



**PERBANYAKAN *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin
MENGUNAKAN TEKNIK DUA FASE**

SKRIPSI

Oleh

Reza Ibnu Raharjo

091510501004

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PERBANYAKAN *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin
MENGUNAKAN TEKNIK DUA FASE**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

Reza Ibnu Raharjo

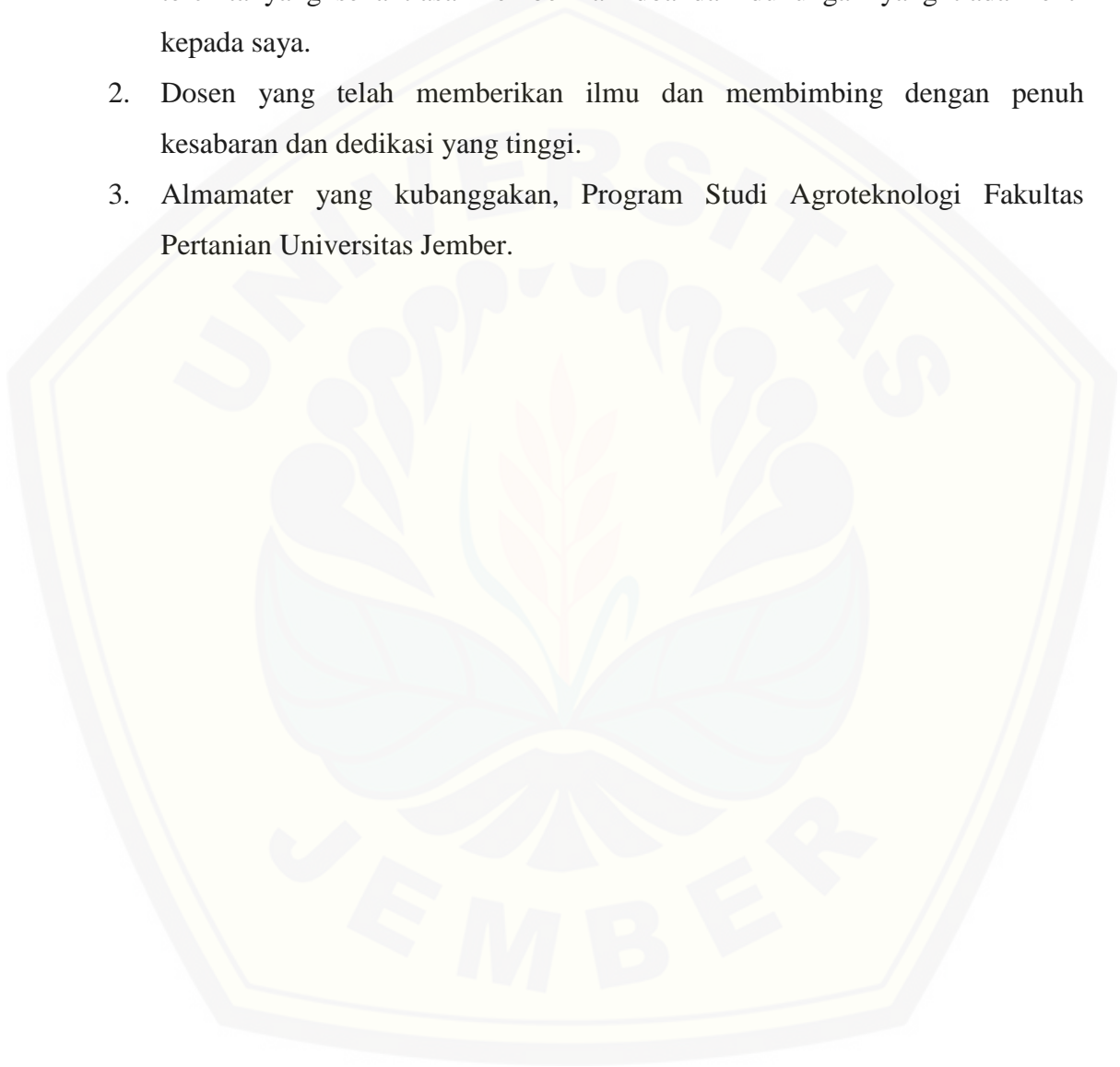
091510501004

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Ir. Zaenal Arifin dan Ibunda Agustin Retno Saptari, serta keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa dan dukungan yang tiada henti kepada saya.
2. Dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran dan dedikasi yang tinggi.
3. Almamater yang kubanggakan, Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.



MOTTO

Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja. Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi.

(Ernest Newman)

Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali tampak mustahil; kita baru yakin kalau kita telah berhasil melakukannya dengan baik.

(Evelyn Underhill)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Reza Ibnu Raharjo

Nim : 091510501004

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **"Perbanyakan *Metarizhium anisopliae* (Metschn.) Sorokin Menggunakan Teknik Dua Fase"** adalah benar-benar hasil karya tulis sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia menerima sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 16 Maret 2016
Yang menyatakan,

Reza Ibnu Raharjo
NIM 091510501004

SKRIPSI

**PERBANYAKAN *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin
MENGUNAKAN TEKNIK DUA FASE**



Oleh

Reza Ibnu Raharjo
NIM 091510501004

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Hari Purnomo, M.Si.,Ph.D.,DIC
NIP. 196606301990031002

Dosen Pembimbing Anggota : Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc.
NIP.198105152005011003

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "**Perbanyakkan *Metarizhium anisopliae* (Metschn.) Sorokin Menggunakan Teknik Dua Fase**" telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Rabu, 16 Maret 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC
NIP. 196606301999031002

Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc.
NIP. 198105152005011003

Dosen Penguji I,

Ir. Sutjipto, MS.
NIP. 195211021978011001

**Mengesahkan
Dekan,**

Dr. Ir. Jani Januar, MT.
NIP. 19590102 1988031002

RINGKASAN

Perbanyak *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin Dengan Menggunakan Teknik Dua Fase; Reza Ibnu Raharjo, 091510501004; 2016; Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Produksi dalam jumlah yang memadai dan kualitas inokulum yang baik merupakan salah satu komponen penting untuk menunjang pengembangan cendawan *M. anisopliae* sebagai agen hayati. Selama ini teknik perbanyak massal *M. anisopliae* menggunakan media padat (satu fase). Namun perbanyak menggunakan media padat memerlukan waktu sporulasi yang lebih lama. Alternatif yang muncul untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah mengkombinasikan teknik perbanyak media cair-padat untuk memperpendek masa inkubasi dan meningkatkan kerapatan spora *M. anisopliae* dalam perbanyak massal. Metode ini dinamakan teknik dua fase (*biphasic method*).

Penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan pengaruh media terhadap produksi massal cendawan *M. anisopliae* dan mendapatkan media tumbuh yang sesuai dengan pertumbuhan, perkembangan *M. anisopliae* dan patogenesisnya pada *Tenebrio molitor* dengan menggunakan teknik dua fase.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari pengaruh media dan isolat *M. anisopliae* dengan perbanyak teknik dua fase terhadap produktivitas spora, perkecambahan spora, uji virulensi massal cendawan, mendapatkan media tumbuh yang sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangan *M. anisopliae*.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap faktorial yang diulang tiga kali, faktor yang digunakan pada penelitian ini adalah; media dan jenis isolat. Penelitian ini dilakukan dengan lima media pertumbuhan, yaitu beras jagung, beras menir, dedak, beras jagung+dedak (50:50), dan beras menir+dedak (50:50), yang dikombinasikan dengan dua jenis isolat *M. anisopliae*, yakni jombang 1 dan jombang 2. Variabel pengamatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi produktivitas spora (spora/g media), perkecambahan spora (%), dan uji virulensi pada *T. molitor* (%).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan berbagai media padat (beras jagung, beras menir, dedak, beras jagung+dedak, beras menir+dedak) memberikan pengaruh terhadap produktifitas spora *M. anisopliae* dan perkecambahan spora *M. anisopliae*, namun tidak memberikan pengaruh terhadap uji virulensi pada *T. molitor*. Produktifitas spora yang paling tinggi diperoleh pada media beras menir+dedak isolat jombang 1 yakni mencapai $14,3 \times 10^9$, untuk perkecambahan spora yang paling baik, terdapat pada media beras menir+dedak isolat jombang 2 dengan prosentase mencapai 100% dalam waktu 18 jam, sedangkan uji virulensi terbaik diperoleh pada media beras jagung isolat jombang 1 yakni mencapai prosentase 60% dalam waktu 7 hari setelah infeksi.

SUMMARY

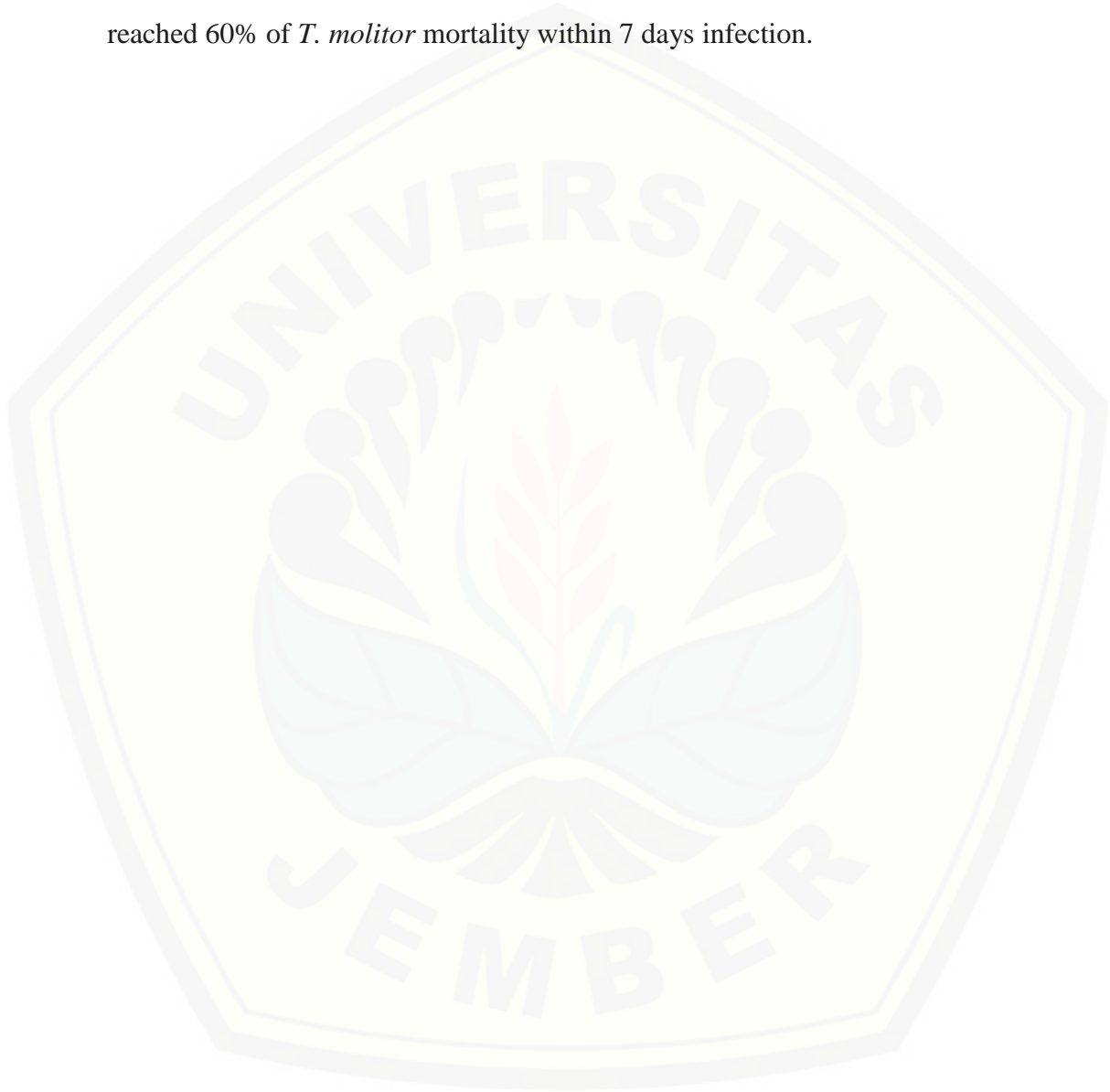
Mass Production of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin Using biphasic Technique; Reza Ibnu Raharjo,091510501004;2016;Study program Agroteknologi;Faculty of Agriculture,University of Jember.

Sufficient production and good quality of inoculum is an important component to bear the development of *M. anisopliae* as biological control agent. Recently, mass production of *M. anisopliae* is still using solid media (diphasic). However, diphasic mass production need longer period for its sporulation. The alternative method to solve this problem is by the combination of liquid-solid production media technique to decline the incubation period and induce the sporulation of *M. anisopliae* on mass production. This method is known as biphasic technique.

The objective of this research was to determine the effects of medium on mass production of *M. anisopliae* and obtained the proper media for *M. anisopliae* growth, development, and its patogenicity on *Tenebrio molitor* using biphasic technique. Another objective was to determine the effects of medium and mass produced *M. anisopliae* isolates using biphasic technique on its spore production, spore germination, and fungi mass virulence test. The research design was using Complete Randomized Design (CRD) factorial replicated three times and using 2 factors, namely medium and isolates. Medium used in this research were corn meals, rice groats, rice brans, corn meals+rice brans (50:50), and rice groats+rice brans (50:50) which combined with two types of *M. anisopliae* isolates, namely Jombang 1 and Jombang 2. The variables used in this research were spore productivity (spore/g media), spore germination (%), and pathogenicity test on *T. molitor* (%).

The result on this research shown that the used of several solid medium (corn meals, rice groats, rice brans, corn meals+rice brans, and rice groats+rice bran) gave effect on spore productivity and spore germination of *M. anisopliae*, but didn't give any effect on pathogenicity test against *T. molitor*. The highest spore productivity was shown on rice groats+rice barns combined with *M.*

anisoplae isolated from Jombang 1, namely up to $14,3 \times 10^9$. For the finest spore germination, rice groats+rice barns combined with *M. anisoplae* isolated from Jombang 2 gave 100% of germination in 18 h. The finest pathogenicity test was on *M. anisoplae* from Jombang 1 which produced in corn meals media which reached 60% of *T. molitor* mortality within 7 days infection.



PRAKATA

Syukur Alhamdulillah kami patjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya skripsi yang berjudul “Perbanyakan *Metarizhium anisopliae* (Metschn.) Sorokin Menggunakan Teknik Dua Fase” dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa Sholawat dan Salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari masukan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu ucapan terima kasih saya sampaikan kepada:

1. Tuhan yang Maha Esa yang telah memberikan kesehatan, keselamatan dan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi ini;
2. Dr. Ir. Jani Januar, M.T. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
3. Ir. Hari purnomo, M.Si.,Ph.D.,DIC selaku Dosen Pembimbing Utama dan Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang banyak meluangkan waktu, serta bimbingan dan arahan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini;
4. Ir. Sutjipto, MS. selaku DosenPenguji I, yang banyak memberikan kritik dan saran bagi penulis hingga selesai penulisan skripsi ini;
5. Ir. Sigit Prastowo, MP. selaku Ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan;
6. Seluruh Staf Perpustakaan Universitas Jember yang telah menyediakan fasilitas buku-buku referensi
7. Ir. Raden Soedradjad, MT. selaku Dosen Pembimbing Akademik
8. Orang tua tercinta Ayahanda Ir. Zaenal Arifin dan Ibunda Agustin Retno Saptariyang memberikan dukungan moril maupun materiil selama penulis menyelesaikan skripsi ini;
9. Saudara kandung Adik Alfiranto Kusuma Raharjo dan Rona Savira Youlanda, yang selalu memberi semangat penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;

10. Teman-teman Seperjuangan Beni setiawan, Anggi Rahayu Walupi, Budi Rezki Nurwibawanto, Faris, Purwandhito, Okik, Martonda, Alan, Roby, Titis, Sriani, Doni. atas segala dukungan, kerjasama, dan bantuan selama penelitian;
11. Teman-teman kelas A angkatan 2009, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang tidak bisa disebutkan satu per satu atas semangat dan kebersamaannya;
12. Keluarga besar Agroteknologi 2009 atas kenangan, kebersamaan dan suka duka selama masa perkuliahan;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuan

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat bermanfaat bagi para pembaca, dan penulis juga menyadari bahwa karya ilmiah tertulis inimasih jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, 16 Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMANPEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Potensi <i>M. anisopliae</i> sebagai agen hayati	4
2.2 Kebutuhan Nutrisi <i>M. anisopliae</i>	6
2.3 Media Perbanyak Cendawan Entomopatogen	8
2.4 Perbanyak Cendawan Entomopatogen	9
2.5 Hipotesis.....	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Waktu dan Tempat	12
3.2 Persiapan Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.2.1 Peremajaan Cendawan <i>M. anisopliae</i>	12
3.2.2 Pembuatan Larutan EKG.....	13

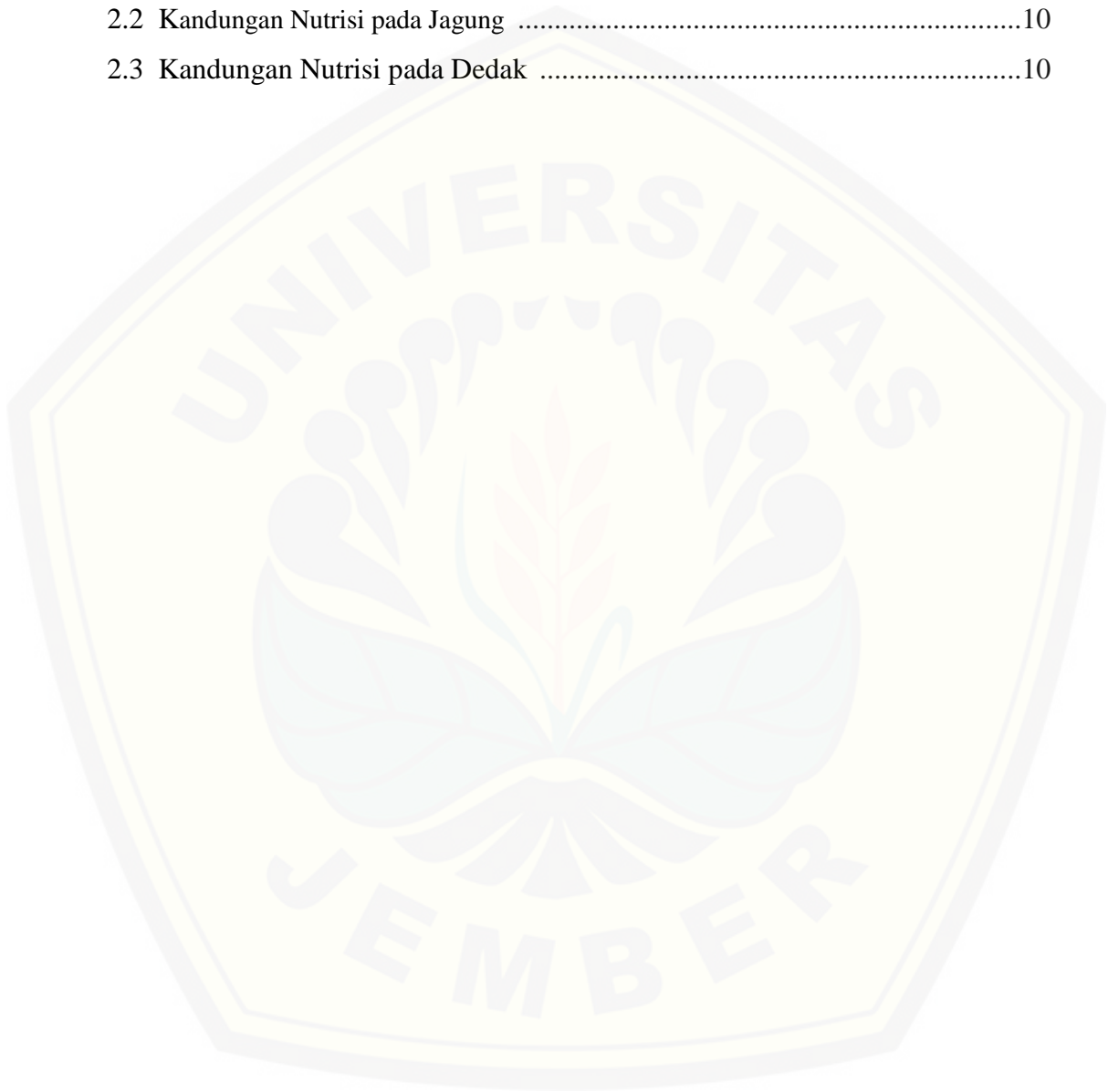
3.2.3 Pembuatan Komposisi Media Padat	13
3.2.4 Persiapan Serangga Uji	14
3.3 Pelaksanaan Riset	14
3.3.1 Tahap inokulasi <i>M.anisopliae</i> Pada Media Cair (EKG) .	14
3.3.2 Tahap Inokulasi <i>M.anisopliae</i> Pada Media Padat	14
3.4 Rancangan Riset.....	15
3.5 Parameter Pengamatan	16
3.5.1 Produktifitas Spora <i>M. anisopliae</i>	16
3.5.2 Daya Perkecambahan Spora <i>M. anisopliae</i>	16
3.5.3 Uji Virulensi <i>M. anisopliae</i> Terhadap <i>T. molitor</i>	17
3.6 Analisis Data.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Hasil.....	18
4.2 Pembahasan.....	23
BAB 5. KESIMPULAN	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi <i>M. anisopliae</i>	4
3.1 Tahap Inokulasi dari biakan awalan <i>M. anisopliae</i> ke media (EKG)	14
3.2 Tahap Inokulasi <i>M. anisopliae</i> Dari Biakan EKG ke Media Padat... ..	15
4.1 Grafik Produktifitas spora <i>M. anisopliae</i> isolat jombang 1 dan jombang 2 pada tiap media	18
4.2 Hubungan antara waktu dengan persentase perkecambahan spora pada media beras jagung	19
4.3 Hubungan antara waktu dengan persentase perkecambahan spora pada media beras menir	20
4.4 Hubungan antara waktu dengan persentase perkecambahan spora pada media dedak	20
4.5 Hubungan antara waktu dengan persentase perkecambahan spora pada media kombinasi beras jagung+dedak.....	21
4.6 Hubungan antara waktu dengan persentase perkecambahan spora pada media kombinasi beras menir+dedak	21
4.7 Grafik uji virulensi <i>M. anisopliae</i> harike-7 isolat jombang 1 dan jombang 2 pada tiap media	22
4.10 Proses infeksi cendawan <i>M. anisopliae</i>	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan Nutrisi pada Beras	9
2.2 Kandungan Nutrisi pada Jagung	10
2.3 Kandungan Nutrisi pada Dedak	10



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Data Kerapatan Spora <i>M. anisopliae</i> pada Media Padat per 1 gram	32
2. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Produktifitas Spora <i>M. anisopliae</i>	33
3. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada produktifitas spora.....	33
4. Data perkecambahan spora <i>M. anisopliae</i> pada media padat per 1 gram	34
5. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Perkecambahan spora <i>M. anisopliae</i>	35
6. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 6 jam	35
7. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 12 jam	36
8. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 18 jam	36
9. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 24 jam	37
10. Data persentase mikosisitas <i>M. anisopliae</i> pada <i>T. molitor</i>	38
11. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk mikosisitas <i>M. anisopliae</i> pada <i>T. molitor</i>	39
12. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada mikosisitas <i>M. anisopliae</i> pada <i>T. molitor</i>	40

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin merupakan salah satu cendawan yang banyak dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati karena mempunyai kemampuan entomopatogenik (Lathifian et al., 2014) sehingga mampu menginfeksi dan menurunkan populasi serangga hama dalam suatu areal budidaya (Gabriel dan Riyatno, 1989). *M. anisopliae* memiliki spektrum yang luas dan dilaporkan dapat menginfeksi lebih dari 100 spesies serangga. Beberapa ordo yang menjadi inang (dapat diinfeksi) oleh *M. anisopliae* antara lain: Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera, Lepidoptera, dan Hemiptera (Lee dan Hou, 2003).

Produksi dalam jumlah yang memadai dan kualitas inokulum yang baik merupakan salah satu komponen penting untuk menunjang pengembangan cendawan *M. anisopliae* sebagai agen hayati. Chetry et al., (2008) menyatakan bahwa perbanyakan *M. anisopliae* dapat dilakukan melalui dua cara, antara lain: menggunakan media cair (blastospora) maupun media padat (konidia udara). Penggunaan media cair sebagai media perbanyakan massal *M. anisopliae* kurang memadai karena tidak mampu menghasilkan konidia udara secara optimal (Goulli et al., 2014). Konidia udara cenderung lebih stabil dalam pengaplikasian di lapang dibandingkan blastospora (Jenkins, 1998), sehingga media padat seperti beras dan gandum lebih banyak digunakan untuk perbanyakan massal *M. anisopliae* (Moslim et al., 2005).

Permasalahan yang muncul pada perbanyakan *M. anisopliae* menggunakan media padat adalah memerlukan waktu sporulasi yang lebih lama dibandingkan media cair sehingga meningkatkan biaya produksi (Mascarin et al., 2010). Oleh karena itu dibutuhkan suatu metode perbanyakan yang tepat untuk menunjang kebutuhan cendawan *M. anisopliae* sebagai bahan baku biopestisida yang semakin besar.

Alternatif yang muncul untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah mengkombinasikan teknik perbanyakan media cair-padat untuk memperpendek masa inkubasi dan meningkatkan kerapatan spora *M. anisopliae* dalam

perbanyak massal. Metode ini dinamakan teknik dua fase (*biphasic method*). Pour *et al.*, (2008) menyatakan bahwa teknik dua fase mengkombinasikan kelebihan dari perbanyak media cair-padat, yaitu: masa inkubasi cepat dan produksi biomassa tinggi dari media cair dan kemampuan menghasilkan konidia udara dari perbanyak media padat. Teknik ini telah dikembangkan sebagai cara alternatif untuk meningkatkan kapasitas produksi cendawan entemopatogen secara massal, sehingga masa inkubasi lebih pendek dan produktivitas konidia lebih tinggi (Jackson, 1997). Teknik dua fase menghasilkan menghasilkan kerapatan spora yang lebih baik dan yang nantinya virulensinya juga akan tinggi, teknik perbanyak ini diciptakan untuk menyelesaikan persoalan kebutuhan *M. anisopliae* di lapang dalam jumlah yang banyak namun tidak memerlukan biaya yang mahal, serta memiliki kerapatan spora yang tinggi (Dorta, 1994).

Media padat yang akan digunakan untuk perbanyak *M. anisopliae* menjadi faktor penentu dalam keberhasilan perbanyak secara massal (Pour *et al.*, 2008), sehingga kesesuaian media padat untuk perbanyak cendawan *M. anisopliae* penting untuk diketahui. Dalam pertumbuhannya, *M. anisopliae* memerlukan beberapa nutrisi penting, antara lain: karbohidrat sebagai sumber karbon (Bilgrami dan Verma, 1981), protein untuk pembentukan konidia (Garraway dan Evans, 1984), dan berbagai mikronutrisi lain. Oleh karena itu pengembangan teknik ini menggunakan media tumbuh yang mampu memenuhi kebutuhan nutrisi *M. anisopliae*, mudah ditemukan, dan memiliki harga yang ekonomis, antara lain: beras biji-bijian, gandum dedak, atau beras dedak.

1.2 Rumusan Masalah

Pelaksanaan penelitian ini berlandaskan pada permasalahan Teknik perbanyak massal *M. anisopliae* baik pada media padat mau pun cair, dimana dalam perbanyak massal cendawan *M. anisopliae* diharapkan memiliki kerapatan spora yang tinggi, tidak memerlukan waktu sporulasi yang lama, dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Sehingga perlu dilakukan penelitian tentang perbanyak *M. anisopliae* yang mengkombinasikan teknik perbanyak media cair-padat untuk memperpendek masa inkubasi dan meningkatkan

kerapatan spora *M. anisopliae* dalam perbanyakan massal, serta menganalisa pengaruh media tumbuh dan asal isolatnya.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh media tumbuh dan asal isolat *M. anisopliae* yang efektif dalam perbanyakan massal dengan menggunakan teknik dua fase (*biphasic technique*).

1.3.2 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai salah satu sumber informasi dalam upaya perkembangan teknik baru dengan menggunakan teknik dua fase untuk mengendalikan hama di lapang, yang nantinya dapat dimanfaatkan oleh petani dalam mengendalikan hama dengan efektif dan efisien.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Potensi *Metarhizium anisopliae* sebagai agen hayati

M. anisopliae adalah salah satu agen pengendali hayati yang telah lama diketahui mempunyai kemampuan entomopatogenik yang digunakan untuk mengendalikan hama tanaman, dan salah satunya digunakan untuk pengendalian uret perusak akar tebu di beberapa negara. Di Indonesia cendawan ini lebih berkembang untuk pengendalian kumbang perusak pucuk kelapa (Harjaka, 2006).

M. anisopliae memiliki morfologi yang telah banyak diketahui yaitu konidiofor tumbuh tegak, spora berbentuk silinder atau lonjong dengan panjang 6-16 μ m, warna hialin, bersel satu, massa spora berwarna hijau zaitun. *M. anisopliae* tumbuh pada pH 3,3-8,5 dan memerlukan kelembaban tinggi. Radiasi sinar matahari dapat menyebabkan kerusakan pada spora. Suhu optimum bagi pertumbuhan dan perkembangan spora berkisar pada 25-30°C. *M. anisopliae* mempunyai miselia yang bersepta, dengan konidia yang berbentuk lonjong. *M. anisopliae* termasuk dalam kingdom fungi, divisi eumycota, kelas deutromycetes, ordo moniliales, famili moniliaceae, dan bergenus *Metarhizium* (Alexopoulos *et al.*, 1996).



Gambar 2.1 Morfologi *Metarhizium anisopliae*

M. anisopliae menghasilkan *destruxin* A, B, C, D, E dan *desmethyldestruxin* B. Efek *destruxin* berpengaruh pada organel sel (mitokondria, retikulum endoplasma dan membran nukleus), menyebabkan paralisis sel dan gangguan fungsi tabung malphigi, hemocyt dan jaringan otot (Tanada dan Kaya, 1993). Dibawah kondisi alami, *M. anisopliae* menghasilkan dua jenis spora. Aerial conidia yang dihasilkan pada phialid-phialid selama fase saprofitik atau pada inang yang telah mati, dan didefinisikan sebagai spora-spora aseksual yang dihasilkan pada sporogenous dan hifa khusus yang dikenal sebagai phialid. Tipe spora yang kedua adalah spora yang dihasilkan di hemolymph serangga yang biasanya disebut blastospora (Taborsky, 1992).

M. anisopliae termasuk Cendawan *filamentous*, berfilum *Ascomikota*, kelas *Hipomisetes*, ordo *Moniliales*, genus *Metarhizium*, spesies *M. anisopliae*. Jamur ini hidup dan banyak ditemukan di tanah, bersifat saprofit, dan sering ditemukan pada serangga yang terinfeksi dari berbagai macam stadia, tumbuh pada suhu dan kelembaban antara 65-85° F dan kelembaban 30-90%, juga pada kelembaban di bawah 50% dapat melepas spora (Silvi, 2008).

M. anisopliae bersifat saprofit atau bersifat parasit pada media buatan, awal mula pertumbuhannya adalah tumbuhnya konidium yang membengkak dan mengeluarkan tabung-tabung kecambah, Tabung kecambah tersebut memanjang dan memanjang selama 30 jam. Beberapa cabang tersebut membesar ke arah atas membentuk konidiofor yang pendek, bercabang, berdekatan dan saling melilit. Konidia terbentuk setelah satu minggu pertumbuhan, mula-mula berwarna putih kemudian berangsur menjadi hijau apabila telah masak. Pembentukan konidia terdiri dari kuncup dan tunas yang memanjang pada kedua sisi konidiofor tersebut. Umumnya sebuah rantai konidia bersatu membentuk sebuah kerak dalam media. Salah satu pengendalian hayati terhadap kumbang badak menggunakan *M. anisopliae* yang mempunyai beberapa kelebihan antara lain adalah : *M. anisopliae* membunuh sasaran hama dengan tepat yaitu larva kumbang badak, kepompong, dan kumbang muda dalam sarang. *M. anisopliae* dapat digunakan dengan mudah, tidak memerlukan alat yang rumit sehingga biayanya

mudah dan penggunaan *M. anisopliae* tidak membahayakan lingkungan baik pada manusia, ternak maupun tanaman.

M. anisopliae dapat berkembang baik pada sarang kumbang badak pada kedalaman 10-20 cm. larva instar pertama dan kedua lebih tahan terhadap jamur ini, sedangkan larva instar ketiga lebih rentan karena lebih aktif bergerak dan apabila dalam satu tempat populasi tinggi, akan terjadi saling menyerang diantara larva yang menyebabkan luka sehingga mudah penetrasi cendawan dalam tubuh larva (Mangoendiharjo dan Mahrub, 1983).

2.2 Kebutuhan Nutrisi *M. anisopliae*

Ferron (1981) berpendapat bahwa sumber nutrisi dapat berpengaruh pada pertumbuhan cendawan entomopatogen. Inglood (1962) menyebutkan bahwa media tumbuh cendawan harus mengandung substansi organik sebagai sumber C, sumber N, ion anorganik dalam jumlah yang cukup sebagai pemasok pertumbuhan dan sumber vitamin. *M. anisopliae* juga memerlukan karbohidrat sebagai sumber karbon dalam pertumbuhannya. Sejumlah penelitian menurut (Bilgrami dan Verma (1981) menunjukkan bahwa penggunaan karbohidrat tinggi mendorong pertumbuhan vegetatif cendawan.

Menurut Schaerfenberg (1961), menyatakan bahwa vitamin B1 dan B2 sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan cendawan. Penggunaan karbohidrat berkonsentrasi tinggi biasanya mendorong pertumbuhan vegetatif cendawan, tetapi bagaimana karbohidrat menimbulkan pertumbuhan vegetatif yang berlebihan belum diketahui secara pasti (bilgrami dan Verma, 1984).

Pembentukan konidia cendawan dipengaruhi oleh kandungan protein dalam media. Protein diperlukan untuk pembentukan organel yang berperan dalam pembentukan apikal hifa dan sintesis enzim yang diperlukan selama proses tersebut dan enzim juga berperan dalam aktivitas perkecambahan dan protein yang diserap dalam bentuk asam amino (Garraway dan Evans, 1984).

M. anisopliae membutuhkan oksigen, air dan sumber organik karbon dan energi. Sumber karbon yang biasa digunakan sebagai media adalah dekstrose namun dapat diganti dengan polisakarida seperti tajin atau lipid. Nitrogen dapat

disediakan dalam bentuk nitrat, amonia atau bahan organik seperti asam amino atau protein. Makronutrisi penting yang lain adalah phospor (dalam bentuk phospat), potassium, magnesium dan sulfur (yang disediakan dalam bentuk sulfat maupun dalam bentuk organik, cystein atau methionine). Mikronutrisi penting yang dibutuhkan oleh kebanyakan jamur entomopatogen adalah kalsium, besi, tembaga, mangan, molybdenum, zinc dan vitamin B kompleks, khususnya biotine dan thiamine. Semua mikronutrisi ini biasanya terdapat dalam bahan mentah, akan tetapi dapat dipenuhi dalam bentuk protein hidrolisat atau ekstrak yeast (Taborsky, 1992).

2.1 Perbanyakan Cendawan Entomopatogen

Cendawan adalah mikroorganisme heterotrof, karena tidak memiliki kemampuan untuk mengoksidasi senyawa karbon anorganik, atau senyawa karbon yang memiliki satu karbon. Senyawa karbon organik dapat dimanfaatkan cendawan untuk membuat materi sel baru berkisar dari molekul sederhana, seperti gula sederhana dan asam organik, hingga senyawa kompleks seperti karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat (Darnetty, 2006). Kentang beras dan jagung merupakan bahan makanan yang mengandung karbohidrat dan mudah ditemukan di Indonesia, selain itu harganya juga murah.

1. Beras

Menurut hadrian (1981), secara biologi beras adalah bagian biji padi yang terdiri dari aleuron, lapis terluar yang sering kali ikut terbang dalam proses pemisahan kulit, endosperma terdapat sebagian besar pati dan protein beras berada, dan embrio yang merupakan calon tanaman baru (dalam beras tidak dapat tumbuh lagi, kecuali dengan bantuan teknik kultur jaringan).

Sebagaimana bulir serealia lain, bagian terbesar beras didominasi oleh pati (sekitar 80-85%). Beras juga mengandung protein, vitamin (terutama pada bagian aleuron), mineral, dan air. Pati beras tersusun dari dua polimer karbohidrat: amilosa, pati dengan struktur tidak bercabang, *amilopektin*, pati dengan struktur bercabang dan cenderung bersifat lengket (Moehyi, 1992).

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi beras per 100gram

Kandungan	Nilai
Karbohidrat	79 g
Gula	0,12 g
Serat pangan	1,3 g
Lemak	0,66 g
Protein	7,13 g
Air	11,62 g

Sumber; Direktorat Gizi, 2010

2. Jagung

Jagung merupakan salah satu tanaman pangan dunia yang terpenting, selain gandum dan padi, yaitu sebagai sumber karbohidrat. Biji jagung kaya akan karbohidrat. Sebagian besar berada pada endospermium. Kandungan karbohidrat dapat mencapai 80% dari seluruh bahan kering biji. Karbohidrat dalam bentuk pati umumnya berupa campuran *amilosa* dan *amilopektin*. Jagung ketan, sebagian besar atau seluruh patinya merupakan amilopektin. Perbedaan ini tidak banyak berpengaruh pada kandungan gizi, tapi lebih berarti dalam pengolahan sebagai bahan pangan (Moehyi, 1992).

Tabel 2.2 Kandungan nutrisi Jagung

Kandungan	Nilai
Protein	9,2 g
Lemak	3,9 g
Karbohidrat	73,7 g
Kalsium	10 mg
Fosfor	256 mg
Ferrum	2,4 mg
Vitamin B1	0,38 mg
Air	12 g

Sumber: Direktorat Gizi, 2010

3. Dedak

Dedak padi (rice bran) merupakan sisa dari penggilingan padi, yang dimanfaatkan sebagai sumber energi pada pakan ternak dengan kandungan serat kasar berkisar 6-27% (Putrawan dan Soerawidjaja, 2007). Potensi cairan rumen sendiri mudah didapatkan di Rumah Potong Hewan, cairan rumen ini kebanyakan tidak dimanfaatkan keberadaannya, padahal dengan sedikit

mempertimbangkan keberadaan mikroba di dalamnya diduga masih ada kemungkinan cairan rumen ini dapat dimanfaatkan lebih khususnya dalam bidang pakan ternak yaitu menurunkan kadar serat kasar untuk pakan ternak unggas.

Tabel 2.3 Kandungan nutrisi dedak

Kandungan	Nilai
Energi	1890kkal/kg
Protein	11,5%
Lemak kasar	7,0%
Serat kasar	15,5%
Kalsium	0,07%
Fosfor	1,40 %

Sumber: NRC,1994.

2.4 Perbanyak Cendawan Entomopatogen

Berbagai kelebihan pemanfaatan jamur entomopatogen dalam pengendalian hama ialah mempunyai kapasitas reproduksi yang tinggi, siklus hidupnya pendek, dapat membentuk spora yang tahan lama di alam walaupun dalam kondisi yang tidak menguntungkan, relatif aman, bersifat selektif, relatif mudah diproduksi, dan sangat kecil kemungkinan terjadi resistensi (Prayogo *et al.*, 2005). Kedua jamur di atas merupakan jamur yang dapat ditumbuhkan pada media buatan. Faktor kelembaban, suhu dan makanan mempengaruhi pertumbuhan jamur pada media buatan (Huffaker & Messenger 1989). Media substrat perbanyak juga turut mempengaruhi pembiakan jamur pada media buatan. Hasyim *et al.* (2005), menyatakan bahwa media substrat jagung dan beras merupakan substrat terbaik untuk pembiakan cendawan.

Saat ini yang paling umum metode untuk produksi massal cendawan adalah melibatkan media cair dan padat (dua fase) atau berbasis teknik perbanyak massal yang menghasilkan kerapatan spora yang lebih baik dan yang nantinya virulensinya juga akan tinggi, teknik perbanyak ini diciptakan untuk menyelesaikan persoalan kebutuhan *M. anisopliae* dilapang dalam jumlah yang banyak namun tidak memerlukan biaya yang mahal, serta memiliki kerapatan spora yang tinggi pula, oleh karena itu pengembangan teknik ini menggunakan media tumbuh yang mudah ditemukan dan harga yang ekonomis, seperti beras biji-bijian, gandum dedak, atau beras dedak (Dorta,1994).

2.5 Hipotesis

H₀ = Tidak ada pengaruh antara isolat dengan media perbanyakan *M. anisopliae* menggunakan teknik dua fase.

H₁ = Ada pengaruh antara isolat dengan media Perbanyakan *M. anisopliae* dengan menggunakan teknik dua fase.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Jember, untuk perbanyak jamur *M. anisopliae* dengan teknik dua fase. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan, mulai dari bulan Agustus sampai dengan bulan Oktober 2015.

3.2 Persiapan Pelaksanaan Penelitian

3.2.1 Peremajaan *M. anisopliae*

Di dalam peremajaan *M. anisopliae* dilakukan secara aseptis pada ruang steril (*Laminair Airflow*) dengan langkah awal mengambil isolat cendawan *M. anisopliae* koleksi dari Ir. Hari Purnomo, M, Si. Ph.D.DIC, yaitu, isolat jombang 1, dan jombang 2, setelah itu menyiapkan media PDA dan letakkan pada tabung reaksi dalam kondisi miring, lalu diamkan hingga dingin, setelah dua minggu, hasil peremajaan itu digoreskan isolat *M. anisopliae* dengan jarum ose, setelah itu goreskan pada media miring yang telah siap, lalu tutup menggunakan kapas bersih dan plastik wrap kemudian simpan dalam ruang pada suhu 20-23°C selama 14 hari.

3.2.2 Pembuatan Larutan EKG

Bahan yang digunakan untuk membuat media EKG 1 liter yaitu kentang, dextrose dan aquadest, dengan perbandingan bahan 250 gr kentang, 25 gr dextrose dan 1 liter air. Cara membuat EKG adalah memilih kentang yang baik, segar dan sehat. Kemudian mengupas kentang, lalu cuci bersih dan dipotong dadu. potongan kentang dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 1 liter, selanjutnya erlenmeyer yang berisi kentang diletakkan dalam panci yang telah diberi air. Rebus potongan kentang selama 20 menit dengan sekali-kali diaduk, lalu saring dalam wadah baru untuk memisahkan endapan dan cairannya untuk mendapatkan ekstraknya, tunggu hingga dingin dan menambahkan 25 gram dextrose, lalu dipanaskan dengan hot plate sampai mendidih untuk menghomogenkan. Ekstrak kentang yang sudah dihotplate dan sudah dingin dipindah ke dalam erlenmeyer kecil ukuran 100ml

sebanyak 75 ml pada masing-masing erlenmeyer, kemudian disterilisasi kedalam autoclave.

3.2.3 Pembuatan Komposisi Media Padat

Pembuatan komposisi media padat ini bahan-bahannya meliputi beras jagung, beras menir dan dedak. Langkah pertama yaitu membersihkan terlebih dahulu bahan tersebut pada air mengalir guna untuk membersihkan kotoran-kotoran maupun benda asing, kemudian tambahkan air sampai seluruh bahan terendam, lalu diamkan dalam posisi bahan terendam selama 2 jam untuk beras menir dan 3 jam untuk jagung. Media dedak hanya dilakukan pencucian saja dan tidak memerlukan proses perendaman. Tiriskan air rendaman setelah proses pencucian dan perendaman dilakukan, lalu tambahkan minyak sebanyak 10 ml setiap kg media yang dipakai. Tahap selanjutnya, bahan yang sudah di rendam dan diberi minyak dikemas pada plastik tahan panas dengan masing-masing media sebanyak 100 gr, untuk media kombinasi diberikan sebanyak (50:50) dari masing-masing kombinasi media. Proses akhir dari pembuatan media padat ini yaitu sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 30 menit. Mendinginkan pada suhu kamar sebelum dilakukan inokulasi.

3.2.4 Persiapan Serangga Uji

Penelitian ini menggunakan serangga uji *T. molitor* yang sudah disediakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember sebanyak 600 ekor dalam keadaan sehat. Tahap selanjutnya dimasukan kedalam toples bening. Pakan yang digunakan untuk *T.molitor* adalah sayur sayuran seperti irisan wortel, sawi, dan voer.

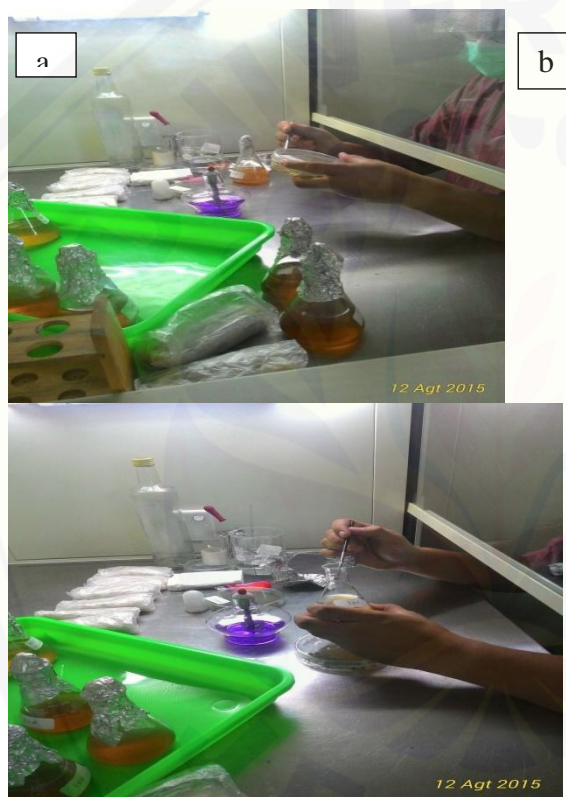
3.3 Pelaksanaan Riset

Penelitian ini terdapat 2 fase perbanyak jamur *M. anisopliae*. Fase pertama yaitu Ekstrak Kentang Gula (EKG) sebagai media tumbuh *M. anisopliae* (media cair) dan fase kedua adalah perbanyak dengan penggunaan media beras

jagung, beras menir, dedak. Sebagai media tumbuh *M. anisopliae* (media padat), berikut penjelasannya.

3.3.1 Tahap inokulasi *M. anisopliae* pada media cair (EKG)

Fase pertama dari perbanyakan *M. anisopliae* adalah Isolat *M. anisopliae* yang sudah diperbanyak, kemudian inokulasikan larutan EKG dalam erlenmeyer yang berukuran 100 ml tadi dengan 3 ml suspensi *M. anisopliae*, setelah itu diletakan pada rotary shaker dengan putaran 200 rpm selama kurang lebih 7 hari.





Gambar 3.1 Tahap inokulasi *M. anisopliae* pada media cair, a) pengambilan inokulan dari media agar, b) menginokulasi ke media cair (EKG), c) media cair di shaker selama 7 hari, d) isolat *M. anisopliae* yang sudah ditumbuhi spora.

3.3.2 Tahap inokulasi *M. anisopliae* pada media padat

Fase kedua dari perbanyakkan *M. anisopliae* adalah Media padat yang sudah disterilisasi menggunakan autoklaf tersebut diletakan kedalam laminar air flow, kemudian menyalakan UV kurang lebih 30 menit. Kemudian membuka kantong plastik, dan mulai mengisi media padat. Menuangkan suspensi *M. anisopliae* sebanyak 3 cc. Tahap selanjutnya melipat plastik hingga bagian atas tertutup, simpan dalam rak dengan suhu ruang selama kurang lebih 2 minggu.



Gambar 3.2 Inokulasi Isolat *M. anisopliae* dari Biakan EKG ke Media Padat, a) persiapan alat dan bahan, b) mengambil suspensi 3 ml dengan menggunakan mikropipet, c) menginokulasi suspensi pada tiap media, d) menutup dan memberikan label lalu inkubasi selama 7 hari.

Setelah kering dimasukkan ke dalam kantong kertas sampul tebal dan disimpan kembali di dalam rakatau display yang nantinya akan di lihat perkembangan *M. anisopliae* pada tiap perlakuan media padat tersebut. Pengamatan dilakukan kurang lebih setelah 1 minggu di dalam kantong kertas tersebut. (Gambar 3.3)



Gambar 3.3 Proses penyimpanan dan pengeringan isolat *M. anisopliae* pada kantong kertas, a) memindahkan isolat ke dalam kantong kertas, b) melipat kantong kertas yang berisi isolat, c) memberikan label sesuai perlakuan, d) menata rapi pada rak penyimpanan.

3.4 Rancangan Riset

Pelaksanaan penelitian ini disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah media dengan 5 taraf yaitu : beras menir, beras jagung, dedak, beras jagung dicampur dedak dengan perbandingan (50:50) dan beras jagung dicampur dengan dedak dengan perbandingan (50:50). Faktor kedua adalah asal isolat jamur *M. anisopliae* dengan 2 taraf yaitu : isolat jombang 1 dan isolat jombang 2, setiap perlakuan kombinasi tersebut diulang sebanyak 3 kali.

3.5 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi produktivitas spora, perkecambahan spora, dan uji virulensi (mikosis) berikut tahapannya:

3.5.1 Produktivitas spora

Produktivitas spora dapat dilakukan dengan mengambil biakan perbanyak pada setiap media yang di uji sebanyak 1 gram, kemudian dicampur dengan air steril dan larutan tween 80 0,05% sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi dan didentrifuse selama 15 menit. Suspensi diambil dengan menggunakan mikropipet dan diisikan ke *Haemocytometer*. Tahap selanjutnya dilakukan pengamatan dengan mikroskop dan dihitung jumlah spora. Penghitungan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan, spora per ml ditentukan dengan rumus:

$$S = \frac{X}{L \times t \times d} \times 10^3$$

Keterangan:

S = jumlah spora/gram media

X = jumlah spora yang dihitung

L = luas kotak hitung (0,04 x 5 = 0,2 mm²)

t = kedalaman kotak hitung (0,1 mm)

d = faktor pengenceran

10³ = volume suspensi yang diambil (1 ml = 10³ mm³)

3.5.2 Perkecambahan spora

Perkecambahan spora diuji dengan membuat suspensi *M. anispliae* yaitu mengambil biakan perbanyak pada setiap media yang diuji sebanyak 1 gram. Kemudian dicampur dengan air steril dan larutan tween 1% sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi dan disentrifuse selama 2-3 menit. Suspensi diambil dengan menggunakan mikropipet dan diteteskan diatas gelas benda yan telah ditetesi SDA yeast terlebih dahulu, kemudian diratakan. Pengamatan perkecambahan spora dilakukan setelah 6 jam setelah diinokulasi secara mikroskopis, dan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$K = \frac{T}{M} \times 100\%$$

Keterangan:

K = persentase spora yang berkecambah %

T = spora yang berkecambah

M = total spora yang diamati

3.5.3 Uji Virulensi *M. anisopliae* terhadap *T. molitor*

Uji virulensi *M. anisopliae* dilakukan dengan membuat suspensi spora yaitu mengambil biakan perbanyak pada setiap media yang diuji sebanyak kurang lebih 1 gram. Kemudian dicampur dengan air steril sebanyak 10 ml dan larutan tween 1% sebanyak 2 tetes dalam tabung reaksi dan di vortex hingga homogen, selanjutnya suspensi *M. anisopliae* dituangkan kedalam petri steril, kemudian mengambil *T. molitor* menggunakan pinset dan celupkan kedalam cawan petri yang telah berisi suspensi *M. anisopliae* selama 5-10 detik, lalu simpan *T. molitor* yang sudah dicelupkan tadi kedalam petri baru yang sebelumnya telah diberi kertas saring, dalam 1 petri terdapat *T. molitor* sebanyak 20 ekor. Efektifitas *M. anisopliae* terhadap *T. molitor* dapat diketahui dari presentase jumlah kematiannya dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kematian hama} = \frac{\text{Jumlah serangga yang mati}}{\text{Jumlah seluruh populasi serangga}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh, nantinya akan dianalisis dengan menggunakan analisis ragam atau ANOVA, untuk menguji pengaruh perlakuan yang berbeda terhadap parameter yang diamati dan apa bila terdapat perbedaan yang nyata, dilakukan uji tukey 5% dengan menggunakan aplikasi statview.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan media cair (EKG) dan berbagai media padat (beras menir, beras jagung, dedak, beras menir + dedak, dan beras jagung + dedak) tidak berpengaruh terhadap perkecambahan dan uji virulensi (mikosis), namun memberikan pengaruh nyata terhadap produktifitas spora. Produktifitas spora terbaik diperoleh pada media beras menir+dedak, media ini cukup efektif untuk membunuh *T. molitor* apabila dibandingkan dengan media lainnya.

5.2 Saran

Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi dalam perbanyakan cendawan *M.anisopliae* untuk kedepannya, penyempurnaan beberapa media baru sangat disarankan agar mampu mendapatkan hasil perbanyakan yang lebih maksimal. Serta diharapkan agar penelitian tentang cendawan *M.anisopliae* tidak berhenti sampai disini saja, tetapi akan terus berkembang untuk kedepannya. Agar ditemukan informasi-informasi baru terkait cendawan *M.anisopliae* dan teknik perbanyakannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Cliquet S, Jackson MA,. 1999. Influence of culture conditions on production and freeze-drying tolerance of *paecilomyces fumosoroseus* blastospores. *Industrial Microbiol biotechnol.* 23:97-102.
- Darnetty.2006. *Pengantar Mikologi*. Andalas university pers: Padang.
- Dorta B, Ertola RJ, Arcas. 1996. Characterization of growth and sporulation of *Metarhizium anisopliaein* soild-substrate fermentation. *Enzyme and Microbial Technology* 19:434-439.
- Feng, M.G., T.J. Poprawski and G.G.Khachatourians. 1994. *Production, Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus Beauveria bassiana for Insect Control, Current Status*. Biocontrol Science and Technology, (4), 3-34 p
- Ferron, P. 1981. Fungal control. *Comprehensive insect physiology*, Bioch. Pharmacol. 12: 313-346.
- Gabriel B.P.& Riyatno. 1989. *Metarhizium anisopliae (Metch) Sor: Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya*. Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian
- Garraway, M.O. dan R.C. Evans. 1984. *Fungal Nutrition and physiology*. John Willey and Sons. USA.
- Gusnawaty, H.S; Taufik, M; dan Wahyudin, E. 2013. Uji Efektifitas beberapa Media Untuk Perbanyakan Agens Hayati Gliocadium sp. Agroteknos, 3(2), Hal: 73-79.
- Herlinda S, Muhamad DU, Yulia P, Suwandi. 2005. Kerapatan dan Viabilitas Spora *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Akibat Subkultur dan Pengayaan Media, serta Virulensinya Terhadap Larva *Plutella xylostella* (Linn.). *J. HPT* 6(2):70-78.
- Huffaker CB, Messenger PS. 1976. *Theory and Practice of Biological Control*. Diterjemahkan oleh Soeprapto M. 1989. *Teori dan Praktek Pengendalian Biologis*. Universitas Indonesia Press.
- Luz C, Tigano MS, Silva IG, Cordeiro CMT, Ijanabi SM. 1998. Selection of *Beauveria bassiana* and *Maetarhizium anisopliae* isolate to control *Triatoma infestans*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 93:839-846.

- Manisegaran, S., S. M. Lakshmi and V. Srimohanapriya. 2011. Field Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against *Holotrichia serrata* (Blanch) in sugarcane. *Journal of Biopesticides*, 4 (2): 190-193.
- Mangoendiharjo, S., dan E. Mahrub. 1983. Pengendalian Hayati. Jurusan ilmu Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada : Yogyakarta.
- Michalaki *et al.* 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Protection*, 25 (2006) : 418–425.
- Manurung, *et al.* 2012. Efikasi Beberapa Formulasi *Metarhizium anisopliae* Terhadap Larva *Oryctes Rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) di Insektarium. *Agroekoteknologi*, 1 (1) : 47-63.
- Moehyi, S. 1992. *Penyelenggara Makanan Institusi dan Jasa Boga*. Jakarta: Bhatara.
- Lee, P.C and R.F. Hou. 2003. Pathogenesis of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* in the smaler brown plant hopper *Laodhelpax striatulus*. *J. Entomol.* 9 : 13-19.
- Prayogo Y, Tengkan W. 2002. Pengaruh media tumbuh terhadap daya kecambah, sporulasi dan virulensi *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin isolat Kendalpayak pada larva *Spodoptera litura*. *Sainteks. Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Pertanian*. (9)4:233-242.
- Prayogo, Y. dan Tengkan, W. 2004. Pengaruh Konsentrasi dan Frekuensi Aplikasi *Metarhizium anisopliae* Isolat Kendalpayak terhadap Tingkat Kematian *Spodoptera litura*. *Jurnal Ilmiah Sainteks*, XI(3): 233–243.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2015. *Pemanfaatan Jamur Patogen untuk Pengendalian Hama Perusak Akar Tebu*. [Serial Online].
- Putrawan, I.D.G.A., dan T.H. Soerawidjaja. 2007. Stabilisasi Dedak Padi melalui Pemasakan Ekstrusif. *Jurnal teknik kimia Indonesia*. 6 (3) Desember 2007 :681-688.

- Rustama, M. M., Melanie, dan Irawan, B. 2008. Patogenisitas Jamur Entomopatogen *Metarhizium Anisopliae* terhadap *Crocidolomia pavonana* Fab. dalam Kegiatan Studi Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kubis dengan Menggunakan Agensia Hayati. *Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Unpad*. Universitas Padjajaran, Bandung.
- Silvi.2008.Perbanyak Jamur *Metarhizium anisopliae*. <http://silvi-ikawati.blogspot.com/2008/12/perbanyak-metarhizium.html> diakses pada tanggal 12 Januari 2016
- Susanto, *et al.* 2005. Pengurangan Poulasi Larva *Oryctes rhinoceros* pada Sistem Lubang Tanam Besar. *Jurnal Penelitian Kelapa sawit*, 13 (1) : 1-9.
- Tanada Y, Kaya HK. 1993. Cendawan Patogen Serangga sebagai Bahan Baku Insektisida. Pemanfaatan Mikroba dan Parasitoid dalam Agroindustri Tanaman Rempah dan Obat. *Pengembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat*. 12(1): 21-28.
- Utari, N. M. W., Sudiarta, I. P., dan Bagus, I. G. N. 2015. Pengaruh Media dan Umur Biakan Jamur *Metarhizium anisopliae* M. terhadap Tingkat Kematian Larva *Oryctes rhinoceros* L. (Scarabaeidae; Coleoptera). *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 4 (2) : 160-169.
- Wahyono ET, 2006. Pemanfaatan Jamur Entomopatogen Serangga dalam Penanggulangan Helopeltis antonii dan Akibat Serangannya pada Tanaman Jambu Mente. *Buletin Teknik Pertanian*. 11 (1): 17-22.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Kerapatan Spora *Metarhizium anisopiae* pada Media Padat per1gram

Media	Ulangan	Kerapatan Spora (10^7)
Beras Jagung isolat jombang 1	1	10,2
Beras Jagung isolat jombang 1	2	8,9
Beras Jagung isolat jombang 1	3	10,8
Beras Jagung isolat jombang 2	1	9,6
Beras Jagung isolat jombang 2	2	14,5
Beras Jagung isolat jombang 2	3	14,1
Beras Menir isolat jombang 1	1	715
Beras Menir isolat jombang 1	2	635
Beras Menir isolat jombang 1	3	117
Beras Menir isolat jombang 2	1	1130
Beras Menir isolat jombang 2	2	920
Beras Menir isolat jombang 2	3	1270
Dedak isolat jombang 1	1	27,8
Dedak isolat jombang 1	2	27,6
Dedak isolat jombang 1	3	15
Dedak isolat jombang 2	1	29,45
Dedak isolat jombang 2	2	33,6
Dedak isolat jombang 2	3	13
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	1	5,5
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	2	3,3
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	3	3,5
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	1	7,1
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	2	5,7
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	3	39,7
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	1	1990
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	2	1040
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	3	1266
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	1	1520
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	2	1390
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	3	1193

Lampiran 2. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Produktifitas Spora *Metarhizium anisopliae*

ANOVA Table for produktivitas spora

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
media	4	9537620,688	2384405,172	58,103	<,0001	232,414	1,000
isolat	1	97943,674	97943,674	2,387	,1380	2,387	,298
media * isolat	4	480818,801	120204,700	2,929	,0467	11,717	,678
Residual	20	820744,168	41037,208				

Lampiran 3. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada produktifitas spora *M. anisopliae*

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	9,97	c	285,63	4,23	5
	Beras Menir	489,00	b			
	Dedak	23,47	c			
	Beras jagung + dedak	4,10	c			
	Beras Menir + dedak	1432,00	a			
Jombang 2	Beras Jagung	12,73	c	285,63	4,23	5
	Beras Menir	1106,67	b			
	Dedak	25,35	c			
	Beras jagung + dedak	17,50	c			
	Beras Menir + dedak	1367,67	a			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan berbeda nyata tidak nyata pada uji Tukey taraf signifikan 5%

Lampiran4. Data Perkecambahan Spora *Metarhizium anisopiae*

Media	Ulangan	Prsentase Perkecambahan Spora (%)			
		6 jsi	12 jsi	18 jsi	24 jsi
Beras Jagung isolat jombang 1	1	11,1	36,1	50	65,7
Beras Jagung isolat jombang 1	2	20,5	42,7	58,9	68,3
Beras Jagung isolat jombang 1	3	19,3	40,8	62,3	96,7
Beras Jagung isolat jombang 2	1	8,09	20,2	45	45,6
Beras Jagung isolat jombang 2	2	24,7	39,6	77,2	82,1
Beras Jagung isolat jombang 2	3	12,1	34,1	76,8	100
Beras Menir isolat jombang 1	1	43,8	73,6	85,9	100
Beras Menir isolat jombang 1	2	23,8	77,1	90,4	100
Beras Menir isolat jombang 1	3	26,4	34,7	63,4	95,6
Beras Menir isolat jombang 2	1	14,2	67,3	100	100
Beras Menir isolat jombang 2	2	40,5	68,4	90,9	98,1
Beras Menir isolat jombang 2	3	20,4	42,8	81,6	100
Dedak isolat jombang 1	1	8,2	20,8	37,3	53,1
Dedak isolat jombang 1	2	9,6	21	36,3	40,3
Dedak isolat jombang 1	3	26,4	54,4	74,4	100
Dedak isolat jombang 2	1	15,2	38,9	71,1	72,8
Dedak isolat jombang 2	2	7,8	26,4	42,1	46,6
Dedak isolat jombang 2	3	26	60,5	84	100
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	1	19	26	70	95
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	2	32	57	91	100
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	3	16,3	39,7	61,2	100
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	1	36	51	87	100
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	2	41	70	100	100
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	3	16,8	40,1	69,1	100
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	1	39,7	66,3	97,9	100
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	2	20,4	80,7	96,3	100
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	3	49,6	71,2	82,4	96
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	1	21,1	83,3	100	100
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	2	38,7	58	100	100
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	3	28,7	87,3	100	100

Lampiran 5. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Perkecambahan Spora *Metarhizium anisopliae*

ANOVA Table for perkecambahan spora

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
media	4	17251,272	4312,818	7,571	,0007	30,284	,989
isolat	1	450,818	450,818	,791	,3843	,791	,130
media * isolat	4	515,856	128,964	,226	,9204	,906	,089
Subject(Group)	20	11393,088	569,654				
Category for perkecambahan spora	3	73675,500	24558,500	273,339	<,0001	820,016	1,000
Category for perkecambahan spora * me...	12	2311,550	192,629	2,144	,0268	25,728	,902
Category for perkecambahan spora * iso...	3	596,837	198,946	2,214	,0957	6,643	,526
Category for perkecambahan spora * me...	12	342,053	28,504	,317	,9836	3,807	,163
Category for perkecambahan spora * Su...	60	5390,783	89,846				

Lampiran 6. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 6 jam

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	16,97	d	14,96	4,23	5
	Beras Menir	31,33	b			
	Dedak	14,73	d			
	Beras jagung + dedak	22,43	c			
	Beras Menir + dedak	36,57	a			
Jombang 2	Beras Jagung	14,96	c	14,96	4,23	5
	Beras Menir	25,10	b			
	Dedak	16,33	c			
	Beras jagung + dedak	31,27	a			
	Beras Menir + dedak	29,50	ab			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf signifikan 5%

Lampiran 7. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 12 jam

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	39,67	c	21,91	4,23	5
	Beras Menir	61,80	b			
	Dedak	32,07	d			
	Beras jagung + dedak	40,90	c			
	Beras Menir + dedak	72,73	a			
Jombang 2	Beras Jagung	31,30	d	21,91	4,23	5
	Beras Menir	59,50	b			
	Dedak	40,13	c			
	Beras jagung + dedak	53,70	b			
	Beras Menir + dedak	76,20	a			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf signifikan 5%

Lampiran 8. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 18 jam

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	57,07	c	20,70	4,23	5
	Beras Menir	79,90	b			
	Dedak	49,33	d			
	Beras jagung + dedak	74,07	b			
	Beras Menir + dedak	92,20	a			
Jombang 2	Beras Jagung	66,33	c	20,70	4,23	5
	Beras Menir	90,83	b			
	Dedak	65,73	c			
	Beras jagung + dedak	85,37	b			
	Beras Menir + dedak	100,00	a			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf signifikan 5%

Lampiran9. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan 24 jam

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	76,90	b	23,53733065	4,23	5
	Beras Menir	98,53	a			
	Dedak	64,47	c			
	Beras jagung + dedak	98,33	a			
	Beras Menir + dedak	98,67	a			
Jombang 2	Beras Jagung	75,90	b	23,53733065	4,23	5
	Beras Menir	99,37	a			
	Dedak	73,13	b			
	Beras jagung + dedak	100,00	a			
	Beras Menir + dedak	100,00	a			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbedanya pada uji Tukey taraf signifikan 5%

Lampiran 10. Data Prosentase Mikosisitas *M. anisopliae* pada *T. molitor*

Media	UL	Prosentase mikosis pada hari ke- (%)							Jumlah mati hitam
		I	II	III	IV	V	VI	VII	
Beras Jagung isolat jombang 1	1	0	4	5	7	8	8	9	11
Beras Jagung isolat jombang 1	2	0	5	6	8	11	11	11	9
Beras Jagung isolat jombang 1	3	0	2	5	15	15	16	16	4
Beras Jagung isolat jombang 2	1	0	3	3	4	4	4	5	15
Beras Jagung isolat jombang 2	2	0	5	5	6	6	6	6	14
Beras Jagung isolat jombang 2	3	0	0	0	1	1	1	1	19
Beras Menir isolat jombang 1	1	0	12	12	16	16	16	16	4
Beras Menir isolat jombang 1	2	0	6	7	7	8	8	8	12
Beras Menir isolat jombang 1	3	0	6	6	7	8	8	8	12
Beras Menir isolat jombang 2	1	0	11	12	12	12	12	12	8
Beras Menir isolat jombang 2	2	0	6	6	7	8	8	8	12
Beras Menir isolat jombang 2	3	0	10	10	10	11	11	11	9
Dedak isolat jombang 1	1	0	3	3	3	3	3	3	17
Dedak isolat jombang 1	2	0	7	8	8	8	8	8	12
Dedak isolat jombang 1	3	0	2	2	4	4	4	4	16
Dedak isolat jombang 2	1	0	7	8	8	8	9	9	11
Dedak isolat jombang 2	2	0	1	1	4	4	4	4	16
Dedak isolat jombang 2	3	0	2	3	15	15	15	15	5
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	1	0	6	6	6	7	7	7	13
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	2	0	1	2	2	2	3	3	17
Beras jagung + dedak isolat jombang 1	3	0	4	4	4	4	5	5	15
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	1	0	0	0	0	1	2	2	18
Beras jagung + dedak	2	0	1	3	3	5	5	5	15

isolat jombang 2									
Beras jagung + dedak isolat jombang 2	3	0	8	8	10	14	14	14	6
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	1	0	3	3	3	4	4	4	16
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	2	0	6	6	6	6	6	6	14
Beras Menir + dedak isolat jombang 1	3	0	5	5	5	6	6	6	14
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	1	0	5	5	6	7	7	7	13
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	2	0	5	5	5	5	6	6	14
Beras Menir + dedak isolat jombang 2	3	0	10	12	14	15	15	15	5

Lampiran 11. Hasil Repeated Measures anova untuk uji virulensi (mikosisitas) *M. anisopliae* pada *T. molitor*

ANOVA Table for uji virulensi

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
media	4	1421,667	355,417	,950	,4560	3,800	,242
isolat	1	13,333	13,333	,036	,8522	,036	,054
media * isolat	4	3878,333	969,583	2,591	,0678	10,365	,615
Residual	20	7483,333	374,167				

Lampiran 12. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada uji virulensi (mikosisitas) *M. anisoplia* pada *T. molitor*

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Jombang 1	Beras Jagung	60,00	A	27,45	4,23	5
	Beras Menir	53,33	A			
	Dedak	25,00	B			
	Beras jagung + dedak	25,00	B			
	Beras Menir + dedak	26,67	B			
Jombang 2	Beras Jagung	20,00	D	27,45	4,23	5
	Beras Menir	51,67	A			
	Dedak	46,67	Ab			
	Beras jagung + dedak	35,00	C			
	Beras Menir + dedak	46,67	Ab			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf signifikan 5%