. 1, 1996

JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN



Jamur Patogen Serangga: Potensi, Kendala, dan Strategi  
Pengembangannya Sebagai Agen Pengendali  
Biologi Wereng Coklat **Tri Puji Priyatno &  
M. Kosim Kardin** ..... 1

Kemajuan Teknik Deteksi dan Identifikasi  
*Pseudomonas solanacearum* **Yadi Suryadi &  
Muhammad Machmud** ..... 11

Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi Sawah:  
Masalah dan Pemecahannya **Hartini R. Hifni,  
Soma Mihardja, Eddy Soetarwo, Yusida, &  
M. Kosim Kardin** ..... 18

Rekayasa Genetik untuk Perbaikan Tanaman  
**Muhammad Herman** ..... 24



Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan  
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian



**Penerbit**

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan,  
(Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian,  
Departemen Pertanian)

**Alamat Penerbit**

Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

**Alamat Surat Elektronik**

borif@indo.net.id & rifcb@indo.net.id

**Telepon**

+62 (251) 33-7975; 32-3420 [Suara]  
+62 (251) 33-8820 [Faksimil]

**Kala Terbit**

Dua nomor per volume

**Penanggung jawab Publikasi**

Kepala Balai Penelitian  
Bioteknologi Tanaman Pangan

**Redaktur Eksekutif**

Dr. Imam Prasadja

**Redaktur Teknis**

Dr. Sutaryo Brotonegoro  
Dr. Ida Hanarida Somantri  
Dr. Mohammad Iman  
Ir. Budi Hari Priyanto  
Dr. Muhammad Arifin  
Dr. Muhammad Herman

**Redaktur Pelaksana**

Ir. Sri Purwandhari

**Buletin AgroBio** (dahulu bernama **Buletin Penelitian**) memuat artikel tinjauan ilmiah hasil riset dalam bidang biologi dan bioteknologi tanaman. Naskah (boleh ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris) yang diajukan untuk diterbitkan hendaknya belum pernah dipublikasikan pada media cetak mana pun dan ditulis sesuai dengan "Pedoman Bagi Penulis" (lihat sampul belakang bagian dalam). Dewan Redaksi berhak menyunting naskah tanpa mengubah isi dan makna tulisan atau menolak menerbitkan suatu naskah.

Naskah dapat bersifat tinjauan ilmiah (kritis) atau tinjauan informatif (anotasi) terhadap subjek tertentu, atau gabungan antara keduanya. Tinjauan ilmiah merupakan hasil evaluasi, sintesis, dan analisis kritis tentang riset bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan teknologi, sedangkan tinjauan informatif merupakan hasil evaluasi bagi kepentingan pengguna.

Isi naskah dapat membahas salah satu dari butir-butir berikut, yaitu: (a) status riset pada subjek tertentu, baik yang telah, sedang, maupun yang akan dikerjakan, (b) pengungkapan masalah dan pemecahannya, (c) pengembangan suatu metode atau konsepsi, dan (d) gagasan dan pendekatan yang dapat dijadikan landasan bagi suatu usulan riset. Sumber bacaan seyogyanya meliputi bahan pustaka terbitan dalam dan luar negeri yang terkini dan relevan.

**Keterangan Gambar Sampul Luar** (dari atas ke bawah):

- Jagung transgenik (biru), jagung non-transgenik (kuning)
- Infeksi cendawan patogen *Beauveria bassiana* pada walang sangit (*Leptocorsiva varicornis*)
- Penurunan efisiensi pemupukan akibat cekaman lingkungan



# Jamur Patogen Serangga: Potensi, Kendala, dan Strategi Pengembangannya sebagai Agen Pengendali Biologi Werengbatang Coklat

T. P. Priyatno dan M. K. Kardin

Kelompok Peneliti Diagnostik dan Pengendalian Biologi  
Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan

## ABSTRACT

Priyatno, T. P. dan M. K. Kardin. 1996. Entomopathogenic fungi: Potency, Problem, and It's Development Strategy as Biocontrol Agents for Brown Planthopper. *Buletin AgroBio* 1(1): 1-10. Brown planthopper (BPH) is one of the important insect pests in Indonesia. Various control measures such as synchronized planting, resistant varieties, and pesticide application have been recommended, however, outbreak and losses due to the development of new biotypes has not been controlled satisfactorily. In addition, buprofezin, the only recommended insecticide to control the BPH has been suggested to be toxic to shrimp culture. Therefore, alternatives control measures of BPH are needed. Fungal pathogen of insect is one of the BPH natural enemies that has been suggested as one of the alternatives to control the BPH. Preliminary researches on this subject have been conducted, but further studies to assess the effectiveness under field conditions and the compatibility with other control measure have to be verified. The lack of experience and expertise in basic techniques for exploiting fungal pathogens of insect as a biocontrol agent of the BPH is still a bottle neck in developing a new and effective microbe pesticide to control the BPH. A holistic approach based on a good understanding on biology of potential natural enemies is very important for developing new and effective microbe pesticides.

## KEY WORDS

Entomopathogenic fungi, development strategy, brown planthopper.

Pada saat ini, sektor pertanian tanaman pangan dihadapkan pada keadaan makin terbatasnya sumberdaya, merosotnya kualitas sumberdaya alam, dan dampak negatif yang datangnya dari luar. Berdasarkan laju pertumbuhan penduduk, peningkatan konsumsi gizi masyarakat, dan konsumsi beras 137 kg/kapita/tahun, proyeksi kebutuhan beras tahun 2000 mencapai 29,5 juta ton (27). Dengan produksi beras 25,8 juta ton pada tahun 1993, maka produksi beras harus meningkat minimal 0,5 juta ton/tahun atau 2-3% per tahun.

Untuk mencapai target tersebut, berbagai kendala produksi ha-

rus diantisipasi secara dini. Hama merupakan salah satu kendala produksi yang harus diwaspadai. Ledakan berbagai jenis hama terjadi silih berganti dan tidak jarang diikuti oleh munculnya *strain* atau biotipe baru yang lebih ganas. Di antara hama-hama utama yang menyerang tanaman padi, werengbatang coklat (WBC) merupakan hama penting yang harus diwaspadai. Populasi WBC bisa meledak sewaktu-waktu bila kondisi lingkungan mendukung. Faktor-faktor yang menyebabkan WBC merupakan hama penting padi, antara lain, ialah (a) WBC merupakan vektor virus kerdil rumput dan kerdil hampa, dan (b) populasinya bersifat r-strategis.

Beberapa taktik pengendalian WBC yang telah dilakukan, antara lain menggunakan varietas tahan, memperbaiki pola tanam (tanam serentak dan pergiliran tanaman/varietas), memanfaatkan musuh alami, dan aplikasi insektisida (27). Penggunaan varietas tahan sebenarnya merupakan cara pengendalian yang paling efektif dan efisien, tetapi karena daya adaptasi WBC sangat tinggi dan pola pergiliran varietas belum diterapkan oleh petani, perkembangan biotipe terjadi sangat cepat. Biotipe/koloni WBC baru yang mampu menyerang varietas IR64 (yang dianggap tahan pada saat ini) telah dilaporkan berkembang di Jawa Timur dan Jawa Tengah. Penggunaan insektisida yang menjadi alternatif terakhir, sekarang telah diragukan keamanannya. Buprofezin yang dulunya dianggap aman, kini telah diketahui beracun terhadap nener bandeng, mujair, dan udang windu (43). Konsentrasi buprofezin (dalam ppm) yang diperlukan untuk menimbulkan 50% kematian terhadap berbagai tingkat perkembangan udang windu adalah 5,37 (nauplius), 3,39 (zoea), 21,39 (myosis-3), 48,24 (pasca larva (PL)-20), dan 65,72 (PL-40). Konsentrasi tersebut lebih rendah daripada konsentrasi yang dianjurkan untuk mengendalikan WBC. Pada konsentrasi di atas 100 ppm, buprofezin secara nyata menghambat proses pergantian kulit PL-40 udang windu. Oleh sebab itu, metode pengendalian yang efektif, efisien, dan aman harus dikembangkan.

Jamur patogen serangga (JPS) merupakan salah satu musuh alami yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen pengendali biologi WBC. Walaupun penelitian dan pengembangannya sudah banyak dilakukan, aplikasinya masih terbatas. Efikasi hasil pengujian di lapang juga lebih rendah daripada di laboratorium atau rumah kaca. Hal ini karena pengembangan dan



aplikasinya masih belum dilakukan secara holistik.

JPS merupakan organisme hidup yang mempunyai karakteristik kehidupan yang rumit. Aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik faktor dalam maupun faktor luar (11, 37, 13, 32, 4).

Naskah ini berkenaan dengan potensi, kendala, dan strategi pengembangan dan aplikasi JPS untuk mengendalikan WBC.

### POTENSI JPS SEBAGAI AGEN PENGENDALI WERENG BATANG COKLAT

Faktor penting yang harus diperhatikan untuk memanfaatkan JPS adalah kelembaban. Epizootik JPS membutuhkan kelembaban nisbi yang tinggi (46). Pada kelembaban rendah, epizootik tidak berkembang. Tanada (46) melaporkan, meningkatnya kelembaban pada pertanaman alfalfa pada waktu diberi pengairan merangsang terjadinya epizootik JPS yang tinggi. Dengan kondisi Indonesia yang beriklim tropik basah, kelembaban bukan merupakan masalah karena suhu kurang berfluktuasi. Bertambahnya lahan pertanian yang beririgasi teknis juga menjadi faktor penting yang dapat dengan mudah untuk menyediakan kondisi kelembaban yang tinggi.

Bila dibandingkan dengan jenis patogen serangga lainnya, pemanfaatan JPS sebagai agen pengendali biologi WBC dianggap lebih menguntungkan (Tabel 1) (15, 41). Proses infeksi JPS terjadi melalui penetrasi integumen, saluran pencernaan, dan spirakula (37, 41), sehingga sangat infeksiif untuk WBC. Semua jenis dan fase perkembangan serangga juga dapat terinfeksi. Tidak infeksiifnya bakteri dan virus patogen serangga terhadap WBC disebabkan oleh proses infeksi yang terjadi melalui saluran pencernaan (mulut).

Ada 14 jamur yang telah diketahui bersifat patogenik terhadap WBC. Keberadaannya di dalam populasi WBC menentukan tinggi rendahnya populasi WBC (41). Pengaruh infeksi JPS dapat bersifat mematikan, mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan serangga, menurunkan kemampuan reproduksi serangga, menurunkan ketahanan serangga terhadap serangan predator, parasitoid, patogen, insektisida kimia, dan cekaman lingkungan (10).

JPS yang sering mewabah dan tersebar luas pada populasi WBC di Asia, khususnya di Philipina dan Indonesia (Jawa, Kalimantan, dan Sulawesi) adalah *Hirsutella citriformis* (41, 33). Potensi epizootik *H. citriformis* pada populasi inang sangat tinggi (29). WBC yang terinfeksi *H. citriformis* menempel pada batang padi dan tersebar me-

rata di dalam *niche* WBC. Virulensi *H. citriformis* tinggi, pertumbuhan dan perkembangannya cepat, dan miseliumnya mampu melekatkan WBC yang mati pada tanaman. Bila *H. citriformis* bersporulasi, konidia yang dihasilkan akan tersebar di dalam populasi WBC.

*B. bassiana* dan *M. anisopliae* merupakan JPS yang mempunyai sebaran inang cukup luas pada berbagai hama tanaman padi (35, 41). Selain mampu menyerang WBC, kedua patogen tersebut juga infeksiif terhadap *Nephotettix virescens*, *N. cincticeps*, *Chilo suppressalis*, *Cnaphalocrosis medinalis*, *Scotinophara coarctata*, *Leptocoris acuta* dan *Sesamia inferens*. Jadi kedua jamur patogen tersebut sangat potensial untuk mengendalikan beberapa jenis hama utama sekaligus. Kemampuannya untuk hidup saprofitik pada sisa-sisa

Tabel 1. Potensi JPS sebagai agen pengendali wereng batang coklat (Holdom 1979).

| Jenis    | Sifat penggunaannya                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                          |                                                                         |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|          | Spesies                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Keuntungan                                                                                                                               | Kerugian                                                                |
| Bakteri  | (-)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Virulensi tinggi, produksi dan formulasinya mudah, efektifitasnya tidak dipengaruhi oleh kelembaban.                                     | Kurang persisten, infeksi melalui mulut.                                |
| Virus    | (-)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Virulensi tinggi, potensi epizootiknya tinggi, formulasinya mudah, Keefektifannya tidak dipengaruhi oleh kelembaban.                     | Obligat, infeksi melalui mulut.                                         |
| Protozoa | (-)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Persisten di dalam obligat, inangnya, bersifat laten.                                                                                    | Kebanyakan tidak bersifat lethal, sulit dimanipulasi.                   |
| Nematoda | <i>Mermis</i> sp.<br><i>Agamermis unka</i><br><i>Hexamermis</i> sp.<br>Nematoda (unident.)                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Aktif di luar tubuh obligat, inangnya, infeksi melalui saluran pencernaan, spirakel, dan integumen.                                      | Membutuhkan kelembaban tinggi (film air), produksi dan formulasi sulit. |
| Jamur    | <i>Metarhizium anisopliae</i><br><i>M. flavoviridae</i><br><i>Beauveria bassiana</i><br><i>Hirsutella citriformis</i><br><i>H. strigosa</i><br><i>Paecilomyces farinosus</i><br><i>Fusarium</i> sp.<br><i>Cephalosporium</i> sp.<br><i>Entomophthora fumosa</i><br><i>E. spaerospermae</i><br><i>Entomophthora</i> sp.<br><i>Erynia delphacis</i><br><i>Conidiobolus coronatus</i> | Virulensi tinggi, produksi dan formulasinya mudah, potensi epizootik tinggi, infeksi melalui integumen, spirakel dan saluran pencernaan. | Keefektifannya membutuhkan kelembaban yang tinggi.                      |



tanaman (37, 11, 13, 32, 4) menyebabkan introduksinya ke dalam populasi inang dapat berkembang menjadi agen pengendalian yang bersifat tetap.

Aplikasi patogen *M. flavoviridae*, *M. anisopliae*, *H. citriformis* dan *B. bassiana* efektif untuk mengendalikan WBC (33). Dengan dosis aplikasi 4 sampai  $5 \times 10^{12}$  konidia/ha, kematian WBC oleh keempat JPS tersebut pada 21 hari setelah aplikasi 63-98%.

Suspensi miselium *H. citriformis*, *M. anisopliae*, dan *P. lilanicus* juga mempunyai. Keefektifan yang tinggi (34, 28). Jika dosis aplikasinya 0,017 g/ml, maka untuk menimbulkan kematian WBC sebesar 90%, miselium *H. citriformis* membutuhkan waktu 16,1 hari (28). Keefektifan dosis aplikasi miselium *M. anisopliae* 700 g/ha hampir setara dengan keefektifan dosis konidia  $2,5 \times 10^{12}$  konidia/ha (34). Penggunaan miselia sebagai sumber inokulum dianggap lebih efisien, khususnya dalam produksinya.

Persistensi JPS mengendalikan populasi inangnya biasanya lebih tinggi daripada insektisida kimia, karena pada inang yang terserang patogen yang bersporulasi dapat berfungsi sebagai sumber inokulum sekunder bagi inang lainnya. Akumulasi agen infeksi akan meningkat sesuai dengan bertambahnya jumlah inang yang terserang. Hasil penelitian Kardin, *et al.* (30) menunjukkan bahwa persistensi suspensi miselia *H. citriformis* lebih tinggi daripada buprofezin. Pada umur persistensi 28 hari setelah inokulasi, kematian WBC oleh *H. citriformis* mencapai 80%, sedangkan oleh buprofezin hanya mencapai 50%. Rombach *et al.* (34) melaporkan bahwa aplikasi *M. anisopliae* mampu menekan populasi WBC yang rendah selama 5 minggu.

Kompatibilitas antara JPS dan komponen pengendalian lainnya telah banyak dilaporkan. Serangga

yang terinfeksi oleh JPS menjadi lebih rentan terhadap pengaruh cekaman lingkungan yang kurang menguntungkan. Misalnya, keefektifan aplikasi gabungan *H. citriformis* dengan buprofezin terhadap WBC (30) dan *M. anisopliae* dengan teflubenzuron terhadap *Schistocerca gregaria* (17) telah dilaporkan bersifat aditif. Aplikasi gabungan *H. citriformis* dengan buprofezin meningkatkan keefektifan persistensi pengendalian keduanya. Pada umur persistensi 28 hari setelah aplikasi, kematian WBC oleh *H. citriformis* dan buprofezin masing-masing adalah 80% dan 50%, tetapi bila diaplikasikan bersamaan dapat mencapai 100%. Keefektifan dosis rendah teflubenzuron juga dapat meningkat bila diaplikasikan bersama-sama dengan *M. anisopliae*. Kompatibilitas kedua agen tersebut terjadi karena mekanisme kerja dari buprofezin dan teflubenzuron menghambat proses pergantian kulit sehingga memberikan kesempatan pada jamur patogen untuk melakukan proses infeksi (17, 30). Proses pergantian kulit pada serangga telah diketahui dapat menggagalkan infeksi JPS.

Kompatibilitas patogen serangga dengan parasitoid telah dilaporkan oleh King dan Atkinson (46). Peranan patogen sangat dibutuhkan pada waktu populasi hama tinggi. Keefektifan parasitoid hanya terjadi pada populasi inang yang rendah. Serangan parasitoid pada umumnya terjadi pada serangga yang tidak terserang patogen. Parasitoid juga dapat berkembang sempurna pada inang yang terserang patogen tanpa menunjukkan gejala serangan patogen. Serangan patogen hanya dapat menghambat perkembangan parasitoid bila kematian inang terjadi pada tahap awal perkembangan parasitoid.

Aplikasi patogen serangga sebagai agen pengendalian kurang

berpengaruh terhadap keseimbangan ekosistem. Laju kematian inang yang lebih lambat dibandingkan penggunaan insektisida kimia, menyebabkan penurunan populasi inang tidak terjadi secara drastis (24). Komponen ekosistem lainnya yang terkait dengan populasi hama juga terjadi secara perlahan-lahan, sehingga kestabilan ekosistem selalu terjaga.

### KENDALA PENGEMBANGAN DAN APLIKASI JPS

Aktivitas JPS sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal. Sifat virulensi JPS sering berhubungan dengan spesifikasi inang dan atau lokasi. Viabilitas spora bergantung pada karakteristik sporanya, suhu, kelembaban nisbi, dan radiasi ultra violet. Proses perkecambahan sporanya dipengaruhi oleh keadaan iklim mikro, ketersediaan nutrisi, keberadaan senyawa beracun, dan mikroba antagonis di sekitar spora berada. Proses infeksi ditentukan oleh tingkat kinetika enzim yang disekresikannya (37, 32, 11).

Berbagai faktor dalam aspek ekologi, patologi, dan entomologi sering menjadi kendala dalam pengembangan dan aplikasi JPS. Yang menjadi kendala utama adalah masih rendahnya kemampuan dan pengetahuan peneliti dalam teknik isolasi, identifikasi, biologi, produksi, formulasi dan aplikasinya. Penggunaan JPS masih sering disamakan dengan aplikasi insektisida kimia, sehingga keefektifannya tidak sesuai dengan yang diharapkan. Penelitian yang dilakukan oleh Baehaki (1) menunjukkan bahwa tidak efektifnya *M. anisopliae* dalam mengendalikan WBC karena aplikasinya tidak memperhatikan *strain*, umur biakan, tingkat perkecambahan spora, bentuk formulasi, dan waktu aplikasi yang tepat.



*M. anisopliae* telah diketahui mempunyai variabilitas strain yang sangat tinggi. Strain yang berasal dari inang yang berbeda akan mempunyai tingkat virulensi yang berbeda pula (46, 10). Bahkan perbedaan ukuran sporanya juga menunjukkan perbedaan tingkat virulensi (32, 11). Spora yang berukuran besar lebih virulen daripada spora kecil, tetapi tingkat infektifitasnya rendah sehingga potensi epizootiknya di dalam populasi inang juga rendah. Persentase perkecambahan spora sangat menentukan tingkat infeksi. Waktu aplikasi yang tepat harus disesuaikan dengan fase perkembangan inang yang paling peka dan kondisi lingkungan yang menguntungkan.

### Kendala Aspek Ekologi

Keberadaan JPS di dalam agroekosistem sawah mempunyai risiko yang besar terhadap pengaruh radiasi matahari, suhu, dan kelembaban nisbi yang kurang menguntungkan. Hal ini disebabkan oleh varietas unggul yang ditanam pada umumnya berdaun tegak, sehingga penutupan tajuk antartanaman menjadi tidak sempurna. Radiasi matahari dengan mudah masuk sampai di permukaan tanah, yang selanjutnya berpengaruh terhadap peningkatan suhu dan evapotranspirasi. Kondisi suhu yang tinggi dan tingkat kelembaban rendah tidak menguntungkan epizootik JPS. Radiasi matahari bersifat mematikan spora atau konidia. Scherer *et al.* (39) melaporkan bahwa pengaruh radiasi matahari selama 1 jam dapat mematikan 95% konidia *M. flavoviridae*. (Gambar 1).

Proses suksesi yang cepat dan masa bera di antara waktu tanam juga dapat menjadi faktor yang kurang menguntungkan JPS. Inang yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan JPS ti-

dak selalu tersedia. Introduksi JPS akan sulit berkembang menjadi agen pengendalian yang bersifat permanen. JPS juga akan sering mengalami keadaan tanpa daya dukung lingkungan yang memadai, seperti risiko kekeringan pada musim kemarau, keracunan senyawa kimia hasil reaksi redoks waktu penggenangan, aplikasi pestisida, dan pengaruh mikroba antagonis.

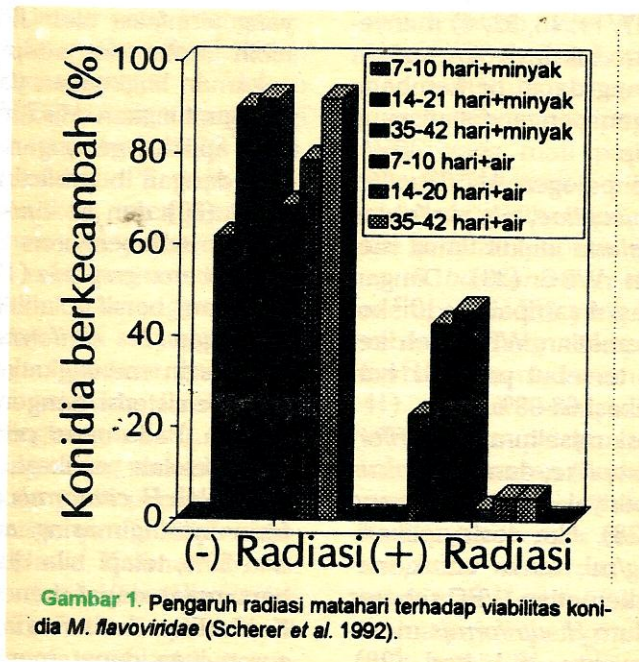
### Kendala Aspek Patologi

Faktor internal yang menentukan tinggi rendahnya potensi epizootik JPS ialah sifat virulensi dan infektifitas (46). Virulensi didefinisikan sebagai kemampuan atau intensitas patogen dalam menimbulkan penyakit. Infektifitas berhubungan dengan tingkat sporulasi, keefektifan, dan keefisienan penyebaran sporanya. JPS yang berpotensi epizootik tinggi dicirikan oleh tingginya tingkat virulensi dan infektifitasnya. Sering diasumsikan bahwa JPS yang tingkat virulensinya tinggi akan mempunyai tingkat infektifitas yang tinggi pula. Asumsi ini tidak selalu benar, bahkan ti-

dak jarang strain JPS yang virulen infektifitasnya rendah, atau sebaliknya. Fargues (10) menunjukkan bahwa isolat *B. bassiana* Bb12, Bb13, dan Bb14 yang virulen terhadap *Leptinotarsa decemlineata* mempunyai kemampuan sporulasi yang lebih rendah dibandingkan isolat Bb7 dan Bb17 yang kurang virulen (Tabel 2 dan Gambar 2).

Perbanyakan JPS tidak selalu mudah dilakukan pada media buatan. Antarspesies dan strain JPS membutuhkan nutrisi yang berbeda. *E. delphacis*, *E. radicans*, *E. grylli*, *Hirsutella*, *Gibellula*, dan beberapa spesies dalam subdivisi Mastigomycotina dan Zygomycotina membutuhkan nutrisi yang lebih spesifik (37) daripada *B. bassiana* dan *M. anisopliae*. Berdasarkan kebutuhan nutrisinya, Latge (21) telah mengetahui ada 4 kelompok strain *H. thompsonii* yang mempunyai kemampuan dan mekanisme sporulasi berbeda. Penurunan virulensi juga dapat terjadi selama pertumbuhan dan perkembangannya di media buatan.

Masalah keamanan sering menjadi faktor penghambat pemanfaatan JPS. Beberapa JPS telah diketahui menimbulkan reaksi



Gambar 1. Pengaruh radiasi matahari terhadap viabilitas konidia *M. flavoviridae* (Scherer *et al.* 1992).



**Tabel 2.** Kemampuan sporulasi beberapa isolat *B. bassiana* (Fargues 1992).

| Isolat | Isolat inang                            | Famili        | Asal koleksi                | Tahun | Sporulasi |
|--------|-----------------------------------------|---------------|-----------------------------|-------|-----------|
| Bb7    | <i>Vesperus</i> sp.                     | Vespidae      | St-Christoles- Ales         | 1955  | +++       |
| Bb12   | <i>Eurygaster</i> sp.                   | Pentatomidae  | Yugoslavia                  | 1965  | +         |
| Bb13   | <i>Bothryoderes punctiventris</i> Germ. | Curculionidae | Yugoslavia                  | 1966  | +         |
| Bb14   | <i>Thaumetopoea pityocampa</i> Schiff.  | Noctuidae     | La miniere (Ventoux)        | 1967  | ++        |
| Bb15   | Larva <i>Cerambycidae</i>               | Cerambycidae  | La miniere                  | 1968  | +++       |
| Bb16   | <i>Laspeyresia pomonella</i> L.         | Tortricidae   | La miniere (Angers)         | 1968  | +++       |
| Bb17   | <i>Epiotia</i> sp.                      | Tortricidae   | Institute Pasteur (Luberon) | 1968  | +++       |

alergenik, iritasi, mikosis, dan menghasilkan racun yang berbahaya bagi manusia dan hewan. *C. coronatus* dapat menyebabkan mikosis pada kuda dan manusia. Konidia *B. bassiana* menimbulkan reaksi alergenik pada manusia dan hewan piaraan, sedangkan *Aspergillus* menghasilkan racun yang berbahaya.

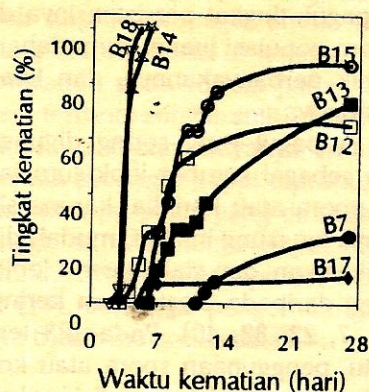
Toleransi JPS terhadap pengaruh iklim yang kurang menguntungkan umumnya rendah. Kisaran suhu dan kelembaban nisbi optimum untuk pertumbuhan dan perkembangannya juga sempit, misalnya, suhu optimum untuk pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana* 22-26°C, dan *M. anisopliae* 25-30°C (26). Keefektifan pengendalian *M. anisopliae* menurun bila suhu optimumnya berubah (38). Kematian total *Leptinotarsa decemlineata* oleh *M. anisopliae* pada suhu 18-20°C terjadi 7-10 hari setelah aplikasi (hsa), tetapi pada suhu 22°C dan 26°C terjadi pada 7-10 hsa dan 10-14 hsa.

### Kendala Aspek Entomologi

Proses pergantian kulit dalam pertumbuhan dan perkembangan serangga menghambat proses infeksi JPS (44, 45, 32, 11). Spora yang sudah menempel atau berkecambah pada permukaan integumen bisa gagal menginfeksi

inangnya karena terlepas pada waktu pergantian kulit. Pengaruh faktor tersebut terhadap JPS yang diaplikasikan pada WBC sangat besar. WBC mempunyai siklus hidup yang pendek dan fase perkembangan yang cepat. Perubahan antartarstar terjadi antara 2-4 hari, sehingga intensitas pergantian kulitnya berlangsung sangat cepat. Strain JPS yang potensial sebagai agen pengendaliannya ialah yang mempunyai tingkat virulensi tinggi.

Antarfase perkembangan serangga mempunyai tingkat kepekaan yang berbeda (37, 44, 45, 32, 11, 12). Fase perkembangan awal biasanya merupakan fase yang paling peka. Getzin (12) melaporkan bahwa tingkat kepekaan larva *Trichoplusia* dengan fase perkembangannya berkorelasi negatif ter-



**Gambar 2.** Virulensi beberapa isolat *B. bassiana* terhadap *Leptinotarsa decemlineata* (Fargues 1992).

hadap *Nomuraea rileyi*. Makin lanjut fase perkembangan larva, kepekaan larva terhadap *N. rileyi* makin rendah. Pada populasi inang yang terdiri dari individu dengan fase perkembangan yang beragam, penentuan waktu introduksi JPS yang tepat sulit dilakukan.

## STRATEGI PENGEMBANGAN JPS

### Seleksi Strain

Strain JPS yang potensial sebagai agen pengendalian WBC ialah yang mempunyai tingkat virulensi dan keefektifan tinggi. Virulensi spora harus mampu menginfeksi dan atau mematikan WBC sebelum berganti kulit. Kemampuan produksi spora tinggi, dan penyebaran spora ke dalam populasi WBC harus efektif dan efisien. Strain JPS yang efektif sebagai agen pengendalian ialah yang mempunyai ambang kendali lebih rendah daripada ambang ekonomi inangnya (42). Artinya, keberadaan atau introduksi JPS harus bisa mempertahankan fluktuasi populasi inang di bawah ambang ekonominya.

Seleksi strain yang virulen bisa dilakukan dengan metode infeksi langsung (31). Tingkat virulensinya dapat ditentukan berdasarkan nilai LD<sub>50</sub> dan LT<sub>50</sub>. Strain yang virulen mempunyai nilai LD<sub>50</sub> dan LT<sub>50</sub> yang rendah. Metode ini sebenarnya efektif tetapi tidak bisa menunjukkan sifat virulensi secara keseluruhan dan mekanisme virulensinya. Pengaruh infeksi JPS tidak hanya bersifat mematikan, tetapi mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan serangga, dan menurunkan kemampuan reproduksinya (44, 45, 32, 11, 48). Aplikasi dengan dosis infeksi kadang-kadang dapat menurunkan populasi inang secara nyata. Metode alternatif yang mungkin dapat dikembangkan ialah dengan



cara mendeteksi pola aktivitas enzimnya (11, 18). Proses infeksi JPS melibatkan sejumlah enzim yang berfungsi untuk mendegradasi komponen penyusun integumen. Setiap *strain* mempunyai pola aktivitas enzim yang berbeda yang dapat menunjukkan tingkat virulensinya.

Kemampuan *strain* JPS untuk persisten ketika tidak ada inang atau ketika masa bera menjadi faktor penting yang harus diperhatikan. Kebanyakan JPS membentuk *clamydospore* atau spora istirahat untuk bertahan hidup (4, 11, 46). *H. citriformis* mampu bertahan hidup cukup lama dalam bentuk miselia yang menyelimuti tubuh WBC (mumi) (41, 4). *B. bassiana* dan *M. anisopliae* akan hidup sebagai saprofit pada sisa tanaman (4). Stabilitas virulensi juga harus mantap ketika dibiakkan di media dan diaplikasikan di lapang. Aplikasinya diharapkan dapat mengendalikan beberapa jenis hama sekaligus, tetapi tidak berbahaya terhadap jasad bukan sasaran. Kompatibilitas dengan komponen-komponen pengendalian lainnya dan resistensinya terhadap pestisida kimia sangat penting. JPS yang berbahaya sebaiknya tidak digunakan sebagai agen pengendalian hama.

Rekayasa genetik dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan *strain* virulen yang infektifitasnya tinggi, resisten terhadap fungisida, dan yang sebaran inangnya luas. Penggunaan teknik fusi protoplas telah berhasil meningkatkan virulensi dan sporulasi *B. brongniarti*, *M. asnisopliae*, *V. lecanii*, dan *N. rileyi*. Mutagenesis *M. anisopliae* yang bervirulensi tinggi telah dilaporkan, tetapi *strain* hasil rekayasa genetik kebanyakan virulensinya masih belum stabil ketika diaplikasikan. Hal ini disebabkan oleh belum adanya peta genetik JPS.

**Tabel 3.** Propagul JPS yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber inokulum dan media perbanyakannya (Sampson *et al.* 1988).

| Patogen                           | Bentuk propagul | Media |       |
|-----------------------------------|-----------------|-------|-------|
|                                   |                 | Cair  | Padat |
| <i>Lagenidium giganteum</i>       | oospora         | +     |       |
| <i>Conidiobolus obscurus</i>      | azygospora      | +     |       |
| <i>Entomophthorales</i>           | badan hifa      | +     |       |
| <i>B. bassiana</i>                | blastospora     | +     |       |
|                                   | konidia         | +     | +     |
| <i>B. brongniarti</i>             | konidia         |       | +     |
|                                   | blastospora     | +     |       |
| <i>M. anisopliae</i>              | konidia         |       | +     |
|                                   | badan hifa      | +     |       |
| <i>H. thompsonii</i>              | konidia         | +     | +     |
|                                   | badan hifa      | +     |       |
| <i>V. lecanii</i>                 | konidia         |       | +     |
|                                   | blastospora     | +     |       |
| <i>N. rileyi</i>                  | konidia         |       | +     |
|                                   | blastospora     | +     |       |
| <i>Aschersonia aleyrodidis</i>    | konidia         |       | +     |
| <i>Culiciniomyces clavisporus</i> | konidia         | +     |       |

### Pemilihan Propagul sebagai Sumber Inokulum

Propagul JPS yang dapat menjadi sumber inokulum ialah miselia (blastospora, badan hifa) atau spora (spora, konidia, azygospora, oospora) (Tabel 3) (37). Pemilihan sumber inokulum yang tepat menjamin keefektifan dan keefisienan pengembangan dan aplikasi JPS. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam memilih propagul sebagai sumber inokulum, yaitu tingkat virulensi dan viabilitas propagul, tingkat persistensinya di dalam populasi inang, kemudahan teknik perbanyakannya, dan keamanannya.

Propagul yang sering digunakan sebagai sumber inokulum ialah spora atau konidia, karena sifatnya langsung infektif, mudah diaplikasikan, dan viabilitasnya lebih tinggi daripada blastospora kering (37, 7, 22, 32, 40). Pada JPS tertentu, penggunaan spora atau konidia dianggap kurang efisien, karena (a) perkembangan fase sporulasi biasanya membutuhkan nu-

trisi yang sangat spesifik (36), dan (b) waktu yang diperlukan untuk produksi spora lebih lama. Spora *B. bassiana* juga telah diketahui bersifat alergenik terhadap beberapa jenis vertebrata dan manusia daripada blastosporanya (45). Pembentukan azygospora *Conidiobolus obscurus* dirangsang oleh adanya biotin, prolin, thiamin, dan leusin di dalam medianya (20). Sporulasi *N. rileyi* yang optimum terjadi pada media *sabaroud dextrose*-agar yang mengandung ekstrak yeast 1% (7). Produksi konidia *H. citriformis* yang cukup tinggi terjadi pada media yang mengandung ekstrak yeast (28). Produksi miselinya tidak dipengaruhi oleh kandungan ekstrak yeast.

Untuk mengatasi hal di atas, dapat digunakan propagul miselia sebagai sumber inokulum (3). Keuntungan penggunaan ini ialah umur biakkannya pendek, perbanyakannya dan aplikasinya mudah, sporulasi langsung terjadi pada populasi inang, penurunan virulensi dan viabilitas spora dapat diturunkan, persistensi pengendaliannya



lama, dan produksi sporanya tidak jauh berbeda dengan produksi spora di dalam biakan.

Penggunaan miselia *H. citriformis*, *M. anisopliae*, dan *P. lilanicus* telah terbukti efektif untuk mengendalikan WBC (28). Miselia *H. citriformis* dianggap lebih efisien daripada sporanya, karena (a) untuk menghasilkan miselia hanya dibutuhkan waktu 15-20 hari, sedangkan untuk memproduksi spora 25-30 hari, dan (b) media yang dibutuhkan tidak mahal, miselia dapat diproduksi pada media tanpa atau dengan kandungan ekstrak yeast.

### Perbanyakkan Propagul

Untuk tumbuh dan berkembang, JPS membutuhkan oksigen, air, sumber karbon dan energi dari bahan organik, nitrogen organik atau anorganik, mineral, vitamin, dan beberapa faktor tumbuh lainnya. Sumber karbon yang biasa digunakan adalah dekstrose, sukrosa, polisakarida, dan lipida. Kebutuhan nitrogen dapat diberikan dalam bentuk amonia, protein atau asam amino. Mineral makro yang penting ialah fosfor, natrium, magnesium, dan sulfur. Sedangkan mineral mikronya adalah kalsium, tembaga, besi, mangan, dan zinc. Vitamin B kompleks biasanya diperlukan pada waktu sporulasi. *Lard* (lemak hewan) dan khitin perlu ditambahkan untuk menjaga stabilitas virulensi selama perbanyakkan (32).

Beberapa produk dan limbah pertanian yang murah dapat dikembangkan sebagai media perbanyakkan JPS karena mengandung nutrisi yang tinggi. Kentang, nasi, *oatmeal*, dan jagung sudah sering digunakan untuk perbanyakkan konidia *M. anisopliae* dan *B. bassiana* (7, 37). Pertumbuhan dan sporulasi kedua patogen itu cukup tinggi pada media ubikayu

dan ubijalar. Dedak mengandung nutrisi tinggi yang perlu untuk pertumbuhan dan perkembangan JPS. Setiap 100 g dedak mengandung 6,7% amilosa, 6,4% glukosa, 22,8% lemak, 15,7% protein, 2,26 mg thiamin, 0,25 mg riboflavin, 28,8 mg niacin, 2,5 mg piridoksin, dan 0,06 mg biotin (9).

Media dari bahan alami yang sering digunakan untuk perbanyakkan jamur ialah *soybean mash*, *cornmeal-agar*, *potato dextrose-agar*, *steamed rice*, *sterilized string beans*, *beef malt-agar*, *proteose peptone-agar*, *sabouraud maltose-agar*, *oatmeal-agar*, *casein hydrolyzate-agar*, dan *wort-agar* (23). Perbanyakkan spora atau konidia biasanya dilakukan pada media padat, tetapi konidia *B. bassiana*, *H. thompsonii*, dan *V. lecanii* dapat diperbanyak pada media cair (37). Perbanyakkan oospora, azygospora, blastospora, dan badan hifa hanya efektif dilakukan pada media cair.

Ada tiga jenis *fermentor* yang sering digunakan dalam perbanyakkan di media cair, yaitu *stirer tank fermentor*, *tower fermentor*, dan *loop fermentor* (19). Teknologi *fermentor* sudah banyak yang dikembangkan secara elektrik dan dikendalikan dengan komputer, sehingga pemanfaatannya sangat efektif dan efisien dengan risiko kontaminasi yang rendah. Kelemahannya hanya terletak pada tidak siapnya propagul untuk langsung diaplikasikan di lapang. Perbanyakkan pada media padat proses fermentasinya sulit dikendalikan walaupun biayanya murah, semua propagul dapat diproduksi, viabilitas propagul yang dihasilkan tinggi, dan medianya dapat digunakan sebagai *starter* proses infeksi (19), sehingga pengembangannya masih sangat terbatas.

### Formulasi

Dasar-dasar formulasi pe-

ngembangan JPS menjadi insektisida mikroba tidak berbeda dengan insektisida kimia (25, 40, 22). Perbedaannya terletak pada status bahan aktifnya. JPS merupakan organisme hidup yang mempunyai karakteristik kehidupan kompleks. Aktivitasnya dipengaruhi oleh faktor luar yang kurang menguntungkan. Formulasinya dapat dikembangkan dalam bentuk cair, *wettable powder*, debu, umpan, atau butiran (22, 40). Bentuk formulasi yang dipilih bergantung pada sifat fisiko-kimia propagul dan habitat inang (22, 37, 40).

Sifat fisiko-kimia propagul yang mempengaruhi bentuk formulasi ini ialah sifat hidrofobik-hidrofilik, bentuk, ukuran, berat, dan struktur permukaan (37, 22, 40). Beberapa spesies *Entomophthora* tidak bisa diformulasikan dalam bentuk suspensi spora karena tidak bersifat infeksi pada kelemaban tinggi (5). Formulasi yang tepat untuk diaplikasikan pada WBC adalah yang berbentuk cair, *wettable powder*, debu, dan butiran. Formulasi umpan tidak efektif untuk WBC karena tipe mulutnya menusuk mengisap. Bentuk formulasi yang efektif bagi propagul konidia ialah formulasi cair, *wettable powder*, dan debu, sedangkan propagul miselia dapat dikembangkan dalam semua bentuk formulasi. Formulasi butiran harus dikembangkan dalam bentuk yang terapung sehingga sporulasi miselinya dapat terjadi pada permukaan air.

Bentuk formulasi yang dipilih dan bahan aditif yang ditambahkan harus mampu mempertahankan stabilitas virulensi dan viabilitas propagul sedikitnya satu tahun dalam penyimpanan suhu kamar dan 10-14 hari pada waktu diaplikasikan di lapang (25). Pengembangan formulasi diharapkan dapat meningkatkan persistensi pengendalian (45). Bahan aditif yang ditambahkan berfungsi sebagai



perekat, penyebar, dan pelindung. Nutrisi kadang-kadang ditambahkan dalam formulasi propagul miselia untuk merangsang tingkat sporulasi (25). Pada JPS tertentu, fase sporulasinya dirangsang oleh ketiadaan nutrisi, sehingga penambahan nutrisi menghambat proses sporulasi. Penambahan nutrisi perlu dilakukan secara hati-hati agar tidak merangsang pertumbuhan mikroba saprofit dan antagonistik.

Untuk meningkatkan keefektifan pengendalian atau memperluas spektrum hama sasaran, beberapa *strain* atau spesies JPS dapat digabungkan dalam satu formulasi. Dalam mengembangkan formulasi yang demikian, sifat interaksi antartopatogennya perlu diketahui karena penggabungan beberapa patogen dalam satu formulasi tidak selalu bersifat aditif atau sinergis. Hasil penelitian Hauptmann (16) menunjukkan bahwa interaksi *H. citriformis* dengan *Verticillium lecanii* dalam formulasi gelatin-glicerol bersifat antagonistik, sedangkan interaksi *M. anisopliae* dengan *Paecilomyces fumosoroseus* dan *M. anisopliae* dengan *M. flavoviridae* masing-masing bersifat aditif dan sinergis (Gambar 3 A, B, C).

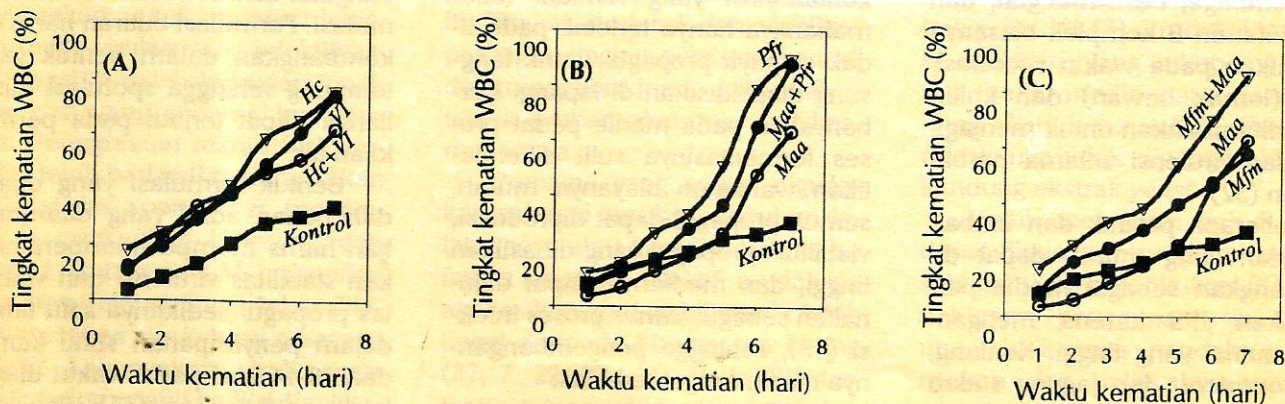
### STRATEGI APLIKASI

Menurut Maddox (24), strategi aplikasi JPS ke dalam populasi inangnya dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu (a) mengintroduksi JPS agar menjadi agen pengendalian yang bersifat tetap, dan (b) mengaplikasikan JPS sebagai insektisida mikroba. Cara yang pertama akan berhasil bila dilakukan pada kondisi ekosistem yang stabil atau tanaman cukup toleran. Pada kondisi agroekosistem sawah sulit dikembangkan karena adanya masa bera atau tidak tersedianya inang setiap saat. Kecuali untuk JPS yang mempunyai sebaran inang luas dan mampu bertahan hidup pada kondisi tanpa daya dukung lingkungan yang memadai, misalnya *B. bassiana* dan *M. anisopliae*, *B. bassiana*, dan *M. anisopliae* mampu hidup sebagai saprofit pada waktu tidak ada inang, tetapi tingkat virulensinya pada waktu menjadi patogen lagi belum banyak diketahui.

Faktor-faktor yang perlu diperhatikan dalam mengintroduksi JPS ialah (a) konsentrasi propagul harus cukup tinggi agar dapat menginfeksi beberapa inang yang dapat menjadi pemicu terjadinya epizotik, (b) populasi inang harus cukup

tinggi agar dapat tumbuh dan berkembang dari waktu ke waktu, dan (c) introduksi dilakukan pada fase inang yang peka dan kondisi iklim mendukung (24).

Aplikasi JPS sebagai insektisida mikroba dapat dilakukan dengan teknik penyemprotan, penghambusan, dan penyebaran. Aplikasinya dapat digabungkan dengan penggunaan insektisida kimia, kemosterilan, feromon, JPS lain, parasitoid, predator, atau varietas tahan. Konsentrasi dan dosis yang efektif harus ditetapkan berdasarkan prinsip kestabilan agroekosistem. Waktu aplikasi yang tepat harus disesuaikan dengan fase perkembangan WBC yang paling peka, kondisi suhu, kelembaban dan radiasi matahari yang menguntungkan. Menurut Maddox (24), fase awal perkembangan serangga merupakan fase yang paling peka terhadap infeksi JPS. Waktu aplikasi JPS yang tepat adalah sore hari (16) karena pengaruh radiasi matahari yang bersifat mematikan dapat dihindari, dan kelembaban nisbi akan meningkat pada malam dan pagi harinya. Hasil penelitian Hauptmann (16) menunjukkan bahwa 75% spora *B. bassiana* dan *M. anisopliae* berkecambah 12 setelah jam aplikasi



**Gambar 3.** (A) Interaksi antara *H. citriformis* dan *V. lecanii*, (B) Interaksi antara *M. anisopliae* dan *P. fumosoroseus*, dan (C) Interaksi antara *M. anisopliae* dan *M. flavoviridae*.



pada jam 15.00, sehingga 75% spora diharapkan mampu menginfeksi WBC sebelum radiasi matahari mencapai maksimum.

## KESIMPULAN

Terbatasnya pemanfaatan JPS dalam pengendalian biologi WBC disebabkan oleh pengembangan dan aplikasinya tidak dilakukan secara holistik. Pengembangan JPS membutuhkan dukungan peneliti yang berkemampuan dan berpengetahuan mendalam tentang teknik isolasi, identifikasi, biologi, manipulasi, produksi, formulasi, dan aplikasinya.

## KEPUSTAKAAN

1. Baehaki, S. E. 1988. Aplikasi patogen *Metarhizium anisopliae* terhadap wereng coklat di Sumatera Utara, hlm. 91-97. Dalam J. Soejitno *et al.* (eds.). 1987/88. Penelitian wereng coklat. Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor.
2. Baehaki, S. E. 1987. Dinamika populasi wereng coklat *Nilaparvata lugens* Stål., hlm. 16-30. Dalam J. Soejitno *et al.* (eds.). 1987. Edisi Khusus No. 1. Wereng coklat. Badan Litbang Pertanian, Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor.
3. Cameron, J. W. 1969. Problems and prospects in the use of pathogens in insect control. *Proc. Entomol. Soc. Ontario*, 99: 73-79.
4. Carruthers, R. I. and K. Hural. 1990. Fungi as naturally occurring entomopathogens, p. 115-138. In R. R. Baker and P. E. Dunn (eds.). *New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Disease*. Alan R. Liss, Inc.
5. Clerk, G. C. and M. F. Madelin. 1965. The longevity of conidia of three insect-parasitizing Hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 48: 193-209.
6. Couch, T. L. and C. M. Ignoffo. 1981. Formulation of insect pathogens, p. 621-633. In H. D. Burges (ed.). *Microbial control of pests and plant diseases, 1970-1980*. Academic Press, London.
7. Couch, T. L. 1982. Production of Hyphomycetes. *Proc. Third Int. Colloquium Invert. Pathol. Brighton*. pp. 188-191.
8. Dyck, V. A. 1974. General comments; Field problems in 1974. *Rice Newsletters* 1: 2-3.
9. Eggum, B. O. 1979. The nutritional value of rice in comparison with other cereals. *Proc. of the workshop on chemical aspects of rice grain quality*, IRRI, Philipina, pp. 91-111.
10. Fargues, J. 1992. Etude des condition d'infection des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* Say par *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. (Fungi imperfecti). *Entomophaga* 17 (3): 319-337.
11. Ferron, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annu. Rev. Entomol.* 23: 409-442.
12. Getzin, L. W. 1961. *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles. an entomogenous fungus of *Trichoplusia* (Hubner). *J. Insect Pathol.* 3: 2-10.
13. Hall, R. A. and C. C. Payne. 1986. Potential of insect pathogens in tropics, p. 187-196. In M. Y. Hussein and A. G. Ibrahim-Ibrahim (eds.). *Biological control in the tropics*.
14. Herdt, R. W. 1982. Changing Asian rice technology; impact, benefits and constraints. Selected papers from IRRI research on consequences of new rice technology. Assembled for the Quinquennial Rev. Jam, IRRI. pp. 81-129.
15. Holdom, D. G. 1986. The use of fungal pathogens to control brown planthopper and other pest insects. Makalah Seminar Puslit-bangan.
16. Hauptmann, G. G., P. Sell, and D. Knosel. 1992. Biological control of brown planthopper. Final Scientific Report, Institute of Applied Botany Plant Protection Division. 64 pp.
17. Joshi, L. A. K. Charley, G. Arnold, P. Brain and R. Bateman. 1992. Entomopathogenic fungi, *Metarhizium* spp. and the benzoyl-phenyl urea insecticide, teflubenzuron against the desert locust, *Schistocerca gregaria*, p. 369-374. In *Proceeding vol. I. Brighton crop protection conference pests and diseases-1992*. The British Crop Protection Council, Nov. 23-26, 1992. Brighton, England.
18. Konova, E. V. 1979. Selection of commercial strains of the fungus, *Beauveria bassiana*, p. 173-191. In C. M. Ignoffo (ed.). *Proc. first UD/USSR conference on the production, selection and standardization of entomopathogenic fungi of the US/USSR joint working group on the production of substances by microbiological means*.
19. Kristiansen, B. and H. E. Chamberlin. 1983. Fermenter design. p. 1-19. In J. E. Smith *et al.* (eds.). *The filamentous fungi. Vol. 4. Fungal technology*. Edward Arnold Publ., London.
20. Latge, J. P. and J. J. Sanglier. 1985. Optimisation de la croissance et de la sporulation de *Conidiobolus obscurus*. *Ca. J. Bot.* 63: 68-85.
21. Latge, J. P., R. I. Cabrera Cabrera, and M.C. Prevost. 1988. Microcycle conidiation in *Hirsutella thompsonii*. *Can. J. Microbiol.*
22. Lisansky, S. G. and J. Coombs. 1992. Technical improvement to biopesticides, p. 345-350. In *Proceeding Vol. I. Brighton crop protection conference pests and diseases-1992*. The British Crop Protection Council, Nov. 23-26, 1992. Brighton-England.
23. MacLeod, D. M. 1960. Nutritional studies on the genus II. Acid hydrolysed casein and casamino acids combination as sources of nitrogen. *J. Invert. Pathol.* 2: 139-146.
24. Maddox, J. V. 1975. Use of diseases in pest management, p. 189-233. In R. L. Metclaf and W. H. Luckman (eds.). *Introduction of insect pests management*. John Wiley and Sons, New York.



25. McCoy, C. W. 1990. Entomogenous fungi as microbial pesticide, p. 139-159. In R. R. Baker and P. E. Dunn (eds.). New directions in biological control; Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases.
26. Newman, G. G. and G. R. Carner. 1975. Environmental factors affecting conidial sporulation and germination of *Entomophthora gammae*. Environ. Entomol. 4: 615-618.
27. Oka, I. N. dan A. H. Bahagiawati. 1991. Pengendalian hama terpadu, hlm. 653-680. Dalam E. Soenarjo et al. (eds.). Padi Buku 3. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Bogor.
28. Priyatno, T. P., M. K. Kardin, M. Iman, Sudjarwo, dan A. Suyanto. 1992. Keefektifan suspensi miselia *Hirsutella citriformis* untuk pengendalian wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stål), hlm. 91-98. Dalam Prosiding II Seminar Ilmiah dan Kongres Nasional Biologi X. Bogor 24-26 Sep. 1991. Perhimpunan Biologi Nasional dan PAU Ilmu Hayati IPB.
29. Priyatno, T. P. dan M. K. Kardin. 1993. Distribusi vertikal wereng coklat yang terinfeksi *Hirsutella citriformis* pada batang padi. Tidak dipublikasikan. 6 hlm.
30. Priyatno, T. P., M. K. Kardin, dan I Wayan Laba. 1993. Kompatibilitas suspensi miselia *Hirsutella citriformis* dengan buprofezin dalam mengendalikan wereng coklat. Tidak dipublikasikan.
31. Priyatno, T. P. 1994. Potensi JPS dan kemungkinan penggunaan metode deteksi enzimnya dalam seleksi isolat-isolat yang virulen. Makalah seminar mingguan, Balitan, Bogor, 25 hlm.
32. Roberts, D. W. and W. G. Yendol. 1971. Use fungi for microbial control of insects, p. 125-149. In H. D. Burges and N. W. Hussey (eds.). Microbial control of insects and mites. Academic Press, London.
33. Rombach, M. C., R. M. Aguda, B. M. Shepard, and D. W. Roberts. 1985. Infection of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) by field application of entomopathogenic Hyphomycetes (Deuteromycotina). Environ. Entomol. 15(5): 1070-1073.
34. Rombach, M. C., R. M. Aguda, and D. W. Roberts. 1986. Biological control of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) with dry mycelium application of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Philippines Entomol. 6(6): 613-619.
35. Rombach, M. C., G. M. Rombach, and D. W. Roberts. 1987. Pathogens of insect pests of rice: A bibliography. Insect Sci. Applic. 8(2): 197-210.
36. Samson, R. A. 1982. Laboratory culture and maintenance of entomopathogenic fungi. Proc. Third. Int. Colloquium Invert. Pathol. Brighton. pp. 182-187.
37. Samson, R. A., H. C. Evans, and J. P. Latge. 1988. Atlas entomopathogenesis fungi. Springer-Verlag, Berlin. 187 pp.
38. Schaerffenberg, B. 1964. Biological and environmental condition for the development of mycoses caused by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. J. Insect Pathol. 6: 8-20.
39. Scherer, R., R. P. Bateman, D. Moore, and G. V. McClatchie. 1992. Control of the migratory locust, *Locusta migratoria* Capito in Madagascar, p. 357-362. In Proceeding vol. I. Brighton crop protection conference pests and diseases-1992. The British Crop Protection Council, Nov. 23-26, 1992. Brighton, England.
40. Soper, R. S. and M. G. Ward. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control, pp. 161-180. In G. C. Papaviraz (ed.). Biological control in crop production. Allanheld, Osmon Publ. Ottawa, New Jersey.
41. Soper, R. S. 1986. Pathogens of leafhoppers and planthoppers, p. 469-489. In L. R. Nault and J. G. Rodriquez (eds.). The leafhoppers and planthoppers. John Wiley and Sons, Inc.
42. Steinhaus, E. A. 1954. The effects of diseases on insect populations. Hilgardia 23: 197-261.
43. Sunarjo, P. I., A. Nasarudin, N. Agus, dan D. S. Dewi. 1988. Pengaruh Applaud 10 WP terhadap benur (*Penaeus monodon*), nener bandeng (*Chanos-chanos*) dan mujair (*Tilapia mossambica*). hlm. 101-113. Dalam J. Sujitno et al. (eds.). Penelitian wereng coklat 1987/1988. Balai Penelitian Tanaman Pangan, Bogor.
44. Sweetman, H. C. 1963. Principles of biological control. W. M. C. Brown Company, Dubuque, Iowa. pp. 42-57.
45. Tanada, Y. 1959. Microbial control insect pests. Environ. Entomol. 29: 277-295.
46. Tanada, Y. 1973. Epizootiology of insect diseases, pp. 548- 585. In P. de Bach (ed.) Biological control insect pests and weeds. Chapman and Hall LTD, New Fetter Lane, London.
47. Thuy, P. T., N. T. Bac, D. Thanh, and T. T. Thap. 1994. Effects of *Beauveria bassiana* Vuill. and *Metarhizium anisopliae* Sorok. on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.). In International Rice Research Notes, 19(3): 29.
48. Wardoyo, S. 1986. Penggunaan serangga mandul, patogen, hormon dan feromon dalam pengelolaan hama tanaman, hlm. 252-259. Dalam Aspek-aspek pestisida di Indonesia. LP3, Bogor.