



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMBUATAN FORMULA *Metarhizium majus* UICC 295  
MENGUNAKAN MEDIA PEMBAWA SUBSTRAT JAGUNG  
(*Zea mays*) DAN PENGUJIAN FORMULA TERHADAP LARVA  
*Oryctes rhinoceros***

**SKRIPSI**

**GALUH PURNAMASARI  
0706263901**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMBUATAN FORMULA *Metarhizium majus* UICC 295  
MENGUNAKAN MEDIA PEMBAWA SUBSTRAT JAGUNG  
(*Zea mays*) DAN PENGUJIAN FORMULA TERHADAP LARVA  
*Oryctes rhinoceros***

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

**GALUH PURNAMASARI  
0706263901**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2011**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Galuh Purnamasari**

**NPM : 0706263901**

**Tanda Tangan : **




**Tanggal : 14 Juli 2011**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Galuh Purnamasari  
NPM : 0706263901  
Program Studi : Biologi  
Judul Skripsi : Pembuatan Formula *Metarhizium majus* UICC 295  
Menggunakan Media Pembawa Substrat Jagung  
(*Zea mays*) dan Pengujian Formula Terhadap Larva  
*Oryctes rhinoceros*

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia**

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Ariyanti Oetari, Ph.D. (  )  
Penguji I : Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. (  )  
Penguji II : Dr. Anom Bowolaksono (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 14 Juli 2011

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku pembimbing yang telah memberikan ilmu, waktu, tenaga, saran, kritik, dan semangat dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. *University of Indonesia Culture Collection (UICC)* atas nama Ariyanti Oetari, Ph.D. yang telah membiayai penelitian ini.
3. Ibu Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Bapak Dr. Anom Bowolaksone selaku penguji yang telah memberikan saran-saran selama penulis melakukan penelitian.
4. Ibu Dr. Nisyawati selaku Penasehat Akademik dan Bapak Dr. Wibowo Mangunwardoyo yang telah memberikan saran-saran dan bimbingan kepada penulis.
5. Bapak Dr.rer.nat. Mufti Petala Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI dan Ibu Dra. Nining Betawati Prihantini M.Sc. selaku Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI atas saran-saran dan bantuan kepada penulis.
6. Mama dan Papa yang telah memberikan kasih sayang, doa, perhatian, serta dukungan moril dan materil kepada penulis.
7. Bapak Endi dan Bapak Sangsang yang telah membantu mencarikan larva yang digunakan dalam penelitian.
8. Keluarga dan Saudara-saudara tercinta, Mbah Kakung, Mbah Puteri, Kakek, Nenek, Uwo, Pak Uwo, Om Mamet, Om Hen, dan Bule Dedeh, serta adik-adik sepupu tersayang, Prasetyo, Andre, Gemi, dan Tegar atas doa,

dukungan, semangat, kasih sayang, bantuan, dan kebersamaan yang selalu menjadi motivasi bagi penulis.

9. Doni Alvian dan Bama Herdiana sebagai teman seperjuangan, yang selalu menjalani suka dan duka bersama penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
10. Rekan-rekan di Laboratorium Mikrobiologi: Kirana, Estri, Dachniar, Rendi, Fahreza, Imora, Virgine, Diana, Kenardo, Bregas, Pak Pri, Kak Dafina, Kak Novia, Mba Dalia, Mba Reno, dan Irvan atas persahabatan, kebersamaan, dan bantuan yang diberikan selama berada di laboratorium.
11. Ari Sandi Sapta Della yang selalu memberikan semangat, perhatian, dan mendengarkan keluh kesah penulis selama penyusunan skripsi ini, serta sahabat-sahabat terdekat Handaru, Hario, Fachri, Silvia, Fitri, Iresa, Neisya, dan Andi atas persahabatan yang begitu indah dan bantuan selama penyusunan skripsi ini.
12. Teman-teman Biologi, khususnya BLOSSOM yang telah bersama-sama menjalani suka duka bersama penulis selama kuliah di Departemen Biologi.  
Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai civitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Galuh Purnamasari  
NPM : 0706263901  
Program Studi : S1  
Departemen : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

demi pembangunan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pembuatan Formula *Metarhizium majus* UICC 295 Menggunakan Media Pembawa Substrat Jagung (*Zea mays*) dan Pengujian Formula Terhadap Larva *Oryctes rhinoceros*.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 14 Juli 2011

Yang menyatakan



(Galuh Purnamasari)

## ABSTRAK

Nama : Galuh Purnamasari  
Program Studi : Biologi  
Judul : Pembuatan Formula *Metarhizium majus* UICC 295 Menggunakan Media Pembawa Substrat Jagung (*Zea mays*) dan Pengujian Formula Terhadap Larva *Oryctes rhinoceros*

*Metarhizium majus* UICC 295 adalah kapang entomopatogen. Penelitian bertujuan membuat dan menguji formula *M. majus* UICC 295 menggunakan media pembawa substrat jagung (*Zea mays*) terhadap larva *Oryctes rhinoceros* dengan metode kontak langsung, serta mengetahui pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas konidia/hifa kapang pada formula. Pengujian suspensi konidia/hifa kapang sebanyak  $(2,42 \pm 0,50) \times 10^6$  CFU/ml menyebabkan kematian larva 100% dalam 9--14 hari. Pembuatan formula dengan menginokulasikan biomassa kapang sebanyak 10% (berat/berat) ke dalam jagung. Pengujian formula dengan jumlah konidia/hifa  $(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$  CFU/g menyebabkan kematian larva 100% dalam 7--13 hari. Penyimpanan formula pada suhu 25--27° C dan 4° C selama 30 hari menyebabkan penurunan viabilitas konidia/hifa berturut-turut sebesar 93,95% dan 91,19%.

Kata kunci:

Entomopatogen, formula, jagung, *Metarhizium majus*, *Oryctes rhinoceros*, penyimpanan, viabilitas.



## ABSTRACT

Name : Galuh Purnamasari  
Study Program : Biology  
Title : Formulation of *Metarhizium majus* UICC 295 Using Corn (*Zea mays*) as a Carrier and Its Application on *Oryctes rhinoceros* Larvae

*Metarhizium majus* UICC 295 is an entomopathogenic fungus. This research investigated the use of corn as a carrier for formulation of *Metarhizium majus* UICC 295, application of the formula on *Oryctes rhinoceros* larvae, and the effect of temperature and time on the conidia/hyphal viability during storage. Application of conidia/hyphal suspension  $(2.42 \pm 0.50) \times 10^6$  CFU/ml caused 100% larval mortality within 9--14 days. Formulation was carried out by inoculation of 10% (w/w) fungal biomass into corn. Application of the formula containing conidia/hyphae  $(1.77 \pm 0.73) \times 10^6$  CFU/g caused 100% larval mortality within 7--13 days. The conidia/hyphal viability in the formula was decreased 93.95% and 91.19%, after storage for 30 days at 25--27° C and 4° C, respectively.

Key words:

Corn, entomopathogenic fungus, formula, *Metarhizium majus*, *Oryctes rhinoceros*, storage, viability.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Kapang Entomopatogen.....	5
2.2 <i>Metarhizium majus</i> (Johnst.) Bisch., Rehner dan Humber.....	8
2.3 <i>Oryctes rhinoceros</i> Linn. ....	12
2.4 Aplikasi Kontak Langsung.....	14
2.5 Formula Kapang.....	15
2.6 Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Formula Terhadap Viabilitas Konidia/Hifa.....	16
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan.....	18
3.2.2.1 Mikroorganisme.....	18
3.2.2.2 Larva.....	18
3.2.2.3 Pakan Larva.....	18
3.2.2.4 Media Pembawa.....	18
3.2.2.5 Medium.....	18
3.2.2.6 Bahan Kimia.....	19
3.2.2.7 Bahan Habis Pakai.....	19
3.3 Cara Kerja.....	19
3.3.1 Pembuatan Medium <i>Saboraud Dextrose Yeast Extract Agar</i> (SDYA) dan <i>Saboraud Dextrose Yeast Extract Broth</i> (SDYB).....	19
3.3.2 Pemurnian <i>M. majus</i> UICC 295.....	20
3.3.3 Pemeliharaan <i>M. majus</i> UICC 295.....	20
3.3.4 Pengamatan Morfologi <i>M. majus</i> UICC 295.....	21
3.3.5 Enumerasi Konidia/Hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	21
3.3.6 Persiapan Larva <i>O. rhinoceros</i> Untuk Pengujian.....	22
3.3.7 Pembuatan <i>Stock</i> Larutan triton X-100 0,05 % Steril.....	22
3.3.8 Pengujian Suspensi Konidia/Hifa <i>M. majus</i> UICC 295 Terhadap Larva <i>O. rhinoceros</i> .....	23

3.3.9	Fermentasi <i>M. majus</i> UICC 295 pada Medium Cair.....	24
3.3.10	Pembuatan Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	25
3.3.10.1	Pembuatan Oven Sederhana dan Loyang.....	25
3.3.10.2	Persiapan Media Pembawa.....	25
3.3.10.3	Inokulasi Biomassa <i>M. majus</i> UICC 295 ke dalam Media Pembawa (Jagung).....	25
3.3.10.4	Pengeringan dan Penghalusan Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	26
3.3.10.5	Enumerasi Konidia/Hifa pada Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	26
3.3.10.6	Pengujian Formula <i>M. majus</i> UICC 295 Terhadap Larva <i>O. rhinoceros</i> dengan Metode Kontak Langsung.....	27
3.3.11	Penyimpanan Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	28
3.3.12	Pengolahan dan Analisis Data.....	29
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1	Pengamatan Morfologi <i>M. majus</i> UICC 295.....	30
4.2	Persiapan Larva <i>O. rhinoceros</i> Untuk Pengujian.....	32
4.3	Pengujian Suspensi Konidia/Hifa <i>M. majus</i> UICC 295 Terhadap Larva <i>O. rhinoceros</i> dengan Metode Kontak Langsung....	33
4.4	Pembuatan Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	41
4.5	Pengujian Formula <i>M. majus</i> UICC 295 Terhadap Larva <i>O. rhinoceros</i> .....	44
4.6	Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Viabilitas Konidia/hifa pada Formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	51
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>54</b>
	<b>DAFTAR REFERENSI.....</b>	<b>56</b>
	<b>TABEL.....</b>	<b>61</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>72</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1(1).	Kapang entomopatogen.....	6
Gambar 2.1(2).	Germinasi konidia membentuk <i>germ tube</i> dan apresoria pada permukaan tubuh serangga.....	7
Gambar 2.2(1).	Koloni <i>M. majus</i> UICC 295 berumur 22 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap.....	10
Gambar 2.2(2).	Larva <i>O. rhinoceros</i> yang mati terinfeksi <i>M. majus</i> UICC 295.....	11
Gambar 2.3(1).	Morfologi <i>O. rhinoceros</i> .....	12
Gambar 2.3(2).	Gejala serangan kumbang badak pada daun kelapa di lingkungan Universitas Indonesia pada tanggal 2 Maret 2011.....	13
Gambar 4.1(1).	Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik <i>M. majus</i> UICC 295 berumur 19 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap.....	30
Gambar 4.1(2).	Hasil pengamatan morfologi secara mikroskopik <i>M. majus</i> UICC 295 berumur 19 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap.....	31
Gambar 4.2.	Larva <i>O. rhinoceros</i> yang digunakan dalam pengujian...	32
Gambar 4.3(1).	Grafik jumlah larva <i>O. rhinoceros</i> mati selama 18 hari pengamatan pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	35
Gambar 4.3(2).	Grafik berat larva <i>O. rhinoceros</i> yang masih hidup Setelah pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	37
Gambar 4.3(3).	Grafik Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	37
Gambar 4.3(4).	Keadaan larva kelompok kontrol pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	38
Gambar 4.3(5).	Pertumbuhan kapang pada larva mati setelah pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	39
Gambar 4.3(6).	Bercak cokelat pada tubuh larva kelompok perlakuan setelah aplikasi suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	40
Gambar 4.4(1).	Inkubator sederhana.....	42
Gambar 4.4(2).	Formula <i>M. majus</i> UICC 295 dalam bentuk serbuk	

	setelah pengeringan selama 5 hari.....	43
Gambar 4.4(3).	Grafik jumlah CFU/g pada formula sebelum pengeringan dan formula setelah pengeringan.....	43
Gambar 4.5(1).	Grafik jumlah larva mati selama 18 hari pengamatan pada pengujian formula.....	45
Gambar 4.5(2).	Grafik jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat pada pengujian formula.....	46
Gambar 4.5(3).	Grafik berat larva <i>O. rhinoceros</i> rata-rata yang masih hidup pada pengujian formula.....	46
Gambar 4.5(4).	Grafik perbandingan jumlah larva yang mengalami penurunan berat antara pengujian suspensi konidia/hifa dan pengujian formula.....	47
Gambar 4.5(5).	Pertumbuhan kapang pada larva mati setelah pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	48
Gambar 4.5(6).	Grafik perbandingan persentase jumlah larva mati per hari pada pengujian suspensi konidia/hifa dan pengujian formula.....	49
Gambar 4.6.	Grafik perbandingan viabilitas konidia/hifa kapang pada formula sebelum penyimpanan, formula yang disimpan pada suhu 25--27° C selama 30 hari, dan formula yang disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari.....	53

## DAFTAR TABEL

Tabel 1	Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik <i>M. majus</i> UICC 295 berumur 19 hari pada medium SDYA dengan suhu 22--24° C dalam kondisi gelap.....	61
Tabel 2	Hasil pengukuran konidia dan hifa <i>M. majus</i> UICC 295 dengan mikroskop trinokular pada perbesaran 400x.....	61
Tabel 3	Pengelompokkan larva pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	62
Tabel 4	Pengelompokkan larva pada pengujian suspensi formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	62
Tabel 5	Hasil enumerasi suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295 berumur 15 hari.....	63
Tabel 6	Jumlah larva <i>O. rhinoceros</i> yang mati, kelembaban relatif, dan suhu ruangan selama 18 hari pengamatan pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295.....	63
Tabel 7	Persentase kematian larva terkoreksi pada pengujian suspensi konidia/hifa (g) <i>M. majus</i> UICC 295.....	64
Tabel 8	Berat larva <i>O. rhinoceros</i> yang masih hidup setelah pengujian suspensi konidia/hifa (g) <i>M. majus</i> UICC 295.....	65
Tabel 9	Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat dan besarnya penurunan berat rata-rata pada pengujian suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295...	66
Tabel 10	Hasil enumerasi suspensi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295 yang digunakan untuk produksi biomassa.....	67
Tabel 11	Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula <i>M. majus</i> UICC 295 sebelum pengeringan.....	67
Tabel 12	Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula <i>M. majus</i> UICC 295 setelah pengeringan selama 5 hari.....	67
Tabel 13	Jumlah larva <i>O. rhinoceros</i> yang mati, kelembaban relatif, dan suhu ruangan selama 18 hari pengamatan pada pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	68
Tabel 14	Persentase kematian larva terkoreksi pada pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	68
Tabel 15	Berat larva <i>O. rhinoceros</i> yang masih hidup setelah pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295 (g).....	69
Tabel 16	Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat dan besarnya penurunan berat rata-rata pada pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	70
Tabel 17	Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula <i>M. majus</i> UICC	

	295 yang disimpan selama satu bulan pada suhu 25--27° C...	71
Tabel 18	Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula <i>M. majus</i> UICC 295 yang disimpan selama satu bulan pada suhu 4° C.....	71
Tabel 19	Data jumlah CFU/g dan viabilitas konidia (%) pada formula sebelum penyimpanan, formula yang disimpan pada suhu 25--27° C, dan formula yang disimpan pada suhu 4° C.....	71



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema kerja penelitian.....	72
Lampiran 2	Skema pembuatan <i>stock</i> dan <i>working culture</i> <i>M. majus</i> UICC 295.....	73
Lampiran 3	Skema pengamatan morfologi <i>M. majus</i> UICC 295 secara makroskopik dan mikroskopik.....	74
Lampiran 4	Skema enumerasi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295 menggunakan metode TPC.....	75
Lampiran 5	Skema pengujian konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295 terhadap larva <i>O. rhinoceros</i> melalui metode kontak langsung.....	76
Lampiran 6	Skema pembuatan formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	77
Lampiran 7	Skema enumerasi konidia/hifa <i>M. majus</i> UICC 295 menggunakan metode TPC.....	78
Lampiran 8	Skema pengujian formula <i>M. majus</i> UICC 295.....	79



## BAB 1 PENDAHULUAN

Industri pengolahan berbahan baku kelapa di Indonesia saat ini berkembang pesat seiring dengan berkembangnya pengetahuan masyarakat mengenai manfaat kelapa di bidang kesehatan, energi, dan lingkungan. Sekitar 97% areal kelapa merupakan perkebunan rakyat yang tersebar di seluruh Indonesia. Namun demikian, produktivitas kelapa di Indonesia masih rendah. Salah satu penyebab rendahnya produktivitas kelapa adalah serangan hama dan penyakit, yang menyebabkan produktivitas kelapa di Indonesia rata-rata hanya 1 ton kopra/ha/tahun (Alloerung *dkk.* 2008: 298, 301 dan 302).

Salah satu serangga hama yang banyak menimbulkan kerugian pada tanaman kelapa adalah *Oryctes rhinoceros* Linnaeus atau kumbang badak (Hochberg dan Waage 1991: 514). Kumbang tersebut menyerang bagian daun muda yang belum terbuka dan merusak jaringan aktif untuk pertumbuhan tanaman kelapa. Serangan tersebut menyebabkan berkurangnya jumlah daun yang berguna untuk fotosintesis dan berakibat pada penurunan produksi buah. Departemen Pertanian (1993: 1) melaporkan bahwa tanaman kelapa yang mengalami kerusakan daun 10--70% dapat mengakibatkan produksi buah kelapa menurun hingga 3--30%.

Pengendalian serangga hama menggunakan insektisida kimia dianggap merugikan karena dapat menimbulkan berbagai masalah, seperti tercemarnya tanah dan air, timbulnya resistensi serangga terhadap insektisida kimia, timbulnya hama sekunder yang lebih berbahaya, dan keracunan pada manusia yang melakukan kontak langsung dengan insektisida kimia (Soetopo dan Indrayani 2007: 29). Dampak negatif tersebut menjadi pemicu untuk menciptakan alternatif dalam upaya pengendalian serangga hama yang lebih aman dan ramah lingkungan. Salah satu alternatif pengendalian serangga hama yang potensial dan ramah lingkungan adalah penggunaan agen hayati, yaitu berupa musuh alami dari serangga (Pracaya 2007: 195--196). Salah satu agen hayati yang dapat dimanfaatkan dalam pengendalian serangga hama adalah kapang entomopatogen (Desyanti *dkk.* 2007: 68).

Kapang entomopatogen merupakan kapang yang dapat menimbulkan infeksi dan kematian pada serangga. Arruda *dkk.* (2005: 235--239) dan Prayogo *dkk.* (2005: 21) melaporkan bahwa kematian serangga terjadi karena pertumbuhan hifa kapang yang menghasilkan enzim-enzim untuk menghancurkan jaringan tubuh serangga dan toksin yang dihasilkan kapang. Berdasarkan Sambiran dan Hosang (2007: 2), penggunaan kapang entomopatogen dalam pengendalian hama memiliki prospek yang baik karena kapang entomopatogen memiliki spesifisitas patogen yang tinggi terhadap serangga sasaran, ramah lingkungan, dan tidak mengakibatkan resistensi serangga.

*Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch., Rehner dan Humber adalah kapang entomopatogen yang sebelumnya merupakan varian *majus* atau *major* dari spesies *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Bischoff *dkk.* 2009: 512 dan 520). *Metarhizium anisopliae* var. *majus* hanya mampu menginfeksi serangga dari ordo *Coleoptera* (Driver *dkk.* 2000: 136). Salah satu serangga hama yang dilaporkan mampu terinfeksi oleh *M. anisopliae* var. *majus* adalah *Oryctes rhinoceros* atau kumbang badak (Hashim dan Ibrahim 2003: 104--106). Putra (2009: 68) melaporkan bahwa suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 sebanyak  $10^5$  CFU/ml mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 12 hari setelah aplikasi kontak langsung. Fernando *dkk.* (1995: 48) melaporkan bahwa suspensi konidia/hifa *M. anisopliae* isolat 137-82 sebanyak  $10^7$  CFU/ml mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 13 hari setelah aplikasi kontak langsung.

Namun demikian, pemanfaatan kapang entomopatogen dalam pengendalian serangga hama di lapangan masih sangat terbatas. Salah satu keterbatasan disebabkan kesulitan dalam persiapan inokulum untuk aplikasi (Sulistiyowati *dkk.* 2002: 122). Kesulitan tersebut dapat diatasi dengan menciptakan formula kapang yang siap pakai, mudah dibawa dan diaplikasikan di lapangan, dan dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu (Suwahyono 2010: 69).

Formula kapang mengandung konidia/hifa kapang dan ditambahkan media pembawa (*carrier*). Media pembawa berfungsi sebagai makanan cadangan bagi konidia sebelum berhasil menginfeksi serangga (Prayogo 2006: 51). Media

pembawa yang dapat digunakan untuk pembuatan formula kapang antara lain beras, gandum, kedelai, jagung, padi-padian, kentang, dan kacang-kacangan (Soetopo dan Indrayani 2007: 35).

Jagung dapat digunakan sebagai media pembawa dalam formula karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh kapang entomopatogen, seperti karbohidrat dan protein. Kapang entomopatogen membutuhkan substrat dengan kandungan gula dan protein yang tinggi untuk mempertahankan viabilitas konidia dan kemampuan membunuh inang (Prayogo *dkk.* 2005: 22).

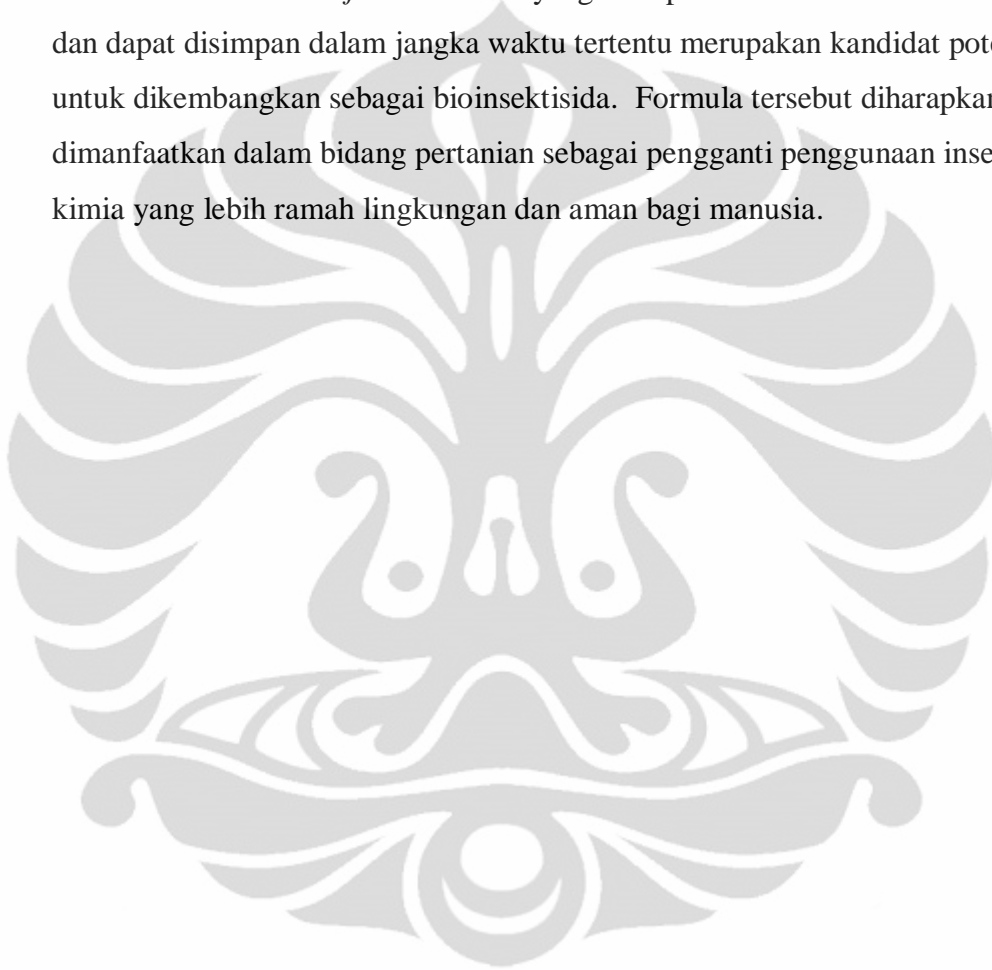
Viabilitas konidia/hifa kapang dalam suatu formula dapat dipengaruhi oleh suhu dan waktu penyimpanan. Formula enkapsulasi kapang *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. yang menggunakan media pembawa berupa amilum jagung dan disimpan dalam suhu ruang selama 21 hari mengalami penurunan jumlah konidia *viable* setiap minggunya (Wahyudi 2008: 54).

Aplikasi menggunakan suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 dengan metode kontak langsung telah terbukti mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 12 hari (Putra 2009: 68). Namun demikian, penelitian mengenai pembuatan formula *M. majus* UICC 295 menggunakan media pembawa substrat jagung belum dilakukan. Selanjutnya, kemampuan formula *M. majus* UICC 295 dalam membunuh larva *O. rhinoceros* belum diketahui. Belum diketahui pula pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas konidia/hifa kapang di dalam formula. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pembuatan formula *M. majus* UICC 295 menggunakan media pembawa substrat jagung. Selanjutnya, formula perlu diujikan terhadap larva *O. rhinoceros*. Perlu dilakukan pula penyimpanan formula pada dua suhu yang berbeda selama 30 hari, selanjutnya dilakukan enumerasi untuk mengetahui jumlah konidia/hifa *viable* pada formula yang telah disimpan tersebut.

Tujuan penelitian adalah membuat formula *M. majus* UICC 295 menggunakan media pembawa substrat jagung, kemudian mengetahui kemampuan formula tersebut dalam membunuh larva *O. rhinoceros*. Tujuan penelitian selanjutnya mengetahui pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas konidia/hifa kapang pada formula.

Hipotesis penelitian adalah formula *M. majus* UICC 295 dapat dibuat menggunakan media pembawa substrat jagung. Formula *M. majus* UICC 295 mampu membunuh larva *O. rhinoceros*. Penyimpanan formula *M. majus* UICC 295 selama 30 hari pada dua suhu yang berbeda mempengaruhi viabilitas konidia/hifa kapang.

Formula *M. majus* UICC 295 yang mampu membunuh larva *O. rhinoceros* dan dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu merupakan kandidat potensial untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida. Formula tersebut diharapkan dapat dimanfaatkan dalam bidang pertanian sebagai pengganti penggunaan insektisida kimia yang lebih ramah lingkungan dan aman bagi manusia.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

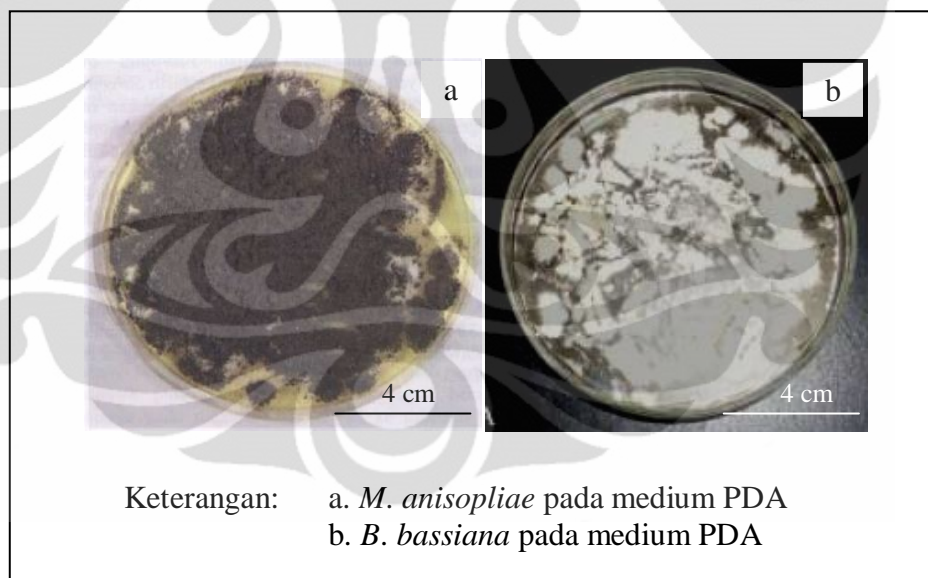
#### 2.1. Kapang Entomopatogen

Fungi merupakan organisme eukariotik, tidak berfotosintesis, kemoheterotrof, dan memperoleh nutrisi secara absorpsi (Hanson 2008: 1). Fungi mengabsorpsi nutrisi dengan mensekresikan enzim hidrolitik ke suatu substrat, kemudian enzim tersebut akan mengurai molekul kompleks menjadi molekul sederhana yang dapat diserap oleh fungi (Campbell *dkk.* 2008: 636). Untuk memperoleh nutrisi, fungi dapat hidup sebagai saprofit, patogen, parasit, atau simbiosis (Deacon 2006: 6). Fungi hidup sebagai saprofit pada material organik yang telah mati (Deacon 2006: 6). Adapula fungi yang hidup sebagai patogen dengan menyebabkan penyakit terhadap organisme lain (Campbell *dkk.* 2008: 650). Fungi hidup sebagai parasit dengan mengambil nutrisi dari organisme lain yang masih hidup (Sumbali dan Mehrotra 2009: 421). Sebagian fungi hidup sebagai simbiosis melalui interaksi yang saling menguntungkan dengan organisme lain seperti tanaman, alga, cyanobacteria, dan hewan (Campbell *dkk.* 2008: 648).

Struktur fungi dapat berupa sel tunggal (uniselular) atau filamen (Gandjar *dkk.* 1999: 2). Berdasarkan ciri morfologi, fungi dikelompokkan menjadi kapang (*moulds*), khamir (*yeast*), dan cendawan (*mushroom*) (Sjamsuridzal 2006: 72). Kapang merupakan fungi berfilamen. Filamen tunggal pada kapang disebut hifa, dan kumpulan dari hifa disebut miselium (Madigan *dkk.* 2000: 730--731). Kapang dapat menghasilkan spora aseksual dan spora seksual. Spora aseksual pada kapang disebut konidia. Spora seksual pada kapang terdiri atas berbagai tipe. Tipe spora seksual yang dihasilkan tergantung dari jenis fungi. Askospora dihasilkan oleh filum *Ascomycota*, basidiospora dihasilkan oleh filum *Basidiomycota*, dan zigospora dihasilkan oleh filum *Zygomycota* (Sumbali dan Mehrotra 2009: 430--437). Spora aseksual dan seksual kapang berfungsi untuk penyebaran kapang ke habitat yang baru, namun spora seksual digunakan untuk reproduksi pada saat kondisi lingkungan tidak menguntungkan karena spora

seksual umumnya resisten terhadap pengeringan, pemanasan, pendinginan, dan beberapa bahan kimia (Madigan *dkk.* 2000: 730--731).

Kapang entomopatogen merupakan kapang yang dapat menimbulkan infeksi dan kematian pada serangga (Shah dan Pell 2003: 413). Beberapa contoh kapang entomopatogen antara lain *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, dan *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown dan Smith (Gambar 2.1(1)). Hashim dan Ibrahim (2003: 104) melaporkan bahwa jumlah konidia *Metarhizium anisopliae* var. *majus* sebanyak  $10^7$  CFU/ml mampu membunuh larva *Crocidolomia binotalis* Zeller 100% dalam waktu 12 hari setelah aplikasi. Penelitian lain mengenai kapang entomopatogen dilakukan oleh Gindin *dkk.* (2009: 551), dan melaporkan bahwa jumlah konidia *Beauveria bassiana* sebanyak  $10^5$  CFU/ml mampu membunuh larva *Alphitobius diaperinus* Panzer 75% dalam waktu 7 hari setelah aplikasi.



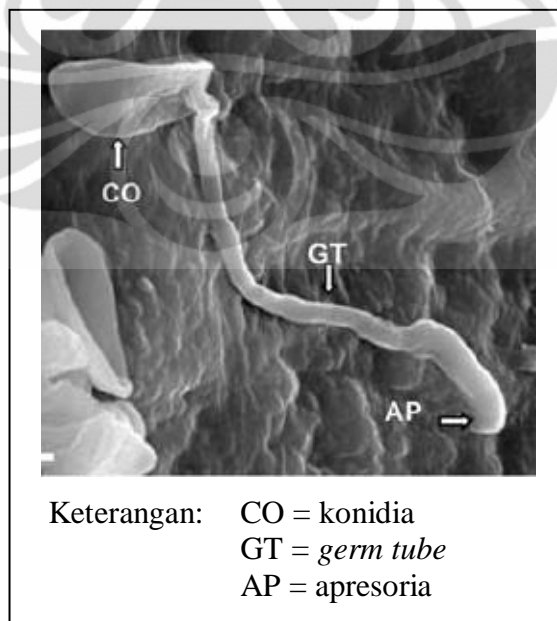
Gambar 2.1(1). Kapang entomopatogen

[Sumber: Ahmad 2004: 75 (a), Ahmad 2008: 86 (b)]

Prayogo *dkk.* (2005: 21) melaporkan bahwa kapang entomopatogen menginfeksi serangga dengan melakukan penetrasi menembus kutikula serangga. Mekanisme infeksi kapang entomopatogen pada serangga terjadi melalui beberapa tahap, yaitu kontak antara konidia dengan kutikula serangga, penempelan dan germinasi konidia kapang pada permukaan tubuh serangga, penetrasi hifa ke

dalam integumen serangga, dan penyebaran sel kapang ke dalam hemolimfa serangga untuk menyerang jaringan serangga. Kapang berpenetrasi menembus kutikula serangga dengan mengeluarkan enzim-enzim hidrolisis, yaitu kitinase, lipase, amilase, proteinase, pospatase, dan esterase.

Penempelan konidia kapang pada permukaan tubuh serangga terjadi dalam waktu 24 jam setelah kapang diaplikasikan pada tubuh serangga. Konidia selanjutnya membentuk *germ tube* dan apresoria pada 48 jam setelah aplikasi (Gambar 2.1(2)). Apresoria kemudian berpenetrasi ke dalam integumen serangga dengan mengeluarkan enzim-enzim hidrolisis untuk melisiskan kutikula serangga dan memberikan tekanan secara mekanik untuk menembus kutikula serangga (Arruda *dkk.* 2005: 235--240). Di dalam tubuh serangga, kapang membentuk propagul yang menyerupai sel khamir (*yeast like-propagule*). Propagul merupakan sel kapang yang terbentuk dari hasil pembelahan hifa. Propagul selanjutnya akan menyebar ke seluruh tubuh serangga melalui sistem sirkulasi untuk menyerang jaringan tubuh serangga (Samson *dkk.* 1988: 137). Setelah seluruh jaringan tubuh serangga mengalami kematian, kapang akan membentuk hifa kembali, kemudian hifa kapang akan tumbuh ke luar tubuh serangga (Federici dan Maddox 1996: 417).



Gambar 2.1(2). Germinasi konidia membentuk *germ tube* dan apresoria pada permukaan tubuh serangga

[Sumber: Arruda *dkk.* 2005: 237]

Berdasarkan Samson *dkk.* (1988: 137--138), kapang memiliki beberapa mekanisme untuk menghindari sistem pertahanan tubuh serangga, antara lain pembentukan protoplas, multiplikasi propagul, dan produksi toksin yang mampu menghambat pertumbuhan kapang. Protoplas merupakan sel kapang yang tidak memiliki dinding sel, sehingga tidak mengandung  $\beta$ -1,3-glukan yang dapat dikenali oleh hemosit serangga. Multiplikasi propagul merupakan mekanisme perbanyakan propagul-propagul kapang melalui pembelahan sel hifa. Propagul-propagul tersebut selanjutnya menyebar ke seluruh tubuh serangga melalui sistem sirkulasi sehingga sulit untuk ditanggulangi oleh hemosit serangga yang jumlahnya terbatas. Beberapa kapang entomopatogen dapat menghasilkan toksin seperti destruksin yang dihasilkan oleh *M. anisopliae*. Berdasarkan Butt *dkk.* (2009: 1426), destruksin merupakan metabolit sekunder yang memiliki struktur peptida siklik. Samson *dkk.* (1988: 137--138) melaporkan bahwa destruksin mampu menghambat aktivasi pro-fenol oksidase menjadi enzim fenol oksidase yang berperan dalam pembentukan melanin pada sistem pertahanan tubuh serangga.

## 2.2. *Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch., Rehner dan Humber

*Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch., Rehner dan Humber adalah kapang entomopatogen yang sebelumnya merupakan varian *majus* atau *major* dari spesies *Metarhizium anisopliae* (Bischoff *dkk.* 2009: 512). *Metarhizium anisopliae* var. *majus* merupakan bentuk aseksual (anamorfik). Bentuk seksual (teleomorfik) dari *M. anisopliae* var. *majus* diketahui sebagai *Cordyceps brittlebankisoides* Liu, Liang, Whalley, Yao, dan Liu (Liu *dkk.* 2001: 180).

*Metarhizium majus* kemudian ditetapkan sebagai spesies dan dipisahkan dari *M. anisopliae* berdasarkan hasil analisis secara morfologi dan filogenetik. Analisis secara morfologi menunjukkan bahwa *M. majus* memiliki konidia dengan ukuran yang lebih besar dibandingkan konidia *M. anisopliae*. Ukuran konidia *M. majus* adalah (8,5--14,5) x (2,5--5,0)  $\mu\text{m}$ , sedangkan konidia *M. anisopliae* berukuran (5,0--7,0) x (2,0--3,5)  $\mu\text{m}$ . Analisis secara filogenetik berdasarkan data



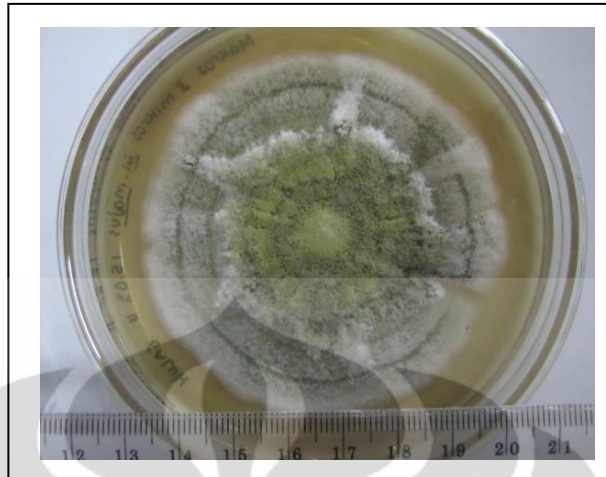
sekuens 5' dari gen EF-1 $\alpha$  (5' EF-1 $\alpha$ ) menunjukkan bahwa *M. majus* dan *M. anisopliae* terletak pada *clade* yang berbeda (Bischoff *dkk.* 2009: 512--530).

*Metarhizium anisopliae* var. *majus* memiliki spektrum inang yang lebih sempit dibandingkan *M. anisopliae* var. *anisopliae*. *Metarhizium anisopliae* var. *majus* diketahui hanya mampu menginfeksi serangga dari bangsa *Coleoptera* (Driver *dkk.* 2000: 136), sedangkan *M. anisopliae* var. *anisopliae* diketahui mampu menginfeksi serangga dari bangsa *Coleoptera*, *Lepidoptera*, *Homoptera*, *Hemiptera*, dan *Isoptera* (Prayogo 2006: 48). Serangga hama yang dilaporkan mampu terinfeksi oleh *M. anisopliae* var. *majus* adalah *Oryctes rhinoceros* (Hashim dan Ibrahim 2003: 104--106).

Taksonomi *M. majus* berdasarkan Bischoff *dkk.* (2009: 512) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Eumycota</i>
Filum	: <i>Ascomycota</i>
Subfilum	: <i>Ascomycotina</i>
Kelas	: <i>Sordariomycetes</i>
Bangsa	: <i>Hypocreales</i>
Suku	: <i>Clavicipitaceae</i>
Marga	: <i>Metarhizium</i>
Jenis	: <i>Metarhizium majus</i> (Johnst.) Bisch., Rehner dan Humber

Berdasarkan Putra (2009: 62), *M. majus* UICC 295 berumur 22 hari pada medium *Saboraud Dextrose Yeast extract Agar* (SDYA) dengan suhu inkubasi 25--27° C dalam kondisi gelap memiliki massa konidia berwarna *hijau olive*. Koloni kapang memiliki zona pertumbuhan dan tetes eksudat yang berwarna kuning, namun tidak memiliki zonasi dan jari-jari koloni (Gambar 2.2(1)). Berdasarkan Tzean *dkk.* (1997: 150), *M. anisopliae* var. *majus* memiliki konidia berbentuk silindris dengan ukuran (7,9--15,9) x (3,0--4,0)  $\mu\text{m}$ , hifa yang berseptum dan bercabang dengan ukuran lebar 1,8--4,0  $\mu\text{m}$ .



Gambar 2.2(1). Koloni *M. majus* UICC 295 berumur 22 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Proses infeksi *Metarhizium* pada serangga sasaran terjadi melalui beberapa tahap, yaitu proses penempelan pada inang, penetrasi hifa ke dalam integumen serangga dengan menghasilkan enzim hidrolisis, penghindaran terhadap sistem imun inang, dan produksi toksin (Bidochka dan Small 2005: 29). *Metarhizium* diketahui mampu membunuh larva *Oryctes rhinoceros*. Kematian pada larva disebabkan aktivitas enzim hidrolisis dan toksin yang dihasilkan oleh kapang. Enzim-enzim hidrolisis yang dimiliki oleh *Metarhizium* antara lain kitinase, endokitinase, lipase, dan peptidase. Enzim-enzim tersebut berperan dalam melakukan penetrasi untuk melisiskan kutikula serangga (Ahmad 2004: 76). Setelah kutikula serangga mengalami lisis, hifa kapang berpenetrasi ke dalam jaringan tubuh serangga, kemudian menyerap nutrisi dan air yang terdapat di dalam tubuh larva, sehingga menyebabkan larva mati dalam keadaan tubuh yang mengeras (Ahmad 2008: 87). Berdasarkan Departemen Pertanian (1993: 10), larva *O. rhinoceros* yang mati disebabkan *Metarhizium* akan ditumbuhi massa konidia berwarna hijau (Gambar 2.2(2)).



Gambar 2.2(2). Larva *O. rhinoceros* yang mati terinfeksi *M. majus* UICC 295

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

*Metarhizium* dapat membunuh serangga karena menghasilkan destruksin, yaitu metabolit sekunder yang berupa toksin. Destruksin dihasilkan setelah hifa berpenetrasi ke dalam *hemocoel* serangga. Destruksin menyebabkan peningkatan konsentrasi ion  $Ca^{2+}$  pada miofibril serangga sehingga menyebabkan otot serangga berkontraksi terus menerus (Samuels 1998: 230 dan 234). Berdasarkan Samson *dkk.* (1988: 137--138), destruksin mampu menghambat aktivasi pro-fenol oksidase menjadi enzim fenol oksidase yang berperan dalam pembentukan melanin pada sistem pertahanan tubuh serangga.

Proses infeksi dan germinasi konidia kapang entomopatogen sangat ditentukan oleh suhu dan kelembaban (Soetopo dan Indrayani 2007: 32--33). Berdasarkan Prayogo *dkk.* (2005: 23), suhu dan kelembaban yang sesuai bagi kapang entomopatogen akan meningkatkan germinasi konidia. Putra (2009: 62) melaporkan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan *M. majus* UICC 295 berkisar 22--27° C dengan kelembaban di atas 90%.

*Metarhizium* dilaporkan aman bagi manusia. Berdasarkan Howard (2002: 659), suhu optimum untuk pertumbuhan *Metarhizium* berkisar 25--28° C dengan batas suhu maksimum adalah 37° C, sehingga kapang tersebut tidak dapat tumbuh di dalam tubuh manusia.

### 2.3. *Oryctes rhinoceros* Linn.

*Oryctes rhinoceros* atau kumbang badak (Gambar 2.3(1)) merupakan salah satu hama yang umumnya menyerang tanaman kelapa (*Cocos nucifera* Linn.) dan kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.), tetapi hama tersebut juga dilaporkan menyerang tanaman lain dari suku Arecaceae (palem-paleman) (American Samoa Community College 2005: 1). Okaraonye dan Ikewuchi (2009: 35) melaporkan bahwa *O. rhinoceros* menyerang tanaman kelapa sawit dan tanaman palem raffia (*Raphia africana* Otedoh) di Nigeria.



Gambar 2.3(1). Morfologi *O. rhinoceros*

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Kumbang badak dewasa merusak tanaman kelapa dengan cara mengebor tanaman kelapa sampai ke titik tumbuh tanaman kelapa dan merusak jaringan pertumbuhan. Saat kumbang badak mengebor tanaman kelapa, kumbang tersebut pada umumnya juga merusak daun muda yang belum terbuka. Pada saat daun terbuka, kerusakan akan terlihat berupa potongan seperti huruf V (Gambar 2.3(2)) (American Samoa Community College 2005: 1). Berdasarkan Alouw (2007:13), kumbang badak akan menghisap cairan yang keluar dari tanaman kelapa dan menimbulkan luka bekas gigitannya pada tanaman kelapa. Luka-luka bekas gigitan kumbang badak tersebut dapat mengundang infeksi kapang penyebab

penyakit bagi tanaman kelapa. Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan tanaman kelapa menjadi terhambat dan buah kelapa yang dihasilkan menjadi lebih kecil. Serangan kumbang badak yang berulang kali pada titik tumbuh tanaman kelapa dapat menyebabkan kematian tanaman kelapa. Sambiran dan Hosang (2007: 2) melaporkan bahwa pada tahun 2004, kerugian akibat serangan *O. rhinoceros* pada tanaman kelapa di Indonesia diperkirakan Rp. 11.146.198.961.940.



Gambar 2.3(2). Gejala serangan kumbang badak pada daun kelapa di lingkungan Universitas Indonesia pada tanggal 2 Maret 2011

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Taksonomi *O. rhinoceros* berdasarkan Nayar *dkk.* (1976: 328--338) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*  
 Filum : *Arthropoda*  
 Kelas : *Insecta*  
 Bangsa : *Coleoptera*  
 Subbangsa : *Polyphaga*  
 Supersuku : *Scarabaeoidea*

Suku : *Dynastidae*  
 Marga : *Oryctes*  
 Jenis : *Oryctes rhinoceros* Linnaeus

Pengendalian hama *Oryctes rhinoceros* dapat dilakukan secara mekanis, kimiawi, dan biologis. Pengendalian secara mekanis dilakukan dengan membunuh langsung kumbang badak dewasa beserta larvanya yang ditemukan di lapangan. Pengendalian secara kimiawi dilakukan menggunakan insektisida kimia. Insektisida diberi pada ketiak daun dan pucuk tanaman kelapa. Contoh insektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama *O. rhinoceros* antara lain Diazinon 10 G, Sevin 85 S, dan Agrothion 50. Pengendalian secara biologis dilakukan menggunakan agen hayati, yaitu musuh alami *O. rhinoceros*, baik berupa predator maupun parasit. Beberapa hewan seperti tupai, tikus, burung, dan kadal merupakan predator yang memakan larva *O. rhinoceros* dan kumbang badak dewasa (Pracaya 2007: 195--197).

Pengendalian hama *O. rhinoceros* menggunakan agen hayati mempunyai prospek yang baik karena agen hayati bersifat patogen hanya terhadap hama sasaran dan ramah lingkungan (Sambiran dan Hosang 2007: 2). Mikroorganisme dapat dimanfaatkan sebagai agen hayati dalam pengendalian hama *O. rhinoceros*. Salah satu mikroorganisme entomopatogen yang dapat menekan populasi hama *O. rhinoceros* adalah kapang *Metarhizium anisopliae* var. *majus* (Hochberg dan Waage 1991: 526). Abdullah (2009: 51) melaporkan penggunaan *M. majus* dalam membunuh larva *O. rhinoceros*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa biomassa *M. majus* UICC 295 yang dicampur ke dalam pakan larva mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 14 hari setelah aplikasi pakan.

#### **2.4. Aplikasi Kontak Langsung**

Aplikasi kontak langsung dilakukan untuk mengetahui kemampuan kapang dalam membunuh serangga. Aplikasi kontak langsung dilakukan dengan memaparkan suspensi konidia/hifa kapang pada permukaan tubuh serangga sasaran (Shimazu 2004: 489). Aplikasi kontak langsung memungkinkan konidia langsung mengenai permukaan tubuh serangga dalam jumlah banyak, konidia

dapat melekat dengan cepat, bergerminasi, dan hifa berpenetrasi menembus kutikula serangga, sehingga menyebabkan kematian serangga (Desyanti *dkk.* 2007: 74).

Tingkat kematian serangga sangat ditentukan oleh jumlah konidia kapang yang diinokulasikan pada tubuh serangga. Semakin tinggi jumlah konidia yang diinokulasikan pada serangga sasaran, maka tingkat kematian serangga akan semakin tinggi (Prayogo *dkk.* 2005: 22). Shimazu (2004: 488) melaporkan bahwa dalam kurun waktu 30 hari setelah aplikasi, jumlah konidia  $10^4$ ,  $10^5$ , dan  $10^6$  CFU/ml *Beauveria bassiana* mampu membunuh *Monochamus alternatus* Hope dewasa secara berturut-turut 36%, 53%, 100%.

## 2.5. Formula Kapang

Formula kapang terdiri atas konidia kapang dan substrat padat sebagai media pembawa. Formula kapang dapat dibuat dalam berbagai bentuk, antara lain bentuk pasta, bubuk (Suwahyono 2010: 69--71), dan pelet (Soetopo dan Indrayani 2007: 36). Proses pembuatan formula kapang diawali dengan proses penumbuhan biakan kapang dalam medium cair untuk memperoleh biomassa kapang. Selanjutnya biomassa kapang diinokulasikan ke dalam media pembawa substrat padat, dan proses terakhir adalah pengeringan (Suwahyono 2010: 68--70).

Pembuatan formula kapang dapat dilakukan dengan menambahkan media pembawa. Media pembawa berfungsi sebagai makanan cadangan bagi konidia sebelum berhasil membunuh serangga. Konidia kapang yang belum berhasil mencapai tubuh serangga saat awal aplikasi, masih dapat bertahan dengan adanya makanan cadangan tersebut (Prayogo 2006: 51).

Media pembawa yang dapat digunakan dalam formula kapang umumnya berasal dari biji-bijian, antara lain beras, gandum, jagung, dan sorgum (Suwahyono 2010: 72). Ihsan dan Octriana (2009: 62) melaporkan bahwa pengujian formula *Beauveria bassiana* yang menggunakan media pembawa substrat jagung mampu membunuh lalat buah pada stadium pupa hingga 17,09% dalam waktu 12 hari setelah aplikasi.

Jagung (*Zea mays* Linn.) sebagai salah satu media pembawa dalam formula kapang mengandung karbohidrat 60--65%, protein 8,3--8,5%, lemak 4,4--4,5%, dan air 12--14% di dalam 100 gram buah jagung (Wijaya *dkk.* 2007: 199). Jagung dapat digunakan sebagai media pembawa dalam formula kapang karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh kapang entomopatogen seperti karbohidrat dan protein. Berdasarkan Prayogo *dkk.* (2005: 22), kapang entomopatogen membutuhkan substrat dengan kandungan gula dan protein yang tinggi. Substrat dengan kadar gula yang tinggi akan meningkatkan kemampuan kapang dalam membunuh serangga (Prayogo *dkk.* 2005: 22). Substrat dengan kadar protein yang tinggi dapat meningkatkan kemampuan konidia kapang untuk bergerminasi sehingga viabilitas kapang turut meningkat (Herlinda *dkk.* 2006: 76).

Kualitas suatu formula kapang dapat ditentukan oleh beberapa kriteria. Berdasarkan Suwahyono (2010: 69), kriteria formula kapang yang baik antara lain mengandung konidia hidup minimal  $10^5$  CFU/g, dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu, dan mudah diaplikasikan.

## **2.6. Pengaruh Suhu Dan Waktu Penyimpanan Formula Terhadap Viabilitas Konidia/Hifa**

Viabilitas konidia/hifa menunjukkan kemampuan konidia/hifa untuk hidup dan bergerminasi. Salah satu sifat dari formula kapang yang baik yaitu dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu (Suwahyono 2010: 69). Penyimpanan formula perlu dikombinasikan dengan suhu penyimpanan yang ideal untuk mempertahankan viabilitas konidia/hifa (Soetopo dan Indrayani 2007: 36). Wahyudi (2008: 54) melaporkan bahwa formula enkapsulasi *B. bassiana* yang menggunakan media pembawa berupa amilum jagung dan disimpan dalam suhu ruang selama 7, 14, dan 21 hari mengalami penurunan jumlah konidia/hifa setiap minggunya dari jumlah konidia/hifa awal  $1,66 \times 10^8$  CFU/g masing-masing menjadi  $3,31 \times 10^7$ ,  $1,91 \times 10^7$ ,  $6,13 \times 10^6$  CFU/g. Penurunan jumlah konidia/hifa tersebut kemungkinan disebabkan keterbatasan nutrisi yang terdapat dalam media pembawa.



## BAB 3

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan *Center of Excellence for Indigenous Biological Resources-Genome Studies (CoE IBR-GS)*, Departemen Biologi, FMIPA UI, Depok, pada bulan Januari hingga Mei 2011.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah lemari pendingin [GASSIO], kompor listrik [Sanyo], oven [Heraeus], inkubator sederhana, autoklaf [Hirayama], inkubator statis [Imperial III], *blender* [Miyako], pemanas air [SHARP], timbangan digital [AND EW-300 G, ACIS BC-500 dan ACIS MN-200], timbangan analitik [Sartorius], vorteks [Bio-Rad], mikropipet 1000  $\mu\text{l}$  dan 200  $\mu\text{l}$  [Gilson], *tips*, termohigrometer [Londisun LS-206], mikroskop [Euromex], mikroskop trinokular [Carl Zeiss], kamera digital [Canon], termometer ruang [GEA], *transfer box*, Erlenmeyer, gelas *beaker*, gelas ukur, cawan Petri steril, tabung reaksi, jarum tanam tajam, jarum tanam bulat (*ose*), *object glass*, *cover glass*, pinset, pipet, botol alkohol, spatel *Drygalski*, batang pengaduk, spatula, pembakar spirtus, mangkuk plastik dengan diameter 14,5 cm dan tinggi 6,5 cm dengan tutup, kardus berukuran 26,5 x 34 cm, seng, dan lampu bohlam 5 watt [Philips].

### 3.2.2. Bahan

#### 3.2.2.1. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Metarhizium majus* UICC 295 yang merupakan koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC).

#### 3.2.2.2. Larva

Larva yang digunakan adalah larva kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*) asal Desa Rajagaluh, Kecamatan Rajagaluh Lor, Kabupaten Majalengka, Jawa Barat.

#### 3.2.2.3. Pakan larva

Pakan larva berupa tanah kompos bercampur serasah asal Desa Rajagaluh, Kecamatan Rajagaluh Lor, Kabupaten Majalengka, Jawa Barat.

#### 3.2.2.4. Media Pembawa

Media pembawa yang digunakan adalah jagung [Kode 77] yang diperoleh dari supermarket dalam bentuk kemasan plastik berukuran 500 g.

#### 3.2.2.5. Medium

Medium yang digunakan adalah *Saboraud Dextrose Yeast extract Agar* (SDYA) dan *Saboraud Dextrose Yeast extract Broth* (SDYB). Medium SDYA digunakan sebagai medium pemurnian, pemeliharaan, penumbuhan, dan enumerasi kapang. Medium SDYB digunakan sebagai medium fermentasi kapang.

### 3.2.2.6. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain dekstrosa [Conda], *yeast extract* [BD], pepton [Merck], agar [Britania], triton X-100 [BDH], antibiotik tetrasiklin [Kimia Farma], kloramfenikol [Wako], alkohol 70% teknis, etanol 96% p.a. [Merck], aseton teknis, *lactophenol cotton blue*, spiritus teknis.

### 3.2.2.7. Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai antara lain masker wajah [Krisbow], sarung tangan plastik, plastik tahan panas [Bell], kertas saring teknis, plastik berklip berukuran 8,7 x 13 cm, tisu kering, dan kertas *Yellow Pages*.

## 3.3. Cara Kerja

Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 1.

### 3.3.1. Pembuatan Medium *Saboraud Dextrose Yeast extract Agar* (SDYA) dan *Saboraud Dextrose Yeast extract Broth* (SDYB)

Pembuatan medium SDYA untuk pemeliharaan dan penumbuhan kapang dilakukan berdasarkan Desyanti *dkk.* (2007: 70). Sebanyak 10 g dekstrosa, 2,5 g pepton, 2,5 g *yeast extract*, dan 20 g agar ditambahkan akuades hingga volume total mencapai 1000 ml. Medium selanjutnya dipanaskan hingga larut dan mendidih. Medium ditambahkan 200 mg kloramfenikol yang telah dilarutkan dalam 1 ml etanol 96 % p.a. Medium selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing berisi 4 ml medium. Pembuatan medium SDYB untuk fermentasi kapang sama seperti pembuatan medium SDYA, namun tanpa menggunakan agar. Medium SDYB dipindahkan ke dalam Erlenmeyer berukuran 250 ml, masing-masing sebanyak 45 ml. Medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium SDYA steril dalam tabung reaksi kemudian diletakkan pada papan yang dimiringkan dan

dibiarkan mengeras, sedangkan medium SDYB steril dalam Erlenmeyer diletakkan dalam posisi normal.

Pembuatan medium SDYA untuk pemurnian dan enumerasi konidia/hifa kapang dilakukan dengan menambahkan antibiotik tetrasiklin sebanyak 500 mg pada 1000 ml medium yang telah disterilkan. Penambahan antibiotik tetrasiklin dilakukan pada saat suhu medium berkisar 45--50 °C. Medium dikocok hingga homogen, kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan Petri sebanyak 20 ml, dan dibiarkan mengeras.

### 3.3.2. Pemurnian *M. majus* UICC 295

Pemurnian kapang dilakukan dengan metode *quadrant streak plate* berdasarkan Sumbali dan Mehrotra (2009: 108). Proses pemurnian kapang dilakukan dengan mengambil biakan kapang dengan jarum tanam tajam. Biakan kemudian digoreskan pada medium SDYA dalam cawan Petri pada empat bagian yang berbeda. Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 3--7 hari hingga bersporulasi. Koloni tunggal yang representatif dan terpisah dari koloni lainnya kemudian dipindahkan sebagai *stock culture* dan *working culture*.

### 3.3.3. Pemeliharaan *M. majus* UICC 295

Pemeliharaan kapang dilakukan berdasarkan Benson (2001: 152). Koloni kapang yang telah murni dipindahkan ke dalam dua tabung berisi medium SDYA miring sebagai *stock culture* dan *working culture*. Pembuatan *stock culture* dilakukan dengan metode gores. Koloni kapang dipindahkan menggunakan jarum tanam tajam. Biakan tersebut selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator dengan kondisi gelap pada suhu 22--24° C hingga bersporulasi. Biakan pada *stock culture* yang telah tumbuh dan bersporulasi kemudian disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4° C. *Stock culture* dapat disimpan hingga 6 bulan. *Stock culture* diremajakan kembali setelah penyimpanan selama 6 bulan.

Pembuatan *working culture* dilakukan dengan *streak method*. Koloni kapang dipindahkan menggunakan jarum tanam bulat. Jarum tanam bulat yang

berisi biakan kapang digoreskan secara zig-zag sebanyak 15 gores pada medium miring. Biakan kapang pada *working culture* diinkubasi di dalam inkubator dengan kondisi gelap pada suhu 22--24° C hingga bersporulasi.

#### 3.3.4 Pengamatan Morfologi *M. majus* UICC 295

Kapang ditanam pada medium SDYA dalam cawan Petri dengan teknik tusuk. Satu tusukan dibuat di atas medium pada setiap cawan Petri. Pengukuran diameter satu koloni dilakukan dengan cara mengambil rata-rata dari tiga kali pengukuran tiap cawan Petri. Pengamatan morfologi kapang secara makroskopik dilakukan dengan mengamati koloni kapang mulai dari hifa hingga bersporulasi. Berdasarkan Gandjar *dkk.* (1999: 2), hal-hal yang perlu diamati saat pengamatan morfologi kapang secara makroskopik antara lain warna koloni, tekstur permukaan koloni, zona pertumbuhan (*growing zone*), garis-garis radial (*radial furrow*), adanya garis atau lingkaran konsentris (zonasi), adanya tetes-tetes eksudat (*exudate drops*), dan warna sebalik koloni.

Berdasarkan Gandjar *dkk.* (1999: 2), hal-hal yang perlu diamati saat pengamatan morfologi kapang secara mikroskopik meliputi bentuk dan ukuran sel reproduksi seksual dan sel reproduksi aseksual, bentuk dan warna hifa, ada atau tidaknya rhizoid, dan lain-lain. Pengukuran konidia dan hifa kapang dilakukan menggunakan mikroskop trinokular pada perbesaran 400x.

#### 3.3.5. Enumerasi Konidia/Hifa *M. majus* UICC 295

Enumerasi konidia/hifa kapang dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) berdasarkan Sumbali dan Mehrotra (2009: 97). Suspensi konidia/hifa dibuat dengan menambahkan 5 ml akuades steril ke dalam biakan kapang berumur 15 hari pada medium SDYA miring, kemudian dikerik. Suspensi selanjutnya dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi yang telah homogen diencerkan dengan akuades steril hingga mencapai faktor pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Sebanyak 0,1 ml suspensi dari masing-masing pengenceran diinokulasikan ke permukaan medium SDYA dalam cawan Petri menggunakan

mikropipet dan disebarakan menggunakan spatel *Drygalski*. Setiap seri pengenceran dibuat tiga pengulangan. Biakan kemudian diinkubasi selama 3 hari di dalam inkubator dengan kondisi gelap pada suhu 22--24° C. Hasil penghitungan dengan metode TPC dinyatakan sebagai satuan *Colony Forming Unit* (CFU) (Hogg 2005: 91--92). Jumlah CFU per ml sampel dihitung berdasarkan Gandjar *dkk.* (1992: 40) dengan rumus:

$$\text{Jumlah CFU/ml} = \frac{\text{jumlah rata-rata koloni yang tumbuh}}{\text{volume inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

### 3.3.6. Persiapan Larva *O. rhinoceros* Untuk Pengujian

Setiap larva ditempatkan dalam sebuah mangkuk plastik berdiameter 14,5 cm dan tinggi 6,5 cm dengan tutup yang diberi 5 lubang untuk pertukaran udara. Setiap mangkuk berisi 10 g pakan larva steril. Larva diinkubasi di dalam ruangan dengan kondisi gelap. Suhu ruangan berkisar antara 25--27° C, dengan kelembaban 84--97 %. Pemberian pakan pada larva dilakukan setiap 3 hari. Pengukuran berat larva dilakukan sebelum pengujian untuk mengetahui berat awal larva. Larva selanjutnya dikelompokkan berdasarkan berat awal larva. Pengelompokkan tersebut bertujuan agar larva pada masing-masing kelompok perlakuan memiliki berat yang hampir seragam sehingga diharapkan memberikan respon yang sama saat pengujian. Larva dikelompokkan menjadi tiga kelompok ulangan perlakuan dan satu kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri atas 10 ekor larva dengan berat yang hampir seragam.

### 3.3.7. Pembuatan *Stock* Larutan Triton X-100 0,05 % Steril

Pembuatan *stock* larutan triton X-100 0,05% dilakukan dengan cara menambahkan 50 µl triton X-100 yang memiliki konsentrasi 98--100 % ke dalam 99,95 ml akuades. Larutan triton X-100 0,05 % tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan yang telah homogen selanjutnya dimasukkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi dan 40 ml ke dalam Erlenmeyer. Larutan

disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

### 3.3.8. Pengujian Suspensi Konidia/ Hifa *M. majus* UICC 295 Terhadap Larva *O. rhinoceros* dengan Aplikasi Kontak Langsung

Pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 terhadap larva *O. rhinoceros* dilakukan berdasarkan Putra (2009: 46), yaitu dengan menginokulasikan suspensi konidia/hifa kapang pada permukaan tubuh larva. Suspensi dibuat dengan cara menambahkan 5 ml larutan triton X-100 0,05% steril pada biakan kapang berumur 15 hari dalam medium SDYA miring, kemudian biakan dikerik. Triton X-100 0,05% steril digunakan untuk mempermudah penempelan konidia kapang pada permukaan tubuh larva. Triton X-100 merupakan deterjen non-ionik yang dapat menurunkan tegangan antara permukaan tubuh larva dengan konidia kapang. Suspensi selanjutnya dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 ml suspensi yang telah homogen diaplikasikan pada permukaan tubuh larva menggunakan mikropipet. Aplikasi tersebut dilakukan pada tiga kelompok ulangan perlakuan. Larva pada kelompok kontrol diinokulasi dengan 1 ml triton X-100 0,05% steril. Aplikasi dilakukan sebanyak tiga kali berturut-turut selama tiga hari berdasarkan Prayogo (2006: 50).

Setelah aplikasi, larva diinkubasi di dalam ruangan dengan kondisi gelap pada suhu berkisar 25--27° C. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 18 hari. Parameter yang dihitung adalah jumlah larva yang mati dan berat larva yang masih hidup setelah aplikasi. Penghitungan jumlah larva yang mati dilakukan setiap hari. Pengukuran berat dan pemberian pakan pada larva yang masih hidup dilakukan setiap tiga hari. Parameter lingkungan yang diukur adalah kelembaban relatif dan suhu ruang. Kemampuan kapang dalam membunuh larva akan terlihat bila terjadi kematian pada larva yang diaplikasikan dengan suspensi konidia/hifa kapang. Persentase kematian larva dihitung berdasarkan Ihsan dan Octriana (2009: 64) dengan rumus:

$$\text{Persentase kematian larva (\%)} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah seluruh larva}} \times 100\%$$

Persentase kematian larva yang diperoleh selanjutnya dikoreksi menggunakan rumus Abbott's berdasarkan Hasyim *dkk.* (2005: 119):

$$\% \text{ Kematian terkoreksi} = \frac{\% \text{ kematian serangga uji} - \% \text{ kematian kontrol}}{100 - \% \text{ kematian kontrol}} \times 100\%$$

### 3.3.9. Fermentasi *M. majus* UICC 295 pada Medium Cair

Fermentasi *M. majus* UICC 295 dilakukan dengan fermentasi diam pada medium cair berdasarkan Abdullah (2009: 32--34). Medium cair yang digunakan adalah *Saboraud Dextrose Yeast extract Broth* (SDYB). Fermentasi diawali dengan pembuatan suspensi konidia/hifa. Sebanyak 5 ml akuades steril ditambahkan ke dalam biakan kapang berumur 15 hari pada medium SDYA miring, kemudian dikerik. Suspensi dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 5 ml suspensi homogen diinokulasi ke dalam 45 ml medium SDYB, selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator dengan kondisi gelap pada suhu 22--24° C selama 14 hari tanpa pengocokan. Biomassa kapang yang telah tumbuh dan bersporulasi pada medium SDYB dipisahkan dari medium menggunakan kertas saring steril dalam corong yang diletakkan di atas Erlenmeyer. Biomassa yang telah ditiriskan selanjutnya diletakkan pada cawan Petri untuk ditimbang. Biomassa yang telah ditimbang disiapkan untuk aplikasi selanjutnya pada bahan pembawa.



### 3.3.10. Pembuatan Formula *M. majus* UICC 295

#### 3.3.10.1 Pembuatan Inkubator Sederhana dan Loyang

Inkubator sederhana dibuat menggunakan kotak berukuran panjang 35 cm, lebar 35 cm, dan tinggi 42 cm dari bahan seng. Bagian dalam inkubator terdiri atas 3 tingkat untuk meletakkan loyang. Pembuatan loyang menggunakan bahan dasar seng. Loyang berupa persegi panjang yang berukuran 22 x 32 cm dengan tinggi 3 cm. Kapasitas setiap loyang adalah 500 g. Di dalam kotak tersebut ditempatkan sebuah lampu bohlam 5 watt untuk menciptakan panas. Untuk menciptakan kondisi gelap, lampu bohlam ditutup dengan seng. Pengukuran suhu di dalam inkubator menggunakan termometer yang dipasang menggantung dalam inkubator.

#### 3.3.10.2. Persiapan Media Pembawa

Media pembawa yang digunakan adalah jagung. Jagung dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air kran. Jagung selanjutnya dihaluskan menggunakan *blender*. Jagung yang telah halus dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas, masing-masing kantong plastik berisi 225 g jagung. Kemasan jagung tersebut kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Jagung yang telah steril ditunggu sampai dingin sebelum diinokulasikan biomassa kapang.

#### 3.3.10.3. Inokulasi Biomassa *M. majus* UICC 295 ke dalam Media Pembawa (Jagung)

Biomassa kapang berumur 14 hari diinokulasikan ke dalam jagung sebanyak 10% (berat/berat) berdasarkan Suwahyono (2010: 74). Setiap kantong plastik berisi 225 g jagung steril diinokulasikan dengan 25 g biomassa kapang. Campuran jagung dan biomassa kapang dicampur merata menggunakan *blender*.

Campuran jagung dan biomassa kapang yang telah tercampur rata selanjutnya dimasukkan ke dalam loyang dan telah siap untuk proses pengeringan.

#### 3.3.10.4. Pengeringan dan Penghalusan Formula *M. majus* UICC 295

Loyang yang berisi 250 g campuran biomassa kapang dan jagung dikeringkan dalam inkubator sederhana pada suhu 30° C selama 5 hari. Campuran biomassa kapang dan jagung yang telah kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk menggunakan *blender*. Formula yang telah berbentuk serbuk selanjutnya disimpan dalam kantung plastik berklip berukuran 8,7 x 13 cm. Setiap kantung plastik berisi 40 g formula (berat kering). Formula yang telah dikemas dalam plastik berklip selanjutnya dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama adalah formula yang akan langsung digunakan untuk pengujian terhadap larva *O. rhinoceros*. Kelompok kedua adalah formula yang akan disimpan pada suhu 25--27° C selama 30 hari. Kelompok ketiga adalah formula yang akan disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari, untuk selanjutnya dilakukan penghitungan viabilitas konidia pada formula tersebut.

#### 3.3.10.5. Enumerasi Konidia/Hifa pada Formula *M. majus* UICC 295

Enumerasi konidia/hifa kapang pada formula dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Sebanyak 1 g formula ditambahkan 9 ml akuades steril untuk mendapatkan faktor pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi yang telah homogen diencerkan dengan akuades steril hingga mencapai faktor pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Sebanyak 0,1 ml suspensi dari pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$  diinokulasikan ke permukaan medium SDYA dalam cawan Petri menggunakan mikropipet dan disebar menggunakan spatel *Drygalski*. Setiap seri pengenceran dibuat tiga pengulangan. Cawan Petri kemudian diinkubasi selama tiga hari di dalam inkubator dengan kondisi gelap pada suhu 22--24 °C. Enumerasi dengan metode TPC juga dilakukan pada formula yang telah disimpan pada suhu 25--27° C dan suhu 4° C selama 30 hari. Untuk mengetahui pengaruh

suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas konidia/hifa, perlu dibandingkan jumlah konidia/hifa hasil enumerasi pada formula yang disimpan pada suhu 25--27° C dan formula yang disimpan pada suhu 4° C.

### 3.3.10.6. Pengujian Formula *M. majus* UICC 295 Terhadap Larva *O. rhinoceros* dengan Aplikasi Kontak Langsung

Suspensi formula dibuat dengan menambahkan larutan triton X-100 0,05% steril ke dalam formula dengan perbandingan 1:1. Setiap kantung plastik berisi 40 g formula serbuk ditambahkan larutan triton X-100 0,05% steril sebanyak 40 ml. Suspensi selanjutnya dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 ml suspensi formula yang telah homogen diaplikasikan pada permukaan tubuh larva menggunakan mikropipet. Aplikasi tersebut dilakukan pada tiga kelompok ulangan larva perlakuan dengan jumlah larva setiap kelompok ulangan adalah 10 ekor. Sepuluh ekor larva pada kelompok kontrol diinokulasi dengan 1 ml larutan triton X-100 0,05% steril. Aplikasi dilakukan sebanyak tiga kali berturut-turut selama tiga hari berdasarkan Prayogo (2006: 50).

Setelah aplikasi, larva diinkubasi dalam ruangan dengan kondisi gelap pada suhu berkisar 25--27° C . Pengamatan dilakukan setiap hari selama 18 hari. Parameter yang dihitung adalah jumlah larva yang mati dan berat larva yang masih hidup setelah aplikasi. Penghitungan jumlah larva yang mati dilakukan setiap hari. Pengukuran berat dan pemberian pakan pada larva yang masih hidup dilakukan setiap tiga hari. Parameter lingkungan yang diukur adalah kelembaban relatif dan suhu ruang. Kemampuan formula dalam membunuh larva akan terlihat bila terjadi kematian pada larva yang diaplikasikan dengan suspensi formula tersebut.

Persentase kematian larva dihitung berdasarkan Ihsan dan Octriana (2009: 64) dengan rumus:

$$\text{Persentase kematian larva (\%)} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah seluruh larva}} \times 100\%$$

Persentase kematian larva yang diperoleh selanjutnya dikoreksi menggunakan rumus Abbott's berdasarkan Hasyim *dkk.* (2005: 119):

$$\% \text{ Kematian terkoreksi} = \frac{\% \text{ kematian serangga uji} - \% \text{ kematian kontrol}}{100 - \% \text{ kematian kontrol}} \times 100\%$$

Pada akhir pengujian, perlu dibandingkan persentase kematian larva antara hasil pengujian suspensi konidia/hifa kapang dan pengujian formula untuk mengetahui kemampuan *M. majus* UICC 295 dalam membunuh larva *O. rhinoceros*.

### 3.3.11. Penyimpanan Formula *M. majus* UICC 295

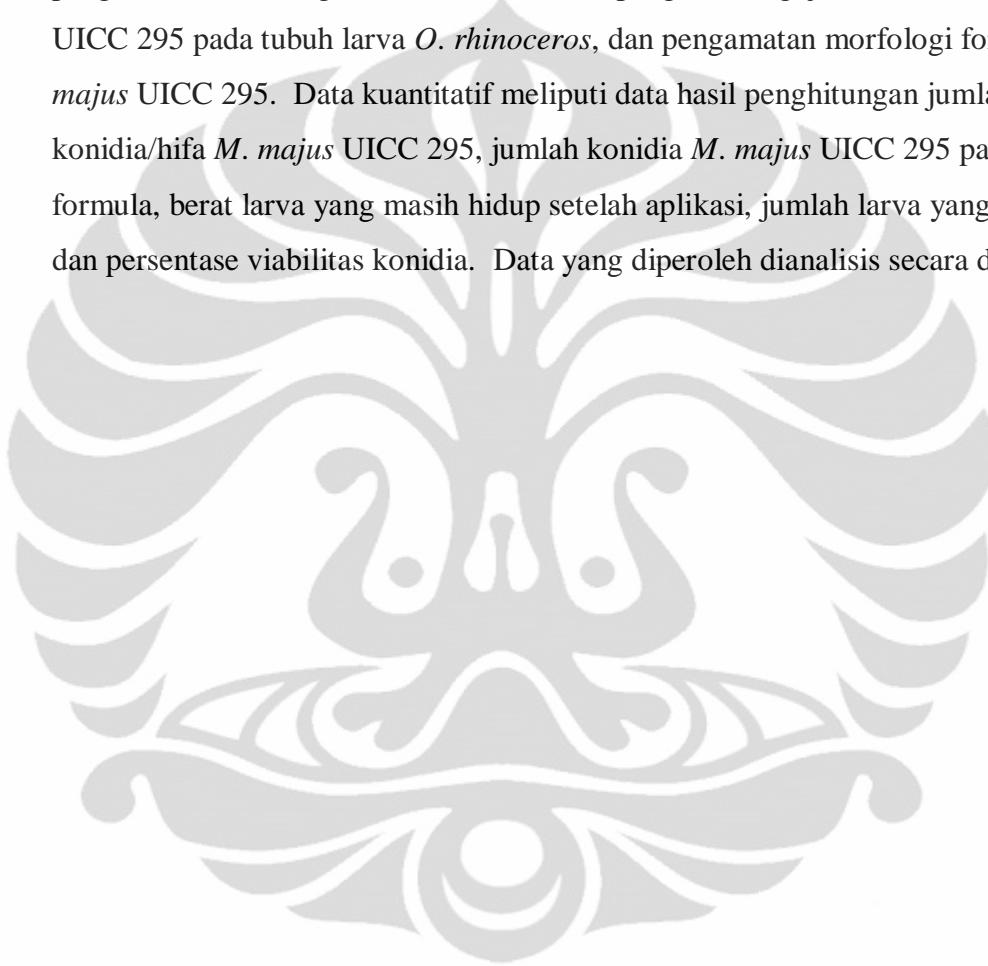
Penyimpanan formula dilakukan dengan menyimpan kemasan formula di dalam sebuah kardus berukuran 26,5 x 34 cm dan diletakkan di ruangan pada suhu 25--27° C selama 30 hari. Kemasan formula lain disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4° C selama 30 hari.

Persentase viabilitas konidia/hifa setelah penyimpanan dihitung berdasarkan Puspitasari (2006: 32--33), yaitu dengan membandingkan jumlah konidia/hifa hidup setelah penyimpanan dengan jumlah konidia/hifa hidup sebelum penyimpanan. Persentase viabilitas konidia/hifa dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Viabilitas konidia/hifa (\%)} = \frac{\sum \text{konidia/hifa hidup setelah penyimpanan}}{\sum \text{konidia/hifa hidup sebelum penyimpanan}} \times 100\%$$

### 3.3.12. Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk tabel. Data yang diperoleh meliputi data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif meliputi data pengamatan morfologi makroskopik dan mikroskopik *M. majus* UICC 295, pengamatan morfologi larva *O. rhinoceros*, pengamatan gejala infeksi *M. majus* UICC 295 pada tubuh larva *O. rhinoceros*, dan pengamatan morfologi formula *M. majus* UICC 295. Data kuantitatif meliputi data hasil penghitungan jumlah konidia/hifa *M. majus* UICC 295, jumlah konidia *M. majus* UICC 295 pada formula, berat larva yang masih hidup setelah aplikasi, jumlah larva yang mati, dan persentase viabilitas konidia. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

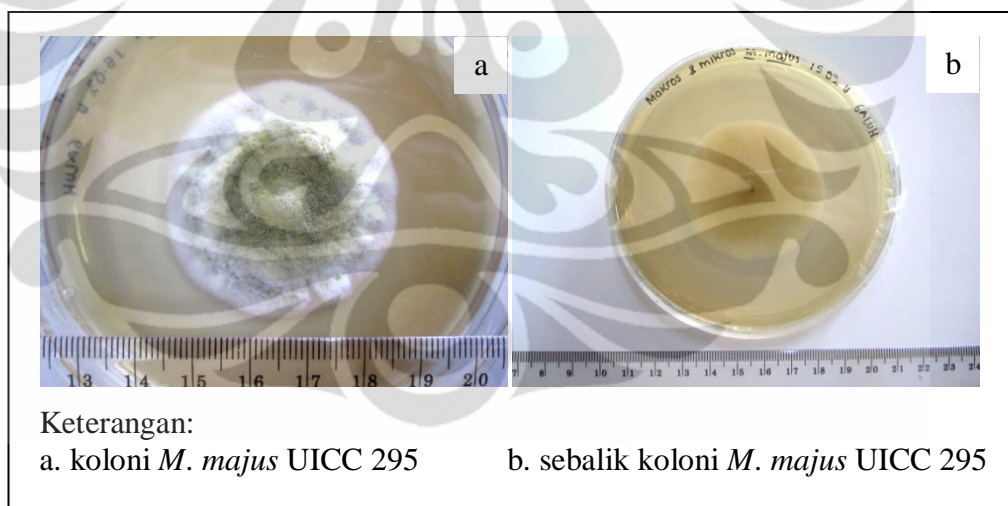


## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pengamatan Morfologi *M. majus* UICC 295

Pengamatan morfologi secara makroskopik dan mikroskopik dilakukan untuk mendeskripsikan karakter *M. majus* UICC 295. Koloni *M. majus* UICC 295 berumur 19 hari di dalam medium *Saboraud Dextrose Yeast extract Agar* (SDYA) pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap memiliki massa konidia berwarna hijau *olive* dengan miselium berwarna putih dan permukaan koloni bertekstur granular. Koloni kapang memiliki diameter rata-rata  $42,7 \pm 0,04$  mm dan sebalik koloni tidak berwarna (hialin), memiliki zona pertumbuhan, tetes eksudat berwarna kuning, namun tidak memiliki zonasi dan jari-jari koloni (Gambar 4.1(1) dan Tabel 1).

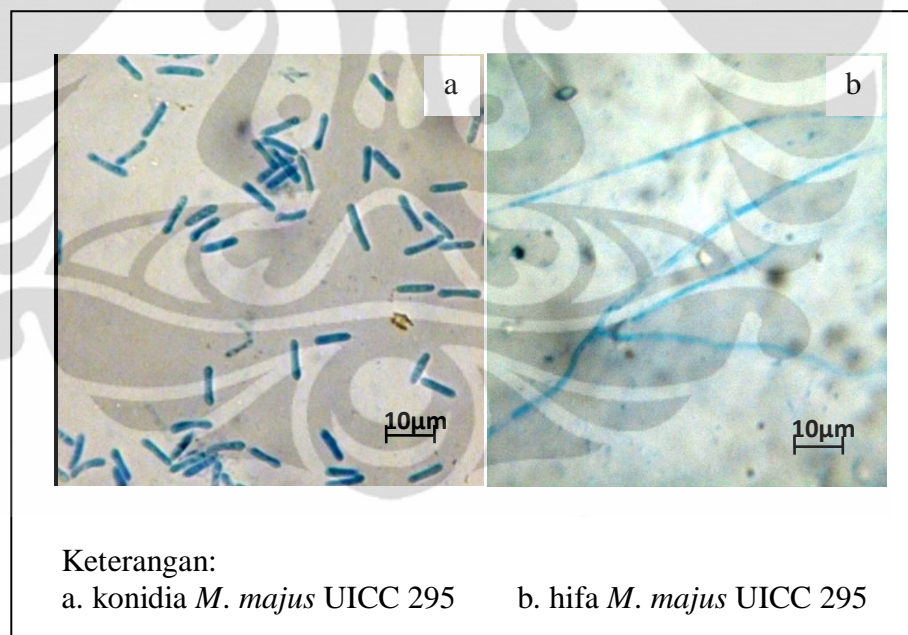


Gambar 4.1(1). Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik *M. majus* UICC 295 berumur 19 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Pengamatan morfologi secara mikroskopik dilakukan terhadap biakan kapang berumur 19 hari dalam medium SDYA pada suhu 22--24° C dengan kondisi gelap. Hasil pengamatan morfologi secara mikroskopik menunjukkan

bahwa *M. majus* UICC 295 memiliki konidia berbentuk silindris. Konidia kapang memiliki ukuran (6,19--11,37) x (2,39--3,55)  $\mu\text{m}$  (Tabel 2). Kapang memiliki hifa yang berseptum dan bercabang dengan ukuran lebar 1,32--3,22  $\mu\text{m}$  (Gambar 4.1(2)). Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik dan mikroskopik sesuai dengan karakter *Metarhizium* yang dideskripsikan oleh Tzean *dkk.* (1997: 150) dan Putra (2009: 62). Berdasarkan Tzean *dkk.* (1997: 150), *Metarhizium anisopliae* var. *majus* memiliki massa konidia berwarna hijau *olive*, konidia berbentuk silindris dengan ukuran (7,9--15,9) x (3,0--4,0)  $\mu\text{m}$ , dan hifa yang berseptum dengan lebar rata-rata 1,8--4,0  $\mu\text{m}$ . Putra (2009: 62) melaporkan bahwa *M. majus* UICC 295 berumur 22 hari pada medium SDYA memiliki massa konidia berwarna hijau *olive*, zona pertumbuhan, dan tetes eksudat berwarna kuning, namun tidak memiliki zonasi dan jari-jari koloni. *Metarhizium majus* UICC 295 memiliki konidiofor yang bercabang-cabang.



Gambar 4.1(2). Hasil pengamatan morfologi secara mikroskopik *M. majus* UICC 295 berumur 19 hari pada medium SDYA dengan suhu 22--24° C dalam kondisi gelap

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

#### 4.2. Persiapan Larva *O. rhinoceros* untuk Pengujian

Larva *O. rhinoceros* yang digunakan dalam pengujian memiliki tubuh membengkok, kepala berwarna cokelat, tiga pasang kaki, rambut yang tidak lebat pada permukaan tubuh, serta belahan anus yang transversal terhadap tubuhnya (Gambar 4.2). Karakter tersebut sesuai dengan larva *O. rhinoceros* yang dideskripsikan oleh Departemen Pertanian (1993: 1--2) dan Putra (2009: 65). Berdasarkan Departemen Pertanian (1993: 1--2), larva *O. rhinoceros* memiliki tubuh yang membengkok dengan panjang sekitar 6--10,5 cm, kepala dan kaki berwarna cokelat, dan ditumbuhi rambut-rambut pendek pada permukaan tubuh. Putra (2009: 65) melaporkan bahwa larva *O. rhinoceros* memiliki tubuh membengkok, tiga pasang kaki, belahan anus yang transversal terhadap tubuhnya, rambut yang tidak lebat pada permukaan tubuh, serta rambut yang pendek dan lurus di sekitar bagian anus.

Pengelompokkan larva pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 dapat dilihat pada Tabel 3. Pengelompokkan larva pada pengujian formula *M. majus* UICC 295 dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 4.2 Larva *O. rhinoceros* yang digunakan dalam pengujian

[Sumber: Dokumentasi pribadi]



#### 4.3. Pengujian Suspensi Konidia/Hifa *M. majus* UICC 295 Terhadap Larva *O. rhinoceros* dengan Aplikasi Kontak Langsung

Kemampuan *M. majus* UICC 295 dalam membunuh larva *O. rhinoceros* dikonfirmasi dengan menginokulasikan suspensi konidia/hifa kapang secara kontak langsung pada permukaan tubuh larva. Kapang yang digunakan berumur 15 hari dan telah bersporulasi penuh pada medium SDYA pada suhu 22--24° C dalam kondisi gelap. Suhu 22--24° C dalam kondisi gelap diperlukan untuk meningkatkan viabilitas konidia kapang, dan merupakan kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan *M. majus* UICC 295. Sebagai salah satu kapang entomopatogen, *M. majus* UICC 295 diduga memiliki konidia yang sangat sensitif terhadap sinar matahari, khususnya sinar ultra violet karena sinar tersebut dapat merusak konidia kapang entomopatogen, sehingga *M. majus* UICC 295 membutuhkan tempat yang gelap untuk tumbuh. Prayogo *dkk.* (2005: 20) melaporkan bahwa suhu yang baik untuk pertumbuhan *Metarhizium* berkisar antara 22--27° C. Berdasarkan Prayogo (2006: 49), konidia kapang entomopatogen sangat sensitif terhadap sinar matahari, khususnya sinar ultra violet karena dapat merusak konidia, sehingga kapang entomopatogen membutuhkan tempat yang gelap untuk mempertahankan viabilitas konidia.

Enumerasi dilakukan pada suspensi konidia/hifa kapang untuk mengetahui jumlah konidia/hifa yang diinokulasikan ke permukaan tubuh larva. Hasil enumerasi menunjukkan bahwa suspensi mengandung konidia/hifa sebanyak  $(2,42 \pm 0,50) \times 10^6$  CFU/ml (Tabel 5). Jumlah konidia/hifa di dalam suspensi yang mencapai  $10^6$  CFU/ml tersebut diharapkan mampu menginfeksi larva dengan cepat. Desyanti *dkk.* (2007: 70--71) melaporkan bahwa jumlah konidia  $10^6$  CFU/ml *M. anisopliae* mampu membunuh larva *Coptotermes gestroi* Wasmann 100% dalam waktu 6 hari setelah aplikasi.

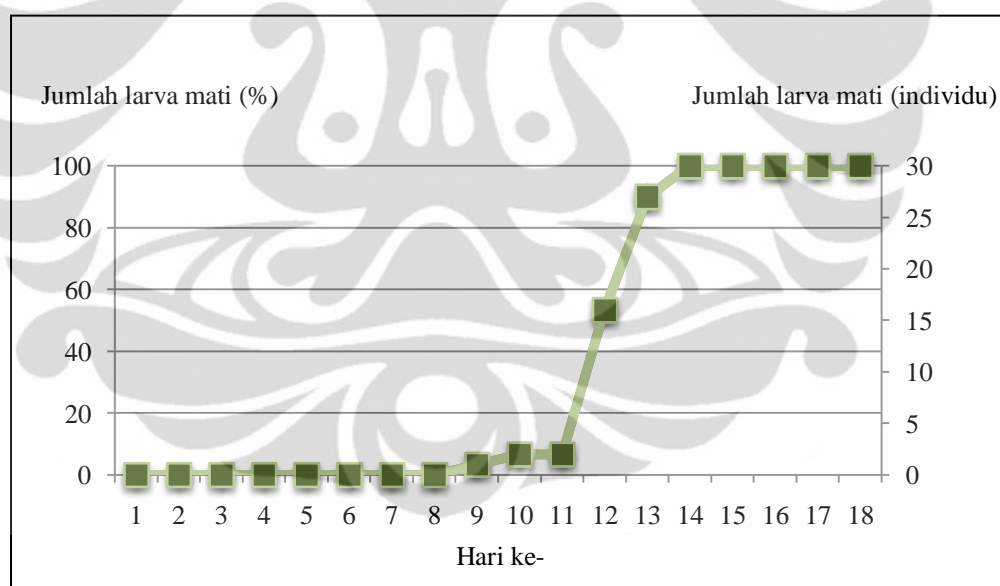
Jumlah konidia/hifa kapang yang diinokulasikan pada larva dapat menentukan keberhasilan kapang dalam membunuh larva. Semakin tinggi jumlah konidia/hifa yang diinokulasikan, maka semakin tinggi pula tingkat kematian larva karena diduga semakin banyak konidia yang akan bergerminasi pada permukaan tubuh larva kemudian menginfeksi larva tersebut. Prayogo *dkk.*

(2005: 22) melaporkan bahwa jumlah konidia/hifa  $10^4$  CFU/ml *Metarhizium anisopliae* mampu membunuh 48% larva *Spodoptera litura* Fabricius dalam waktu 12 hari setelah aplikasi, sedangkan jumlah konidia  $10^8$  CFU/ml mampu membunuh *S. litura* hingga 71,67% dalam waktu 12 hari setelah aplikasi.

Aplikasi dilakukan sebanyak tiga kali selama tiga hari berturut-turut untuk meningkatkan keberhasilan kapang dalam membunuh larva. Apabila konidia/hifa yang diaplikasikan pada hari pertama belum mampu bergerminasi dan menginfeksi larva, maka dapat digantikan oleh konidia/hifa yang diaplikasikan pada hari berikutnya. Berdasarkan Prayogo *dkk.* (2005: 23), aplikasi kapang entomopatogen perlu dilakukan lebih dari satu kali apabila serangga hama yang diujikan memiliki siklus hidup yang terdiri atas beberapa stadium instar. Aplikasi berulang diperlukan untuk mengantisipasi faktor lingkungan yang kurang mendukung seperti hujan, angin, dan proses ganti kulit pada serangga, yang dapat mengakibatkan konidia/hifa gagal bergerminasi dan menginfeksi serangga sasaran. Prayogo (2006: 50) melaporkan bahwa aplikasi *M. anisopliae* sebanyak tiga kali selama tiga hari berturut-turut lebih baik dalam membunuh larva *S. litura* yaitu sebesar 86%, dibandingkan dengan aplikasi sebanyak satu kali yang menimbulkan kematian hanya 40%.

Setelah aplikasi, larva pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol diinkubasi di dalam ruangan dengan kondisi gelap untuk meningkatkan viabilitas konidia/hifa kapang. Parameter lingkungan yang diukur pada ruangan tersebut adalah suhu dan kelembaban relatif (Tabel 6). Suhu ruangan selama pengamatan berkisar  $25,6\text{--}26,8^\circ\text{C}$  dengan rata-rata  $27,5 \pm 0,32^\circ\text{C}$ . Kelembaban relatif ruangan berkisar  $84\text{--}97\%$  dengan rata-rata  $97 \pm 4,11\%$ . Dengan demikian, suhu dan kelembaban yang diperlukan oleh konidia/hifa kapang untuk bergerminasi dan tumbuh telah terpenuhi. Berdasarkan Prayogo (2006: 49), setelah diaplikasikan, kapang entomopatogen memerlukan kelembaban yang tinggi untuk keberhasilan pembentukan tabung kecambah (*germ tube*) dari konidia sebelum dapat berpenetrasi ke dalam integumen serangga. Prayogo *dkk.* (2005: 20) melaporkan bahwa apabila kelembaban udara di atas 90%, konidia *Metarhizium* akan bergerminasi dengan baik dan patogenisitasnya meningkat. Apabila kelembaban udara di bawah 86%, patogenisitas *Metarhizium* akan menurun.

Penghitungan jumlah larva yang mati dilakukan setiap hari selama 18 hari. Seluruh larva pada kelompok perlakuan yang berjumlah 30 ekor mengalami kematian sebesar 100%. Kematian larva terjadi antara hari ke-9 hingga hari ke-14 (Gambar 4.3(1)). Persentase kematian larva terkoreksi dapat dilihat pada Tabel 7). Larva pada kelompok kontrol tidak mengalami kematian sampai hari ke-18. Fernando *dkk.* (1995: 48) melaporkan bahwa suspensi konidia/hifa *M. anisopliae* isolat LS  $10^7$  CFU/ml mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 16 hari setelah aplikasi. Berdasarkan data hasil penelitian tersebut, terlihat bahwa *M. majus* UICC 295 lebih potensial untuk membunuh larva *O. rhinoceros* dibandingkan *M. anisopliae* isolat LS yang digunakan dalam penelitian Fernando *dkk.* (1995: 48). Suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295  $10^6$  CFU/ml yang digunakan dalam penelitian ini mampu membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 14 hari setelah aplikasi.



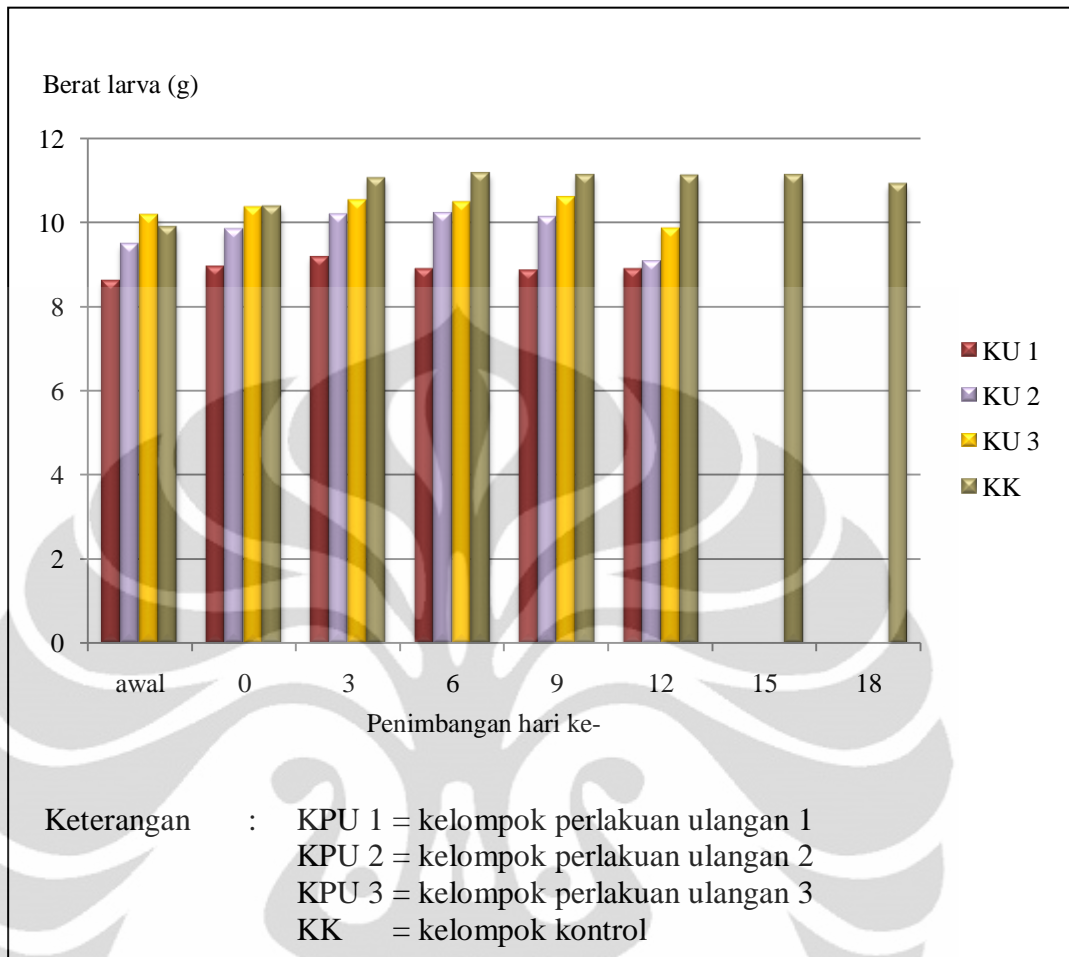
Gambar 4.3(1). Grafik jumlah larva *O. rhinoceros* yang mati selama 18 hari pengamatan pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

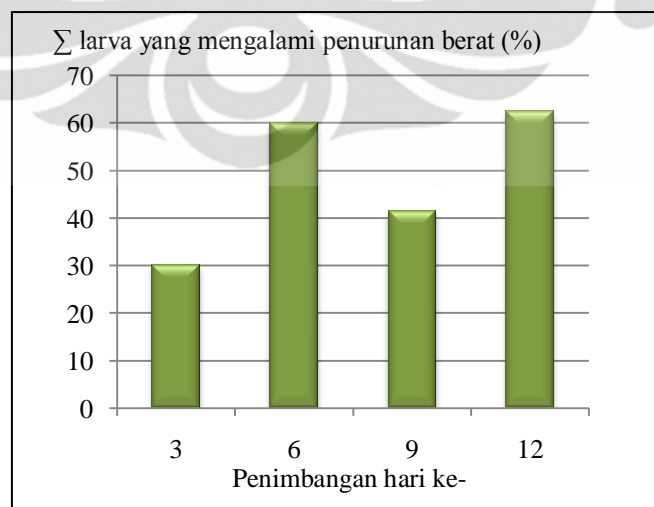
Kematian pada larva kemungkinan disebabkan oleh aktivitas enzim hidrolisis dan toksin yang dihasilkan oleh kapang. Selain itu, kematian larva diduga disebabkan karena kemampuan kapang untuk menghindari sistem pertahanan tubuh larva. Berdasarkan Ahmad (2004: 76 dan 87), enzim-enzim

hidrolisis yang dimiliki oleh *Metarhizium* antara lain kitinase, endokitinase, lipase, dan peptidase. Enzim-enzim tersebut berperan untuk melisiskan kutikula serangga sehingga hifa kapang dapat berpenetrasi ke dalam jaringan tubuh serangga, kemudian menyerap nutrisi yang terdapat di dalam jaringan tubuh serangga. Samuels (1998: 230 dan 234) melaporkan bahwa *Metarhizium* menghasilkan destruksin, yaitu metabolit sekunder yang berupa toksin. Destruksin menyebabkan peningkatan konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  pada miofibril serangga sehingga menyebabkan otot serangga berkontraksi terus menerus. Berdasarkan Samson *dkk.* (1988: 137), kapang mampu menghindari sistem pertahanan tubuh serangga melalui mekanisme multiplikasi propagul. Mekanisme tersebut berlangsung dengan cara pembelahan sel hifa membentuk propagul yang menyerupai sel khamir sehingga terdapat banyak propagul kapang. Propagul-propagul tersebut kemudian menyebar ke seluruh tubuh serangga melalui sistem sirkulasi. Jumlah propagul kapang yang terlalu banyak sulit untuk ditanggulangi oleh hemosit serangga yang jumlahnya terbatas sehingga pertumbuhan kapang dapat terus berlangsung di dalam tubuh serangga.

Pengukuran berat larva dilakukan setiap 3 hari pada larva kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang masih hidup setelah pengujian (Tabel 8). Pengukuran berat bertujuan untuk mengetahui apakah pengujian konidia/hifa kapang berpengaruh terhadap berat larva. Hasil pengukuran berat larva menunjukkan bahwa jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat semakin banyak, mulai penimbangan hari ke-3 hingga penimbangan hari ke-12 (Tabel 9). Penurunan berat larva kemungkinan disebabkan pengaruh destruksin yang menyebabkan kelainan fungsi pada saluran pencernaan, sehingga terjadi penurunan aktivitas makan pada larva yang berakibat pada penurunan berat larva. Berdasarkan Sambiran dan Hosang (2007: 7), salah satu gejala infeksi *Metarhizium* pada larva *O. rhinoceros* adalah penurunan aktivitas makan. Dong *dkk.* (2006: 28--33) melaporkan bahwa destruksin dapat menyebabkan kelainan fungsi pada saluran pencernaan, tubulus malpigi, hemosit, dan jaringan otot.



Gambar 4.3(2). Grafik berat larva *O. rhinoceros* yang masih hidup setelah pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295



Gambar 4.3(3). Grafik Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

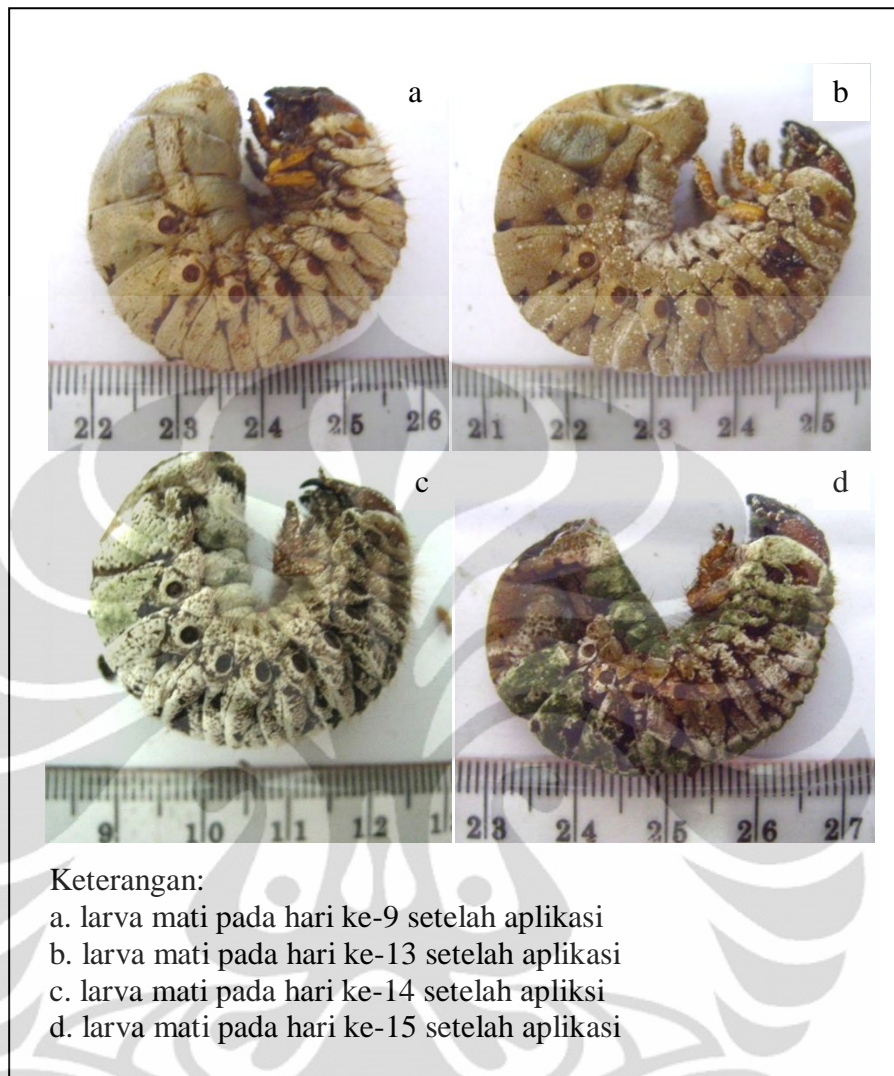
[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Gejala infeksi *M. majus* UICC 295 terlihat pada seluruh larva kelompok perlakuan yang mati, sedangkan larva kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan hingga akhir pengamatan (Gambar 4.3(4)). Gejala-gejala infeksi kapang yang terlihat pada larva kelompok perlakuan antara lain gerakan larva menjadi lambat dan warna tubuh larva menjadi kusam. Tubuh larva yang mati terinfeksi kapang menjadi mengeras setelah dua hari kematian. Empat hari setelah kematian larva, hifa kapang mulai tumbuh pada permukaan tubuh larva, kemudian pada hari ke-5 setelah kematian larva, kapang mulai bersporulasi pada permukaan tubuh larva. Pada hari ke-6 setelah kematian larva, kapang yang bersporulasi berwarna hijau telah menutupi seluruh permukaan tubuh larva (Gambar 4.3(5)). Sambiran dan Hosang (2007: 5 dan 7) melaporkan bahwa gejala infeksi *Metarhizium* pada larva *O. rhinoceros* terlihat dengan gerakan larva menjadi lambat, penurunan aktivitas makan, dan perubahan warna tubuh dari putih bersih menjadi kusam. Selanjutnya, larva akan mati dan tubuhnya menjadi mengeras. Beberapa hari setelah kematian larva, miselium dan konidia kapang akan tumbuh menyelimuti tubuh larva.



Gambar 4.3(4). Keadaan larva kelompok kontrol pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

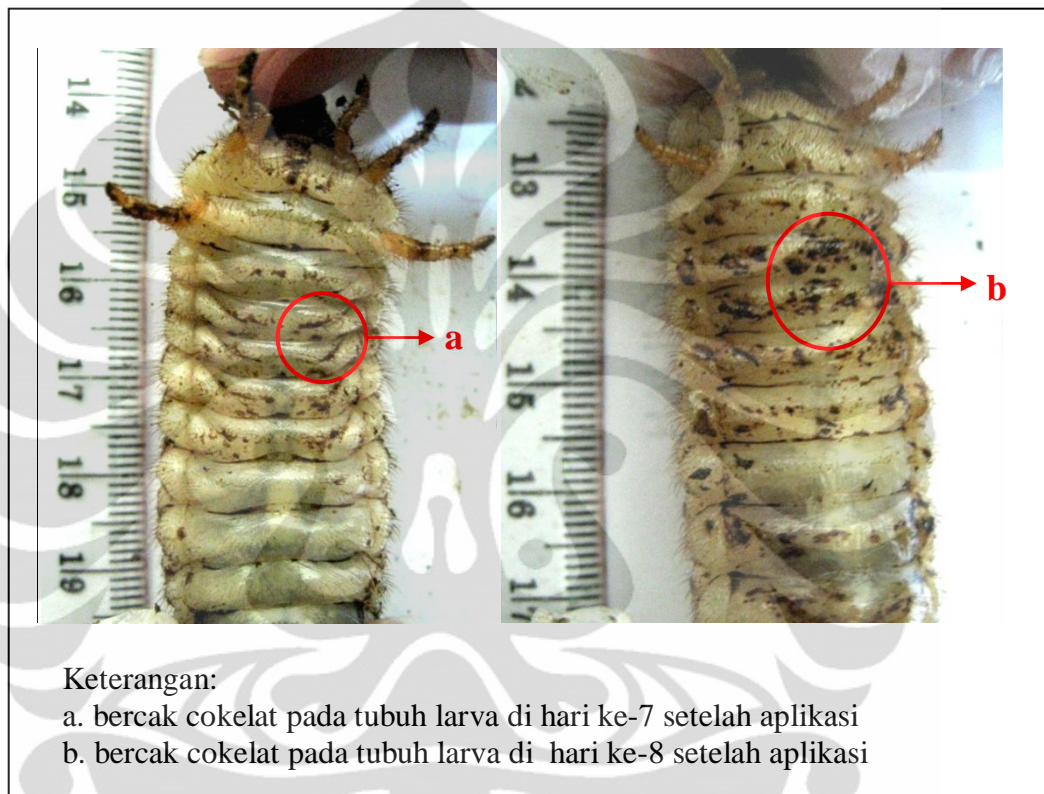


Gambar 4.3(5). Pertumbuhan kapang pada larva mati setelah aplikasi suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Gejala lain yang terlihat pada larva akibat infeksi kapang adalah timbulnya bercak berwarna cokelat pada tubuh larva saat hari ke-7 setelah aplikasi, kemudian bercak bertambah banyak pada hari berikutnya (Gambar 4.3(6)). Bercak cokelat yang timbul pada tubuh larva diduga adalah melanin yang dihasilkan serangga dalam mekanisme pertahanan tubuh. Berdasarkan Samson *dkk.* (1988: 136--137), bercak cokelat yang timbul pada tubuh larva merupakan indikator adanya pertahanan tubuh serangga berupa enkapsulasi. Enkapsulasi merupakan mekanisme penyelubungan propagul kapang oleh hemosit serangga. Mekanisme enkapsulasi diawali dengan pengenalan dinding sel kapang yang

mengandung  $\beta$ -1,3-glukan oleh pro-fenol oksidase pada hemosit serangga. Selanjutnya, pro-fenol oksidase akan teraktivasi menjadi fenol oksidase. Enzim fenol oksidase akan mengkatalis senyawa fenol untuk mensintesis melanin. Melanin bersifat toksik bagi kapang, sehingga dapat menghambat pertumbuhan kapang.



Gambar 4.3(6). Bercak coklat pada tubuh larva kelompok perlakuan setelah aplikasi suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Hasil pengujian menunjukkan bahwa *M. majus* UICC 295 memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bioinsektisida untuk mengendalikan larva hama *O. rhinoceros*. Hal tersebut dapat terlihat dari kemampuan *M. majus* UICC 295 dalam membunuh larva *O. rhinoceros* 100% dalam waktu 14 hari setelah aplikasi.



#### 4.4. Pembuatan Formula *M. majus* UICC 295

Media pembawa yang digunakan dalam formula adalah jagung. Jagung yang digunakan berupa bulir-bulir yang tidak saling melekat. Struktur jagung tersebut sesuai dengan karakter media pembawa yang ideal karena memiliki permukaan yang luas, yang diharapkan mampu menyediakan ruang udara dan ruang bagi konidia untuk melekat. Sebagai salah satu bahan pangan, jagung mengandung karbohidrat dan nutrien-nutrien lain seperti protein, lemak, asam nukleat, dan air, yang diharapkan dapat berfungsi untuk menunjang germinasi konidia, mempertahankan viabilitas konidia, dan meningkatkan virulensi kapang. Berdasarkan Suwahyono (2010: 72), karakter substrat padat sebagai media pembawa yang ideal antara lain memiliki permukaan yang luas dan memiliki volume yang dapat mendukung tercukupinya ruang udara dan ruang bagi konidia untuk melekat. Wijaya *dkk.* (2007: 199) melaporkan bahwa buah jagung mengandung air, karbohidrat, protein, dan lemak. Berdasarkan Prayogo *dkk.* (2005: 22) dan Herlinda *dkk.* (2006: 76), kapang entomopatogen membutuhkan substrat dengan kandungan gula dan protein yang tinggi untuk meningkatkan viabilitas konidia dan meningkatkan kemampuan kapang dalam membunuh serangga.

Formula dibuat dengan menginokulasikan biomassa kapang dari hasil fermentasi ke dalam jagung sebagai media pembawa. Jumlah konidia/hifa dalam inokulum yang digunakan untuk produksi biomassa adalah  $(1,14 \pm 0,47) \times 10^6$  CFU/ml (Tabel 10). Berat biomassa basah rata-rata yang diperoleh setelah fermentasi selama 14 hari adalah  $7,32 \pm 0,65$  g.

Biomassa kapang yang diinokulasikan ke dalam jagung sebanyak 10% (berat/berat) dari berat total campuran berdasarkan Suwahyono (2010: 74). Biomassa kapang diinokulasi sebanyak 10% karena merupakan jumlah standar inokulum agar kapang menjadi lebih cepat bergerminasi dan lebih cepat tumbuh, sehingga biomassa yang dihasilkan menjadi lebih banyak. Berdasarkan Norris dan Ribbons (1969: 299 dan 317), jumlah inokulum mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam suatu substrat atau medium sebaiknya berkisar 1--10%. Hal tersebut bertujuan agar pertumbuhan mikroorganisme dapat berlangsung lebih

cepat dan biomassa yang dihasilkan menjadi lebih banyak. Apabila jumlah inokulum kurang dari 1%, dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme menjadi sangat lambat serta biomassa yang dihasilkan menjadi sangat sedikit.

Jagung yang telah diinokulasikan biomassa kapang terlihat berwarna kuning, sama seperti warna jagung sebelum diinokulasikan biomassa kapang. Hasil enumerasi pada campuran biomassa kapang dan jagung sebelum pengeringan menunjukkan bahwa formula mengandung konidia/hifa sebanyak  $(1,25 \pm 0,54) \times 10^6$  CFU/g (Tabel 11).

Pengeringan formula dilakukan selama 5 hari menggunakan inkubator sederhana (Gambar 4.4(1)) pada suhu  $30^\circ\text{C}$  untuk mengurangi kandungan air yang terdapat dalam formula tersebut. Setelah proses pengeringan, hifa kapang yang berwarna putih terlihat tumbuh pada permukaan formula yang terdapat dalam loyang. Formula selanjutnya dihaluskan menggunakan *blender* untuk memperoleh formula serbuk. Setelah penghalusan, formula serbuk terlihat berwarna kuning, sama seperti keadaan formula sebelum pengeringan (Gambar 4.4(2)). Hasil enumerasi pada formula serbuk setelah pengeringan menunjukkan bahwa formula mengandung konidia/hifa sebanyak  $(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$  CFU/g (Tabel 12).



Keterangan:

- a. bagian luar inkubator sederhana
- b. susunan loyang di dalam inkubator sederhana

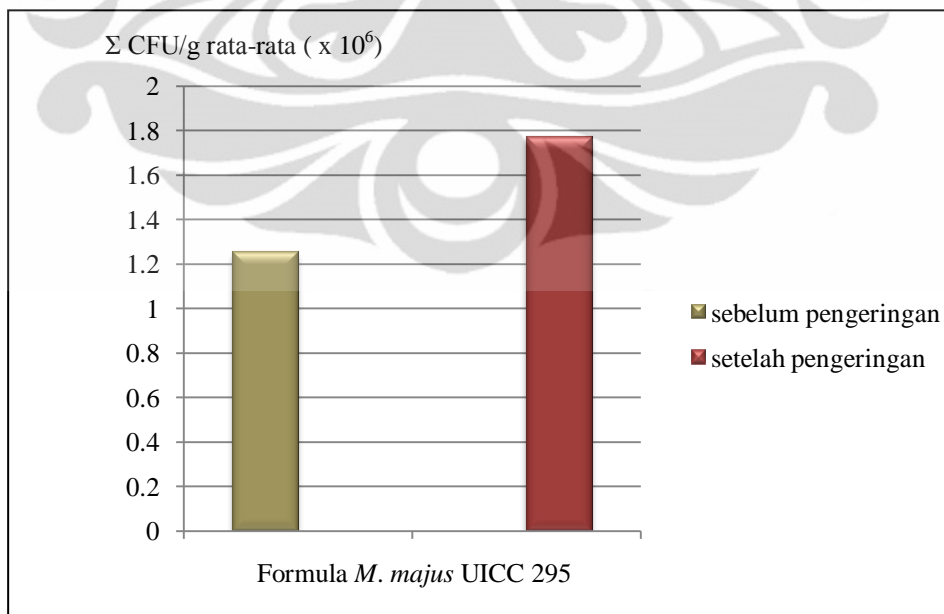
Gambar 4.4(1). Inkubator sederhana

[Sumber: Dokumentasi pribadi]



Gambar 4.4(2). Formula *M. majus* UICC 295 dalam bentuk serbuk setelah pengeringan selama 5 hari

[Sumber: Dokumentasi pribadi]



Gambar 4.4(3). Grafik jumlah CFU/g pada formula sebelum pengeringan dan formula setelah pengeringan

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Hasil enumerasi menunjukkan bahwa jumlah konidia/hifa pada formula serbuk setelah pengeringan lebih banyak dibandingkan jumlah konidia/hifa pada formula sebelum pengeringan (Gambar 4.4(3)). Kenaikan jumlah konidia/hifa diduga disebabkan nutrien, suhu, dan kelembaban saat proses pengeringan sesuai untuk germinasi konidia dan pertumbuhan kapang.

Konidia/hifa kapang di dalam formula dengan jumlah sebanyak  $10^6$  CFU/g diharapkan dapat menginfeksi larva dengan cepat karena jumlah tersebut melebihi jumlah konidia/hifa yang menjadi kriteria suatu formula kapang yang dikemukakan oleh Suwahyono (2010: 69). Berdasarkan Suwahyono (2010: 69), parameter suatu formula kapang yang baik memiliki kandungan konidia hidup minimal  $10^5$  CFU/ml.

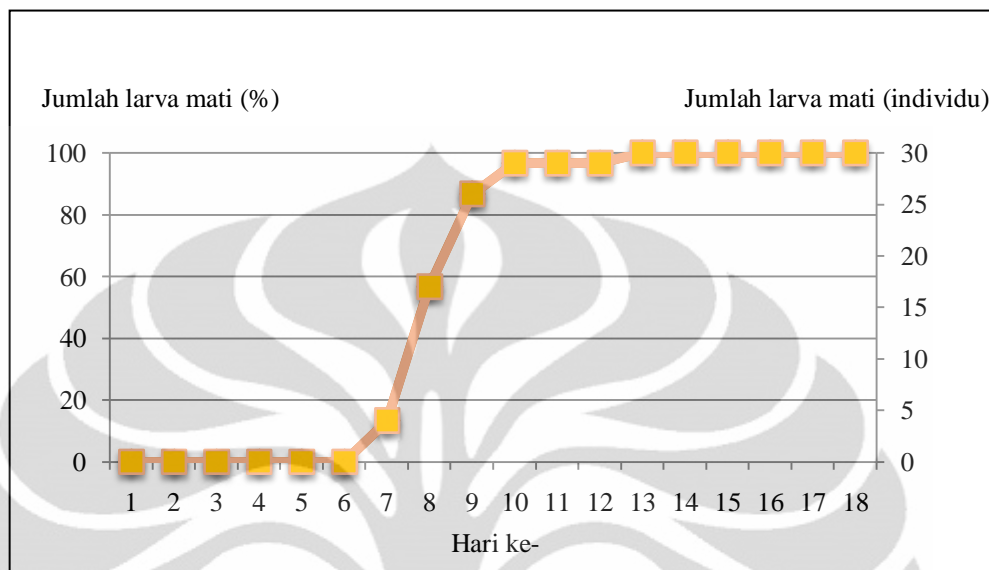
#### **4.5. Pengujian Formula *M. majus* UICC 295 Terhadap Larva *O. rhinoceros***

Pengujian dilakukan untuk mengetahui kemampuan formula *M. majus* UICC 295 dalam membunuh larva *O. rhinoceros* dan membandingkan persentase kematian larva pada pengujian formula dengan persentase kematian larva pada pengujian suspensi konidia/hifa sebelumnya. Pengujian formula dilakukan dengan menginokulasikan suspensi formula pada permukaan tubuh larva, dan dilakukan sebanyak tiga kali. Jumlah konidia/hifa dalam suspensi formula yang diinokulasikan ke permukaan tubuh larva adalah  $(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$  CFU/g.

Setelah aplikasi, larva pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol diinkubasi di dalam ruangan dengan kondisi gelap. Parameter lingkungan yang diukur pada ruangan tersebut adalah suhu dan kelembaban relatif (Tabel 13). Suhu ruangan selama pengamatan berkisar  $25,7$ -- $26,3^\circ$  C dengan rata-rata  $25,95 \pm 0,22^\circ$  C. Kelembaban relatif ruangan berkisar  $85$ -- $94\%$  dengan rata-rata  $89,82 \pm 2,27\%$ . Dengan demikian, suhu dan kelembaban yang diperlukan oleh konidia kapang untuk bergerminasi dan tumbuh telah terpenuhi.

Penghitungan jumlah larva yang mati dilakukan setiap hari selama 18 hari. Seluruh larva pada kelompok perlakuan yang berjumlah 30 ekor mengalami kematian sebesar 100%. Kematian larva terjadi antara hari ke-7 hingga hari ke-13

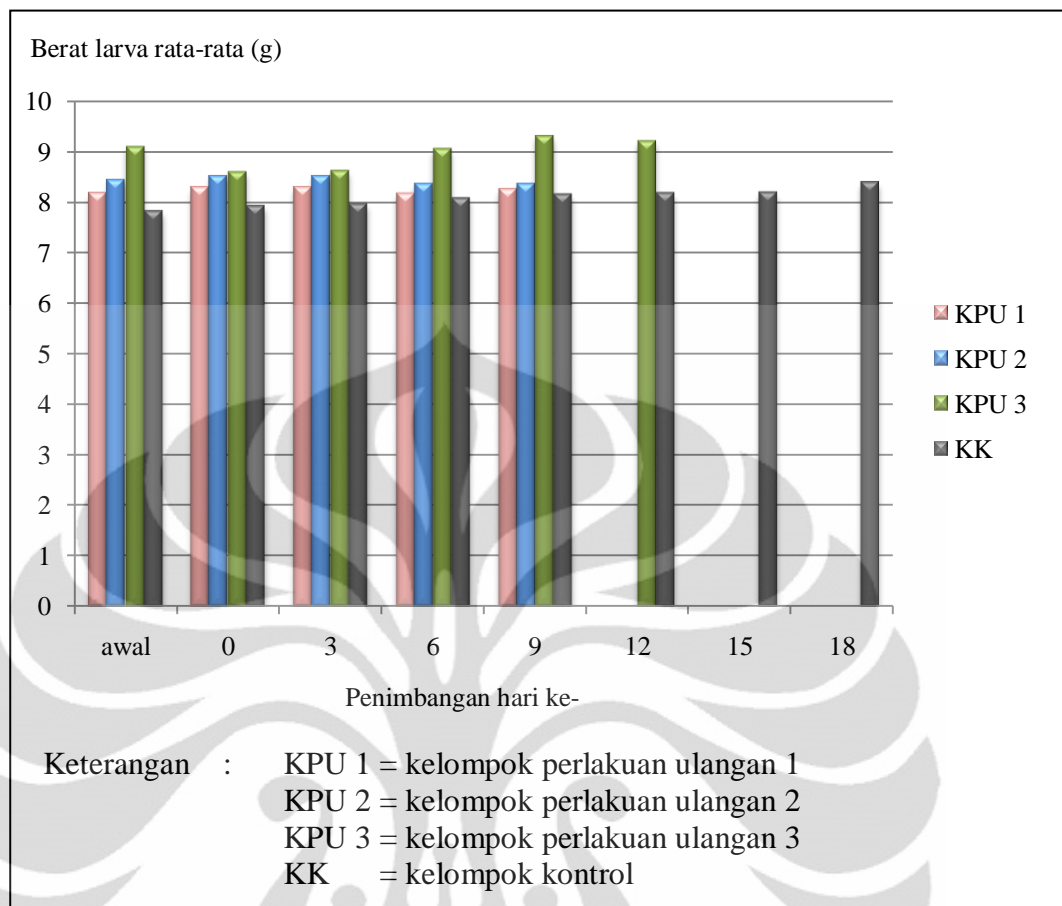
(Gambar 4.5(1)). Persentase kematian larva terkoreksi dapat dilihat pada Tabel 14). Larva pada kelompok kontrol tidak mengalami kematian sampai hari ke-18.



Gambar 4.5(1). Grafik jumlah larva mati selama 18 hari pengamatan pada pengujian formula

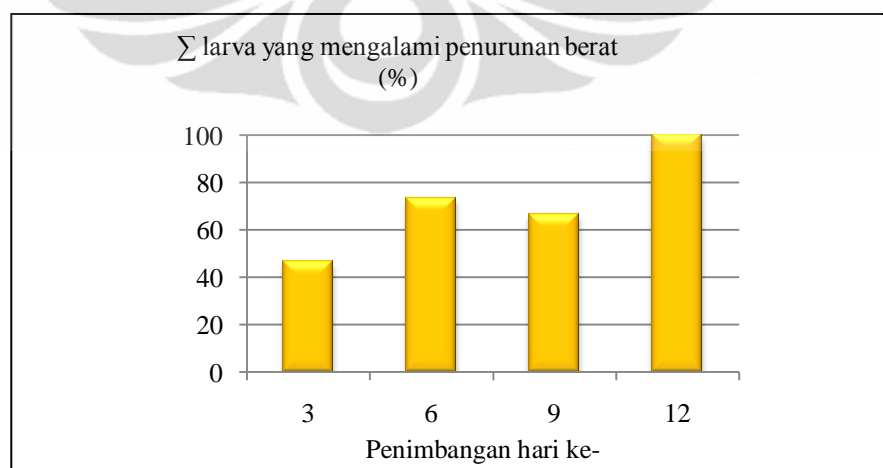
[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Pengukuran berat larva dilakukan setiap 3 hari pada larva kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang masih hidup setelah pengujian (Gambar 4.5(2) dan Tabel 15). Hasil pengukuran berat larva menunjukkan bahwa jumlah larva pada kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat semakin banyak, mulai penimbangan hari ke-3 hingga penimbangan hari ke-12 setelah aplikasi (Gambar 4.5(3) dan Tabel 16).



Gambar 4.5(2). Grafik berat larva *O. rhinoceros* rata-rata yang masih hidup pada pengujian formula

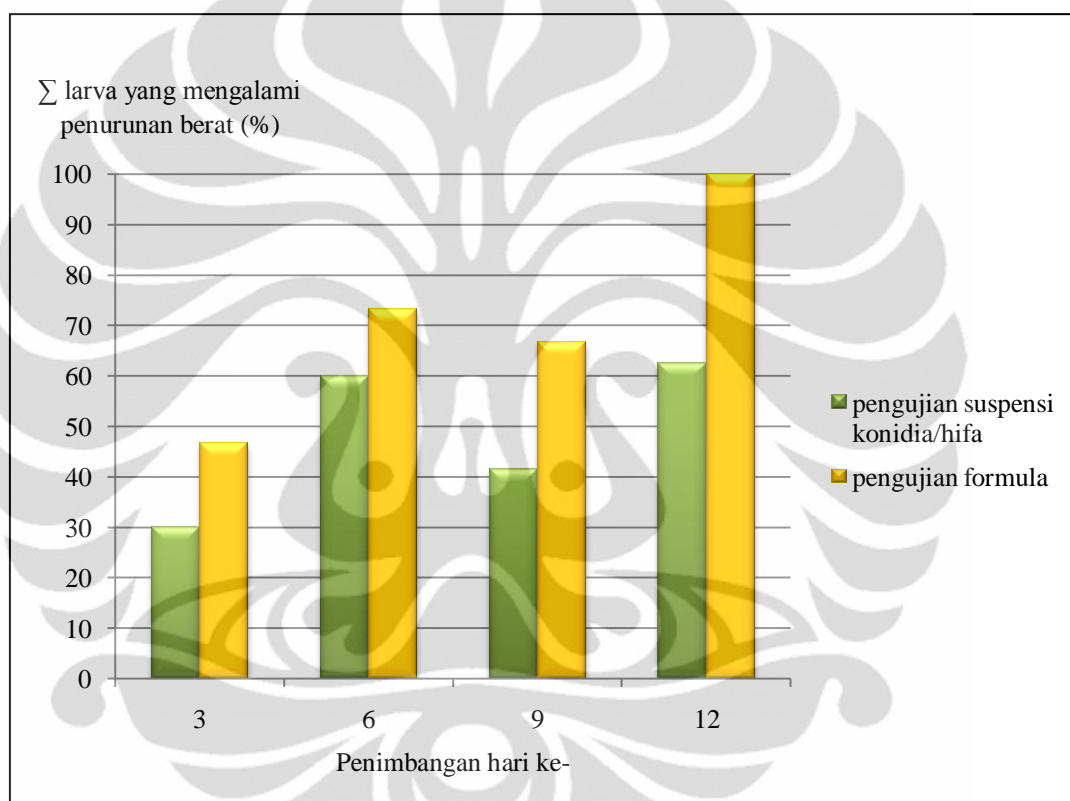
[Sumber: Dokumentasi pribadi]



Gambar 4.5(3). Grafik jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat pada pengujian formula

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Hasil penimbangan berat larva menunjukkan bahwa persentase banyaknya larva yang mengalami penurunan berat pada pengujian formula di setiap penimbangan lebih besar dibandingkan persentase banyaknya larva yang mengalami penurunan berat pada pengujian suspensi konidia/hifa (Gambar 4.5(4)). Hal tersebut menunjukkan bahwa konidia/hifa di dalam formula diduga lebih infeksiif dibandingkan konidia/hifa di dalam suspensi.

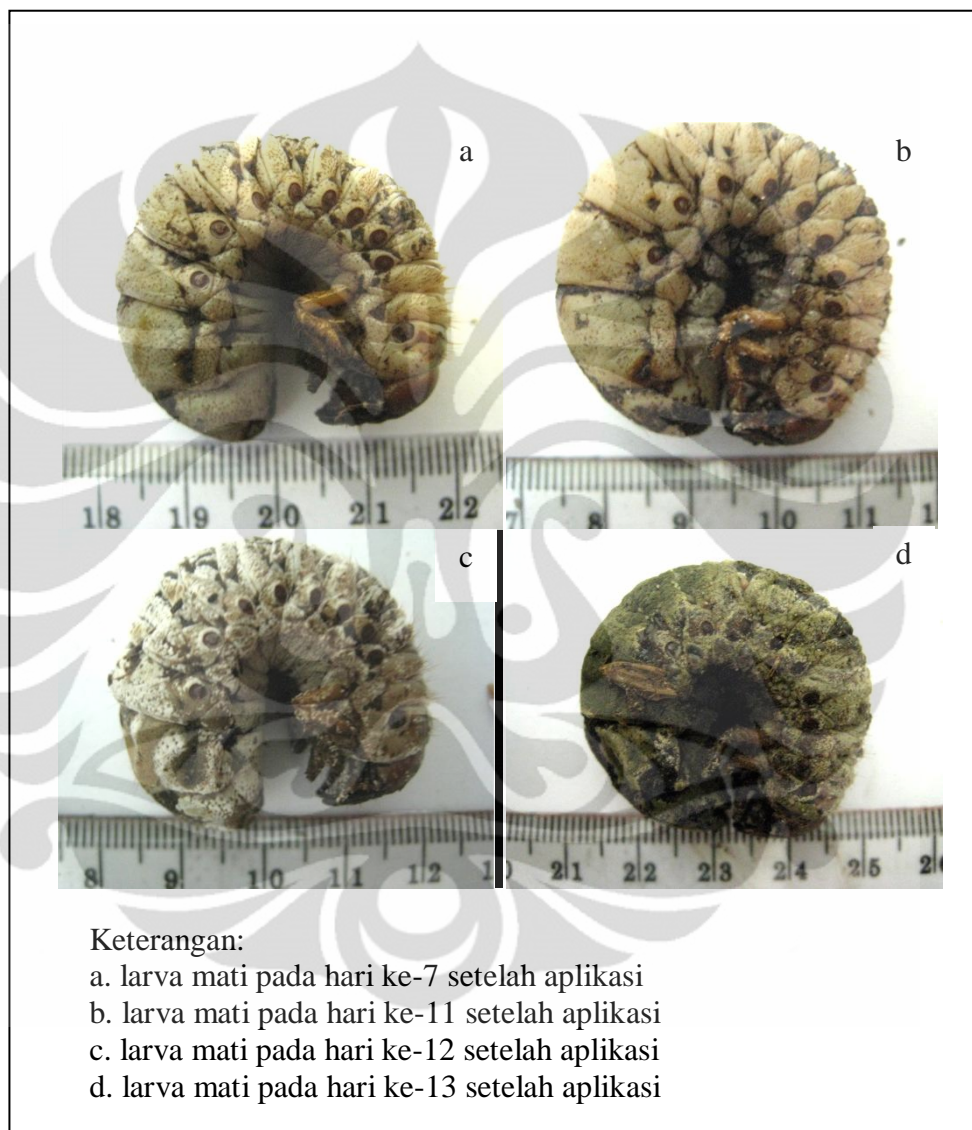


Gambar 4.5(4). Grafik perbandingan jumlah larva yang mengalami penurunan berat antara pengujian suspensi konidia/hifa dan pengujian formula

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Gejala infeksi kapang pada larva terlihat dengan gerakan larva menjadi lambat, warna tubuh larva menjadi kusam, dan timbul bercak cokelat pada tubuh larva. Bercak cokelat pada tubuh larva mulai timbul pada hari ke-6 setelah aplikasi, kemudian bercak bertambah banyak pada hari berikutnya. Dua hari setelah kematian, tubuh larva menjadi mengeras. Empat hari setelah kematian larva, hifa kapang mulai tumbuh pada permukaan tubuh larva, kemudian pada hari

ke-5 setelah kematian larva, kapang mulai bersporulasi pada permukaan tubuh larva. Pada hari ke-6 setelah kematian larva, kapang yang bersporulasi berwarna hijau telah menutupi seluruh permukaan tubuh larva (Gambar 4.5(5)). Larva kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan hingga akhir pengamatan.



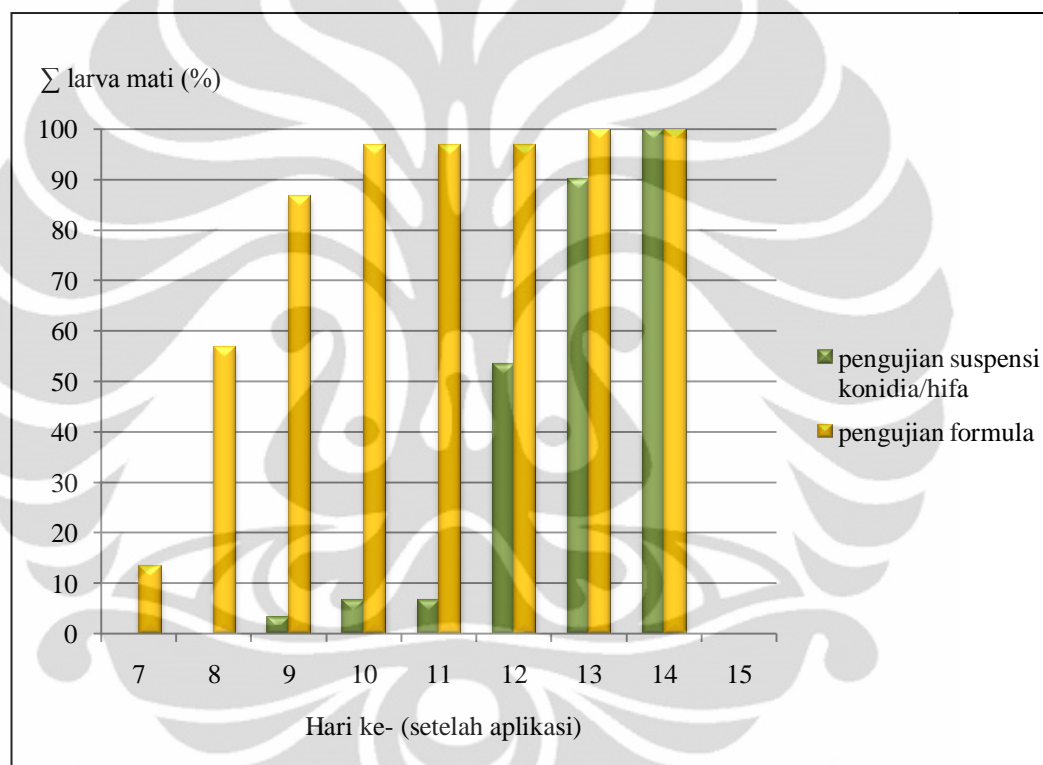
Gambar 4.5(5). Pertumbuhan kapang pada larva mati setelah aplikasi formula  
 [Sumber: Dokumentasi pribadi]

Gejala-gejala infeksi kapang yang timbul pada larva ketika diujikan dengan formula sama seperti gejala infeksi kapang yang timbul pada larva ketika diujikan dengan suspensi konidia/hifa. Hal tersebut menunjukkan bahwa formula



*M. majus* UICC 295 memiliki kemampuan untuk menginfeksi dan membunuh larva, sama seperti ketika menggunakan suspensi konidia/hifa.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kematian larva pada pengujian formula terjadi lebih cepat yaitu pada hari ke-7 hingga hari ke-13, dibandingkan kematian larva pada pengujian suspensi konidia/hifa yaitu hari ke-9 hingga hari ke-14. Persentase kematian larva per hari pada pengujian formula juga lebih besar dibandingkan pada pengujian suspensi konidia/hifa (Gambar 4.5(6)).



Gambar 4.5(6). Grafik perbandingan persentase jumlah larva mati per hari pada pengujian suspensi konidia/hifa dan pengujian formula

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Hasil persentase kematian larva menunjukkan bahwa penggunaan formula lebih baik dibandingkan penggunaan suspensi konidia/hifa saat pengujian terhadap larva *O. rhinoceros*. Diduga, formula berperan sebagai inokulum karena di dalam formula tersebut kapang telah bergerminasi. Dengan demikian, pada saat aplikasi hifa kapang dapat langsung melakukan penetrasi dan menginfeksi larva, sehingga proses kematian larva dapat terjadi lebih cepat. Jagung sebagai

media pembawa dalam formula dapat berfungsi sebagai makanan cadangan bagi kapang. Dengan demikian, konidia/hifa yang belum berhasil menginfeksi larva diduga masih dapat bertahan dengan makanan cadangan tersebut sampai konidia/hifa berhasil menginfeksi larva kembali. Berdasarkan Tortora *dkk.* (2010: 164), inokulum merupakan suatu substrat yang mengandung mikroorganisme. Inokulum dapat berfungsi untuk menginisiasi pertumbuhan mikroorganisme pada substrat yang baru. Berdasarkan Prayogo (2006: 51), media pembawa berfungsi sebagai makanan cadangan bagi kapang sebelum berhasil menginfeksi serangga. Konidia yang gagal menginfeksi serangga masih dapat bertahan dengan makanan cadangan yang berasal dari media pembawa tersebut.

Pada pengujian formula, kapang yang digunakan berasal dari hasil isolasi pada larva mati terinfeksi *M. majus* UICC 295, sedangkan kapang yang digunakan dalam pengujian suspensi konidia/hifa berasal dari biakan *working culture* yang telah disubkultur berulang kali pada medium SDYA. Kapang yang telah disubkultur berulang kali pada medium SDYA diduga mengalami penurunan kemampuan dalam membunuh larva karena pada medium SDYA tidak mengandung kitin, sehingga kapang tidak menghasilkan enzim kitinase. Dengan demikian, ketika kapang tersebut diaplikasikan pada tubuh larva, kapang perlu beradaptasi pada tubuh larva untuk menghasilkan enzim kitinase, sehingga proses infeksi terjadi lebih lama. Kapang yang diisolasi dari larva mati diduga lebih infeksiif karena telah melakukan infeksi pada inangnya yang mengandung kitin, sehingga kapang telah menghasilkan enzim kitinase. Ketika kapang tersebut diaplikasikan pada larva, maka kapang dapat menghasilkan enzim kitinase lebih cepat, sehingga proses infeksi terjadi lebih cepat. Namun demikian, virulensi kapang yang ditumbuhkan pada medium agar pada dasarnya dapat ditingkatkan dengan memodifikasi medium. Modifikasi dapat dilakukan dengan cara penambahan kitin, yaitu dengan memasukkan tubuh larva, kulit udang, atau kulit jangkrik ke dalam medium agar. Berdasarkan Suwahyono (2010: 84), salah satu faktor penyebab penurunan kemampuan kapang dalam menginfeksi inang adalah terlalu banyak dilakukan pembiakan ulang atau subkultur kapang pada medium agar. Berdasarkan Sembel (2010: 184--185), salah satu cara meningkatkan

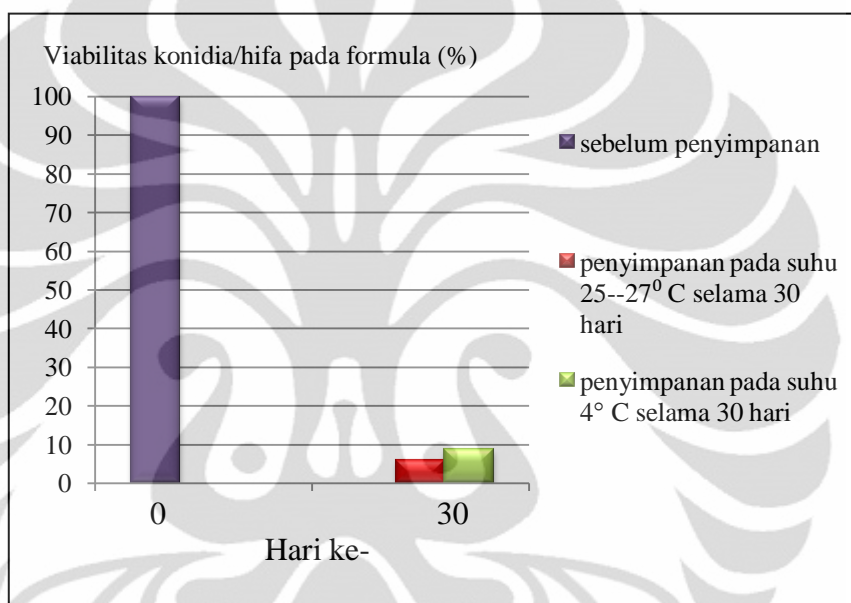
virulensi kapang entomopatogen adalah dengan menginfeksi kapang tersebut pada inangnya secara terus-menerus.

#### **4.6. Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Viabilitas Konidia/Hifa Pada Formula *M. majus* UICC 295**

Penyimpanan formula dilakukan pada dua kondisi suhu yang berbeda selama satu bulan, yaitu pada suhu ruang yang berkisar 25--27° C dan pada suhu 4° C. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas konidia/hifa pada formula. Hasil enumerasi formula sebelum penyimpanan menunjukkan bahwa formula mengandung konidia/hifa sebanyak  $(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$  CFU/g dengan viabilitas konidia/hifa sebesar 100% (Gambar 4.6). Formula yang telah disimpan pada suhu 25--27° C selama satu bulan mengandung konidia/hifa sebanyak  $(1,07 \pm 0,46) \times 10^5$  CFU/g (Tabel 17) dengan viabilitas konidia/hifa sebesar 6,05% (Gambar 4.6). Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula yang disimpan pada suhu 25--27° C mengalami penurunan viabilitas konidia/hifa sebesar 93,95% (Tabel 19). Formula yang telah disimpan pada suhu 4° C selama satu bulan mengandung konidia/hifa sebanyak  $(1,56 \pm 0,63) \times 10^5$  CFU/g (Tabel 18) dengan viabilitas konidia/hifa sebesar 8,81% (Gambar 4.6). Hasil tersebut menunjukkan bahwa formula yang disimpan pada suhu 4° C mengalami penurunan viabilitas konidia/hifa sebesar 91,19% (Tabel 19).

Hasil enumerasi menunjukkan bahwa setelah melalui penyimpanan pada suhu 25--27° C dan suhu 4° C, kapang di dalam formula mengalami penurunan jumlah konidia/hifa yang *viable*, yang mengindikasikan adanya penurunan viabilitas konidia/hifa. Penurunan jumlah dan viabilitas konidia kemungkinan disebabkan pengemasan formula yang tidak vakum, sehingga di dalam kemasan masih terdapat sedikit oksigen. Adanya oksigen menyebabkan kapang masih dapat melakukan respirasi (metabolisme aktif). Namun demikian, jumlah oksigen yang terbatas diduga menyebabkan kematian kapang karena kapang tidak mendapatkan oksigen yang cukup untuk melanjutkan metabolisme. Kapang *M. majus* UICC 295 kemungkinan merupakan kapang aerob obligat yang

membutuhkan oksigen untuk melakukan respirasi. Saat proses penyimpanan, kemasan formula diharapkan berada dalam kondisi vakum. Dengan demikian, kapang di dalam formula diharapkan tidak melakukan metabolisme aktif, sehingga konidia/hifa kapang yang *viable* dapat bertahan lebih lama. Berdasarkan Heritage *dkk.* (1999: 71), kapang adalah mikroorganisme aerob obligat yang memerlukan oksigen di lingkungan. Oksigen tersebut diperlukan untuk melakukan respirasi aerob.



Gambar 4.6. Grafik perbandingan viabilitas konidia/hifa kapang pada formula sebelum penyimpanan, formula yang disimpan pada suhu 25--27° C selama 30 hari, dan formula yang disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Berdasarkan hasil penelitian, penurunan viabilitas konidia/hifa kapang di dalam formula yang mencapai lebih dari 90% mengindikasikan bahwa penyimpanan formula pada suhu 25--27° C dan suhu 4° C selama 30 hari tidak mampu mempertahankan viabilitas konidia/hifa kapang. Oleh karena itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan proses penyimpanan formula *M. majus* UICC 295 yang tepat sehingga formula dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu tanpa mempengaruhi viabilitas konidia/hifa kapang. Wahyudi (2008: 54) melaporkan bahwa formula enkapsulasi *B. bassiana* yang menggunakan media pembawa berupa amilum jagung dan disimpan dalam suhu ruang selama 7, 14,

dan 21 hari mengalami penurunan jumlah konidia *viable* setiap minggunya dari jumlah konidia awal  $1,66 \times 10^8$  CFU/g masing-masing menjadi  $3,31 \times 10^7$ ,  $1,91 \times 10^7$ ,  $6,13 \times 10^6$  CFU/g. Proses metabolisme *B. bassiana* kemungkinan masih berlangsung di dalam media pembawa amilum jagung yang membutuhkan nutrisi, sedangkan kandungan nutrisi di dalam formula terbatas. Akibatnya, banyak konidia *viable* yang mengalami kematian karena tidak mendapat nutrisi yang cukup untuk bergerminasi. Berdasarkan Suwahyono (2010: 60, 100 dan 114), salah satu teknik penyimpanan formula untuk jangka waktu yang lama dapat dilakukan dengan liofilisasi (*freeze-drying*), yaitu penyimpanan dengan cara dikering-dinginkan pada kondisi hampa udara. Keuntungan penyimpanan dengan liofilisasi adalah formula dapat disimpan hingga 1--2 tahun.

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa *M. majus* UICC 295 mampu membunuh larva *O. rhinoceros* dalam pengujian suspensi konidia/hifa kapang dan pengujian formula sebesar 100%, walaupun penyimpanan formula selama 30 hari menyebabkan penurunan viabilitas konidia/hifa kapang dalam formula. Dengan demikian, formula *M. majus* UICC 295 memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bioinsektisida yang dapat dimanfaatkan dalam bidang pertanian dan lebih aman sebagai pengganti penggunaan insektisida kimia untuk mengendalikan larva hama *O. rhinoceros*.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

1. Formula *M. majus* UICC 295 berhasil dibuat menggunakan media pembawa substrat jagung dengan kandungan konidia hidup sebanyak  $(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$  CFU/g.
2. Pengujian formula *M. majus* UICC 295 terhadap larva *O. rhinoceros* mampu membunuh larva 100% dalam waktu 7--13 hari setelah pengujian, lebih cepat dibandingkan pengujian suspensi konidia/hifa yang membunuh larva 100% dalam waktu 9--14 hari setelah pengujian.
3. Suhu dan waktu penyimpanan berpengaruh terhadap viabilitas konidia/hifa kapang dalam formula *M. majus* UICC 295. Formula tidak dapat disimpan pada suhu 25--27° C dan suhu 4° C. Formula yang disimpan pada suhu 25--27° C selama 30 hari mengalami penurunan viabilitas konidia/hifa sebesar 93,95%, yaitu dari viabilitas awal sebesar 100% menjadi 6,05%, dengan jumlah konidia/hifa sebanyak  $(1,07 \pm 0,46) \times 10^5$  CFU/g. Formula yang disimpan pada suhu 4° C selama 30 hari mengalami penurunan viabilitas konidia/hifa sebesar 91,19%, yaitu dari viabilitas awal sebesar 100% menjadi 8,81%, dengan jumlah konidia/hifa sebanyak  $(1,56 \pm 0,63) \times 10^5$  CFU/g.

#### 5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memproduksi formula *M. majus* UICC 295 dalam skala besar untuk aplikasi di lapangan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan proses penyimpanan formula *M. majus* UICC 295 yang tepat sehingga formula dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu tanpa mempengaruhi viabilitas konidia/hifa kapang dan kemampuan kapang dalam membunuh larva *O. rhinoceros*.

3. Perlu dilakukan penelitian untuk menguji formula *M. majus* UICC 295 yang telah melalui penyimpanan terhadap larva *O. rhinoceros* untuk mengetahui pengaruh proses penyimpanan terhadap kemampuan kapang dalam membunuh larva.
4. Perlu dilakukan penelitian untuk pembuatan formula *M. majus* UICC 295 menggunakan media pembawa lain yang lebih mudah diperoleh dan memiliki harga yang terjangkau.



## DAFTAR REFERENSI

- Abdullah, W. 2009. Isolasi dan pengujian kemampuan *Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch., Rehner & Humber sebagai kapang entomopatogen dengan metode pakan pada larva *Oryctes rhinoceros* Linn. Skripsi Sarjana S1 Departemen Biologi FMIPA Universitas Indonesia, Depok: xi + 103 hlm.
- Ahmad, R. Z. 2004. Cendawan *Metarhizium anisopliae* sebagai pengendali hayati ektoparasit caplak dan tungau pada ternak. *Wartazoa* **14**(2): 73--78.
- Ahmad, R. Z. 2008. Pemanfaatan cendawan untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak. *Jurnal Litbang Pertanian* **27**(3): 84--92.
- Allorerung, Z. Mahmud & B. Prastowo. 2008. Peluang kelapa untuk pengembangan produk kesehatan. *Pengembangan Inovasi Pertanian* **1**(4): 298--315.
- Alouw, J. C. 2007. Feromon dan pemanfaatannya dalam pengendalian hama kumbang kelapa *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Buletin Palma* **32**: 12--21.
- American Samoa Community College. 2005. Coconut rhinoceros beetle, pests and diseases of American Samoa. Division of Community & Natural Resources: 1--2.
- Arruda, W., I. Lubeck, A. Schrank, & M. H. Vainstein. 2005. Morphological alterations of *Metarhizium anisopliae* during penetration of *Boophilus microplus* ticks. *Experimental and Applied Acarology* **37**: 231--244.
- Benson. 2001. *Microbiological application lab manual*. 8th ed. McGraw-Hill, New York: xi + 478 hlm.
- Bidochka, M. D. & C. L. Small. 2005. Phylogeography of *Metarhizium*. Dalam: Vega, F. E & M. Blackwell (eds.). 2005. *Fungi Acting against Insects*. Oxford University Press, New York: 28--50.
- Bischoff, J. F., S. A. Rehner & R. A. Humber. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* **101**: 512--530.
- Butt, T. M., N. B. El Hadj, A. Skrobek, W. J. Ravensberg, C. Wang, C. M. Lang, A. Vey, U. Shah & E. Dudley. 2009. Mass spectrometry as a tool for the



- selective profiling of destruxins; their first identification in *Lecanicillium longisporum*. *Rapid Communications In Mass Spectrometry* **23**: 1426--1434.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, L. A. Urry, M. L. Cain, S. A. Wasserman, P. V. Minorsky & R. B. Jackson. 2008. *Biology*. 8th ed. Benjamin Cummings, San Francisco: xlvii + 1267 hlm.
- Deacon, J. W. 2006. *Fungal biology*. 4th ed. Blackwell publishing, USA: vii + 371 hlm.
- Departemen Pertanian. 1993. Baku operasional pengendalian terpadu hama kumbang kelapa (*Oryctes rhinoceros* L.). Direktorat Bina Perlindungan Tanaman Perkebunan, Jakarta: iv + 17 hlm.
- Desyanti, Y. S. Hadi, S. Yusuf & T. Santoso. 2007. Keefektifan beberapa spesies cendawan entomopatogen untuk mengendalikan rayap tanah *Coptotermes gestroi* WASMANN (Isoptera: Rhinotermitidae) dengan metode kontak dan umpan. *Jurnal Ilmu & Teknologi Kayu Tropis* **5**(2): 68--77.
- Dong, C., J. Zhang, H. Huang, W. Chen & Y. Hu. 2006. Pathogenicity of a new China variety of *Metarhizium anisopliae* (*M. anisopliae* var. *Dcjhium*) to subterranean termite *Odontotermes formosanus*. *Microbiological Research* **164**: 27--35.
- Driver, F., R. J. Milner, & J. W. H. Trueman. 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research* **104**(2): 134--150.
- Federici, B. A. & J. V. Maddox. 1996. Host specificity in microbe-insect interactions insect control by bacterial, fungal, and viral pathogens. *BioScience* **46**(6): 410--421.
- Fernando, L. C. P., P. Kanagaratnam & N. K. Narangoda. 1995. Some studies on the use of *Metarhizium anisopliae* (metsch.) sor. for the control of *Oryctes rhinoceros* in Sri Lanka. *Cocos* **10**: 46--52.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari & I. Santoso. 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor, Jakarta: xiv + 136 hlm.

- Gindin, G., S. Levski, I. Glazer & V. Soroker. 2006. Evaluation of the Entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the Red Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Phytoparasitica* **34**(4): 370--379.
- Gindin, G., I. Glazer, A. Mishoutchenko & M. Samish. 2009. Entomopathogenic fungi as a potential control agent against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* in broiler houses. *BioControl* **54**: 549--558.
- Hanson, J. R. 2008. *The chemistry of fungi*. The Royal Society of Chemistry, UK: x + 221 hlm.
- Hashim, N. & Y. B. Ibrahim. 2003. Efficacy of Entomopathogenic Fungi, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *majus* Against *Crocidolomia binotalis* (Lepidoptera; Pyralidae). *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science* **26**(2): 103--108.
- Hasyim, A., H. Yasir & Azwana. 2005. Seleksi substrat untuk perbanyakan *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin dan infektivitasnya terhadap hama penggerek bonggol pisang, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Jurnal Hortikultura* **15**(2): 116--123.
- Herlinda, S., M.D. Utama, Y. Pujiastuti, dan Suwandi. 2006. Kerapatan dan viabilitas konidia *Beauveria bassiana* (Bals.) akibat subkultur dan pengayaan media, serta virulensinya terhadap larva *Plutella Xylpstellata* (Linn.). *Jurnal HPT Tropika* **6**(2): 70--78.
- Hochberg, M. E. & J. K. Waage. 1991. A model for the biological control of *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) by means of pathogens. *Journal of Applied Ecology* **28**: 514--531.
- Hogg, S. 2005. *Essential microbiology*. John Wiley & Sons, England: x + 468 hlm.
- Howard, D. H. 2002. *Pathogenic Fungi in Humans and Animals*. Marcel Dekker, New York: xii + 790 hlm.
- Ihsan, F. & L. Octriana. 2009. Teknik pengujian efektivitas jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* pada media pembawa substrat beras dan jangung untuk mengendalikan lalat buah semilapang. *Buletin Teknik Pertanian*

- 14(2):** 62--64.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko & J. Parker. 2000. *Biology microorganism*. 9th ed. Prentice Hall, London: 991 hlm.
- Nayar, K. K., T. N. Ananthkrishnan & B. V. David. 1976. *General and applied entomology*. McGraw-Hill, New Delhi: xii + 589 hlm.
- Norris, J. R. & D. W. Ribbons. 1969. *Methods in Microbiology*. Academic Press, London: xiv + 712 hlm.
- Okaraonye, C. C. & J. C. Ikewuchi. 2009. Nutritional Potential of *Oryctes rhinoceros* larva. *Pakistan Journal of Nutrition* **8(1)**: 35--38.
- Pracaya. 2007. *Hama dan penyakit tanaman* (edisi revisi). Penebar Swadaya, Depok: 427 hlm.
- Prayogo, Y., W. Tengkano & Marwoto. 2005. Prospek cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk mengendalikan ulat grayak *Spodoptera litura* pada kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian* **24(1)**: 19--26.
- Prayogo, Y. 2006. Upaya mempertahankan keefektifan cendawan entomopatogen untuk mengendalikan hama tanaman pangan. *Jurnal Litbang Pertanian* **25(2)**: 47--54.
- Putra, R. P. 2009. Isolasi dan pengujian kemampuan *Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch., Rehner & Humber sebagai kapang entomopatogen dengan metode kontak langsung pada larva *Oryctes rhinoceros* Linn. Skripsi Sarjana S1 Departemen Biologi FMIPA Universitas Indonesia, Depok: xii + 125 hlm.
- Sambiran, W. J. & M. L. A. Hosang. 2007. Patogenisitas *Metarhizium anisopliae* dari beberapa media air kelapa terhadap *Oryctes rhinoceros* L. *Buletin Palma* (32): 1--11.
- Samson, R. A., H. C. Evans & Jean-Paul Latgé. 1988. *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: xi + 187 hlm.
- Samuels, R. I. 1998. Systematics, morphology and physiology: A sensitive bioassay for destruxins, cyclodepsipeptides from the culture filtrates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* **27(2)**: 229--235.
- Sembel, D. T. 2010. *Pengendalian hayati*. Penerbit Andi Yogyakarta. Yogyakarta: xvi+282 hlm.

- Shah, P. A. & J. K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* **61**: 413--423.
- Shimazu, M. 2004. A novel technique to inoculate conidia of entomopathogenic fungi and its application for investigation of susceptibility of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, to *Beauveria bassiana*. *Applied Entomology and Zoology* **39**(3): 485--490.
- Sjamsuridzal, W. 2006. Sistematika fungi. Dalam: Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oetari (eds.). 2006. *Mikologi: Dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: 68--91.
- Soetopo, D. & I. Indrayani. 2007. Status teknologi dan prospek *Beauveria bassiana* untuk pengendalian serangga hama tanaman perkebunan yang ramah lingkungan. *Perspektif* **6**(1): 29--46.
- Sulistyowati, E., Y. D. Junianto, E. Mufrihati & A. Wahab. 2002. Keefektifan jamur *Paecilomyces fumosoroseus* untuk mengendalikan penggerek buah kakao (*Conopomorpha cramerella*). *Pelita Perkebunan* **18**(3): 120--128.
- Sumbali, G. & R. S. Mehrotra. 2009. Principles of microbiology. McGraw-Hill, New Delhi: xxii + 924 hlm.
- Suwahyono, U. 2010. *Biopestisida, cara membuat dan petunjuk penggunaan*. Penebar Swadaya, Jakarta: iv+164 hlm.
- Tortora, G. J., B. R. Funke & C. L. Case. 2010. *Microbiology an Introduction*. 10th ed. Benjamin Cummings, San Francisco: xxxi + 812 hlm.
- Tzean, S. S., L. S. Hsieh & W. J. Wu. 1997. *Atlas of entomopathogenic fungi from Taiwan*. Council of Agriculture, Taipei: vii + 214 hlm.
- Wahyudi, P. 2008. Enkapsulasi propagul jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* menggunakan alginat dan pati jagung sebagai mikoinsektisida. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* **6**(2): 51--56.
- Wijaya, A., R. Fasti & F. Zulvica. 2007. Efek xenia pada persilangan jagung Surya dengan jagung Srikandi Putih terhadap karakter biji jagung. *Jurnal Akta Agrosia Edisi Khusus* (2): 199--203.

## TABEL

Tabel 1

Hasil pengamatan morfologi secara makroskopik *M. majus* UICC 295 berumur 19 hari pada medium SDYA dengan suhu 22--24° C dalam kondisi gelap

Warna koloni	Diameter koloni (mm)	Tekstur permukaan koloni	Tetes eksudat	Zonasi	Zona pertumbuhan	Warna sebalik koloni	Jari-jari koloni
hijau olive	42,7±0,04	granular	kuning	tidak ada	ada	tidak berwarna (hialin)	tidak ada

Tabel 2

Hasil pengukuran konidia dan hifa *M. majus* UICC 295 dengan mikroskop trinokular pada perbesaran 400x

Ulangan ke-	Konidia		Lebar hifa (µm)
	Panjang (µm)	Lebar (µm)	
1	10,29	2,78	1,93
2	8,05	3,42	1,79
3	9,45	3,11	2,57
4	9,2	2,7	2,65
5	8,21	3,05	1,47
6	9,97	3,03	2,53
7	8,66	3,03	3,22
8	9,26	3,47	1,9
9	11,37	3,37	1,72
10	8,64	2,39	1,32
11	8,25	3,01	2,03
12	7,59	3,32	2,37
13	7,53	2,39	1,38
14	8,25	3,55	1,87
15	8,1	3,35	1,79
16	7,88	2,97	1,82
17	6,19	2,47	2,33
18	10,01	3,53	2,58
19	8,95	2,76	1,72
20	9,57	3,28	1,82

Tabel 3

Pengelompokan larva pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

Kelompok larva	$\Sigma$ larva	Kisaran berat larva (g)	Berat larva rata-rata (g) $\pm$ SD
KPU 1	10	8,3--9,1	8,63 $\pm$ 0,25
KPU 2	10	9,3--9,8	9,49 $\pm$ 0,19
KPU 3	10	9,8--10,5	10,18 $\pm$ 0,29
KK	10	9,2--10,6	9,9 $\pm$ 0,53

Keterangan:

KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1

KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2

KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3

KK = kelompok kontrol

Tabel 4

Pengelompokan larva pada pengujian formula *M. majus* UICC 295

Kelompok larva	$\Sigma$ larva	Kisaran berat larva (g)	Berat larva rata-rata (g) $\pm$ SD
KPU 1	10	8,0--8,3	8,17 $\pm$ 0,11
KPU 2	10	8,3--8,6	8,45 $\pm$ 0,12
KPU 3	10	8,8--9,3	9,09 $\pm$ 0,19
KK	10	7,7--8,0	7,8 $\pm$ 0,14

Keterangan:

KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1

KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2

KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3

KK = kelompok kontrol

Tabel 5

Hasil enumerasi suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 berumur 15 hari

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	Jumlah CFU/ml	$\Sigma$ CFU rata-rata (CFU/ml) $\pm$ SD
Hari ke-3	$10^{-3}$	1	167	$1,67 \times 10^6$	$(2,42 \pm 0,50) \times 10^6$
		2	146		
		3	187		
	$10^{-4}$	1	21	$2,6 \times 10^6$	
		2	28		
		3	29		
	$10^{-5}$	1	2	$3 \times 10^6$	
		2	3		
		3	1		

Tabel 6

Jumlah larva *O. rhinoceros* yang mati, kelembaban relatif, dan suhu ruangan selama 18 hari pengamatan pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

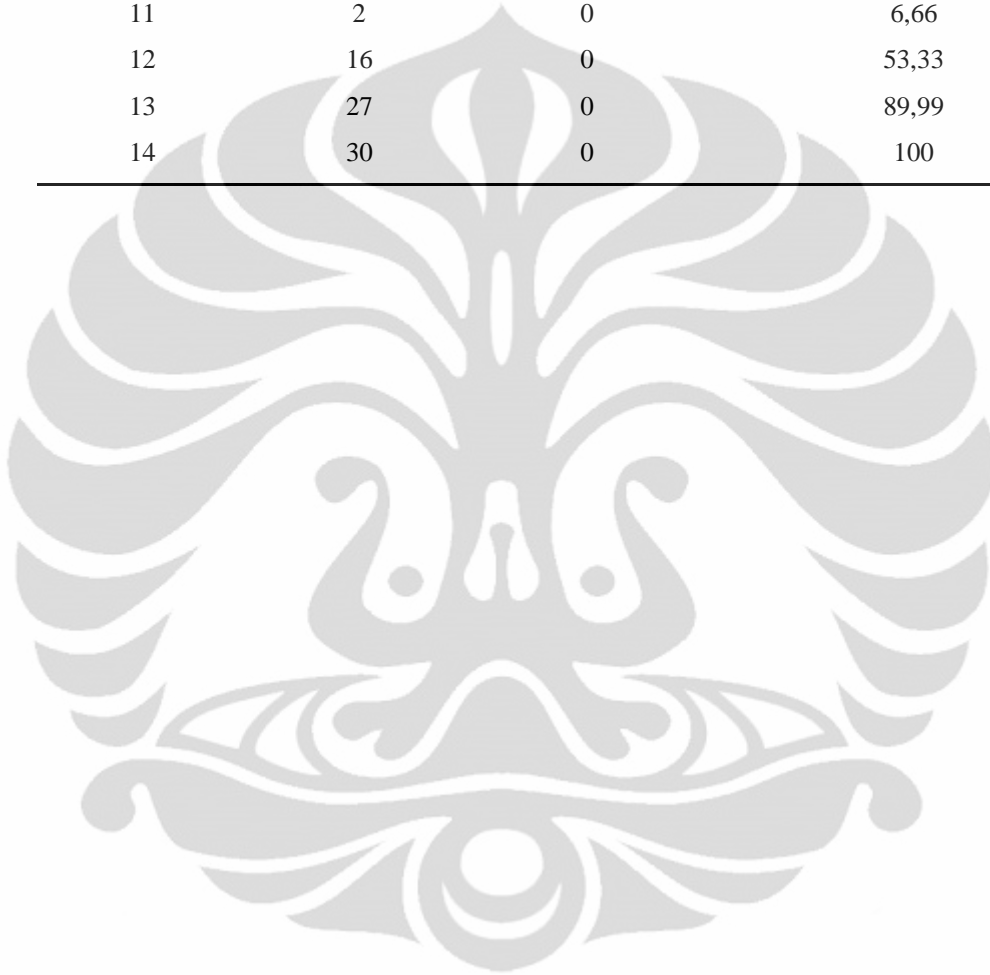
Hari ke-	Jumlah larva yang mati				$\Sigma$ larva mati per hari	Suhu ( $^{\circ}$ C)	Kelembaban (%)
	KPU 1	KPU 2	KPU 3	KK			
0	Perlakuan awal					26,3	84
1	0	0	0	0	0	25,9	84
2	0	0	0	0	0	26,3	94
3	0	0	0	0	0	25,9	94
4	0	0	0	0	0	26,3	95
5	0	0	0	0	0	26,2	96
6	0	0	0	0	0	25,8	92
7	0	0	0	0	0	26,2	91
8	0	0	0	0	0	25,6	96
9	0	1	0	0	1	25,8	97
10	0	1	0	0	1	25,6	96
11	0	0	0	0	0	26,1	92
12	7	3	4	0	14	26,3	89
13	2	4	5	0	11	26,1	97
14	1	1	1	0	3	26,4	88
15	-	-	-	0	-	26,5	85
16	-	-	-	0	-	26,8	89
17	-	-	-	0	-	26,2	91
18	-	-	-	0	-	25,9	96
Total	10	10	10	0	30		
Rata-rata						$27,5 \pm 0,32$	$97 \pm 4,11$

Keterangan: KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1  
 KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2  
 KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3  
 KK = kelompok kontrol

Tabel 7

Persentase kematian larva terkoreksi pada pengujian suspensi konidia/hifa

Setelah aplikasi hari ke-	$\Sigma$ larva perlakuan yang mati	$\Sigma$ larva kontrol yang mati	Kematian larva terkoreksi (%)
9	1	0	3,33
10	2	0	6,66
11	2	0	6,66
12	16	0	53,33
13	27	0	89,99
14	30	0	100





Tabel 8

Berat larva *O. rhinoceros* yang masih hidup setelah pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 (g)

Kode larva	Berat awal larva	Penimbangan hari ke-						
		0	3	6	9	12	15	18
KPU 1.1	8,3	8,4	8,4	8,0	8,0	√	√	√
KPU 1.2	8,4	8,4	8,3	7,7	7,1	√	√	√
KPU 1.3	8,5	9,2	9,7	9,8	10,2	10,2	√	√
KPU 1.4	8,5	9,0	9,6	9,3	9,5	√	√	√
KPU 1.5	8,5	9,3	9,2	9,4	9,4	√	√	√
KPU 1.6	8,6	8,8	10,2	9,8	9,4	√	√	√
KPU 1.7	8,7	9,0	9,1	8,6	8,8	7,0	√	√
KPU 1.8	8,8	9,3	9,2	9,0	9,0	√	√	√
KPU 1.9	8,9	8,8	8,7	8,4	7,8	√	√	√
KPU 1.10	9,1	9,4	9,6	9,0	9,5	9,5	√	√
Rata-rata	8,63 ± 0,25	8,96 ± 0,36	9,20 ± 0,60	8,90 ± 0,72	8,87 ± 0,95	8,90 ± 1,68		
KPU 2.1	9,3	9,5	10,2	10,4	9,2	√	√	√
KPU 2.2	9,3	9,8	9,0	9,8	9,7	√	√	√
KPU 2.3	9,4	9,6	9,9	10,4	9,8	√	√	√
KPU 2.4	9,4	9,9	10,5	10,4	11,0	9,9	√	√
KPU 2.5	9,4	9,7	9,2	9,7	10,5	9,7	√	√
KPU 2.6	9,4	9,6	10,4	11,0	10,4	9,0	√	√
KPU 2.7	9,5	9,8	10,4	9,7	√	√	√	√
KPU 2.8	9,6	10,4	10,6	10,5	10,1	√	√	√
KPU 2.9	9,8	10,1	11,7	9,9	9,8	8,6	√	√
KPU 2.10	9,8	10,0	9,9	10,4	10,7	8,2	√	√
Rata-rata	9,49 ± 0,19	9,84 ± 0,27	10,18 ± 0,76	10,22 ± 0,43	10,13 ± 0,57	9,08 ± 0,72		
KPU 3.1	9,8	9,9	9,9	10,0	10,3	9,3	√	√
KPU 3.2	9,8	10,2	10,3	10,4	10,5	8,6	√	√
KPU 3.3	9,8	10,1	10,8	10,9	11,6	√	√	√
KPU 3.4	10,1	10,5	10,8	10,4	10,4	10,6	√	√
KPU 3.5	10,2	10,1	11,6	9,4	9,4	9,3	√	√
KPU 3.6	10,4	10,6	11,1	11,0	11,7	10,3	√	√
KPU 3.7	10,4	10,5	11,0	10,4	10,8	√	√	√
KPU 3.8	10,4	10,3	11,1	11,0	10,0	√	√	√
KPU 3.9	10,4	10,7	9,3	10,2	10,1	√	√	√
KPU 3.10	10,5	10,8	9,5	11,2	11,3	11,1	√	√
Rata-rata	10,18 ± 0,29	10,37 ± 0,30	10,54 ± 0,76	10,49 ± 0,55	10,61 ± 0,74	9,87 ± 0,95		

Tabel 8 (lanjutan)

Kode larva	Berat awal larva	Penimbangan hari ke-						
		0	3	6	9	12	15	18
KK 1	9,2	10,0	10,7	11,0	10,4	10,7	10,8	10,8
KK 2	9,3	10,0	10,7	10,7	10,8	10,4	9,8	9,5
KK 3	9,4	9,8	11,3	11,4	11,0	11,0	11,4	11,5
KK 4	9,5	10,0	10,8	9,8	10,4	9,9	9,8	9,8
KK 5	9,8	10,1	10,9	10,9	11,1	11,2	11,1	11,1
KK 6	10,1	10,5	10,7	11,2	11,5	11,6	11,6	11,6
KK 7	10,2	10,6	11,4	11,4	11,2	11,1	11,4	11,4
KK 8	10,4	11,1	11,9	12,4	11,4	11,7	11,7	11,4
KK 9	10,5	10,9	11,0	11,4	11,8	11,8	11,9	10,9
KK 10	10,6	10,8	11,1	11,5	11,7	11,7	11,8	11,1
Rata-rata	9,9 ± 0,53	10,38 ± 0,46	11,05 ± 0,39	11,17 ± 0,67	11,13 ± 0,50	11,11 ± 0,63	11,13 ± 0,77	10,91 ± 0,72

Keterangan: KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1  
 KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2  
 KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3  
 KK = kelompok kontrol  
 √ = larva mati

Tabel 9

Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat dan besarnya penurunan berat rata-rata pada pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295

Penimbangan hari ke-	∑ larva yang mengalami penurunan berat	Total larva hidup	Jumlah larva yang mengalami penurunan berat (%)	Penurunan berat rata-rata ± SD
3	9	30	30	0,50±0,54
6	18	30	59,94	0,53±0,58
9	12	29	41,48	0,45±0,36
12	10	16	62,5	1,16±0,72

Tabel 10

Hasil enumerasi suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 yang digunakan untuk produksi biomassa

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	Jumlah CFU/ml	$\Sigma$ CFU rata-rata (CFU/ml) $\pm$ SD
Hari ke-3	$10^{-3}$	1	123	$1,16 \times 10^6$	$(1,14 \pm 0,47) \times 10^6$
		2	120		
		3	106		
	$10^{-4}$	1	14	$1,6 \times 10^6$	
		2	18		
		3	16		
	$10^{-5}$	1	0	$0,67 \times 10^6$	
		2	1		
		3	1		

Tabel 11

Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula sebelum pengeringan

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah CFU	Jumlah CFU/g	$\Sigma$ CFU rata-rata (CFU/g) $\pm$ SD
Hari ke-3	$10^{-3}$	1	104	$0,89 \times 10^6$	$(1,25 \pm 0,54) \times 10^6$
		2	96		
		3	68		
	$10^{-4}$	1	25	$1,87 \times 10^6$	
		2	18		
		3	13		
	$10^{-5}$	1	0	$1 \times 10^6$	
		2	1		
		3	2		

Tabel 12

Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula setelah pengeringan selama 5 hari

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	Jumlah CFU/g	(CFU/g) $\pm$ SD
Hari ke-3	$10^{-3}$	1	99	$1,07 \times 10^6$	$(1,77 \pm 0,73) \times 10^6$
		2	115		
		3	109		
	$10^{-4}$	1	38	$2,53 \times 10^6$	
		2	20		
		3	18		
	$10^{-5}$	1	2	$1,7 \times 10^6$	
		2	1		
		3	2		

Tabel 13

Jumlah larva *O. rhinoceros* yang mati, kelembaban relatif, dan suhu ruangan selama 18 hari pengamatan pada pengujian formula

Hari ke-	Jumlah larva yang mati				$\Sigma$ larva mati per hari	Suhu (°C)	Kelembaban (%)
	KPU 1	KPU 2	KPU 3	KK			
0	Perlakuan awal					26,3	90
1	0	0	0	0	0	25,9	88
2	0	0	0	0	0	25,8	85
3	0	0	0	0	0	26,1	92
4	0	0	0	0	0	25,8	94
5	0	0	0	0	0	25,9	92
6	0	0	0	0	0	26,3	87
7	2	1	1	0	4	26,0	89
8	4	5	4	0	13	26,1	90
9	3	2	4	0	9	25,8	91
10	1	2	0	0	3	26,1	93
11	-	-	0	0	0	25,6	89
12	-	-	0	0	0	25,6	88
13	-	-	1	0	1	25,7	90
14	-	-	-	0	-	26,2	91
15	-	-	-	0	-	25,9	90
16	-	-	-	0	-	26,1	87
17	-	-	-	0	-	26,1	88
18	-	-	-	0	-	25,7	91
Total	10	10	10	0	30		
Rata-rata $\pm$ SD						25,95 $\pm$ 0,22	89,82 $\pm$ 2,27

Keterangan: KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1  
 KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2  
 KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3  
 KK = kelompok kontrol

Tabel 14

Persentase kematian larva terkoreksi pada pengujian formula

Setelah aplikasi hari ke-	$\Sigma$ larva perlakuan yang mati	$\Sigma$ larva kontrol yang mati	Kematian larva terkoreksi (%)
7	4	0	13,33
8	17	0	56,67
9	26	0	86,67
10	29	0	96,67
11	29	0	96,67
12	29	0	96,67
13	30	0	100

Tabel 15

Berat larva *O. rhinoceros* (g) yang masih hidup pada pengujian formula

Kode larva	Berat awal larva	Penimbangan hari ke-						
		0	3	6	9	12	15	18
KPU 1.1	8,0	8,3	8,3	8,0	√	√	√	√
KPU 1.2	8,0	8,2	8,4	8,4	8,1	√	√	√
KPU 1.3	8,1	8,3	8,4	8,3	√	√	√	√
KPU 1.4	8,2	8,1	8,0	8,1	√	√	√	√
KPU 1.5	8,2	8,4	8,5	8,3	√	√	√	√
KPU 1.6	8,2	8,3	8,0	8,2	√	√	√	√
KPU 1.7	8,2	8,0	8,1	7,9	√	√	√	√
KPU 1.8	8,2	8,5	8,4	8,0	√	√	√	√
KPU 1.9	8,3	8,5	8,6	8,5	8,4	√	√	√
KPU 1.10	8,3	8,2	8,2	7,9	√	√	√	√
Rata-rata	8,17 ± 0,11	8,28 ± 0,16	8,29 ± 0,21	8,16 ± 0,21	8,25 ± 0,21			
KPU 2.1	8,3	8,5	8,4	8,2	√	√	√	√
KPU 2.2	8,3	8,1	8,2	8,2	√	√	√	√
KPU 2.3	8,4	8,3	8,3	8,0	√	√	√	√
KPU 2.4	8,4	8,7	8,6	8,3	√	√	√	√
KPU 2.5	8,4	8,5	8,3	8,2	8,2	√	√	√
KPU 2.6	8,4	8,6	8,8	8,4	√	√	√	√
KPU 2.7	8,5	8,5	8,4	8,5	8,3	√	√	√
KPU 2.8	8,6	8,9	9,1	8,8	√	√	√	√
KPU 2.9	8,6	8,4	8,5	8,4	√	√	√	√
KPU 2.10	8,6	8,7	8,6	8,7	8,6	√	√	√
Rata-rata	8,45 ± 0,12	8,52 ± 0,23	8,52 ± 0,27	8,37 ± 0,25	8,37 ± 0,21			
KPU 3.1	8,8	8,1	8,2	8,3	√	√	√	√
KPU 3.2	8,9	8,3	8,3	8,6	√	√	√	√
KPU 3.3	8,9	8,7	8,6	8,8	√	√	√	√
KPU 3.4	9,0	8,5	8,3	8,9	√	√	√	√
KPU 3.5	9,0	8,6	8,8	9,2	√	√	√	√
KPU 3.6	9,2	8,5	8,4	9,3	√	√	√	√
KPU 3.7	9,2	8,9	9,1	9,3	√	√	√	√
KPU 3.8	9,3	8,4	8,5	9,3	√	√	√	√
KPU 3.9	9,3	8,7	8,6	9,5	√	√	√	√
KPU 3.10	9,3	9,2	9,3	9,2	9,3	9,2	√	√
Rata-rata	9,09 ± 0,19	8,59 ± 0,31	8,61 ± 0,36	9,04 ± 0,38	9,3 ± 0	9,2 ± 0		

Tabel 15 (lanjutan)

Kode larva	Berat awal larva	Penimbangan						
		Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15	Hari ke-18
KK 1	7,7	7,9	8,0	8,0	8,1	8,1	7,9	8,4
KK 2	7,7	7,8	8,0	8,4	8,3	8,4	8,4	9,5
KK 3	7,7	8,1	8,1	8,0	8,2	8,2	8,3	8,0
KK 4	7,7	8,0	8,0	8,2	8,2	8,1	8,2	8,6
KK 5	7,7	7,5	7,6	7,9	8,2	8,2	8,4	8,2
KK 6	7,8	7,9	7,7	8,0	7,9	8,0	7,9	8,0
KK 7	7,8	7,7	7,9	7,7	7,8	8,0	8,0	7,6
KK 8	8,0	7,9	7,6	7,7	7,8	7,8	8,0	8,4
KK 9	8,0	8,3	8,3	8,4	8,4	8,3	8,3	8,4
KK 10	8,0	8,1	8,4	8,4	8,5	8,6	8,5	8,7
Rata-rata	7,81 ± 0,14	7,92 ± 0,23	7,96 ± 0,27	8,07 ± 0,27	8,14 ± 0,24	8,17 ± 0,23	8,19 ± 0,22	8,38 ± 0,51

Keterangan: KPU 1 = kelompok perlakuan ulangan 1  
 KPU 2 = kelompok perlakuan ulangan 2  
 KPU 3 = kelompok perlakuan ulangan 3  
 KK = kelompok kontrol  
 √ = larva mati

Tabel 16

Jumlah larva kelompok perlakuan yang mengalami penurunan berat dan besarnya penurunan berat rata-rata pada pengujian formula

Penimbangan hari ke-	∑ larva yang mengalami penurunan berat (ekor)	Total larva hidup (ekor)	∑ larva yang mengalami penurunan berat (%)	Penurunan berat rata-rata (g) ± SD
3	14	30	46,67	0,13±0,07
6	22	30	73,33	0,23±0,16
9	4	6	66,67	0,18±0,10
12	1	1	100	0,1±0

Tabel 17

Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula yang disimpan pada suhu 25--27° C selama satu bulan

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	Jumlah CFU/ml/g	Σ CFU rata-rata (CFU/g) ± SD
Hari ke-3	10 <sup>-2</sup>	1	99	0,96 x 10 <sup>5</sup>	(1,07±0,46) x 10 <sup>5</sup>
		2	87		
		3	103		
	10 <sup>-3</sup>	1	14	1,57 x 10 <sup>5</sup>	
		2	22		
		3	11		
	10 <sup>-4</sup>	1	1	0,67 x 10 <sup>5</sup>	
		2	0		
		3	1		

Tabel 18

Hasil enumerasi konidia/hifa pada formula yang disimpan pada suhu 4° C selama satu bulan

Waktu	Pengenceran	Pengulangan	Jumlah koloni	Jumlah CFU/ml/g	Σ CFU rata-rata (CFU/g) ± SD
Hari ke-3	10 <sup>-2</sup>	1	112	1,07 x 10 <sup>5</sup>	(1,56±0,63) x 10 <sup>5</sup>
		2	109		
		3	101		
	10 <sup>-3</sup>	1	26	2,27 x 10 <sup>5</sup>	
		2	24		
		3	18		
	10 <sup>-4</sup>	1	2	1,33 x 10 <sup>5</sup>	
		2	2		
		3	0		

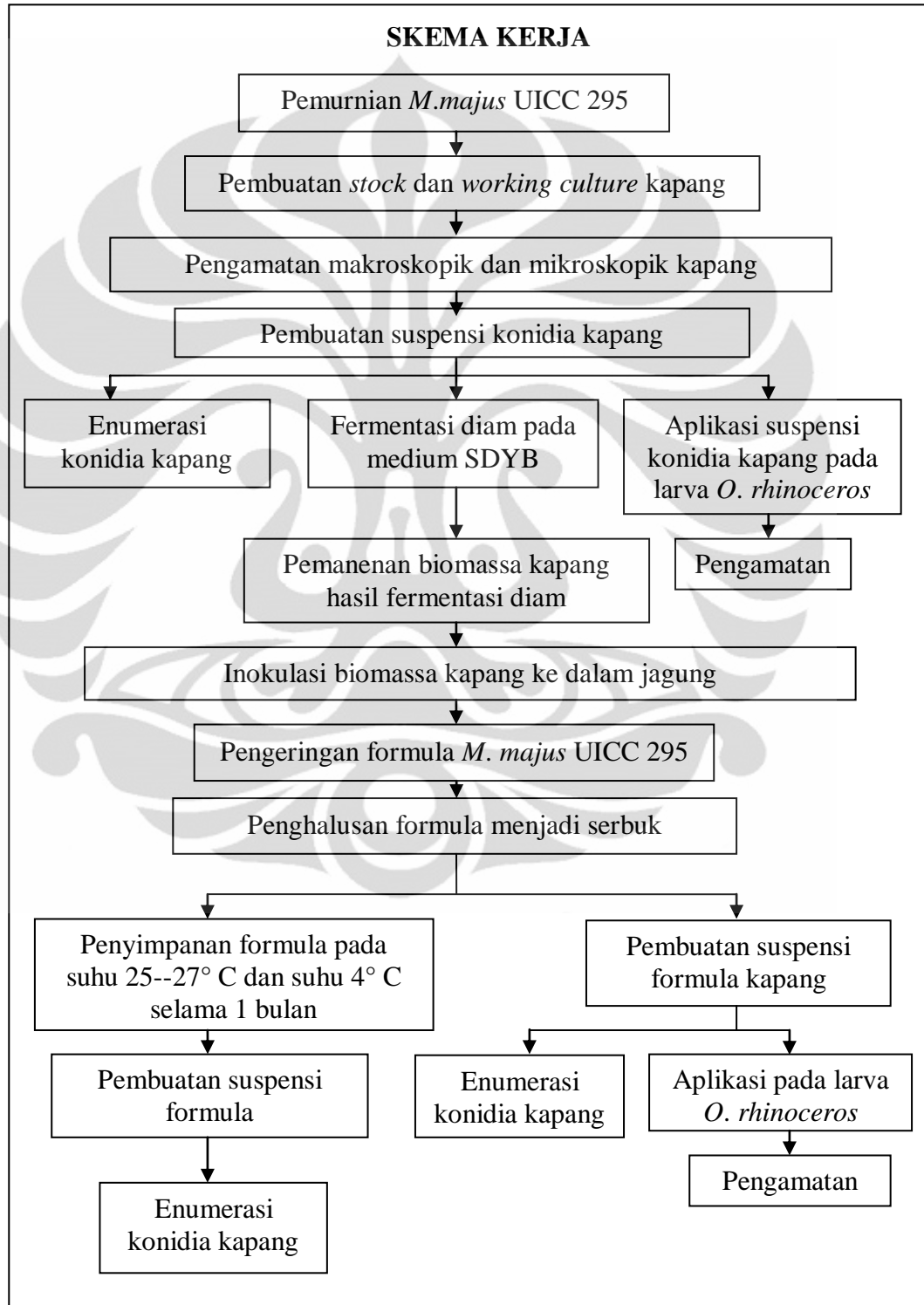
Tabel 19

Data jumlah CFU/g dan viabilitas konidia/hifa pada formula sebelum penyimpanan, formula yang disimpan pada suhu 25--27° C, dan formula yang disimpan pada suhu 4° C

Formula sebelum penyimpanan		Formula yang disimpan pada suhu 25--27° C		Formula yang disimpan pada suhu 4° C	
Σ CFU/g	Viabilitas konidia/hifa (%)	Σ CFU/g	Viabilitas konidia/hifa (%)	Σ CFU/g	Viabilitas konidia/hifa (%)
(1,07--2,53) x 10 <sup>6</sup>	100	(0,67--1,57) x 10 <sup>5</sup>	6,05	(1,07--2,27) x 10 <sup>5</sup>	8,81

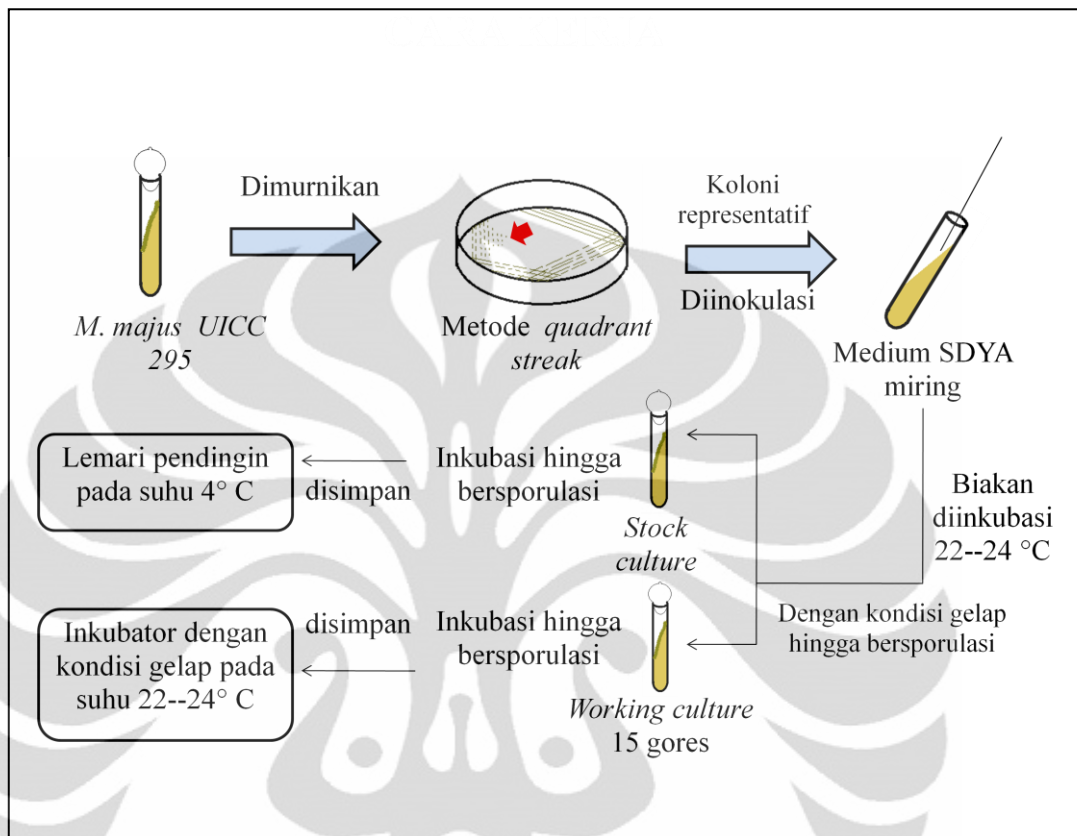
## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Skema kerja penelitian



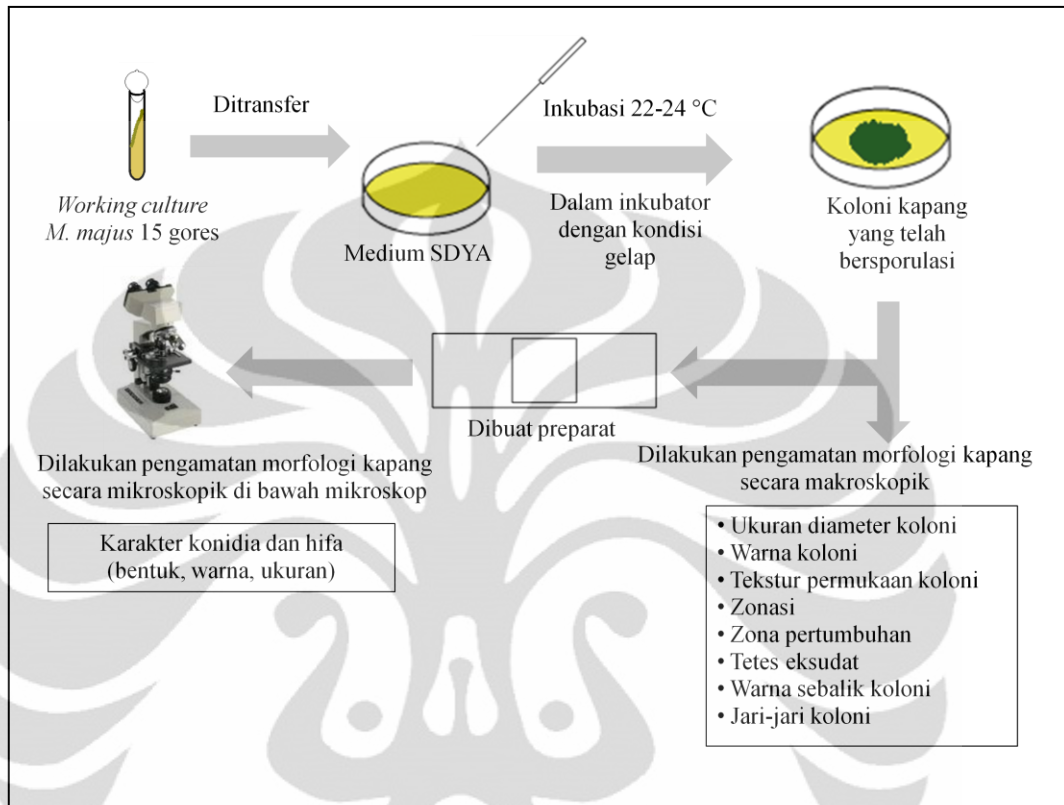


## Lampiran 2

Skema pembuatan *stock* dan *working culture* *M. majus* UICC 295

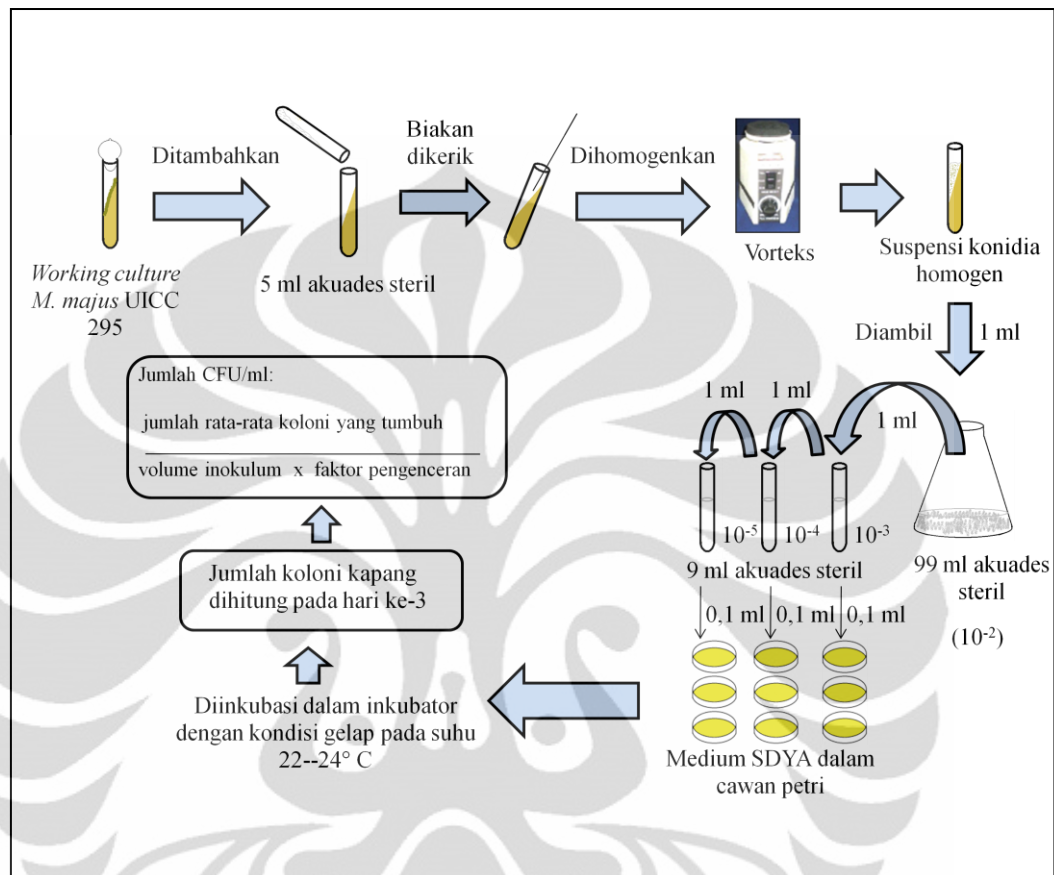
## Lampiran 3

Skema pengamatan morfologi *M. majus* UICC 295 secara makroskopik dan mikroskopik



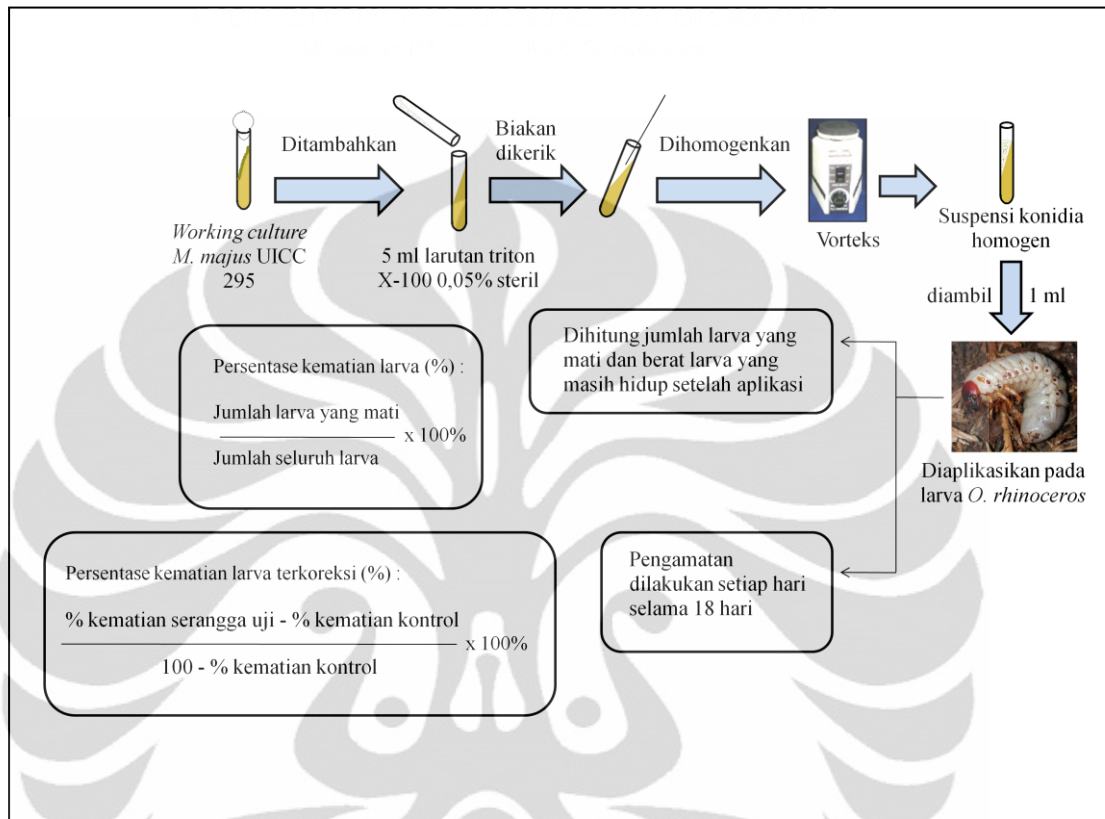
## Lampiran 4

Skema enumerasi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 menggunakan metode TPC

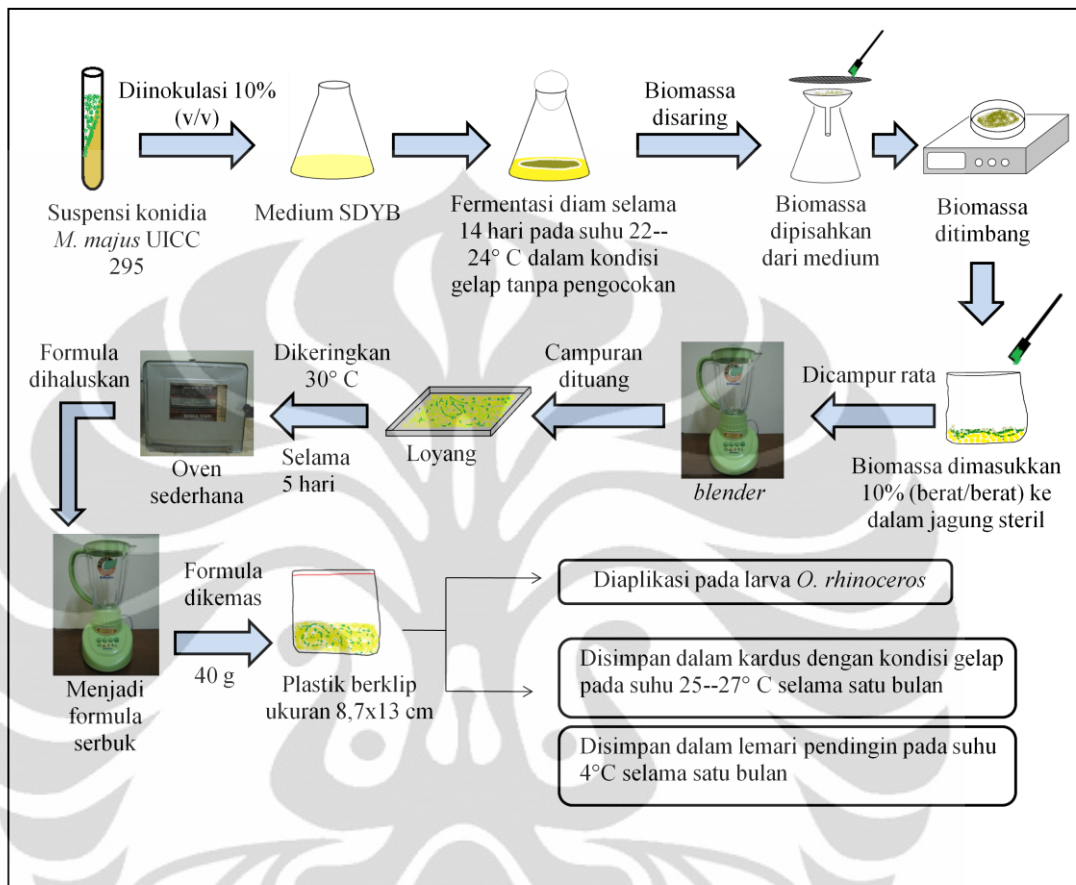


## Lampiran 5

Skema pengujian suspensi konidia/hifa *M. majus* UICC 295 terhadap larva *O. rhinoceros* melalui aplikasi kontak langsung

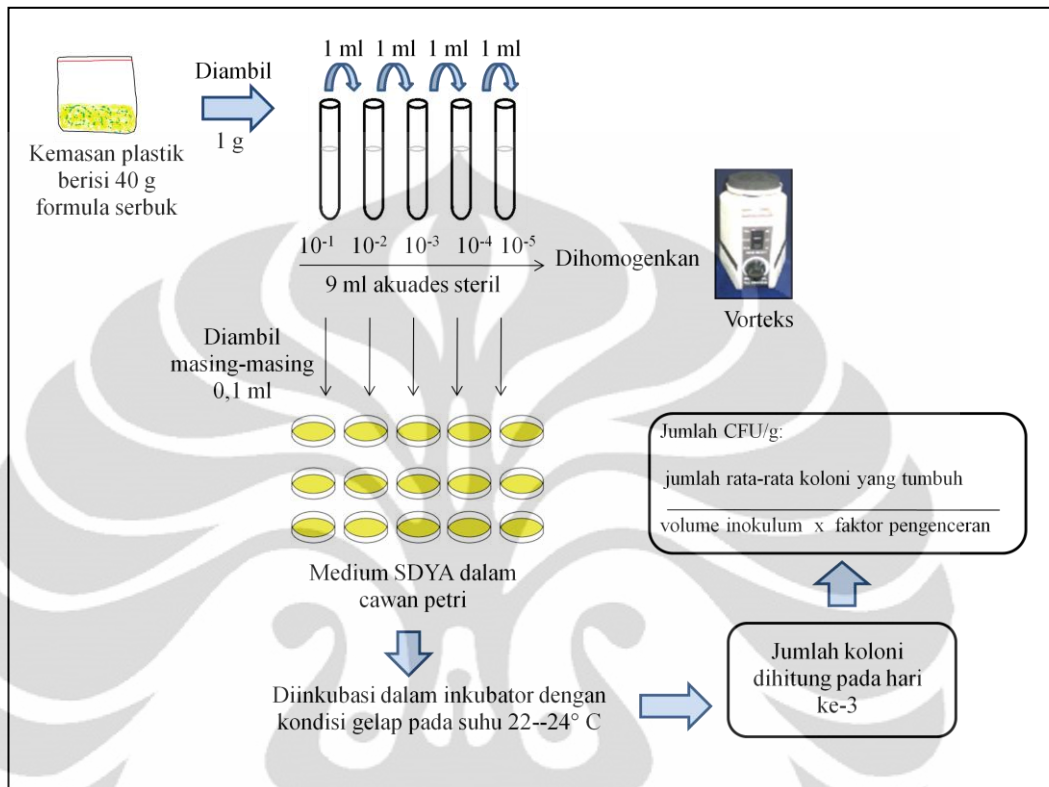


## Lampiran 6

Skema pembuatan formula *M. majus* UICC 295

## Lampiran 7

Skema enumerasi konidia/hifa pada formula *M. majus* UICC 295 menggunakan metode TPC



## Lampiran 8

Skema pengujian formula *M. majus* UICC 295 terhadap larva *O. rhinoceros*