



**PEMBIAKAN MASSAL *Beauveria bassiana* (Bals.) PADA MEDIA
CAIR DAN VIRULENSINYA TERHADAP ULAT KUBIS
Plutella xylostella (L.)**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan
Program Strata Satu Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Pada
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Asal:	Hadiah	Klass
	Persembahan	632.7
Terima Tgl :	26 FEB 2002	ZAM
No. Induk :	0356	p
KLASIR / PENYALIN:		e.1

Oleh

MUHAMMAD ZAMRONI
NIM. 971510401060

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

2002

PEMBIMBING

Dr. Ir. Suharto, MSc (DPU)

Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS (DPA)

Diterima oleh

Fakultas Pertanian Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 7 Pebruari 2002

Tempat : Fakultas Pertanian

Tim Penguji

Ketua

Dr. Ir. Suharto, MSc
NIP. 131 415 809

Anggota I

Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS
NIP. 130 531 982

Anggota II

Ir. Wagivana, MP
NIP. 131 759 840

Mengesahkan

Dekan,




H. Ane Mudjiharjati, MS
NIP. 130 609 808

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Alloh SWT. atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan laporan hasil penelitian dalam bentuk Karya Tulis Ilmiah (Skripsi) dengan judul Pembiakan Massal *Beauveria bassiana* (Bals.) Pada Media Cair dan Virulensinya Terhadap Ulat Kubis *Plutella xylostella* (L.). Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan pendidikan jenjang strata satu dalam bidang ilmu pertanian dan sebagai pertanggungjawaban hasil penelitian.

Selama penelitian sampai penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada.

1. Dekan dan Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengenyam pendidikan strata satu di Fakultas Pertanian khususnya di Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan.
2. Dr. Ir. Suharto, MSc., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan Karya Tulis Ilmiah.
3. Ir. Wagiyana, MP, selaku Penguji Anggota II.
4. Semua pihak yang telah memberikan dorongan baik moril maupun materiil selama penelitian sampai penulis berhasil mempertanggungjawabkan hasil penelitian ini.

Semoga Karya Tulis Ilmiah yang telah tersusun ini bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 7 Pebruari 2002

Penulis

ABSTRAK

Muhammad Zamroni. 97-1060. Pembiakan Massal *Beauveria bassiana* (Bals.) Pada Media Cair dan Virulensinya Terhadap Ulat Kubis *Plutella xylostella* (L.)

Isolat *Beauveria bassiana* (Bals.) dari inang larva lepidoptera (Bb-1) telah terbukti dapat dibiakkan secara massal pada media cair dan mampu menyebabkan kematian *Plutella xylostella*. Pembiakan massal isolat *B. bassiana* pada media cair air kelapa, Ekstrak Kentang Gula (EKG) dan PDA-Cuka (PDAC) dan uji virulensinya terhadap ulat kubis *P. xylostella* telah dilakukan di Laboratorium Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Isolat Bb-1 dibiakkan secara massal untuk mengetahui kepekatan spora yang dihasilkan, perkecambahan dan berat kering koloni per 100 ml suspensi spora, sedangkan virulensi ditentukan oleh mortalitas, LT_{50} dan LD_{50} . Jumlah spora yang dihasilkan dari media air kelapa, EKG dan PDAC berturut-turut $2,34 \times 10^7$, $1,83 \times 10^7$ dan $2,07 \times 10^7$ spora/ml dengan perkecambahan spora pada 72 jam sebesar 100 persen (air kelapa dan EKG) dan 99,56 persen (PDAC); dan berat kering koloni 0,12 g/100ml pada air kelapa dan 0,08 g/100ml suspensi spora pada EKG dan PDAC. Mortalitas tertinggi terjadi pada aplikasi Bb-1 dari media EKG (73,33 persen) dengan nilai LT_{50} terendah dari media air kelapa (3,81 hari). Nilai LD_{50} terendah ($7,01 \times 10^5$ spora/ml) diperoleh dari media EKG. Peningkatan mortalitas terjadi akibat konsentrasi yang semakin tinggi (10^4 sampai 10^7 spora/ml).

Kata Kunci: *Beauveria bassiana*, pembiakan massal, *Plutella xylostella* dan virulensi

RINGKASAN

Muhammad Zamroni. 971510401060. Pembiakan Massal *Beauveria bassiana* (Bals.) Pada Media Cair dan Virulensinya Terhadap Ulat Kubis *Plutella xylostella* (L.) (dengan Dosen Pembimbing Utama Dr. Ir. Suharto, MSc dan Dosen Pembimbing Anggota Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS.)

Di Indonesia kubis merupakan tanaman sayuran penting bagi masyarakat khususnya petani. Usaha meningkatkan produksi kubis sampai saat ini masih mengalami hambatan terutama adanya serangan hama ulat kubis *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Pengendalian *P. xylostella* dengan insektisida menimbulkan dampak negatif. Sebagai alternatif pengendalian yang berwawasan lingkungan ialah pengendalian hayati menggunakan cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana*. Cendawan tersebut akhir-akhir ini banyak dikembangkan melalui pembiakan massal pada media cair.

Isolat cendawan *B. bassiana* (Bb-1) diperoleh dari inang larva lepidoptera dalam bentuk spora kering dan dibiakkan pada media cair air kelapa, Ekstrak Kentang Gula (EKG) dan PDA Cuka (PDAC) selama tujuh hari. Pembiakan massal dilakukan untuk mengetahui produksi spora/ml, jumlah spora berkecambah dan berat kering koloni per 100 ml suspensi. Isolat hasil pembiakan massal diuji pada *P. xylostella* untuk mengetahui pengaruhnya terhadap mortalitas, nilai LT_{50} dan LD_{50} . *P. xylostella* yang diuji ialah larva instar tiga. Ulat kubis diperoleh dari pertanaman kubis yang terserang hama tersebut di daerah Sumpersari dan Ambulu Kabupaten Jember dan ditangkarkan di Laboratorium Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Produksi spora diamati tujuh hari setelah spora diinokulasikan ke dalam media cair untuk menentukan kerapatan spora per ml. Jumlah spora yang berkecambah dihitung dari 100 spora yang diamati. Virulensi isolat *B. bassiana* dari media cair yang ditentukan berdasarkan mortalitas, nilai LT_{50} dan LD_{50} pada konsentrasi suspensi spora dengan kepekatan 10^4 , 10^5 , 10^6 dan 10^7 spora/ml. Suspensi spora yang digunakan sebanyak 10 mikroliter dan diinokulasikan dengan cara tetesan menggunakan mikrometer syringe.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa produksi spora, perkecambahan spora dan berat kering koloni per 100 ml tidak berbeda pada masing-masing perlakuan. Produksi spora dari media yang diuji (air kelapa, EKG dan PDAC) sebesar $2,34 \times 10^7$, $1,83 \times 10^7$ dan $2,07 \times 10^7$ spora/ml. Jumlah spora berkecambah setelah 72 jam panen spora yang dihasilkan dari media air kelapa dan EKG masing-masing sebesar 100 persen, dan dari media PDAC sebesar 99,56 persen. Berat kering koloni per 100 ml suspensi tertinggi diperoleh dari media air kelapa (0,12 g/100 ml) dan terendah dari media EKG dan PDAC (0,08 g/100 ml). Isolat Bb-1 yang dibiakkan pada media air kelapa menunjukkan nilai LT_{50} terendah (3,81 hari), dan yang dibiakkan pada media EKG nilai LD_{50} terendah sebesar $7,01 \times 10^5$ spora/ml. Konsentrasi suspensi *B. bassiana* sangat berpengaruh terhadap mortalitas *P. xylostella*. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan akan meningkatkan mortalitas *P. xylostella*. Mortalitas tertinggi pada konsentrasi 10^7 spora/ml sebesar 73,33 persen (EKG) dan 70 persen (air kelapa dan PDAC). Berdasarkan jumlah spora yang dihasilkan, perkecambahan spora, berat kering koloni, dan nilai LT_{50} terendah isolat *B. bassiana* yang dibiakkan pada media air kelapa lebih baik daripada media lain. Namun apabila ditinjau dari mortalitas dan nilai LD_{50} terendah isolat *B. bassiana* yang dibiakkan sehingga media EKG lebih baik dari pada media air kelapa dan PDAC.

Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember, Tahun 2002

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan.....	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan Penelitian.....	2
1.3 Hipotesis.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Hama Kubis <i>Plutella xylostella</i> (L.).....	3
2.2 Cendawan Entomopatogen <i>Beauveria bassiana</i>	4
2.3 Mekanisme Penetrasi <i>B. bassiana</i> Pada Serangga.....	4
2.4 Pemanfaatan <i>B. bassiana</i> Sebagai Agens Hayati Dalam Pengendalian Hama.....	5
2.5 Produksi Massal <i>B. bassiana</i>	6
III. BAHAN DAN METODE	
3.1 Bahan dan Alat.....	8
3.2 Metode Penelitian.....	8
IV. PEMBAHASAN	
4.1 Produksi dan Perkecambahan Spora Serta Berat Kering Koloni <i>B. bassiana</i>	13
4.2 Pengaruh Media Cair Terhadap Virulensi Isolat <i>B. bassiana</i>	15
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	19
5.2 Saran.....	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN	25

DAFTAR GAMBAR

Nomor	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Rangkaian Fermentor Sangat Sederhana (a) Aerator; (b) $KmnO_4$; (c) Penyaring Udara; (d) Media Cair, dan (e) Aquades	9
2.	Proses Perkecambahan Spora <i>B. bassiana</i> (a) Pembentukan Buluh Kecambah (b) Pembentukan Buluh Kecambah Baru Pada Sisi Lain.....	14
3.	Hubungan Antara Log Waktu dengan Probit Mortalitas <i>P. xylostella</i>	17
4.	Hubungan Antara Log Konsentrasi <i>B.bassiana</i> dengan Probit Mortalitas <i>P. xylostella</i>	18

DAFTAR TABEL

Nomor	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Komposisi dan Kandungan Karbohidrat Air Kelapa	7
2.	Pengaruh Media Cair Terhadap Produksi, Perkecambahan Spora, Berat Kering Koloni <i>B. bassiana</i> dan Mortalitas <i>P. xylostella</i> ...	14
3.	Mortalitas <i>P. xylostella</i> Pada Pengujian Aplikasi dengan Spora Isolat <i>B. bassiana</i> Yang Ditumbuhkan Pada Media Cair Berbeda	16
4.	Nilai LT_{50} dan LD_{50} Suspensi Spora Isolat <i>B. bassiana</i> yang Dihasilkan Dari Tiga Macam Media Cair yang Diaplikasikan Pada <i>P. xylostella</i>	17

I. PENDAHULUAN



Unit UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Salah satu kendala rendahnya produksi kubis ialah terjadinya serangan hama, salah satu hama penting diantaranya adalah ulat kubis *Plutella xylostella* (L.) (Udiarto dan Sastrosiswojo, 1997). Suara Karya (1990) memberitakan bahwa pada tahun 1990 di daerah Pacet Jawa Barat tanaman kubis rusak berat sehingga menurunkan harga jual kubis di pasaran. Menurut (Sudarwohadi, 1975 dalam Setiawati, 2000) kehilangan hasil panen dapat mencapai 100 persen pada musim kemarau apabila tidak dilakukan pengendalian.

Di Indonesia, pengendalian hama *P. xylostella* masih mengandalkan pengendalian secara kimiawi yaitu menggunakan insektisida. Kecenderungan menggunakan insektisida yang berlebihan dapat menimbulkan dampak negatif seperti resistensi, re-surjensi dan letusan hama kedua serta dapat mengganggu kesehatan manusia dan pencemaran lingkungan (Untung, 1996). Menurut Sastrosiswojo *et al.* (1989 dalam Udiarto dan Sastrosiswojo, 1997) penggunaan insektisida terutama golongan organofosfat, benzil urea dan piretroid sintetik menimbulkan resistensi terhadap *P. xylostella* strain Lembang, sedangkan Rumbayan (1996) melaporkan strain Tawangmangu, Pacet dan Kopeng resisten terhadap fenvalerat. Oleh karena itu untuk menghindari dampak negatif akibat penggunaan insektisida tersebut, pemerintah dewasa ini mulai mencurahkan perhatiannya pada pengendalian hayati.

Pengendalian hama secara hayati merupakan salah satu komponen dalam pengendalian hama terpadu (PHT) dan sebagai salah satu alternatif pengendalian hama yang berwawasan lingkungan (Oka, 1995). Salah satu agens hayati yang digunakan pada pengendalian hayati misalnya dari jenis mikrobial yaitu *Bacillus thuringiensis* Berliner (Rukmana, 1997), meskipun menurut Tabashnik *et al.* (1990) penggunaan *B. thuringiensis* tidak efektif karena telah menyebabkan resistensi *P. xylostella* di Hawaii. Agens hayati berupa cendawan juga dilaporkan dapat mengendalikan *P. xylostella* seperti cendawan *Entomophthora sphaerosperma* Fres. (Sudarmo, 1991), dan *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin yang efektif mengendalikan larva *P. xylostella* instar dua (Ibrahim dan Low, 1993).

Cendawan *B. bassiana* dikenal sebagai cendawan entomopatogen yang akhir-akhir ini banyak dikembangkan sebagai insektisida hayati untuk mengendalikan serangga hama (Untung dan Mangoendihardjo, 1993), dan dikenal sebagai mikoinsektisida (Wahyudi, 1999).

Pengembangan *B. bassiana* sebagai agens hayati melalui pembiakan massal telah banyak dilakukan pada media buatan, baik media padat maupun media cair (Samsinakova, 1966). Gabriel (1989) mengemukakan bahwa beberapa media buatan sederhana yang dapat digunakan dalam perbanyakan *B. bassiana* adalah beras, gandum dan jagung. Prasetyono dan Warnoto (1997) melaporkan di Balai Proteksi Tanaman Perkebunan (BPTP) Jawa Timur untuk pembiakan massal *B. bassiana* digunakan media cair Alioshina, ekstrak kentang gula (EKG) dan PDA-Cuka (PDAC).

Produksi massal *B. bassiana* pada media cair membutuhkan fermentor yang besar dan biaya yang mahal, untuk mengatasi hal tersebut diusahakan fermentor sangat sederhana tanpa mengurangi virulensinya yang telah dilakukan uji pembiakan pada media cair (air kelapa, EKG dan PDA-cuka) dan hasilnya telah diuji terhadap mortalitas *P. xylostella*.

1.2 Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk mengetahui produksi spora, kemampuan spora berkecambah, berat kering koloni dari hasil pembiakan massal *B. bassiana* pada media cair air kelapa, EKG, PDAC dan virulensinya terhadap *P. xylostella*.

Hasil penelitian bermanfaat sebagai informasi tentang pembiakan massal cendawan entomopatogen *B. bassiana* pada media cair yang nantinya dapat diaplikasikan dalam mengendalikan hama *P. xylostella* di lapangan.

1.3 Hipotesis

1. Cendawan entomopatogen *B. bassiana* dapat dibiakkan secara massal pada media cair air kelapa, EKG dan PDAC menggunakan fermentor sangat sederhana.
2. *B. bassiana* hasil dari pembiakan massal memiliki virulensi yang tinggi sehingga menyebabkan mortalitas pada *P. xylostella* (L.).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hama Kubis *Plutella xylostella* L.

P. xylostella merupakan hama utama pada tanaman kubis di Indonesia (Setiawati, 2000). Hama tersebut tergolong dalam ordo Lepidoptera, famili Plutellidae yang sering disebut ulat tritip (Pracaya, 1993), hama krancang atau hama wayang (Rukmana, 1997). Hama tersebut tersebar di seluruh dunia di daerah tropis, sub tropis, dan daerah sedang (*temperate*) (Kalshoven, 1981).

Menurut Kalshoven (1981) gejala yang ditimbulkan oleh *P. xylostella* ialah pada daun kelihatan bercak-bercak berwarna putih karena yang dimakan hanya daging daun sedangkan kulit ari permukaan daun bagian atas tidak dimakan. Apabila kulit ari menjadi kering maka akan sobek dan kelihatan berlubang-lubang. Menurut Pracaya (1993) bila serangan yang sangat berat yang tertinggal hanya tulang-tulang daun.

Siklus hidup *P. xylostella* mengalami metamorfosis sempurna dari telur, larva, pupa, dan ngengat. Telur berbentuk bulat panjang berwarna kuning dengan ukuran panjang 0,6 mm dan lebar 0,3 mm (Rukmana, 1997). Pada ketinggian sampai 250 m di atas permukaan laut (dpl) masa telur berlangsung selama dua hari dan pada ketinggian 1100–1200 m dpl selama empat hari (Pracaya, 1993). Larva terdiri dari empat instar (Mau dan Kessing, 1992). Larva yang baru menetas berwarna hijau pucat sedangkan yang dewasa berwarna hijau tua dengan kepala lebih pucat dan terdapat bintik-bintik atau garis coklat dengan panjang 9–10 mm, lincah dan jika tersentuh akan menjatuhkan diri (Rukmana, 1995).

Fase larva berlangsung selama sembilan hari pada ketinggian 250 m dpl dan 12 hari pada ketinggian 1100–1200 m dpl. Pupa terbungkus kokon yang terletak di bawah permukaan daun yang terlindung selama tujuh hari hingga terbentuk imago. Imago berupa ngengat yang berlangsung selama 2 – 4 minggu dengan panjang mencapai 1,25 cm. Imago jantan dan betina ukuran tubuhnya sama dan aktif pada malam hari (Kalshoven, 1981). Imago berwarna coklat keabu-abuan dan sewaktu istirahat terlihat tiga bintik segi empat berwarna putih kekuning-kuningan, mengkilat serta

berhimpitan pada sayap depannya sehingga dikenal dengan nama *diamond back moth* (Yunita, 1996) atau ngengat punggung berlian (Kalshoven, 1981). Menurut Rukmana (1997) imago mampu bertelur 180–320 butir yang diletakkan secara terpisah dibawah permukaan daun sebanyak 1-3 butir dalam satu kelompok.

Edaran hidup *P. xylostella* membutuhkan waktu 12–15 hari pada ketinggian 250 m dpl dan 20–25 hari pada ketinggian 1100–1200 m dpl. (Pracaya, 1993).

2.2 Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

Cendawan entomopatogen *B. bassiana* dikenal dengan nama Muscardine putih yang pertama kali diketahui sebagai penyebab kematian ulat sutera (*Bombyx mori*) di Perancis dan Italia. Muscardine putih merupakan gambaran dari serangga yang terinfeksi oleh *B. bassiana* seperti mummi berwarna putih (Steinhaus, 1949).

B. bassiana merupakan jenis cendawan yang tergolong dalam kelas Deuteromycetes (Fungi Imperfecti) ordo Moniliales, famili Moniliaceae. Pertumbuhan dalam media padat berbentuk koloni putih seperti kapas. Konidiofor yang fertil bercabang-cabang secara zig-zag dan pada ujungnya berbentuk spora atau konidia. Konidia bersel satu berbentuk bulat sampai oval berukuran 2-3 mikron (Haryono dkk., 1993). Menurut Suwarso dkk. (1995) cendawan *B. bassiana* memiliki bentuk miselia yang lepas seperti anyaman tikar yang kuat. Bagian ini berfungsi sebagai alas dari struktur konidianya. Cendawan ini bila ditumbuhkan pada media PDA secara karakteristik menghasilkan bentukan seperti tepung atau kapur dengan permukaan yang rata dan agak padat, pada perkembangan selanjutnya akan membubuk.

2.3 Mekanisme Penetrasi *B. bassiana* Pada Serangga

B. bassiana mengadakan penetrasi ke dalam tubuh serangga melalui kulit di antara ruas-ruas tubuh. Mekanisme penetrasi dimulai dengan pertumbuhan spora pada kutikula melalui kontak antara inokulum cendawan dengan serangga, selanjutnya hifa mengeluarkan enzim khitinase, lipase, dan proteinase yang mampu menguraikan komponen penyusun kutikula serangga. Di dalam tubuh serangga hifa *B. bassiana* berkembang dan selanjutnya memasuki peredaran darah (Cheung dan Grula, 1982). Menurut Robert (1981) cendawan *B. bassiana* juga menyebabkan kerusakan jaringan

penggulung daun (*Hamona coffearia*), ulat kompeni (*Androphaga dipunctata*), kumbang tanah (*Uloma sp.*) dan ulat bugbrug (*Metanastria hirta*) dengan daya bunuh 70–100 persen.

Menurut Marcandier dan Khachatourians (1987 dalam Khachatourians, 1992) *B. bassiana* juga mampu menginfeksi belalang (*Melanoplus sanguiripes*), demikian pula pada ulat grayak (*Spodoptera litura*) (Jauharlina, 1999), *Helicoverpa armigera* (Suharto dkk., 1998), penghisap buah/pucuk kakao (Sudarmadji, 1994), dan penggerek batang/cabang kakao (Utomo dkk., 1991).

2.5 Produksi massal *B. bassiana*

Di Indonesia pengembangan *B. bassiana* pada beberapa media telah banyak dilakukan mulai skala kecil (petri – beberapa kilogram) sampai dengan skala besar (ratusan kilogram) (Wikardi, 1993), dan media yang banyak dipakai adalah media beras, jagung, gandum (Gabriel, 1989), tepung jagung, ekstrak yeast (Kucera, 1970) dan kentang (Steinhaus, 1949). Menurut Prasetyono dan Warnoto (1997) *B. bassiana* dapat dibiakkan dengan menggunakan media cair Alioshina, PDA-Cuka dan ekstrak kentang gula (Prasetyono dan Warnoto, 1997). Ibrahim dan Low (1993) berhasil juga membiakkan *B. bassiana* dengan menggunakan air kelapa.

Produksi *B. bassiana* dalam skala industri membutuhkan fermentor yang besar (Rombach *et al.*, 1988), tetapi menurut Prasetyono dan Warnoto (1997) produksi *B. bassiana* pada media cair dapat pula menggunakan fermentor sangat sederhana yang efisien dan efektif tanpa mengurangi kualitas sehingga tetap memiliki virulensi yang tinggi. Menurut Ferron (1981) kualitas spora didasarkan pada jumlah spora yang dihasilkan, viabilitas dan virulensinya terhadap serangga hama. Kualitas spora itu sendiri dipengaruhi oleh jenis isolat dan komposisi nutrisi media yang digunakan (Sudarmadji, 1997). Menurut Garraways dan Evans (1984) bahan nutrisi penting yang terkandung dalam media ialah karbohidrat dan protein yang berperan dalam pertumbuhan cendawan, pembentukan organel dan enzim. Menurut Rukmana (1997) dan Manengkey (1991) bahan nutrisi tersebut dapat diperoleh dari umbi kentang dan air kelapa.

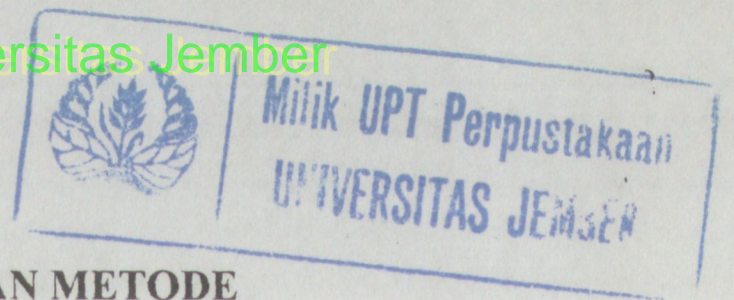
Bahan nutrisi penting yang terkandung dalam air kelapa berupa karbohidrat berkisar antara 0,5–4,5 persen per 100 ml terdiri dari sukrosa, fruktosa dan glukosa (Patel, 1983 dalam Manengkey, 1991). Kembuan (1985) mengemukakan bahwa air kelapa juga mengandung protein terdiri dari agrinine, alanine, cystein dan serine. Di dalam Anonim (1982 dalam Manengkey, 1991) diuraikan bahwa air kelapa juga mengandung komposisi nutrisi yang dapat dilihat pada Tabel 1. Menurut Rukmana (1996) ekstrak kentang mengandung karbohidrat 1,6 persen dan protein 0,024 gram per 100 gram bahan. Kushardono (1996) melaporkan bahwa karbohidrat dapat dipenuhi dengan menambahkan gula atau cuka.

Tabel 1. Komposisi dan Kandungan Karbohidrat Air Kelapa

Komposisi Air kelapa ¹⁾	Rata-rata berat komposisi air kelapa (g / 100 ml)	Jenis karbohidrat ²⁾	Rata-rata kandungan karbohidrat (g / 100ml)
Total padatan	5,71	Glukosa	0,80
Gula reduksi	0,80	Fruktosa	0,20
Sukrosa	1,28	Sukrosa	3,94
Abu	0,62	Sorbitol	1,02
Padatan organik	2,01		
Air	95,21		

Sumber : 1) Grinwood dalam Anonim (1982); 2) Smith *et al.* dalam Anonim (1982)

Penggunaan media cair sangat menguntungkan karena dapat mempercepat pertumbuhan *B. bassiana* sehingga dalam waktu yang relatif singkat menghasilkan spora dalam jumlah banyak (Sudarmadji, 1997). Media cair sangat aplikatif untuk mengendalikan ulat kubis *P. xylostella* karena suspensi dapat langsung digunakan, namun perlu dikaji terhadap jumlah spora yang dihasilkan, perkecambahan spora, berat kering koloni serta virulensinya terhadap *P. xylostella*.



III. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember dalam bulan Mei sampai September 2001.

3.1 Bahan dan Alat

Bahan dan Alat yang digunakan yaitu spora kering dari isolat *B. bassiana* (Bb-1) asal inang larva lepidoptera yang diperoleh dari *National Crop Plant Protection Laboratory, Los Banos University, Philippines*, larva *Plutella xylostella* instar tiga, air kelapa, ekstrak kentang gula (EKG), PDA-Cuka (PDAC), kubis, aquades, KMnO_4 , kapas steril, Triton X-100 0,01%, alkohol 75 %, fermentor sangat sederhana (FSS), tabung reaksi, jarum ose, autoklaf, *laminar air flow*, mikropipet, mikroskop, *haemocytometer*, gelas obyek, gelas penutup, mikrosyringe, botol plastik, gelas piala, dan kompor gas.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pembiakan massal dan pengujian virulensi isolat *B. bassiana* pada ulat kubis *P. xylostella* dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut.

3.2.1 Penangkaran (*rearing*)

P. xylostella diperoleh dari tanaman kubis yang terserang di lahan petani di daerah Ambulu dan Sumbersari Kabupaten Jember. Larva tersebut dipelihara dalam kotak penangkaran sampai menjadi imago dan menghasilkan telur. Selanjutnya telur yang menetas dipelihara sampai menjadi larva instar tiga yang digunakan sebagai serangga uji.

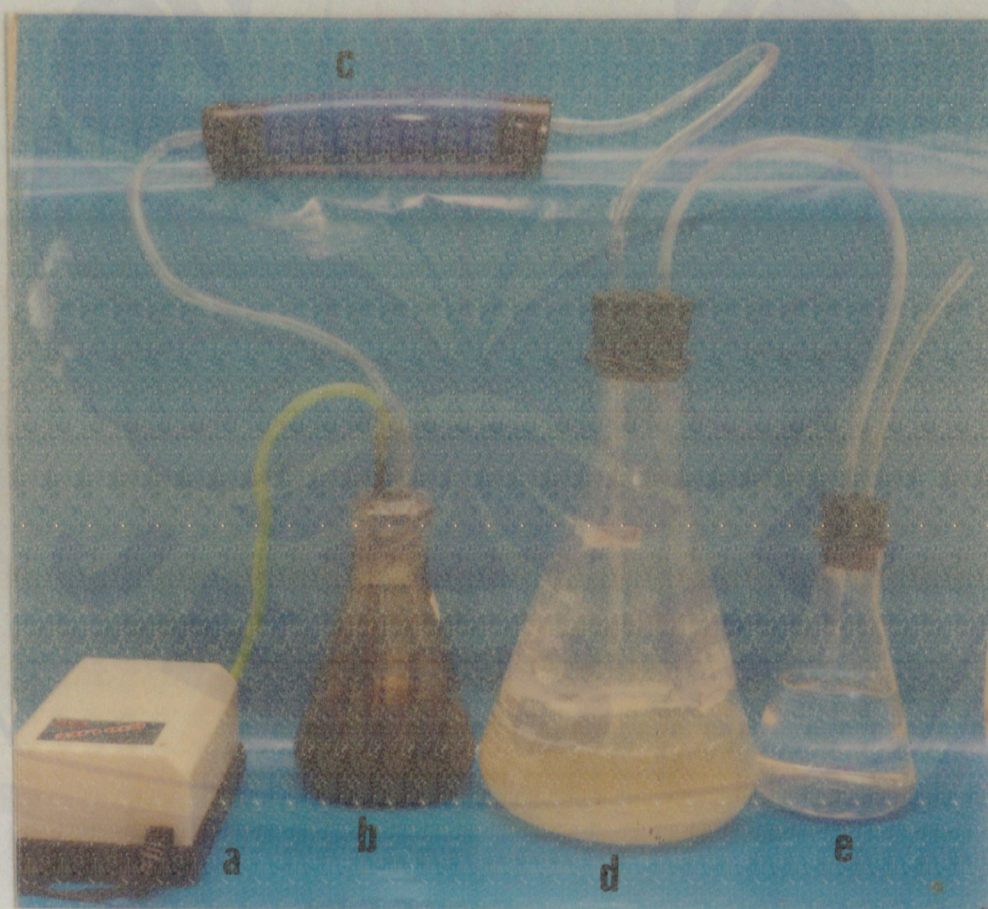
3.2.2 Pembuatan Media Pembiakan Cendawan *B. bassiana*

a. Media Air Kelapa

Media air kelapa diperoleh dari buah kelapa sebanyak 500 ml. Air kelapa tersebut dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit. Kemudian isolat *B. bassiana* sebanyak 0,5 ml dengan

kepekatan 10^6 spora/ml yang telah dilarutkan dalam Triton X-100 0,01 % diinokulasikan ke dalam media secara aseptis menggunakan *laminar air flow* dan diinkubasikan dengan alat fermentor sangat sederhana (FSS) selama tujuh hari.

Operasional FSS dilakukan dengan menyiapkan erlenmeyer steril yang berisi larutan KMnO_4 sebanyak 200 ml, kapas steril pada tabung plastik, erlenmeyer yang berisi aquades dan erlenmeyer yang berisi media cair beserta stater isolat *B. bassiana*, selang plastik, pipet kaca dan karet penutup dipasang pada masing-masing erlenmeyer tersebut. Selanjutnya disambungkan dengan aerator sebagai penghasil udara. Jika gelembung udara ada yang keluar pada setiap erlenmeyer berarti ada yang bocor maka gelembung udara yang dihasilkan aerator diatur kecepatannya pada posisi sedang. Aerator dinyalakan selama tujuh hari, apabila tidak terjadi kontaminasi maka media cair akan berubah warna menjadi putih keruh (Prasetyono dan Warnoto, 1997). Adapun rangkaian FSS disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rangkaian Fermentor Sangat Sederhana
(a) Aerator; (b) KMnO_4 ; (c) Penyaring Udara; (d) Media Cair, dan (e) Aquades.



b. Media EKG

Media ini didapatkan dari kentang yang dipotong-potong ($1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$) sebanyak 75 g kemudian direbus hingga lunak (± 20 menit) di dalam gelas piala yang berisi aquades 500 ml. Kentang yang sudah lunak dikeluarkan dari gelas piala kemudian dimasukkan gula pasir sebanyak 5 g ke dalam hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi kentang gula disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit. Isolat *B. bassiana* yang diinokulasikan dan operasional FSS sama seperti pada media air kelapa.

c. Media PDAC

Media PDAC merupakan media cair yang dibuat dengan komposisi PDA 1,75 g dan cuka 25 % sebanyak 0,75 ml dalam 500 ml aquades. Media dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit dan operasional FSS sama seperti pada media air kelapa dan EKG.

3.2.3 Produksi Spora *B. bassiana*

Produksi spora *B. bassiana* dari ketiga media cair yang diuji diamati dengan menentukan kepekatan spora per ml yang dihasilkan yaitu dengan cara mengambil suspensi dari masing-masing media menggunakan pipet dan diteteskan pada *haemocytometer* kemudian diamati dengan mikroskop. Jumlah spora dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah Spora} = \frac{T \times d}{0,25 \times n} \times 10^6 \text{ spora/ml}$$

(T = jumlah spora dalam semua kotak bujursangkar yang dihitung; n = jumlah bujursangkar yang dihitung; d = faktor pengenceran)

3.2.4 Persentase Spora Berkecambah

Persentase spora berkecambah diukur dengan cara meneteskan suspensi spora cendawan di bagian tengah gelas obyek dan ditutup dengan gelas penutup sebanyak lima ulangan pada cawan petri yang dialasi dengan kertas saring yang dibasahi dengan air steril agar lingkungan dalam kondisi kelembapan tinggi. Pengamatan dilakukan

setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam dengan mengamati jumlah spora yang mampu berkecambah dari 100 spora yang diamati. Menurut Susilo dkk. (1993) untuk mengetahui viabilitas cendawan, maka penghitungan persentase spora berkecambah digunakan rumus :

$$K = \frac{t}{m} \times 100 \% \quad \begin{array}{l} (K = \text{Persentase spora yang berkecambah;} \\ t = \text{jumlah spora yang berkecambah;} \\ m = \text{jumlah spora yang tidak berkecambah)} \end{array}$$

3.2.5 Berat Kering Koloni per 100 ml Suspensi Spora Yang Dihasilkan Dari Tiga Media Cair

Pengamatan berat kering koloni isolat *B. bassiana* dari media yang diuji, dilakukan dengan mengambil suspensi spora sebanyak 100 ml kemudian suspensi disaring menggunakan kertas saring yang telah diketahui beratnya. Perlakuan diulang sebanyak lima ulangan. Selanjutnya koloni yang tersaring pada kertas saring tersebut di kering oven. Berat kering koloni diperoleh dari berat koloni dan kertas saring dikurangi berat kertas saring.

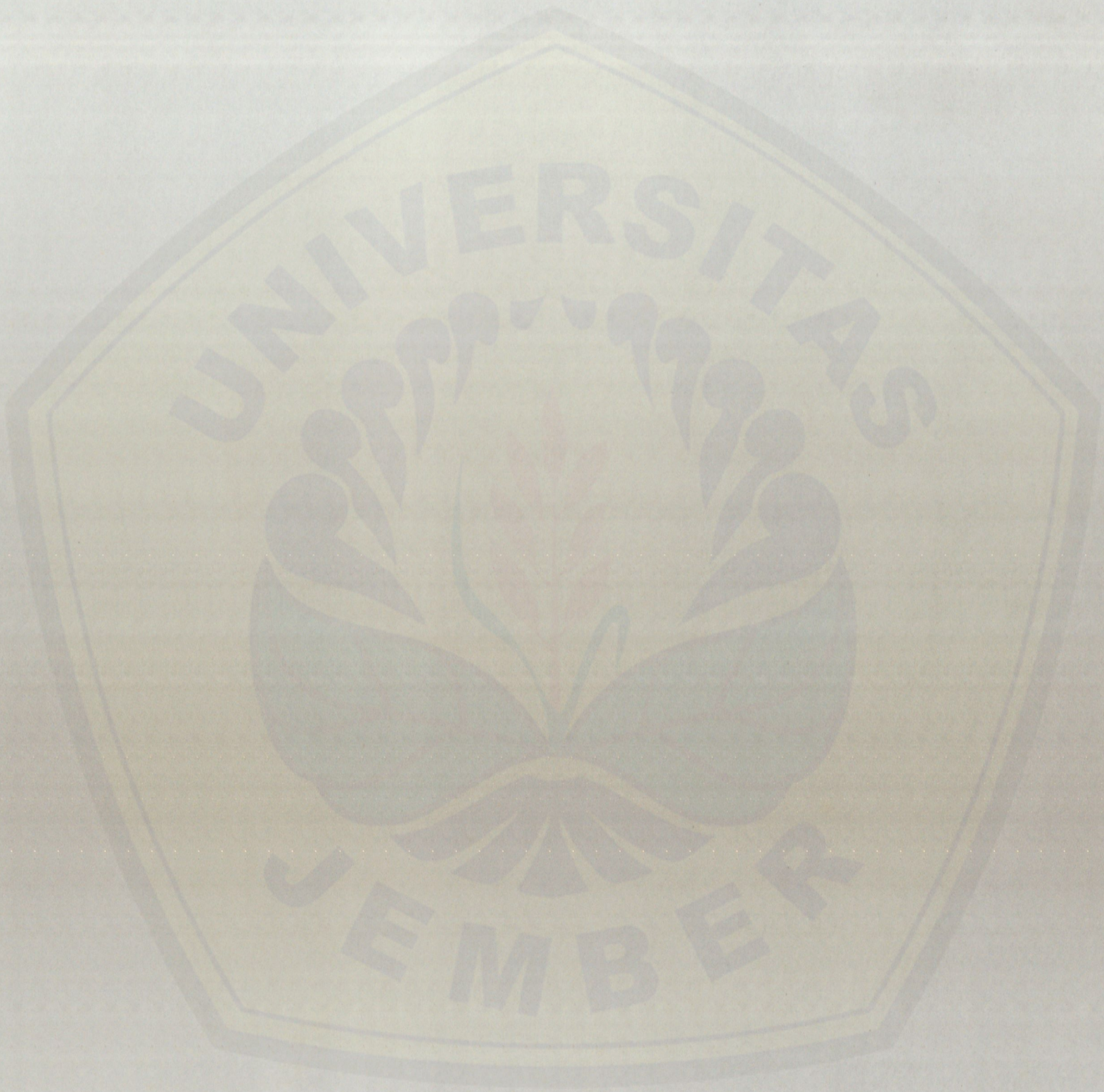
3.2.6 Uji Virulensi Isolat *B. bassiana*

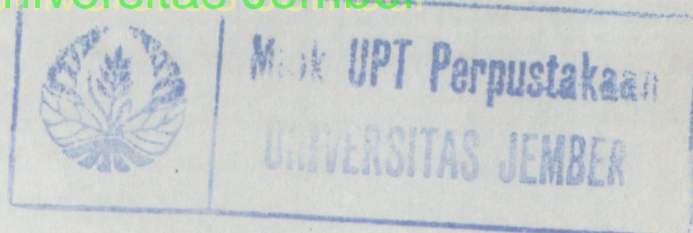
Uji virulensi isolat *B. bassiana* dilakukan dengan menginokulasikan isolat tersebut dari masing-masing media cair pada larva *P. xylostella* instar tiga dengan kepekatan suspensi spora yang berbeda yaitu 10^7 , 10^6 , 10^5 , dan 10^4 spora/ml. Suspensi spora masing-masing sebanyak 10 μ l diteteskan pada larva menggunakan mikrosyringe. Setelah larva diinokulasi kemudian dipelihara dalam kotak plastik sebanyak 10 larva tiap kotak. Setiap perlakuan digunakan tiga ulangan dan sebagai kontrol larva diinokulasi dengan air steril.

Untuk menentukan mortalitas larva dan pupa *P. xylostella* pengamatan dilakukan setiap hari dan untuk menentukan LT_{50} pengamatan dilakukan sampai terbentuk imago (Finney, 1971 dalam Prijono, 1999). Mortalitas serangga uji akibat perlakuan konsentrasi suspensi spora yang berbeda pada masing-masing media cair dianalisis dengan metode analisis probit untuk mendapatkan nilai LD_{50} (Finney, 1971 dalam Prijono, 1999).

Mortalitas serangga uji dihitung dengan menggunakan rumus :

$$P = \frac{n}{N} \times 100\% \quad (P = \text{persentase mortalitas}; n = \text{jumlah larva yang mati}; \\ N = \text{jumlah larva yang diuji})$$





IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi dan Perkecambahan Spora Serta Berat Kering Koloni *B. bassiana*

Cendawan *B. bassiana* isolat Bb-1 yang dibiakkan secara massal ternyata mengalami pertumbuhan yang baik pada tiga media yang diuji yaitu air kelapa, EKG dan PDAC. Pada tiga media tersebut *B. bassiana* mampu menghasilkan spora dengan jumlah yang relatif sama (Tabel 2) dalam waktu yang singkat yaitu tujuh hari setelah inokulasi. Persentase spora yang berkecambah dan berat kering koloni yang dihasilkan dari pertumbuhan pada tiga media tersebut juga tidak berbeda. Menurut Prasetyono dan Warnoto (1997) jumlah spora yang dihasilkan pada media cair EKG dan PDAC bertambah banyak dalam tiga atau empat hari setelah inkubasi. Peningkatan jumlah spora menjadi lebih banyak dicirikan dengan adanya perubahan warna media menjadi putih keruh.

Meskipun secara analisis statistik jumlah spora yang dihasilkan dari tiga media tersebut tidak berbeda tetapi tampak bahwa pada media air kelapa jumlah spora yang dihasilkan selama tujuh hari dengan menggunakan fermentor lebih banyak dibandingkan dengan media yang lain ($2,34 \times 10^7$ spora/ml). Ibrahim dan Low (1993) melaporkan bahwa *B. bassiana* pada media air kelapa dalam waktu 14 hari tanpa menggunakan fermentor mampu menghasilkan spora dengan kepekatan $7,9 \times 10^7$ spora/ml. Berdasarkan hasil tersebut pada media yang sama penggunaan fermentor dapat mempercepat waktu pembentukan spora. Namun penggunaan fermentor dipengaruhi oleh jenis media. Pada media cair Alioshina dengan penggunaan fermentor spora yang dihasilkan dapat mencapai 5×10^8 sampai 2×10^9 spora/ml selama 72 jam (Ferron, 1981) sedangkan pada media air kelapa hasil penelitian Suharto (2000) dengan menggunakan fermentor mampu menghasilkan $3,3 \times 10^7$ spora/ml selama 10 hari.

Perkecambahan *B. bassiana* isolat Bb-1 pada tiga media cair yang diuji tampak rendah. Dalam waktu 48 jam rata-rata spora yang berkecambah kurang dari 80 persen (Tabel 2). Menurut Achmadi (1992) pada media jagung perkecambahan spora digolongkan tinggi apabila lebih dari 80 persen spora berkecambah setelah 18 jam, sedangkan menurut Samsinakova (1966) perkecambahan spora pada media cair selama 15–20 jam.

Tabel 2. Pengaruh Media Cair Terhadap Produksi, Perkecambahan Spora, Berat Kering Koloni *B. bassiana* dan Mortalitas *P. xylostella*

Media	Jumlah Spora/ml	Perkecambahan (persen)			Berat Kering Koloni g/100ml Suspensi	Mortalitas <i>P. xylostella</i> (persen)
		24	48	72		
Air Kelapa	$2,34 \times 10^7$ a	30,44a	68,33a	100a	0,12a	70,00a
EKG	$1,83 \times 10^7$ a	29,78a	61,99a	100a	0,08a	73,33a
PDAC	$2,07 \times 10^7$ a	22,89a	64,33a	99,56a	0,08a	70,00a

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT Taraf 5%.

Perkecambahan spora merupakan faktor penting yang menyebabkan serangga terinfeksi. Spora yang berkecambah dicirikan dengan terbentuknya buluh kecambah yang muncul pada satu sisi dinding spora berupa tonjolan selama 24 jam, selanjutnya buluh kecambah tumbuh membentuk hifa yang bercabang-cabang dan muncul tabung kecambah baru pada sisi yang lain (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pendapat Junianto dkk. (2000) bahwa setelah perkecambahan berlangsung dapat muncul buluh kecambah baru pada sisi yang lain sehingga terbentuk dua buluh kecambah (bipolar).



Gambar 2. Proses Perkecambahan Spora *B. bassiana*
 (a) Pembentukan Buluh Kecambah;
 (b) Pembentukan Buluh Kecambah Baru Pada Sisi Lain.

Pada Penggunaan media cair diperoleh berat kering koloni *B. bassiana* tertinggi pada air kelapa (0,12 g/100 ml) sedangkan terendah pada EKG dan PDAC (0,08 g/100 ml suspensi) sehingga dapat dikatakan bahwa media air kelapa lebih baik jika dibandingkan dengan media yang lain. Menurut Ibrahim dan Low (1993) pada media air kelapa tanpa menggunakan fermentor berat kering koloni *B. bassiana* sebesar 0,75 g/100 ml suspensi pada kepekatan $7,9 \times 10^7$ spora/ml setelah 14 hari masa inkubasi. Sebaliknya menurut Rombach *et al.* (1988) berat kering koloni yang dihasilkan dari media cair *saccharose yeast extract* (3 %) dengan cara fermentasi (*marcescens process*) ialah 0,13 g/100 ml suspensi. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa berat kering koloni ditentukan oleh jenis media yang digunakan.

4.2 Pengaruh Media cair Terhadap Virulensi Isolat *B. bassiana*

Isolat *B. bassiana* dengan konsentrasi suspensi spora 10^7 spora/ml yang berasal dari tiga media cair yang diuji (air kelapa, EKG dan PDAC) ternyata mampu menyebabkan mortalitas *P. xylostella* lebih dari 50 persen (Tabel 3) sehingga pada konsentrasi tersebut isolat *B. bassiana* dari ketiga media memiliki virulensi yang sama. Isolat tersebut dikatakan virulen karena menurut Daud dkk. (1993) isolat *B. bassiana* digolongkan virulen apabila dapat menyebabkan mortalitas *P. xylostella* antara 60–100 persen. Pada konsentrasi di bawah 10^7 spora/ml, hanya isolat yang di biakkan pada air kelapa dan EKG yang mampu menyebabkan mortalitas *P. xylostella* sampai 50 persen yaitu pada konsentrasi *B. bassiana* 10^6 spora/ml. Pada media PDAC dan konsentrasi lainnya mortalitas dikatakan rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi kurang dari 10^7 spora/ml pada semua media cair yang diuji virulensi *B. bassiana* dikategorikan rendah. Ditinjau dari jenis media cair dapat dikatakan bahwa pengaruh media terhadap virulensi media air kelapa dan EKG masih lebih baik bila dibandingkan dengan media PDAC.

Tabel 3. Mortalitas *P. xylostella* Pada Pengujian Aplikasi dengan Spora Isolat *B. bassiana* yang Ditumbuhkan Pada Media Cair Berbeda

Konsentrasi Suspensi Spora <i>B. bassiana</i> /ml	Mortalitas <i>P. xylostella</i> (persen) Akibat <i>B. bassiana</i> Asal Media Tumbuh		
	Air Kelapa	EKG	PDAC
10^7	70,00a	73,33a	70,00a
10^6	50,00b	50,00b	40,00b
10^5	26,67c	33,33c	23,00c
10^4	13,33cd	20,00cd	10,00d
Kontrol	0,00d	0,00d	0,00d

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMRT Taraf 5%.

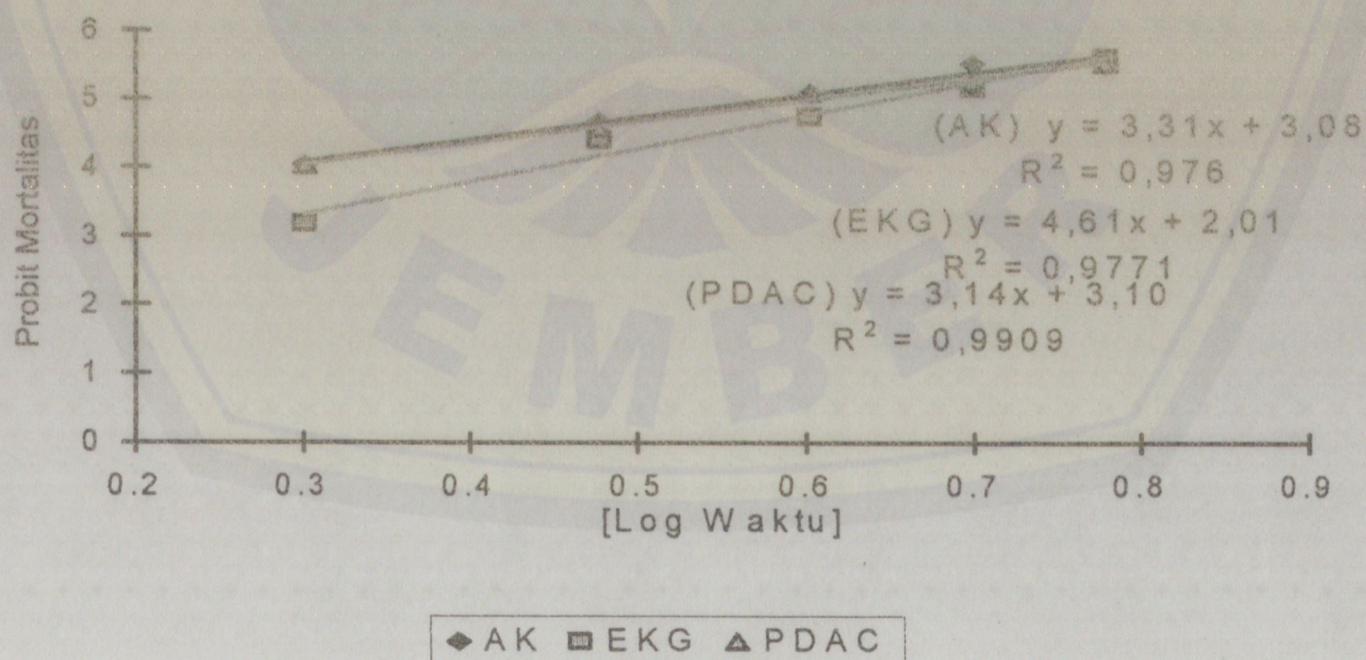
Konsentrasi suspensi *B. bassiana* yang digunakan sangat berpengaruh terhadap mortalitas *P. xylostella*. Hal yang sama dikemukakan oleh Karindah *et al.* (1994) bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan akan meningkatkan mortalitas *P. xylostella*. Spora yang diaplikasikan menyebabkan peluang terjadinya infeksi meningkat yang mengakibatkan kematian serangga juga besar. Suharjan dan Sudarmadji (1993 dalam Karindah *et al.*, 1994) juga mengemukakan bahwa kematian serangga inang sangat dipengaruhi oleh banyaknya inokulum atau spora.

Untuk menilai virulensi isolat *B. bassiana* terhadap *P. xylostella* selain dengan melihat mortalitas yang dihasilkan juga ditentukan pula dari nilai LT_{50} dan LD_{50} . Suharto dkk. (1998) mengatakan bahwa upaya pengendalian dikatakan berhasil dengan melihat mortalitas yang dihasilkan dan waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya infeksi sampai serangga mati yang dinyatakan dengan nilai LT_{50} . Pada penelitian ini aplikasi isolat *B. bassiana* yang berasal dari tiga media yang diuji (Tabel 4) menunjukkan nilai LT_{50} dan LD_{50} yang bervariasi.

Tabel 4. Nilai LT_{50} dan LD_{50} Suspensi Spora Isolat *B. bassiana* yang Dihasilkan Dari Tiga Macam Media Cair yang Diaplikasikan Pada *P. xylostella*

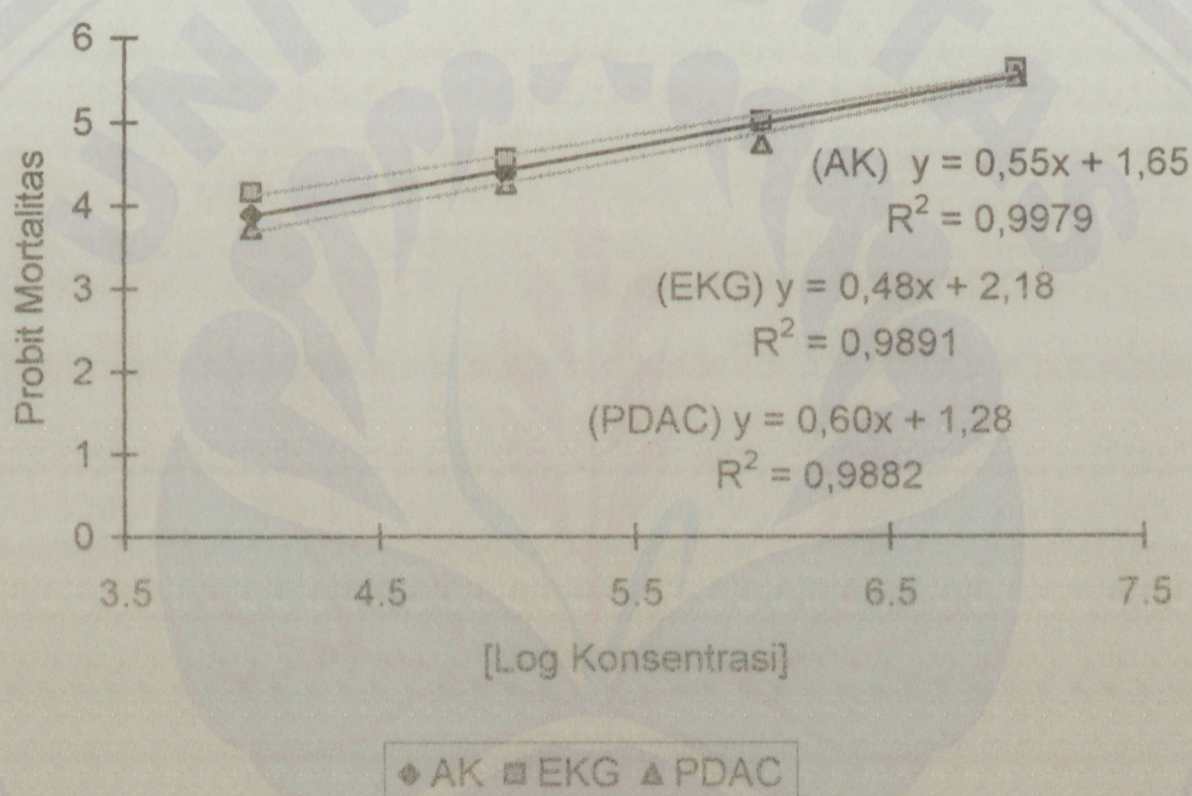
Media	LT_{50} (Hari) Konsentrasi 10^7 spora/ml	LD_{50}
Air Kelapa	3,81	$1,10 \times 10^6$
EKG	4,46	$7,01 \times 10^5$
PDAC	4,03	$1,75 \times 10^6$

Hasil analisis probit isolat *B. bassiana* dari media air kelapa menunjukkan nilai LT_{50} lebih rendah (3,81 hari) pada konsentrasi 10^7 spora/ml dari pada media EKG dan PDAC. Menurut Handaya (2001) isolat Bb-1 dari media jagung setelah diaplikasikan pada *P. xylostella* menunjukkan nilai LT_{50} 2,67 hari. Nilai LT_{50} yang semakin rendah berarti isolat dapat dikategorikan virulen dan virulensi suatu isolat akan semakin menurun apabila nilai LT_{50} semakin tinggi. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa isolat *B. bassiana* yang dibiakkan pada media padat (jagung) lebih baik dari media air kelapa. Hubungan antara log waktu dengan probit mortalitas *P. xylostella* dari media air kelapa, EKG dan PDAC masing-masing dengan persamaan regresi yang dapat dilihat pada Gambar 3.



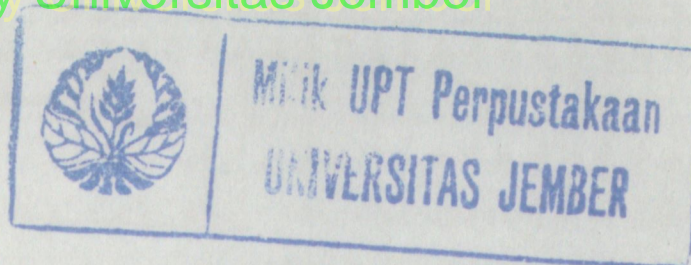
Gambar 3. Hubungan Antara Log Waktu dengan Probit Mortalitas *P. xylostella*

Aplikasi isolat *B. bassiana* dari tiga media pada berbagai konsentrasi mengakibatkan mortalitas yang bervariasi (Tabel 3). Berdasarkan analisis probit terhadap isolat *B. bassiana* dari media EKG diperoleh nilai LD_{50} terendah yaitu $7,01 \times 10^5$ spora/ml yang diperoleh dari persamaan $y = 0,48x + 2,18$ ($y = 50$ persen kematian; $x =$ konsentrasi). Nilai LD_{50} tampak lebih baik bila dibandingkan dengan isolat yang sama dari media padat (jagung). Handaya (2001) melaporkan bahwa aplikasi isolat Bb-1 pada *P. xylostella* dari media jagung diperoleh nilai LD_{50} $9,49 \times 10^5$ spora/ml. Pada media air kelapa dan PDAC LD_{50} terjadi pada konsentrasi $1,1 \times 10^6$ spora/ml dan $1,75 \times 10^6$ spora/ml dengan persamaan regresi seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan Antara Log Konsentrasi *B. bassiana* dengan Probit Mortalitas *P. xylostella*

Dari gambar di atas dapat diketahui bahwa isolat *B. bassiana* pada konsentrasi 10^7 spora/ml mampu membunuh lebih dari 50 persen dari populasi *P. xylostella* pada kondisi laboratorium, sehingga media EKG merupakan media yang baik ditinjau dari mortalitas dan nilai LD_{50} .



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Isolat *B. bassiana* (Bb-1) berhasil dibiakkan secara massal pada media cair air kelapa, EKG dan PDAC dan menghasilkan biakan yang dikategorikan virulen sehingga efektif untuk mengendalikan ulat kubis, *P. xylostella*. Berdasarkan jumlah spora yang dihasilkan, perkecambahan spora, berat kering koloni dan nilai LT_{50} yang paling rendah (3,81 hari), isolat *B. bassiana* yang ditumbuhkan pada media air kelapa lebih baik dari pada media lainnya. Apabila ditinjau dari mortalitas dan nilai LD_{50} , isolat *B. bassiana* yang ditumbuhkan pada media EKG lebih baik karena pada konsentrasi $7,01 \times 10^5$ spora/ml sudah menunjukkan mortalitas yang lebih tinggi dari pada media lain dengan nilai LD_{50} paling rendah tetapi menunjukkan nilai LT_{50} paling tinggi.

5.2 Saran

Media cair EKG dengan menggunakan fermentor sangat sederhana perlu dikembangkan karena mampu menghasilkan spora *B. bassiana* dengan virulensi yang tinggi terhadap *P. xylostella*. Agar tidak terjadi kontaminasi maka cara kerja dilakukan secara aseptis.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, D. N., 1992. Perbanyakan cendawan *Beauveria bassiana* pada media jagung dan patogenitasnya terhadap bubuk buah kopi. *Skripsi* Fakultas Pertanian Universitas Jember. 71p. (Tidak dipublikasi)
- Cheol - sik yoon. 1999. Potential of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain CS-1 as the first biological control against *Plutella xylostella*. *The Korean Natural Enemy Research Forum*. <http://www.niast.go.kr/home/knerf/newsletter/990101/3.html>.
- Cheung, P.Y.K and E. A. Grula. 1982. In vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the corn earworm (*Heliothis zea*). *J. Invert.* 39 (3): 303-313p.
- Daud, I. D., A. Papulung dan Mery. 1993. Efektivitas lima konsentrasi spora *B. bassiana* (Vuill.) terhadap mortalitas tiga instar larva *Darna catenata* Snellen (Lepidoptera : Limacodidae). *Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I*. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. 125-134p.
- Ferron, P., 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metharizium*. P: 465 – 476 in H. D. Burges (Ed.). 1981. *Microbial control of pests and plant diseases 1970 – 1980*. Academic Press. London New York Toronto Sydney San Francisco.
- Gabriel, B. P., 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metch.); *Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasi*. Dirjen. Tanaman Perkebunan. Departemen Pertanian R. I. Jakarta. 20p.
- Garraway, M. O. and R. C. Evans. 1984. *Fungal nutrition and Physiology*. John Wiley and Sons. USA. 212-262p.
- Handaya, S., 2001. Virulensi lima isolat *Beauveria bassiana* (Balsamo) pada ulat kubis *Plutella xylostella* L., *Skripsi*, Fakultas Pertanian Universitas Jember. (Tidak dipublikasi).
- Haryono, H. , S. Nuraini dan Riyatno. 1993. Prospek penggunaan *B. bassiana* untuk pengendalian hama tanaman perkebunan. Direktorat Bina Perlindungan Tanaman. *Pros.Makalah Simposium Patologi Serangga I*. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. 75-81p.

- Ibrahim, Y. B. and W. Low., 1993. Potential of mass – production and field efficacy of isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumoroseus* against *Plutella xylostella*. *Int. J. of Pest. Manag.* 39: 288-292p
- Jauharlina. 1999. Potensi *Beauveria bassiana* sebagai cendawan entomopatogen pada hama ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) *J. Agrista.* 1:7-13p.
- Junianto, Y. D., H. Semangun, A. Harsojo dan E. S. Rahayu. 2000. Viabilitas dan virulensi blastospora *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. kering beku pada beberapa suhu simpan. *Pelita Perkebunan.* 16(1). 30-41p.
- Kalshoven, L. G. E., 1981. *The pests of crops in Indonesia*. Rev. by. P. A., Van Der Laan, PT. Ichtar Baru – Van Hoeve. Jakarta. 202-203p.
- Kembuan, H., 1985. Pemanfaatan air kelapa. *Buletin Balitka.* Balai Penelitian Kelapa Manado. Manado. 2: 27-35p.
- Khachatourians, G. G., 1992. Virulence of five *Beauveria* strains, *P. farinosus* and *Verticillium lecanii* against the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. University of Saskatchewan. Canada. *Jour. of Invertebrate Path.* 59 : 212-214p.
- Kucera, M., 1970. Toxin of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Czechoslovak Academy of Sciences. Czechoslovakia. *Jour. Of Invertebrate Path.* 17 : 211-215p.
- Kushardono. 1996. Pengaruh macam media terhadap pertumbuhan *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Skripsi.* Fakultas Pertanian Universitas Jember. (Tidak dipublikasi).
- Karindah, S., B. T. Rahardjo, Sudakir dan S. Santoso. 1994. Virulensi jamur *Verticillium lecanii* Zimmermann terhadap hama kapas *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Jurnal Agrivita.* Vol.19(1). 30-34p.
- Mau, R. F. L. and J. L. M. Kessing. 1992. *Plutella xylostella* (Linnaeus). *Dept. of Entomology.* Honolulu Hawaii. <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/Plutella.htm>.
- Manengkey, G. S. J., 1991. Pengaruh air kelapa terhadap pertumbuhan bibit kopi. Universitas Sam Ratulangi. Manado. *J. Eugenia.* 51-56p.
- Oka, I. N., 1995. *Pengendalian hama terpadu dan implementasinya di Indonesia.* Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta. 255p.
- Pracaya. 1993. *Hama dan penyakit tanaman.* Penebar Swadaya. Jakarta. 102-103p.

- Prasetyono dan Warnoto. 1997. Paket teknologi produksi massal konidia jamur *Beauveria bassiana* dengan media cair Alioshina dan Ekstrak Kentang Gula (EKG) menggunakan alat fermentor sangat sederhana (FSS). *Balai Proteksi Tanaman Perkebunan Jawa Timur*. 5p.
- Prijono, D., 1999. Analisis data uji hayati. *Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 63-81p.
- Roberts, D. W., 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. P: 441-464 in H. D. Burges (Ed.). 1981. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. Academic Press. London New York Toronto Sydney San Francisco.
- Rombach, M. C., D. W. Roberts and R. M. Aguda. 1988. Pathogens of rice insects. p: 613-655 in E. A. Heinrichs (Ed.). 1994. *Biology and management of rice insects*. Wiley Eastern Ltd. IRRI.
- Rukmana, R. 1995. *Bertanam kubis*. Kanisius. Yogyakarta. 68p.
- , 1996. *Kentang; budidaya dan pasca panen*. Kanisius. Yogyakarta. 32p.
- , 1997. *Teknik pengendalian hama dan penyakit tanaman*. Kanisius. Yogyakarta. 76-77p.
- Rumbayan, J., 1996. Kajian insektisida mikroba dengan bahan sinergis terhadap ulat daun kubis *Plutella xylostella* (L.). Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi. Manado. *Jour. Eugenia*. 2 (2) Tahun XII April 1996.
- Samsinakova, A. 1966. Growth and sporulation of submerged cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. *J. Invertebrate Pathol.*, 8: 395-400p.
- Setiawati, W., 2000. Pengendalian hama kubis *Plutella xylostella* (L.) dan *Crociodolomia binotalis* Zell. Dengan Spinosad 25 SC serta pengaruhnya terhadap parasitoid *Diadegma semiclausum* Hellen. *J. Hort.* 10 (1) : 30-39p.
- Steinhaus, E. A., 1949. *Principles of insect pathology*. McGraw Hill. New York. 370-372p.
- Suara Karya. 1990. Bagaimana mengendalikan ulat daun kubis. 2 Januari 1990. *Kumpulan Kliping*. Universitas Jember. 87p.
- Sudarmadji, D., 1994. Penetapan tingkat virulensi empat isolat *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Terhadap *Helopeltis antonii* Sign. *Menara Perkebunan*. 62 (3): 47-51p.

- Sudarmadji, D. 1997. Optimasi pemanfaatan *Beauveria bassiana* Bals. (Vuill.) untuk pengendalian hama. *Makalah Pertemuan Teknis Perlindungan Tanaman Direktorat Bina Perlindungan Tanaman. Ditjen Perkebunan. Cipayung. 16-18 Juni 1997.*
- Sudarmo, P., 1991. *Pengendalian serangga hama sayuran dan palawija.* Kanisius. Yogyakarta. 14p.
- Suharto, E. B. Trisusilowati dan H. Purnomo. 1998. Kajian aspek fisiologis *Beauveria bassiana* dan Virulensinya terhadap *Helicoverpa armigera*. *J. Perlentan. Ind. vol. 4(2): 112-119p.*
- Suharto. 2000. Mass production of entomopatogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* using solid and liquid media. *Laporan Kegiatan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Universitas Jember. 19p.*
- Suroso, B., Y. H. Agus dan K. Astuti. 1993. Pemngaruh insektisida klorpirifos, fungisida benomyl dan fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Terhadap tingkat kerusakan pertumbuhan hasil tanaman kedelai (*Glycine max* Merr.) varietas wilis. *Faperta. Universitas Kristen Satya Wacana. Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. 255-273p.*
- Susilo, A., S. Santoso dan A. H. Tutung. 1993. dasar-dasar patologi serangga. *Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. 104-112p.*
- Suwarso, D. L., Hartadi dan S. Prastowo. 1995. Pengendalian hayati ulat *Helicoverpa armigera* dengan cendawan *Beauveria bassiana*. *Laporan Penelitian. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Lembaga Penelitian Universitas Jember. Jember. 49p.*
- Syamsidi, S. R. C., 1993. Uji patogenitas jamur *Beauveria bassiana* terhadap hama bubuk buah kopi (*Hypotenemus hampei*) di laboratorium dan di lapang. *Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. 296-301p.*
- Tabashnik, B. E., N. Finson, J. M. Schwartz, M. A. Caprio and M. W. Johnson. 1990. Diamondback moth resistance to *Bacillus thuringiensis* in Hawaii, diamondback moth and other crucifers pest: *Proc. 2nd Int. Workshop Tainan. Taiwan 10-14 December 1990. Asian Vegetable Research and Development Centre. 175-183p.*
- Udiarto, B. K. dan S. Sastrosiswojo. 1997. Selektivitas beberapa jenis insektisida terhadap larva *Plutella xylostella* L. dan parasitoid imago *Diadegma semiclausum* Hellen. *J. Hort. 7(3): 810-817p*

- Untung, K. dan S. Mangoendihardjo. 1993. Patologi serangga dalam sistem perlindungan tanaman. *Simposium Patologi Serangga I*. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. 16-28p.
- Untung, K., 1996. *Pengantar pengelolaan hama terpadu*. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta. 273p.
- Utomo, C., D. Pardede dan A. Salam. 1991. *Beauveria sp.* Parasit pada larva penggerak batang kakao *Zeuzera coffea* Nient. *Bul. Perkebunan*. 3 : 137-142p.
- Wahyudi, P., 1999. Produksi insektisida berbahan aktif jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (sebuah tinjauan mengenai rancangan proses produksi). *Jour. Sains dan Teknologi Indonesia*. BPPT. Jakarta. 36-42p.
- Widayat, W. dan D. J. Rayati. 1993. Hasil penelitian jamur entomopatogenik lokal dan prospek penggunaannya sebagai insektisida hayati. *Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I*. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993. 296-301p.
- Wikardi, E. A., 1993. Teknik perbanyakan *Beauveria bassiana* dan aplikasinya di lapang. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. *Pros. Makalah Simposium Patologi Serangga I*. Yogyakarta. 12-13 Oktober 1993.
- Yunita, W., 1996. Pengendalian hama terpadu pada tanaman kubis. *Bul. Agronomi*. Universitas Jambi. Jambi 1 : 43-49p.

Lampiran 1.

1. Analisis Ragam Produksi Spora *B. bassiana* dari Tiga Media Cair

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	$0,391 \times 10^{14}$	$0,195 \times 10^{14}$	2,12 ^{ns}	5,14	10,92
Galat	6	$0,552 \times 10^{14}$	$0,092 \times 10^{14}$			
Total	8	$0,943 \times 10^{14}$				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ns = non significant

2. Analisis Ragam Perkecambahan Spora *B. bassiana* Setelah 24 jam

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	3,73	1,87	0,57 ^{ns}	3,89	6,93
Galat	12	35,60	3,28			
Total	14	39,33				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ns = non significant

3. Analisis Ragam Perkecambahan Spora *B. bassiana* Setelah 48 jam

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	12,93	6,47	0,014 ^{ns}	3,89	6,93
Galat	12	5419,80	451,65			
Total	14	5432,73				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ns = non significant

Lampiran 2.

4. Analisis Ragam Perkecambahan Spora *B. bassiana* Setelah 72 jam

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	0,53	0,26	0,99 ^{ns}	3,89	6,93
Galat	12	3,20	0,27			
Total	14	3,73				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ns = non significant

5. Analisis Ragam Berat Kering Koloni *B. bassiana* per 100 ml Suspensi

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	2	0,0050	0,0025	1,92 ^{ns}	3,89	6,93
Galat	12	0,015	0,0013			
Total	14	0,02				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ns = non significant

6. Analisis Ragam Mortalitas *P. xylostella* Pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Isolat *B. bassiana* Dari Media Air Kelapa

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	95,067	23,767	25,474**	3,48	5,99
Galat	10	9,333	0,933			
Total	14	104,40				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ** = Berbeda sangat nyata

Lampiran 3.

7. Analisis Ragam Mortalitas *P. xylostella* Pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Isolat *B. bassiana* Dari Media EKG

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	94,400	23,600	32,196**	3,48	5,99
Galat	10	7,333	0,733			
Total	14	101,733				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ** = Berbeda sangat nyata

8. Analisis Ragam Mortalitas *P. xylostella* Pada Beberapa Tingkat Konsentrasi Isolat *B. bassiana* Dari Media PDAC

SK	dB	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	91,066	22,766	48,749**	3,48	5,99
Galat	10	4,667	0,467			
Total	14	95,733				

Keterangan : SK = Sumber Keragaman
 dB = derajat Bebas
 JK = Jumlah Kuadrat
 KT = Kuadrat Tengah
 ** = Berbeda sangat nyata