



**Pengaruh Temperatur terhadap Pertumbuhan
Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya
terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)**

SKRIPSI

Oleh

Beny Setiawan

111510501143

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2016



**Pengaruh Temperatur terhadap Pertumbuhan
Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya
terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)**

SKRIPSI

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

Oleh

Beny Setiawan

111510501143

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

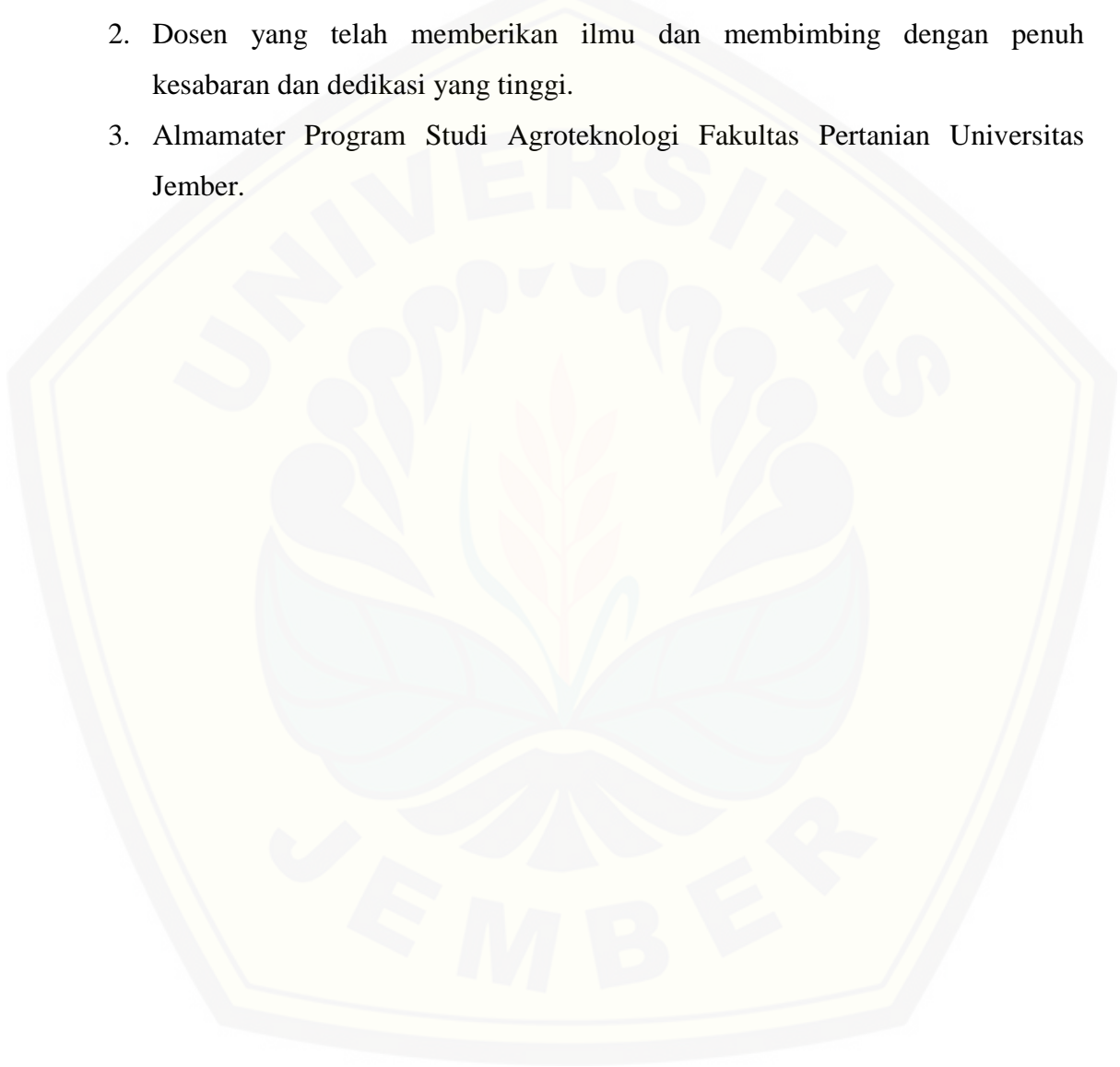
UNIVERSITAS JEMBER

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ayahanda Sukardi dan Ibunda Tembrok, serta keluarga tercinta yang tiada henti memberikan doa dan dukungan kepada saya.
2. Dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran dan dedikasi yang tinggi.
3. Almamater Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.



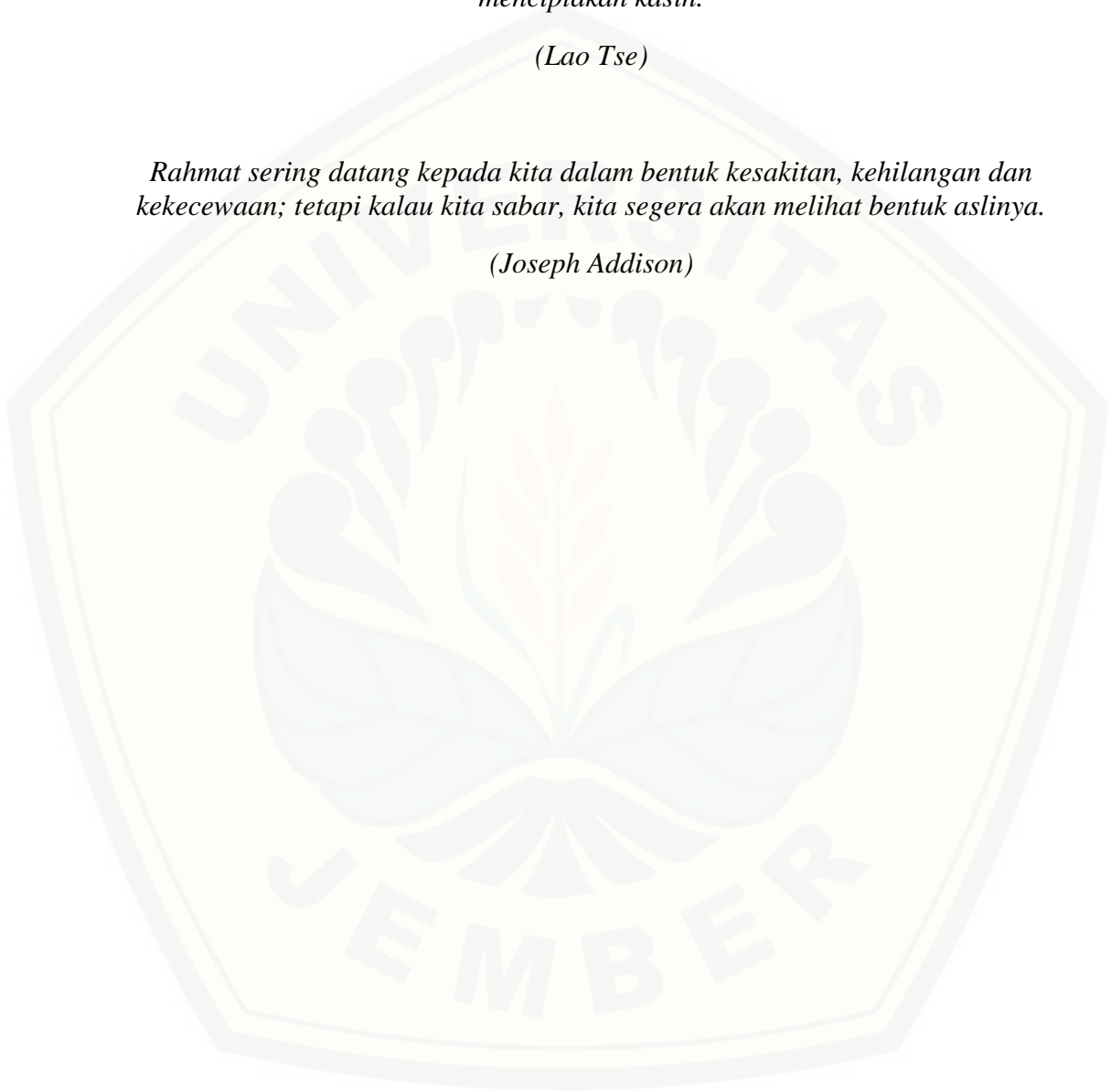
MOTTO

Keramahtamahan dalam perkataan menciptakan keyakinan, keramahtamahan dalam pemikiran menciptakan kedamaian, keramahtamahan dalam memberi menciptakan kasih.

(Lao Tse)

Rahmat sering datang kepada kita dalam bentuk kesakitan, kehilangan dan kekecewaan; tetapi kalau kita sabar, kita segera akan melihat bentuk aslinya.

(Joseph Addison)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Beny Setiawan

Nim : 111510501143

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul ” **Pengaruh Temperatur terhadap Pertumbuhan Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)**” 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, 23 April 2016
Yang menyatakan,

Beny Setiawan
NIM 111510501143

SKRIPSI

**Pengaruh Temperatur terhadap Pertumbuhan
Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya
terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)**

Oleh

Beny Setiawan

NIM 111510501143

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc.

NIP. 198105152005011003

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC

NIP. 196606301990031002

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "**Pengaruh Temperatur terhadap Pertumbuhan Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)**" telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Jember pada:

Hari : Senin

Tanggal : 25 April 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

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

Dosen Penguji I,

Ir. Sutjipto, MS.
NIP. 195211021978011001

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Pengaruh Temperatur Terhadap Pertumbuhan Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya Terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.); Beny Setiawan; 111510501143; 2016; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

M. anisopliae merupakan salah satu agensi hayati yang berpotensi mengendalikan serangga hama pada tanaman. Cendawan *M. anisopliae* merupakan spesies jamur yang bersifat patogen pada beberapa jenis serangga dan saprofit di dalam tanah dengan bertahan pada sisa-sisa tanaman. *M. anisopliae* memiliki spektrum yang luas dan dilaporkan menginfeksi lebih dari 100 spesies. Pemanfaatan cendawan *M. anisopliae* di Indonesia lebih cenderung berkembang untuk pengendalian hama uret pucuk kelapa jika dibandingkan uret perusak akar tebu. Salah satu faktor penghambatnya adalah kondisi lahan pertanaman tebu yang memiliki temperatur cukup tinggi dengan kelembapan yang relatif rendah sehingga mempersulit cendawan *M. anisopliae* untuk menginfeksi serangga. Selain itu kondisi iklim tropis Indonesia juga sangat mempengaruhi pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*. Ketika tiba musim penghujan temperatur akan turun sampai $\pm 20^{\circ}\text{C}$ dan apabila tiba musim kemarau temperatur akan naik hingga mencapai 35°C . Kenaikan temperatur sampai 35°C inilah yang menjadi penghambat pertumbuhan cendawan *M. anisopliae* mengingat temperatur tersebut sudah termasuk ekstrim bagi cendawan *M. anisopliae*. Temperatur optimum untuk pertumbuhan cendawan *M. anisopliae* adalah sekitar $20\text{-}26^{\circ}\text{C}$. Apabila cendawan *M. anisopliae* hidup pada kondisi temperatur cekaman maka cendawan akan mengalami kerusakan pada strukturnya terutama bagian konidia sehingga konidia akan infeksi sebelum melakukan infeksi pada serangga inang.

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan isolate *M. anisopliae* yang mampu bertahan dan memiliki tingkat virulensi yang tinggi terhadap *T. Molitor* pada kondisi cekaman temperatur. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Faktor yang pertama adalah temperatur dengan 4 taraf yakni 25, 30, 35, dan 40°C dan faktor yang kedua adalah isolat *M.*

anisopliae yang terdiri dari 5 isolat yaitu isolat Banyuwangi, Jombang 1, Jombang 2, Kediri dan Bondowoso. Setiap perlakuan kombinasi tersebut diulang sebanyak 3 kali. Variabel pengamatan yang digunakan adalah : Diameter pertumbuhan miselia yang bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan radial miselia cendawan, produktivitas spora untuk mengetahui kerapatan dari spora, dan viabilitas untuk mengetahui persentase perkecambahan spora, serta virulensi cendawan untuk mengetahui kemampuan cendawan dalam menginfeksi serangga.

Pada penelitian ini ditemukan isolat yang mampu tumbuh pada temperatur cekaman 40°C namun tingkat virulensinya masih sangat rendah. Selain itu, ditemukan pula temperatur optimum bagi cendawan untuk berkembang dan efektif dalam menginfeksi *T. molitor* yakni temperatur 30°C. Pada temperatur 30°C cendawan mampu menghasilkan diameter 7,6 cm, dengan kerapatan spora $11,58 \times 10^7$ spora/ ml suspensi dan memiliki kecepatan berkecambah 94,24 % pada waktu 6 jam setelah inokulasi serta mampu menginfeksi 66,67%. Pada hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat Jombang 2 merupakan isolat yang terbaik dalam pertumbuhannya dan mampu menginfeksi *T. molitor* paling tinggi pada temperatur 30°C serta mampu menginfeksi *T. molitor* pada temperatur 35°C meskipun virulensinya masih rendah.

SUMMARY

The Effect of Temperature in the Growth of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin Isolates and Its Virulence on Mealworm (*Tenebrio molitor* L.); Beny Setiawan; 111510501143; 2016; Study Program of Agrotechnology; Faculty of Agriculture, University of Jember.

M. anisopliae is a potential biological control agent to control plant insect pest. *M. anisopliae* is a fungus species which characteristically as pathogen in several insects and found saprophyte inside the soil. It has wide spectrum and globally reported able to infect more than 100 species of insects. The use of *M. anisopliae* in Indonesia mostly used to control coconut rhinoceros beetle than sugarcane white grub beetle. High temperature of sugarcane landfield is the reason of ineffectiveness of *M. anisopliae* application. Furthermore, Indonesian tropic climate also play role in the growth of this fungus. In the rainy season, the temperature is down to ± 20 °C and in the dry season the temperature is rise up to 35 °C. The increment of the temperature play major role to inhibit the growth of *M. anisopliae* and found to much high for this fungus. The optimum temperature of *M. anisopliae* is in 20°-26 °C. If this fungus live in the stress condition, it will affect its structure especially in the conidia and make it infective before it is infected to the insect.

The objective of this research was to identificate *M. anisopliae* isolate which able to survive and had high virulence on *T. molitor* in temperature stress condition. This research was conducted using Complete Randomized Design (CRD) factorial with two factors. The first factor was temperature which divided into 4 kinds of temperatures, namely 25, 30, 35. And 40 °C. the second factor was *M. anisopliae* isolate which consisted of 5 isolates, namely Banyuwangi, Jombang 1, Jombang 2, Kediri and Bondowoso. Every combination then replicated three times. Research variables used in this research were mycelia growth diameter which used to determine the radial growth of fungus mycelia, spore productivity to determine the spore density, spore viability to determine the percentage of

spore germination and the virulence of the fungus to determine the ability of the fungus to infect plant pest.

Based on this research result, generally most fungi were able to grow in 40 °C temperature, but its virulence still very low. Moreover, the optimum temperature of this experiment for the fungus to grow and infect insect effectively found in 30 °C. In this temperature, the fungus is able to grow up to 7,6 cm with spore density $11,58 \times 10^7$ spore/ml suspension and have viability up to 94,24% in 6 hr after inoculation with infection percentage 66,67%. In this result shown also that *M. anisopliae* isolate from Jombang 2 found to be the finest isolate in growth and effective infection of *T. molitor* on 30 °C temperature, even in 35 °C with lower infection percentage.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya skripsi yang berjudul “Pengaruh Temperatur Terhadap Pertumbuhan Isolat *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin dan Virulensinya Terhadap Ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.)” 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. Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Dosen Pembimbing Anggota yang banyak meluangkan waktu, serta bimbingan dan arahan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini;
4. Ir. Sutjipto, MS. selaku Dosen Penguji, 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. Nanang Tri Haryadi, SP., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik
8. Orang tua tercinta Ayahanda Sukardi dan Ibunda Tembrok yang memberikan dukungan moril maupun materil selama penulis menyelesaikan skripsi ini;
9. Saudara kandung Muliyah dan Muliwati yang selalu memberi semangat penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
10. Teman-teman Seperjuangan Reza Ibnu Raharjo, Anggi Rahayu Walupi, Budi Rezki Nurwibawanto, Faris Agazali, Purwandhito, Ilham Roby Haryanto, Amirudi Ahmad Fauzi, Alan Yanuar, Titis, Sriani, Imron Rosyidi. atas segala dukungan, kerjasama, dan bantuan selama penelitian;

11. Teman-teman kelas D angkatan 2011, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang tidak bisa disebutkan satu per satu atas semangat dan kebersamaannya;
12. Keluarga besar Agroteknologi 2011 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 ini masih jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, 14 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Cendawan <i>Metarhizium anisopliae</i>	4
2.2 <i>Metarhizium</i> sebagai Bioinsektisida.....	7
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Cendawan Entomopatogen.....	8
2.4 Hubungan antara Efikasi Cendawan Entomopatogen dengan Temperatur.....	11
2.5 Hipotesis.....	12
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Waktu dan Tempat.....	13
3.2 Persiapan Penelitian	13

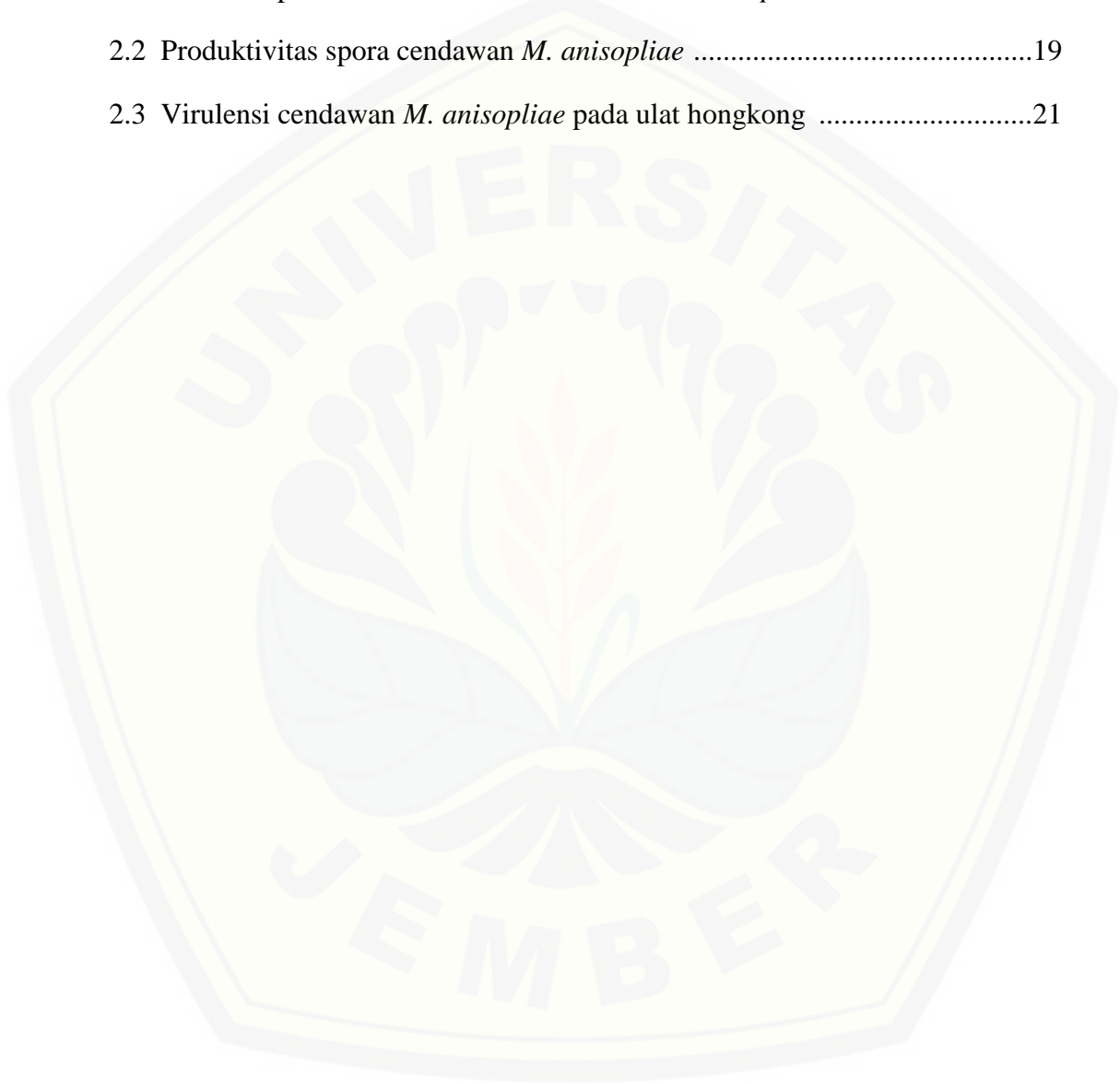
3.2.1 Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA).....	13
3.2.2 Peremajaan dan Perbanyakan Isolat	13
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.3.1 Uji Kemampuan Tumbuh <i>Metarhizium anisopliae</i>	14
3.4 Variabel Pengamatan	14
3.4.1 Diameter Pertumbuhan Miselia.....	14
3.4.2 Produktivitas Spora	14
3.4.3 Perkecambahan Spora.....	15
3.4.4 Virulensi <i>M. anisopliae</i> pada Ulat Hongkong.....	16
3.5 Analisis Data.....	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
4.1 Hasil	18
4.1.1 Diameter Pertumbuhan Miselia.....	18
4.1.2 Produktivitas Spora.....	18
4.1.3 Perkecambahan Spora.....	19
4.1.4 Virulensi <i>M. anisopliae</i> pada Ulat Hongkong	21
4.2 Pembahasan	22
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi cendawan <i>M. anisopliae</i>	4
2.2 Mekanisme infeksi cendawan <i>M. anisopliae</i>	6
4.1 Grafik diameter pertumbuhan miselia <i>M. anisopliae</i>	18
4.2 Grafik produktivitas spora cendawan <i>M. anisopliae</i>	19
4.3 Grafik perkecambahan spora cendawan <i>M. anisopliae</i>	20
4.4 Grafik Virulensi cendawan <i>M. anisopliae</i> pada ulat hongkong.....	22
4.5 Diameter pertumbuhan miselia <i>M. anisopliae</i>	23
4.6 Proses infeksi cendawan <i>M. anisopliae</i> pada <i>T. Molitor</i>	25

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Diameter pertumbuhan miselia cendawan <i>M. anisopliae</i>	17
2.2 Produktivitas spora cendawan <i>M. anisopliae</i>	19
2.3 Virulensi cendawan <i>M. anisopliae</i> pada ulat hongkong	21



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Data Diameter Pertumbuhan Miselia <i>M. anisopliae</i>	32
2. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Diameter Pertumbuhan Miselia <i>Metarhizium anisopliae</i>	34
3. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada diameter miselia	34
4. Data produktivitas spora <i>M. anisopliae</i> pada minggu ke I dan II	35
5. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk produktivitas spora <i>M. anisopliae</i>	37
6. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada produktivitas spora	37
7. Data Prosentase Perkecambahan spora <i>M. anisopliae</i> pada minggu ke II....	38
8. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk perkecambahan spora <i>M. anisopliae</i>	40
9. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada perkecambahan spora	40
10. Data Prosentase Mikosistas <i>T. molitor</i> pada Suhu 25, 30, 35 dan 40	41
11. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Mikosistas <i>T. molitor</i>	39
12. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi pada mikosisitas <i>M. anisopliae</i> terhadap <i>T. molitor</i>	40

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin merupakan salah satu cendawan yang bersifat patogen pada beberapa jenis serangga dan bersifat saprofit di dalam tanah yakni menggunakan sisa-sisa tanaman sebagai tempat untuk bertahan hidup (Van den Bosch *et al.*,1973). *M. anisopliae* telah diketahui memiliki spektrum inang yang luas dan menginfeksi lebih dari 100 spesies (Dirjen Tanaman Pangan, 2008). Menurut Gopalakrishnan (2001) cendawan ini dapat dijadikan sebagai salah satu agens pengendali hayati serangga, baik yang menyerang tanaman maupun serangga hama yang ada di dalam tanah. Cendawan ini dapat menyebabkan penyakit “*green muscardine fungus*” bila menginfeksi serangga, sehingga dapat menurunkan populasi serangga hama dalam suatu areal pertanian (Tanada dan Karya, 1993).

Cendawan *Metarhizium* pertama kali digunakan oleh Elich Metchnikoff untuk mengendalikan hama kumbang kelapa lebih dari 85 tahun yang lalu, sejak saat itu cendawan ini digunakan sebagai agen hayati dan terbukti dapat menginfeksi beberapa jenis serangga mulai dari ordo Homoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, dan Isoptera (Van den Bosch *et al.*,1973). Konidia yang menempel pada lapisan kutikula serangga akan berkecambah untuk menghasilkan hifa yang akan memasuki jaringan internal serangga melalui proses biokimia yang kompleks dan akan menghasilkan enzim yang berfungsi mendegradasi kutikula serangga, hifa dari cendawan akan tumbuh ke dalam sel-sel serangga dan akan menyerap cairan dari serangga sehingga akan mengakibatkan serangga mati dalam keadaan tubuh yang mengeras (Tanada dan Karya, 1993).

Di Indonesia, penelitian tentang pemanfaatan cendawan *M. anisopliae* untuk mengendalikan hama telah berkembang sejak tahun 1970-an, tehnik perbanyakannya juga telah dikembangkan demi mendapatkan inokulum yang siap diaplikasikan di lapang. Namun, pemanfaatan cendawan *M. anisopliae* di Indonesia lebih cenderung berkembang untuk pengendalian hama uret pucuk kelapa jika dibandingkan uret perusak akar tebu. Salah satu faktor penghambat

yang paling utama adalah kondisi lahan pertanaman tebu yang memiliki temperatur cukup tinggi dengan kelembapan yang relatif rendah. Kondisi ini menyulitkan cendawan *M. anisopliae* untuk berkembang dan melakukan penetrasi terhadap serangga inang.

Pertumbuhan cendawan entomopatogen *M. anisopliae* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti temperatur, substrat, kelembapan, pH, radiasi sinar matahari, dan zat kimia seperti pestisida. Menurut Harjaka *et al.* (2011) menyatakan bahwa kelemahan dari jamur entomopatogen adalah sensitif terhadap kelembapan dan sinar ultra violet (UV), sehingga teknik aplikasi dan penyimpanan diperlukan untuk tetap menjaga stabilitas, viabilitas dan virulensinya.

Pengaplikasian cendawan *M. anisopliae* di lapang sangat dipengaruhi oleh keadaan iklim. Indonesia merupakan Negara yang beriklim tropis, yang artinya ketika tiba musim penghujan temperatur akan turun sampai $\pm 20^{\circ}\text{C}$ dan ketika tiba musim kemarau temperatur akan naik hingga mencapai 35°C (Talarosha, 2005). Hal inilah yang menjadi kendala bagi cendawan *M. anisopliae* untuk melakukan penetrasi di lapang, karena temperatur 35°C sudah termasuk dalam temperatur ekstrim bagi pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*. Menurut Dimbi *et al.* (2004) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pertumbuhan cendawan *M. anisopliae* akan melambat dan sulit untuk berkembang apabila disimpan pada temperatur cekaman 35°C .

Temperatur dan kelembapan merupakan faktor yang sangat penting bagi pertumbuhan *M. anisopliae* terutama untuk pertumbuhan radial, perkecambahan spora dan virulensinya. Hal ini didukung oleh pendapat Ignoffo (1981) yang menyatakan bahwa temperatur dan kelembapan merupakan faktor yang menentukan spesifitas suatu organisme untuk dapat tumbuh.

Menurut Prayogo *et al.* (2005) menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* dapat tumbuh dengan baik pada temperatur $20-26^{\circ}\text{C}$ dikarenakan temperatur tersebut merupakan temperatur optimum bagi pertumbuhan cendawan sehingga dapat mengurangi dehidrasi cendawan saat disimpan, namun sebaliknya dehidrasi yang berlebihan akan mengakibatkan kerusakan pada struktur cendawan

khususnya konidia, sehingga banyak konidia yang infeksi sebelum melakukan proses infeksi pada serangga inang. Oleh karena itu dalam usaha pengembangan cendawan entomopatogen *M. anisopliae*, maka perlu diadakannya penelitian mengenai bagaimana temperatur yang sesuai untuk pertumbuhan isolat *M. anisopliae* dan apakah ada cendawan yang mampu tumbuh serta memiliki virulensi yang baik dalam keadaan kondisi cekaman.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah isolat Cendawan *M. anisopliae* yang mampu tumbuh dan memiliki virulensi tinggi pada temperatur cekaman, maka perlu diadakannya suatu penyeleksian terhadap beberapa isolat cendawan *M. anisopliae* pada berbagai temperatur.

1.3 Tujuan

Untuk mengetahui isolat cendawan *M. anisopliae* yang mampu bertahan dan memiliki virulensi tinggi terhadap *T. molitor* pada kondisi temperatur yang ekstrim.

1.4 Manfaat

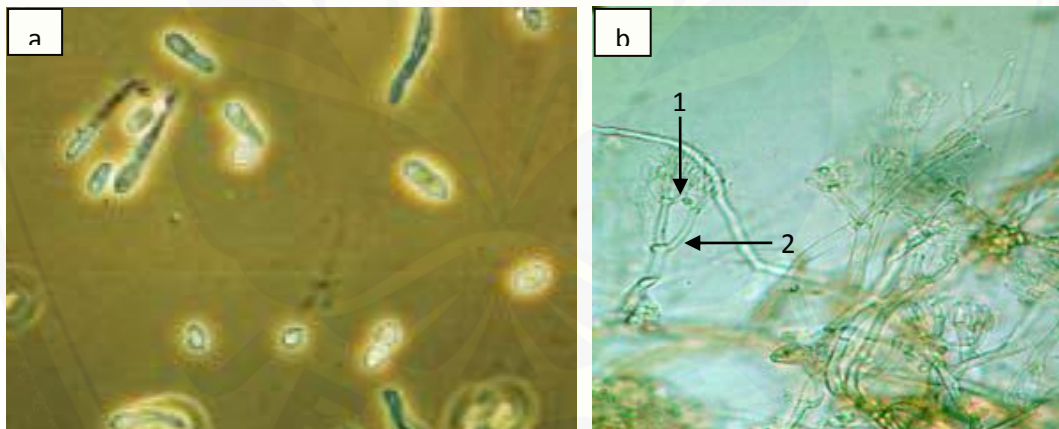
Mendapatkan inokulum cendawan *M. anisopliae* yang berkualitas dan siap untuk diaplikasikan di lapang.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cendawan *Metarhizium anisopliae*

Kedudukan *M. anisopliae* dalam klasifikasi adalah sebagai berikut: divisi : Eumycotina, sub divisi : Deuteromycotina, klas : Deuteromycetes (*Fungi Imperfecti*), ordo : Moniliales, famili : Moniliaceae, genus : *Metarhizium*, Species: *Metarhizium anisopliae* (Alexopoulos *et.al.*, 1996).

Menurut Prayogo *et al.* (2005) menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* memiliki miselium yang bersekat berdiameter 1,98-2,97 μm , konidiofor tersusun tegak, berlapis, dan bercabang yang dipenuhi oleh konidia, konidia bersel satu, berwarna hialin serta memiliki bentuk yang bulat silindris. Konidia berukuran panjang 4-7 μm dan lebar 1,43x3,2 μm . Mempunyai fialid dengan ukuran bervariasi antara (6,1-12,9) x(1,7-3,5) μm . Koloni jamur berwarna putih, kemudian berubah menjadi hijau gelap dengan bertambahnya umur (Domsch *et al.* 1980; Samson *et al.* 1988).



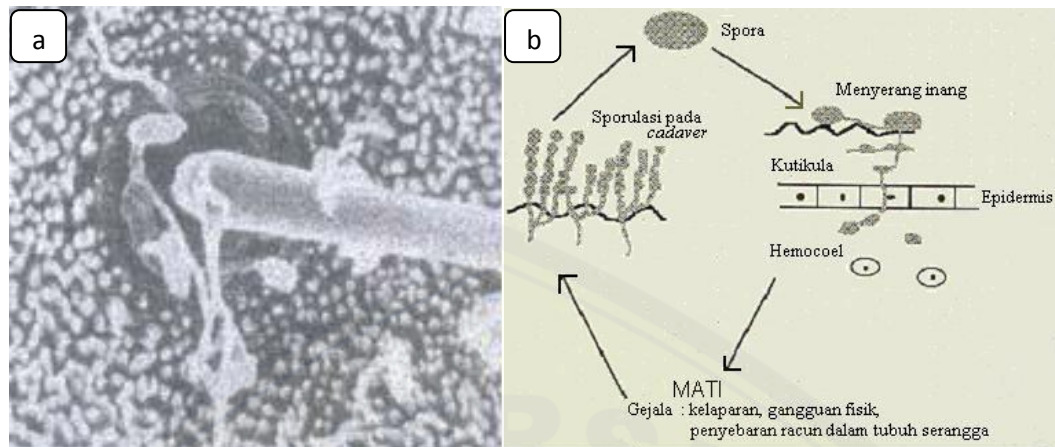
Gambar 2.1 Morfologi (a) Konidia cendawan *M. anisopliae* (Prayogo, 2004), (b) *Metarhizium anisopliae* (perbesaran 400x) : (1) konidia, (2) fialid (Nuraida dan Hasyim, 2009).

M. anisopliae adalah satu diantara spesies cendawan yang bersifat entomopatogen. Cendawan ini sangat bermanfaat dan telah banyak digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan serangga hama (Scholte *et al.*, 2003). Pemanfaatan cendawan entomopatogen untuk mengendalikan hama memiliki

beberapa kelebihan diantaranya adalah mempunyai kapasitas reproduksi yang tinggi, bersifat selektif, siklus hidupnya pendek, dapat membentuk spora yang tahan lama di alam walaupun dalam kondisi yang tidak menguntungkan, relative aman, mudah diproduksi dan sangat kecil kemungkinan terjadi resistensi (Bidochka *et al.*, 2000)

Cendawan *M. anisopliae* masuk ke dalam tubuh atau organ dalam serangga tidak melalui saluran makanan, melainkan melalui kulit. Setelah konidia cendawan masuk ke dalam tubuh serangga, cendawan akan memperbanyak diri melalui pembentukan hifa dalam jaringan epidermis dan jaringan lainnya sampai dipenuhi miselia cendawan (Mulyono, 2008).

Menurut Prayogo dan Suharsono, (2005) menyatakan bahwa terdapat empat tahapan infeksi cendawan entomopatogen terhadap tubuh inang. Pertama adalah inokulasi, yaitu kontak antara propagul cendawan dengan tubuh serangga inang. Selain konidia, organ lain seperti hifa juga berfungsi sebagai alat infeksi pada serangga inang. Pada proses tersebut senyawa mukopolisakarida memegang peranan sangat penting. Kedua yaitu proses penempelan dan perkecambahan propagul cendawan pada integumen serangga. Kelembaban yang tinggi dan bahkan kadang-kadang air sangat diperlukan untuk perkecambahan propagul jamur (Silva dan Messias, 1985). Pada tahap ini, konidia cendawan akan memanfaatkan senyawa-senyawa yang terdapat pada lapisan integumen serangga. Ketiga adalah penetrasi dan invasi pada tubuh serangga. Penembusan dilakukan secara mekanis atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Keempat adalah destruksi atau penghancuran pada titik penetrasi dan terbentuk blastospora yang kemudian beredar ke dalam hemolimfa dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang jaringan lain (Tanada dan Kaya 1993; Prayogo dan Suharsono 2005).



Gambar 2.2 Mekanisme infeksi (a) Konidia *M. anisopliae* yang menempel pada integumen serangga, (b) Mekanisme infeksi *M. anisopliae* pada tubuh serangga (Prayogo, 2004).

Perkembangan cendawan dalam tubuh inang sampai inang mati berjalan sekitar 7 hari dan setelah inang mati, jaringan membentuk konidia primer dan sekunder yang dalam kondisi cuaca yang sesuai muncul dari kutikula serangga (Mulyono, 2008). Larva yang terserang cendawan *M. anisopliae* akan berwarna hijau kecoklatan dan akhirnya akan mengalami mummifikasi (terselubung cendawan) dalam waktu 10 – 12 hari setelah aplikasi (Wikardi, 1983).

Menurut Zelazny dan Hosang (1988), mendiagnosa larva-larva yang terinfeksi cendawan *M. anisopliae* pada tahap permulaan seringkali terlihat bercak-bercak coklat pada bagian tubuhnya selagi larva masih hidup. Bercak-bercak ini adakalanya terlihat dengan jelas dan banyak, tetapi sering hanya merupakan bintik kecil saja sehingga tidak terlihat jelas. Larva yang baru mati berwarna seperti larva hidup, tetapi lama-kelamaan akan mengeras dan kaku. Menurut Rosmayuningsih *et al.* (2014), menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* yang menginfeksi *Stibaropus molginus* dapat menyebabkan tubuhnya mengeras, sehingga bagian tubuhnya sangat mudah terlepas antara satu dengan yang lainnya dan selama dua sampai tiga hari setelah mati, cendawan ini menembus bagian kulit larva sehingga larva tertutup oleh spora-spora seperti

lapisan tepung yang berwarna putih dan sehari kemudian warnanya berubah menjadi hijau.

Cendawan *M. anisopliae* sangat virulen membunuh larva dalam jumlah besar dan terdapat variasi serangan pada sarang-sarang yang diaplikasi cendawan *M. anisopliae*. Larva-larva terinfeksi yang sudah mati ditumbuhi spora berwarna putih kemudian berubah warna menjadi hijau (*green muscardine* / *green oliv*) dan spora-spora inilah yang menginfeksi larva lain di dalam sarang itu (Mulyono, 2008).

Widiyanti *et al.* (2004), menyatakan cendawan *M. anisopliae* memiliki aktivitas larvisidal karena menghasilkan *cyclopeptida*, destruxin dan *desmethyldestrusin*. Destruxin telah dipertimbangkan sebagai bahan insektisida generasi baru. Widiyanti *et al.* (2004) lebih lanjut menyatakan bahwa efek destruxin berpengaruh pada organella sel target (mitokondria, retikulum endoplasma dan membran nukleus), menyebabkan paralisa sel dan kelainan fungsi lambung tengah, tebulus maphigi, hemocyt dan jaringan otot.

2.2 *Metarhizium* sebagai Bioinsektisida

Bioinsektisida merupakan mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai agen pengendalian serangga hama (Prayogo, 2006). Cendawan entomopatogen *M. anisopliae* merupakan salah satu jenis bioinsektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama tanaman. Cendawan *M. anisopliae* telah dikenal sebagai patogen pada berbagai jenis serangga hama dan dapat diproduksi secara komersial sebagai bioinsektisida (Marheny *et al.*, 2010). Walaupun cendawan ini dapat menginfeksi begitu banyak serangga, ternyata intensitas serangan terbesar dan inang yang terbaik untuk berkembang biak adalah larva *O. rhinoceros* pada semua stadia *O. rhinoceros* kecuali telur, sifat cendawan ini yang dapat menginfeksi hampir semua stadia *O. rhinoceros* itulah yang menjadi dasar untuk memanfaatkan cendawan ini sebagai agens hayati hama tersebut (Sambiran dan Hosang, 2007). Cendawan *Metarhizium* sp. dilaporkan dapat diproduksi secara masal dan diformulasikan sebagai bioinsektisida baik dalam bentuk padat maupun cair (Alves *et al.*, 2002; Geden & Steinkraus, 2003). Menurut Rodrigues *et al.*

(2005) menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* telah banyak dikembangkan sebagai bioinsektisida diberbagai Negara seperti Italia, Kanada, Tamania, Swiss, dan Beberapa negara lainnya.

Di Negara Jepang, cendawan *M. anisopliae* telah digunakan untuk mengendalikan hama uret perusak akar ubi jalar *Anomala cuprea*, sedangkan di Negara Australia cendawan ini telah dijadikan formulasi dalam bentuk padat (granul) dengan naman dagang Bio Green^R dan BIO-CANE^R untuk diaplikasikan ke habitat uret, yakni pada uret *Lepidiota* sp. dan *Dermolepida albohirtum*, sementara di Indonesia penelitian cendawan *M. Anisopliae* juga telah berkembang sejak tahun 1970-an dan sampai sekarang telah dikembangkan pula metode perbanyakan untuk menghasilkan inokulum yang siap untuk diaplikasikan di lapang (Harjaka *et al.*, 2011).

Metarhizium sp. dapat diproduksi secara masal pada media instan, seperti SDB (*Saborroud Dextrose Broth*) atau SDA (*Saborroud Dextrose Agar*) dan juga PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Prayogo *et al.*, 2005). Koloni cendawan *M. anisopliae* dapat tumbuh dengan cepat pada beberapa media seperti potato dextrose agar (PDA), jagung dan beras (Prayogo dan Tengkano 2002).

Penelitian Herlinda *et al.* (2008) menyatakan cendawan *M. anisopliae* mampu menyebabkan kematian hama wereng coklat sebanyak 90% hanya dengan LT₅₀ 3,60 hari. Menurut Heriyanto dan Suharno (2008) menyatakan bahwa *M. anisopliae* hasil perbanyakan pada medium Alyoshina, ekstrak jagung, ekstrak kentang dan ekstrak ketela rambat memiliki tingkat patogenisitas yang sama (100 persen larva mati) setelah 30 hari dari saat aplikasi. Rosmayuningsih (2014) melaporkan dalam penelitiannya, cendawan *M. anisopliae* yang diperbanyak menggunakan media padat jagung mampu mengakibatkan tingkat kematian hama kepinding tanah sebanyak 18,25% hanya dalam waktu 5 hari setelah aplikasi.

2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Cendawan Entomopatogen

Menurut Jaronski (2009) menyatakan bahwa pertumbuhan cendawan entomopatogen dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Adapun faktor internal diantaranya adalah jumlah konidia, kecepatan

perkecambahan konidia, enzim dan toksin yang dihasilkan oleh cendawan. Banyaknya konidia cendawan entomopatogen berkaitan dengan jumlah konsentrasi yang digunakan, hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka jumlah konidianya juga akan semakin tinggi dan mortalitasnya akan semakin tinggi pula karena didukung dengan kecepatan perkecambahan yang tinggi dan kondisi temperatur dan kelembaban yang dibutuhkan oleh cendawan entomopatogen (Chikwenhere dan Susan, 2001).

Hasil penelitian Bateman *et al.* (1993) menyebutkan bahwa enzim yang dihasilkan oleh cendawan entomopatogen tersebut antara lain adalah kitinase, lipase, amilase, fosfatase, enterase, dan protease, dan protease serta racun dari golongan destruksin, beauverisin, dan mikotoksin yang menghambat produksi energi dan protein. Toksin yang dihasilkan mampu merusak struktur organik, sehingga terjadi dehidrasi dalam sel yang menyebabkan tidak terjadinya regenerasi jaringan (Gillespie dan Claydon, 1989). Hal ini diperkuat oleh pendapat Tanada dan Karya (1993) yang menyatakan bahwa akibat gangguan toksin maka akan menyebabkan gerakan serangga menjadi lambat, perilaku tidak tenang, kejang-kejang, dan akhirnya mati, setelah serangga mati, cendawan akan membentuk klamidiospor di dalam tubuh serangga dan kemudian secara perlahan akan memumifikasinya.

Sedangkan faktor eksternal yang berpengaruh yakni temperatur, udara, kelembaban udara, radiasi matahari, pH, dan senyawa kimia seperti nutrisi dan pestisida. Temperatur adalah suatu keadaan udara pada waktu dan tempat tertentu yang dipengaruhi oleh sinar matahari, tinggi rendahnya permukaan, dan sifat permukaan bumi. Menurut Burges dan Hussey (1971), temperatur dan kelembaban sangat mempengaruhi pertumbuhan jamur *M. anisopliae* terutama untuk pertumbuhan dan perkecambahan konidia serta patogenesisnya. Sejalan dengan pendapat Tanada dan karya (1993) bahwa temperatur dan kelembaban udara akan berpengaruh terhadap : ketahanan hidup cendawan, kemampuan menginfeksi, kerentanan inang, infeksi laten dan mempengaruhi interaksi cendawan dengan inangnya.

Batasan temperatur untuk pertumbuhan jamur antara 5-35°C, pertumbuhan optimal terjadi pada temperatur 25-30°C (Ouedraogo *et.al.*, 2004). Konidia akan tumbuh dengan baik dan maksimum pada kelembaban 80-92% (Soundarapandian dan Chandra, 2007). Sedangkan menurut Prayogo *et al.* (2005) temperatur optimum untuk pertumbuhan cendawan *M. anisopliae* berkisar 22 – 27 °C, walaupun beberapa laporan menyebutkan bahwa cendawan masih dapat tumbuh pada temperatur yang lebih dingin. Konidia akan membentuk kecambah pada kelembaban di atas 90 %, namun demikian konidia akan berkecambah dengan baik patogenesisitasnya meningkat bila kelembaban udara sangat tinggi hingga 100%.

Patogenesisitas cendawan *M. anisopliae* akan menurun apabila kelembaban udara di bawah 86 % (Pracaya, 2007). Hal ini didukung oleh Tanada dan Karya (1993) yang menyatakan bahwa batas temperatur optimum untuk pertumbuhan patogenesisitas dan ketahanan hidupnya yakni sekitar 20°C – 30°C. Sedangkan batasan temperatur ekstrim untuk pertumbuhan cendawan entomopatogen antara <5°C dan >35°C (Robert dan Yendol, 1971).

Menurut Chikwenhere dan susan (2001) menyatatakan bahwa kelembaban udara berpengaruh terhadap perkecambahan dan pembentukan cendawan pada tubuh inang yang telah mati, kelembaban udara yang dibutuhkan untuk perkecambahan konidia dan sporulasi adalah 90% atau lebih. Menurut Nuraida (2006) menyatakan bahwa pengaplikasian cendawan entomopatogen dengan menggunakan temperatur 30°C dan 40°C dapat menyebabkan mortalitas *Anticarsia gemmatalis* meningkat setelah terinfeksi cendawan *Nomuraea rileyi*, dengan rata-rata larva yang bertahan hidup 24% dari total populasi. Sementara pada temperatur 18°C – 28°C mortalitas larva mencapai 50% dengan 5-10 hari setelah aplikasi. Dijelaskan Hasyim dan Azwana (2003) bahwa, kelembapan tersebut dapat berasal dari tubuh inang, embun atau hujan, dan juga cahaya yang juga dapat mempengaruhi masa hidup konidia dan sporulasi cendawan entomopatogen pada inang yang telah mati, konidia cendawan yang terkena langsung oleh sinar matahari dengan periodik yang cukup lama, umumnya akan mati karena terkena radiasi sinar ultraviolet.

2.4 Hubungan antara Efikasi Cendawan Entomopatogen dengan Temperatur

Menurut Roddom dan Rath (2000) menyatakan bahwa daya kecambah, pertumbuhan dan virulensi *Metarhizium* sp. sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan fisik khususnya temperatur dan juga kelembapan. Temperatur optimum untuk pertumbuhan cendawan *Metarhizium* sp. berkisar antara 22°-27°C dengan kelembapan di atas 90% (Putra, 2009). Virulensi jamur ini akan semakin menurun dengan semakin menurunnya kelembapan udara (Bidochka et al., 2000).

Kecepatan jamur *Metarhizium* sp. mematikan serangga inang dipengaruhi kerapatan konidia yang berkecambah pada integumen serangga yang disertai dengan kelembapan yang sesuai. Hal itu akan mengakibatkan integumen serangga lebih cepat rusak dan cairan tubuh serangga lebih cepat habis, serangga akan semakin cepat mati (Effendi, 2010).

Semakin lambat konidia cendawan berkecambah maka semakin rendah peluang agen hayati untuk dapat menginfeksi serangga inang (Prayogo, 2012). Hal ini disebabkan konidia sebagai inokulum akan terpapar di alam terbuka lebih lama. Sementara itu, apabila kondisi temperatur dan kelembapan kurang mendukung maka konidia akan mengalami dehidrasi dan akhirnya mati sebelum menemukan inang (Barbosa et al. 2002; Lazzarini et al. 2006).

Hasil penelitian Varela dan Morales (1996) mengindikasikan bahwa karakter fisiologi cendawan berkaitan dengan tingkat pertumbuhan koloni, ukuran dan produksi konidia, daya kecambah konidia, sensitivitas konidia terhadap temperatur, dan mortalitas serangga inang. Sedangkan tingkat mortalitas serangga inang dipengaruhi oleh sumber isolat cendawan, kerapatan suspensi konidia yang diaplikasikan, dan umur stadia inang (del-Prado et al., 2008; Mahmoud 2009).

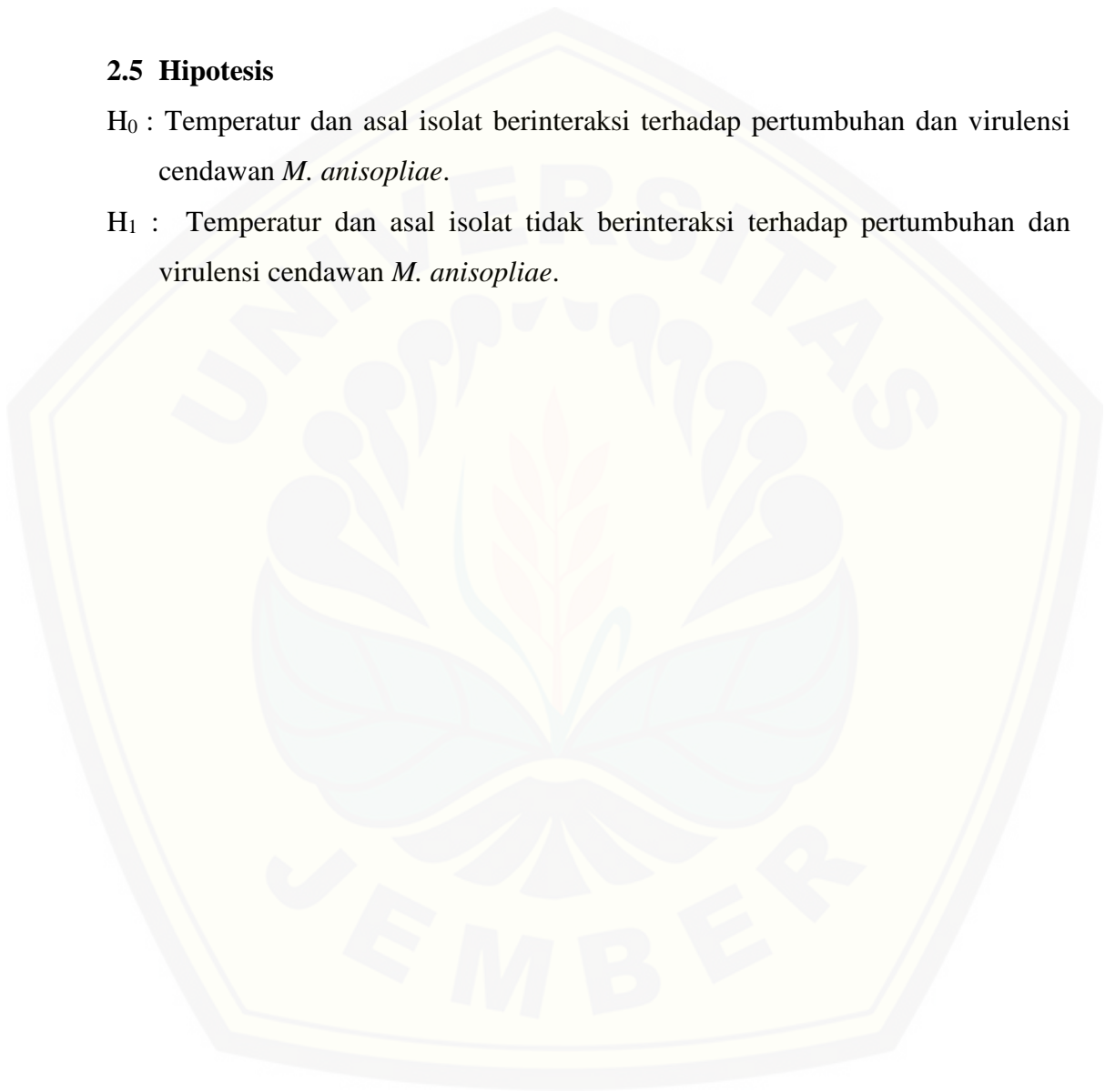
Keadaan temperatur dan kelembapan yang kurang menguntungkan akan mempengaruhi aktivitas dan juga pertumbuhan dari cendawan entomopatogen itu sendiri yang salah satunya adalah virulensi cendawan dalam menginfeksi serangga. Menurut Soetopo dan Indrayani (2007), dalam penelitiannya menyatakan bahwa proses infeksi dan germinasi cendawan entomopatogen sangat ditentukan oleh temperatur dan kelembapan. Penyebaran dan infeksi cendawan sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain temperatur, padatan inang

kesediaan spora, angin dan kelembaban. Temperatur optimum dengan kelembaban yang tinggi dan angin yang kencang sangat membantu penyebaran konidia dan pemerataan infeksi patogen pada seluruh individu pada populasi inang (Mulyono, 2008).

2.5 Hipotesis

H_0 : Temperatur dan asal isolat berinteraksi terhadap pertumbuhan dan virulensi cendawan *M. anisopliae*.

H_1 : Temperatur dan asal isolat tidak berinteraksi terhadap pertumbuhan dan virulensi cendawan *M. anisopliae*.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Juni 2015 sampai Desember 2015.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Pembuatan media Potato Dextrose Agar (PDA Becton Dickinson) dilakukan dengan cara melarutkan 16 gram PDA pada 400 ml aquades, lalu dihomogenkan di atas Hot plate (JLab Tech), larutan yang telah homogen tersebut kemudian disterilkan menggunakan autoklaf (Wisd Daihan WAC 60) selama 15 menit dengan temperatur 121°C bertekanan 15 psi. Selanjutnya media akan disimpan dilemari es dan siap untuk digunakan.

3.2.2 Peremajaan dan Perbanyakan Isolat

Peremajaan dan perbanyakan isolat *M. anisopliae* dilakukan pada tabung reaksi dan cawan Petri (Pirex) dengan menggunakan media PDA. Pada cawan Petri, media PDA dituangkan sebanyak 10 ml, sedangkan pada tabung reaksi penuangan media PDA dilakukan sebanyak 5-6 ml yang kemudian dimiringkan dan ditunggu sampai media mengeras. Setelah media mengeras langkah selanjutnya adalah menanam isolat *M. anisopliae* ke dalam media PDA pada cawan Petri dan agar miring tersebut lalu menginkubasinya pada etalase selama 7 hari sampai semua dinding media tertutupi oleh miseliun cendawan *M. anisopliae*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini adalah percobaan faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah temperatur yang terdiri dari 4 taraf yakni: 25 °C, 30 °C, 35 °C dan 40 °C (Rasyida, 2014). Sedangkan faktor kedua adalah asal isolat yang terdiri dari 5 taraf yakni :

isolat Banyuwangi, Bondowoso, Jombang 1, Jombang 2, dan Kediri. Setiap perlakuan kombinasi tersebut diulang sebanyak tiga kali.

3.3.1 Uji Kemampuan Tumbuh *Metarhizium anisopliae*

Pengujian terhadap kemampuan tumbuh *M. anisopliae* menggunakan media PDA dilakukan pada cawan Petri dan tabung reaksi. Inokulasi cendawan dilakukan dengan memberikan 2 tetes larutan asam laktat pada media PDA. Hal ini bertujuan untuk membunuh bakteri yang kemungkinan ikut terbawa pada media PDA. Tahap selanjutnya yakni mengambil sedikit isolat menggunakan *bor glass* steril kemudian meletakkannya pada media PDA yang telah mengeras tepat dibagian tengahnya. Hasil inokulasi kemudian disimpan pada inkubator (Daeyang) dengan temperatur 25, 30, 35, dan 40⁰ C selama 14 hari (Rasyida, 2014).

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1 Diameter Pertumbuhan Miselia

Variabel pengamatan diameter pertumbuhan miselia, diukur pada 7 dan 14 hari setelah inokulasi (hsi). Pengukuran diameter pertumbuhan miselia dilakukan dengan cara memotret diameter yang ada pada cawan petri dengan meletakkan penggaris didekat objek sebagai skalanya. Selanjutnya pengukuran diameter akan dilakukan dengan bantuan software Scion Image. Adapun caranya yaitu foto dimasukkan ke dalam software Scion Image, kemudian dilakukan pengukuran secara horizontal dan vertical. Setelah dilakukan pengukuran menggunakan software, hasil pengukuran tersebut kemudian dirata-rata dan akan diperoleh data pengukuran diameter pertumbuhan miselia.

3.4.2 Produktifitas Spora

Kemampuan cendawan untuk memproduksi spora merupakan salah satu faktor yang sangat penting mengingat peranan dari cendawan *M. anisopliae* sebagai agen pengendali hayati di lapang. Perhitungan jumlah spora dilakukan secara mikroskopis pada kultur media yang ada pada tabung reaksi dengan membuat suspensi yakni memberikan 10 ml aquades ke dalam media kultur,

kemudian diberi 2 tetes larutan 0,05% tween 80 (untuk membantu proses perontokan spora). Suspensi tersebut diambil sebanyak 0,2 ml dan diteteskan pada haemocytometer. Produktifitas spora akan dihitung di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungan spora menggunakan rumus dari Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya (2014) yaitu :

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

Keterangan :

- S = kepekatan spora/ml,
 X = rerata total spora yang dihitung,
 L = luas kotak hitung ($0,04 \times 5 = 0,2 \text{ mm}^2$),
 t = kedalaman bidang hitung (0,1 mm),
 d = factor pengenceran
 10^3 = volume suspense yang diambil ($1 \text{ ml} = 10^3 \text{ mm}^3$)

3.4.3 Perkecambahan Spora

Persentase perkecambahan sangat menentukan keberhasilan cendawan dalam pertumbuhan dan proses infeksi pada serangga. Perkecambahan spora diuji dengan meneteskan suspensi cendawan *M. anisoliae* di atas media PDA yang telah mengeras pada *obyek glass* dan ditutup dengan *cover glass*, kemudian disimpan pada inkubator dengan temperatur perlakuan 25, 30, 35, dan 40°C. Pengamatan perkecambahan spora dilakukan 6 jam sekali selama 24 jam secara mikroskopis dengan perbesaran 400 kali, perhitungan perkecambahan menggunakan rumus Gabriel dan Riyanto (1998) yakni sebagai berikut :

$$V = \frac{g}{(g + u)} \times 100 \%$$

Keterangan :

- V = persentase spora yang berkecambah,
 g = spora yang berkecambah,
 u = spora yang tidak berkecambah.

3.4.4 Virulensi *M. anisopliae* pada Ulat Hongkong

Percobaan uji virulensi pada ulat hongkong dilakukan dengan metode celup yakni dengan mengambil suspensi cendawan dengan konsentrasi 10^7 spora/ml suspensi. Suspensi *M. anisopliae* dimasukkan dalam gelas beaker (Pyrex) ukuran 100 ml, lalu 20 ulat hongkong dicelupkan pada suspensi selama \pm 5-15 detik. Serangga yang telah dicelup selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan Petri plastik yang telah berisi kertas saring dengan kondisi lembab dan diberi makanan burung (Voer merk PHBS) sebagai pakannya. Selanjutnya cawan Petri plastik yang sudah berisi ulat hongkong akan disimpan pada inkubator dengan temperatur 25, 30, 35 dan 40°C.

Pengamatan uji virulensi cendawan terhadap ulat hongkong dilakukan selama 7 hari setelah inokulasi. Keefektifan cendawan dapat diketahui dengan cara menghitung jumlah ulat hongkong yang mengalami mikrosis (munculnya hifa di atas permukaan sampai menutupi seluruh permukaan tubuh serangga) serta berapa lama proses mikrosis yang terjadi pada ulat hongkong tersebut selama pengamatan.

3.5 Analisis Data

Hasil pengamatan diameter pertumbuhan miselia, produktifitas spora, persentase perkecambahan spora dan uji keefektifan cendawan *M. anisopliae* dianalisis sidik ragam menggunakan ANOVA (repeated measurement) dengan bantuan software StatView versi 5.0.1 (SAS, 1992-1998). Jika hasil anova menunjukkan F-hitung yang berbeda nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji perbandingan rata-rata Tukey 5%, namun apabila F-hitung tidak berbeda nyata dan tidak menunjukkan adanya interaksi antar faktor temperatur dan asal isolat, maka data tersebut dianalisis sidik ragam berdasarkan faktor tunggalnya (faktor temperatur atau asal isolat). Hasil analisis sidik ragam kemudian diuji lanjut dengan uji Tukey pada taraf 5%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Telah ditemukan isolat yang tahan terhadap temperatur cekaman 35° dan 40°C namun virulensinya masih rendah dan bahkan pada temperatur 40°C tidak ditemukan serangga yang termikosis oleh cendawan *M. anisopliae*.
2. Perlakuan temperatur 30°C merupakan temperatur yang terbaik bagi cendawan *M. anisopliae* untuk tumbuh dan melakukan penetrasi pada serangga.
3. Cendawan *M. anisopliae* asal isolat Jombang 2 merupakan isolat terbaik dalam hal perkecambahan spora pada 6 jam setelah inokulasi dan mampu menginfeksi larva *T. molitor* dengan jumlah persentase tertinggi pada 3 dan 7 hari setelah aplikasi.

5.2 Saran

Sebaiknya dalam melakukan pengambilan isolat pada cawan petri menggunakan bor glass, dipilih bagian isolat yang tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis serta lebih berhati-hati dalam memindahkannya karena sifat dari spora Cendawan *M. anisopliae* yang mudah rontok sehingga akan diperoleh hasil pertumbuhan diameter yang sesuai dengan yang diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, and M. Blackwel. 1996. *Introductory Mycology*. Jhon Willey & Sons Inc. New York.
- Alves SB, Rossi LS, Lopes RB, Tamai MA & Pereira RM. 2002. *Beauveria bassiana* Yeast Phase on Agar Medium and its Pathogenicity Against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Cerambycidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Invert. Pathol.* 81:70-77.
- Ansari, M.A., Vestergaard, S., Tirry, L., & Moens, M., 2004. Selection of Highly Virulent *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Biol. Sci.* 6: 269-275.
- Ansari, M., S. Carpenter, & T. M. Butt. 2010. Susceptibility of Culicoides biting midge larvae to the Insect-pathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae* : *Prospects for Bluetongue Vector Control. Cta Tropica.* 11(3): 1-6.
- Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya. 2014. *Metode Perhitungan Jumlah Spora Cendawan*. Intruksi Kerja. Edisi 6 Februari 2014.
- Barbosa, C.C., A.C. Monteiro and A.C.B. Correia. 2002. Growth and Sporulation of *Verticillium lecanii* Isolates Under Different Nutritional Conditions. *Pesq Agropec Bras.* 37(6): 821-829.
- Baringbing, W.1994. Pengendalian *Orytes rhinoceros* Linnaeus di Kecamatan Terbanggi Besar Lampung Tengah. *Forum Komunikasi Penelitian Kelapa dan Palma* 425 (10) : 18-23.
- Bateman, R.P., M. Carrey., D. Moore. dan C. Prior. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in oil formulation to desert locusts at low humidities. *Ann. Appl. Biol.* 42: 145-152.
- Bidochka MJ, Kamp AM & Decroos JNA. 2000. Insect Pathogenic Fungi: from Genes to Populations. *Fungal Pathol.* 42:171-193.
- Burges, H. D. & Hussey, N. M. 1971. *Microbial control of Insects and Mites*. London: Academic.
- Chikwenhere, G.P. dan V. Susan. 2001. Potential effects of *Beauveria bassiana* (balsmo) vuillemin on *Neochetina bruchi* hustache (coeloptera : curculionidae), a biological control agents of water hyacinth. *Biol. Contr.* 21: 105-110.

- Del-Prado, E.N., Lannacone, J. & Gomez, H. 2008. Effect of entomopathogenic fungi in controlling *Aleurodicus cocois* (CURTIS, 1846) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Chilean J. Agricultural Res.* 68(1): 21-30.
- Dimbi, S., N.K. Maniania, S.A. Lux and J.M. Mueke. 2004. Effect of Constant Temperatures of Germination, Radial Growth and Virulence of *Metarhizium anisopliae* to Three Species of African Tephritid Fruit Flies. *Bio. Control.* 49 : 83-94.
- Dirjen Tanaman Pangan, 2008. *Pedoman Pestisida Hayati*. Direktorat Sarana Produksi. Jakarta.
- Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*, Vol. 1. Academic Press, London. p. 893.
- Effendy, T.A. 2010. Uji Toksisitas Bioinsektisida Jamur *Metarhizium* sp. Berbahan Pembawa Bentuk Tepung untuk Mengendalikan *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Homoptera: Delphacidae). Prosiding Seminar Nasional Unsri.
- Frederici, B. A. Dan J. V. Maddox. 1996. Host specificity in microbe-insect interactions: Insect control by bacterial, fungal, and viral pathogens. *Bio Sci.* 46 (60) : 410-421.
- Gabriel, B.P. dan Riyanto. 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor : *Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya*. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Geden CJ & Steinkraus DC. 2003. Evaluation of three formulations of *Beauveria bassiana* for control of lesser mealworm and hide beetle in Georgia poultry houses. *J. Econ. Entomol.* 96:1602-1607.
- Gillespie, A.T. and N. Claydon. 1989. The Use of Entomogenous Fungi for Pest Control and the Role of Toxin in Pathogenesis. *Pesticide Sci.* (27): 203-215.
- Gopalakrishnan, C. 2001. Fungal Pathogens as Components in Integrated Pest Management of Horticultural Crops. *Integrated Pest Management in Horticultural Ecosystems. Capital Publishing Company.* New Delhi. 122 – 132.
- Hajek, A. E., S. P. Wraight & J.D. Vandenberg. 2001. Control of arthropod using pathogenic fungi. Dalam *pointing, Pointing, S. B. & K. D. Hide* (eds.).

2001. *Bio-exploitation of filamentous fungi*. Fungal Diversity Press, Hong Kong : 309-347.
- Harjaka. T., Harsojo dan Mahrub. 2011. Infeksi Jamur *Metarhizium anisopliae* Pada Ulat Daun Kubis. Prossiding Seminar Nasional Hasil Penelitian. Jakarta.
- Hasyim, A. dan Awana. 2003. Patogenisitas Isolat *Beauveria bassiana* dalam Mengendalikan Hama Penggerek Bonggol Pisang, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Jurnal Horti*. 13(1): 120-130.
- Heriyanto dan Suharno, 2008. Studi Patogenitas *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sor Hasil Perbanyakakan Medium Cair Alami terhadap Larva *Oryctes rhinoceros*. *Ilmu-ilmu Pertanian*. 4(1) : 47-54.
- Herlinda, S., S. I. Mulyati dan Suwardi. 2008. Jamur Entomopatogen Berformulasi Cair sebagai Bioinsektisida untuk Pengendali Wereng Coklat. *Agritrop*. 27(3):119-126.
- Ignoffo, C. M. 1881. Living microbial insecticides. Dalam : Norris, J. R. & M. H. Richomd. 1981. *Essays in applied microbiology*. John Wiley & Sons, Chicester : xvi+576 hlm.
- Jaronski, S.T. 2009. Ecological factor in the inundatif use of fungal entomopathogens. *Biocontrol* 55 : 159-185.
- Lazzarini, G.M.J., L.F.N. Rocha and C. Luz. 2006. Impact of moisture on in-vitro germination of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and their activity on *Triatoma infestans*. *Mycol Res*. 110(4): 485-492.
- Mahmoud, M.F. 2009. Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Lecanicillium lecanii* against adults of olive fly (*Bactrocera oleae*) (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. *Plant Protect Sci* 45(3): 98-102.
- Malgalhaes, B.P,J.C.V. Rodrigues, D.G. Boucias, & C.C. Childers. 2005. Pathogenecity of *Metarhizium anisopliae* var. *Cridum* to the False Sider Mite *Brevipalus phoenicis* (cari : Teunipalpidae). *Florida Entomologist*, 88(2) : 195-198.
- Marheni, Hasanuddin, Pinde dan W. Suziani, 2010. Uji Patogenesis Jamur *Metarhizium anisopliae* dan Jamur *Cordyceps militaris* Terhadap Larva Penggerek Pucuk Kelapa Sawit (*Oryctes rhinoceros*) (Coleoptera: Scarabaeidae) di Laboratorium. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatra Utara.

- Martins, T., Oliveira L., & Garcia, P. 2005. Larval mortality factors of *Spodoptera littoralis* in the Azores. *Biocontrol*. 50: 761-770.
- McCoy, C. W., Samson, R. A., and D.G. Boucias (1988). Entomogenous fungi. In Handbook of Natural Pesticides, Boca, Raton, Fla: *Mric* Press. Vol. 5, Microbial Insecticides, Part A, Entomogenous Protozoa and Fungi, C. M. Ignoffo and N. B. Mandava, eds.
- Mulyono, 2008. Kajian Patogenisitas Cendawan *Metarhizium anisopliae* Terhadap Hama *Oryctes rhinoceros* L. Tanaman kelapa pada berbagai teknik aplikasi. Tesis. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Nuraidah dan A. Hasyim. 2009. Isolasi, Identifikasi, dan Karakteristik Cendawan Entomopatogen dari Rizosfir Pertanaman Kubis. *J. Hort.*19: 419-432.
- Nuraida. 2006. Efektivitas Isolat Jamur Entomopatogen terhadap Hama Krob Kubis *Crocidolomia pavanona fabricius* (Lepidoptera; Pyralidae) dalam Hubungannya dengan Metode Aplikasi. *Makalah* dalam pelaksanaan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat. Padang.
- Ouedraogo A., Fargues J., Goettel M.S. & Lomer C.J. 2004. Effect of Temperature on Vegetative Growth among Isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium flavoviride*. *Mycopathologi*. 137. 37-43.
- Pracaya. 2007. Hama dan Penyakit Tanaman. Penebar Swadaya. Depok : 427 hlm.
- Prayogo, Y. dan tengkano. 2002. Pengaruh Media Tumbuh terhadap Daya Kecambah, Sporulasi dan Virulensi *Metarhizium anisopliae* (Metchnicoff) Isolat Kendalpayak pada Larva *Spodoptera litura*. *Ilmiah Sainteks*. 9(1): 233-241.
- Prayogo, Y. 2004. Pemanfaatan cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin untuk mengendalikan hama ulat grayak (*Spodoptera litura*) pada kedelai. [Kolokium Pengendalian Hama Terpadu]. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 23 hlm.
- Prayogo Y. dan Suharsono. 2005. Pengaruh Lama Pemaparan pada Sinar Matahari terhadap Viabilitas Jamur Entomopatogen *Verticillium lecanii*. *Jurnal Habitat*. XVI(2): 122-131.
- Prayogo, Y., W. Tengkano & Marwoto. 2005. Prospek Cendawan Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* pada Kedelai. *Litbang Pertanian*. 24(1) : 19-26.

- Prayogo, Y. 2006. Upaya Mempertahankan Keefektifan Cendawan Entomopatogen untuk Mengendalikan Hama Tanaman Pangan. *Litbang Pertanian*. 25(2) : 47-54.
- Prayogo, Y. 2012. Keefektifan Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) Terhadap *Bemisia Tabaci* Gen. sebagai Vektor *Soybean Mosaic Virus* (Smv) pada Tanaman Kedelai. *Suara perlindungan tanaman*. 2(1) : 11-21.
- Putra, R.P. 2009. Isolasi dan Pengujian Kemampuan *Metarhizium majus* (Johnst.) Bisch, Rehner & Humber sebagai Kapang Entomopatogen dengan Metode Kontak Langsung Pada Larva *Orytes rhinoceros* Linn. Skripsi FMIPA. Universitas Indonesia : xii+125 hlm.
- Rasyida, T. F. 2014. *Pertumbuhan dan Virulensi Cendawan Entomopatogen Paecilomyces fumosoroseus pada Berbagai Suhu*. Skripsi Fakultas pertanian. Universitas Jember.
- Robert, D.W. dan G.W. Yendol. 1971. Use of Fungi for Microbial Control of Insect. In H.D. Burgerand dan N.W. Hussey (ed.) *Microbial Control of Insect and Mites*. Academic Press. New York.
- Rodrigues, S., R. Peveling, P. Nagel, & S. Keler. 2005. The Natural Distribution of the Entomopathogenic soil Fungus *Metarhizium anisopliae* in Different Region and Habitat Types in Switzerland. *Insect Pathogen and Insect Parasitic Nematodes. Melolotha*, 28(2) : 185-188.
- Rosmayuningsih, A., B. T. Rahardjo, R. Rachmawati. 2014. Patogenisitas Jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap Kepinding Tanah (*Stribaropus molginus*) (Hemiptera : Cydnidae) dari Beberapa Formulasi. *HPT*, 2(2): 28-37.
- Sambiran, W.J dan Hosang, M.L.A. 2007. Patogenisitas *Metarhizium anisopliae* dari Beberapa Media Air Kelapa Terhadap *Oryctes rhinoceros* L. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Dalam Buletin Palma No. 32.
- Samson, R.A., H.C. Evans, and J.P. Latge. 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, New York. p. 187.
- Silva, J.C. and C.L. Messias. 1985. Virulence of *Metarhizium anisopliae* to *Rhodnius prolixus*. *Cienc Cult.* (7): 34-40.
- Shah, P. A dan J. K. Pell. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61(?): 412-423.

- Soetopo, D dan I. Indrayani. 2007. Status Teknologi dan Prospek *Beauveria bassiana* untuk Mengendalikan Serangga Hama Tanaman Perkebunan yang Ramah Lingkungan. *Perspektif*. 6(1): 29-46.
- Soundarapandian, P and R. Chandra. 2007. Mass production of endomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) in the laboratory. *Res. J. of Microbiol.* 2(9):690-695.
- Talarosha, B. 2005. Menciptakan Kenyamanan Thermal dalam bangunan. *Sistem Teknik Industri*. 6(3) : 148-158.
- Tanada, Y. dan H.K. Karya. 1993. *Insect Pathology*. Academi Press. California.
- Tzean, S. S., L. S. Hsieh & W. J. Wu. 1997. *Atlas of entomopathogenic fungi from Taiwan*. Council of Agriculture, Taipei : vii + 214hlm.
- Van den Bosch, Messenger, P.S, and A. P. Guitierrez., 1973. *An Introduction Biological Control*. Plenum Press, New York and London.
- Varela, A. & Morales, E. 1996. Characterizat ion of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry *Hypothenemus hampei*. *J. Invertebr Pathol* 67: 147-152.
- Vidal, C., J. Fargues., Lacey. and N. Jackson. 1997. Effec of various liquid culture media on morphology, growth, propagule production and pathogenesis activity of *Bemicia argentifolli* of the entomopatogenic *hypomucete*, *Isaria famosorosea*. *Mycophathol.* 143 : 33-36.
- Wang, C. and R. J. St. Leger. 2006. A Collagenous Protective Coat Anables *Metarhizium anisopliae* to Evade Insect Immune Responses. *PNAS*. 103 (17) : 6647-6652.
- Widiyanti, N. dan S. Muyadihardja, 2004, *Uji Toksisitas Jamur Metarhizium anisopliae Terhadap Nyamuk Aedes aegypty*. www.litbang.depkes.go.id. Diakses pada tangga 25 November 2014.
- Wikardi, E. A, 1983, *Penggunaan Baculovirus oryctes dan Metarhizium anisopliae dalam Pengendalian Biologi Oryctes rhinoceros L. (Coleoptera; Scarabaeidae)*. Laporan Intern. Balittri. 16 hal.
- Zelazny, B. and M.L.A Hosang. 1988. Ecological studies on *Sexava* spp and discussion on control with pesticides.UNDP/FAO Integrated Coconut Pest Control Project. Annual Report. Balai Penelitian Tanaman Kelapa. Manado. North Sulawesi. Hlm 69 – 78.

LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1. Data Diameter Pertumbuhan Miselia *M. anisopliae*

Perlakuan	UL	Diameter Prtumbuhan pada minggu ke-	
		I	II
BWI 25 ⁰ C	1	3,82	7,09
BWI 25 ⁰ C	2	3,69	7,38
BWI 25 ⁰ C	3	3,90	7,75
BWI 30 ⁰ C	1	1,80	5,68
BWI 30 ⁰ C	2	2,23	6,49
BWI 30 ⁰ C	3	3,63	6,24
BWI 35 ⁰ C	1	0,63	1,30
BWI 35 ⁰ C	2	0,92	0,94
BWI 35 ⁰ C	3	0,85	1,31
BWI 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Bondowoso 25 ⁰ C	1	3,61	7,08
Bondowoso 25 ⁰ C	2	3,63	7,37
Bondowoso 25 ⁰ C	3	4,02	7,45
Bondowoso 30 ⁰ C	1	2,51	4,79
Bondowoso 30 ⁰ C	2	3,28	7,32
Bondowoso 30 ⁰ C	3	2,79	5,07
Bondowoso 35 ⁰ C	1	0,71	0,71
Bondowoso 35 ⁰ C	2	0,57	0,78
Bondowoso 35 ⁰ C	3	1,46	1,89
Bondowoso 40 ⁰ C	1	0,94	1,01
Bondowoso 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Bondowoso 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Jombang 1 25 ⁰ C	1	4,45	7,96
Jombang 1 25 ⁰ C	2	3,05	7,51
Jombang 1 25 ⁰ C	3	3,74	7,59
Jombang 1 30 ⁰ C	1	2,90	7,48
Jombang 1 30 ⁰ C	2	3,06	6,49
Jombang 1 30 ⁰ C	3	3,12	7,26
Jombang 1 35 ⁰ C	1	0,75	0,88
Jombang 1 35 ⁰ C	2	0,60	0,71
Jombang 1 35 ⁰ C	3	0,58	0,80
Jombang 1 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Jombang 2 25 ⁰ C	1	3,92	7,47
Jombang 2 25 ⁰ C	2	3,21	7,84

Jombang 2 25 ⁰ C	3	4,11	8,46
Jombang 2 30 ⁰ C	1	3,13	8,06
Jombang 2 30 ⁰ C	2	3,07	8,10
Jombang 2 30 ⁰ C	3	2,75	6,63
Jombang 2 35 ⁰ C	1	0,63	0,76
Jombang 2 35 ⁰ C	2	1,21	1,47
Jombang 2 35 ⁰ C	3	1,03	1,11
Jombang 2 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Kediri 25 ⁰ C	1	3,34	7,62
Kediri 25 ⁰ C	2	3,56	7,46
Kediri 25 ⁰ C	3	3,62	7,34
Kediri 30 ⁰ C	1	2,38	5,48
Kediri 30 ⁰ C	2	3,20	6,13
Kediri 30 ⁰ C	3	2,30	5,89
Kediri 35 ⁰ C	1	1,05	1,09
Kediri 35 ⁰ C	2	0,47	0,50
Kediri 35 ⁰ C	3	0,86	1,24
Kediri 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	3	0,00	0,00

Lampiran 2. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Diameter Pertumbuhan Miselia *Metarhizium anisopliae*

ANOVA Table for diameter pertumbuhan miselia

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
isolat	4	2,844	,711	2,988	,0300	11,950	,747
suhu	3	642,939	214,313	900,645	<,0001	2701,936	1,000
isolat * suhu	12	6,593	,549	2,309	,0238	27,705	,901
Residual	40	9,518	,238				

Tabel Lampiran 3. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Banyuwangi	25°C	7,41	a	1,51	5,36	20
	30°C	6,14	a			
	35°C	1,18	b			
	40°C	0	B			
Bondowoso	25°C	7,3	a	1,51	5,36	20
	30°C	5,73	b			
	35°C	1,13	c			
	40°C	0,34	c			
Jombang 1	25°C	7,69	a	1,51	5,36	20
	30°C	7,08	a			
	35°C	0,8	b			
	40°C	0	b			
Jombang 2	25°C	7,92	a	1,51	5,36	20
	30°C	7,6	a			
	35°C	1,11	b			
	40°C	0	b			
Kediri	25°C	7,47	a	1,51	5,36	20
	30°C	5,83	b			
	35°C	0,94	c			
	40°C	0	c			

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

Tabel Lapiran 4. Data produktivitas spora *M. anisopliae* pada minggu ke I dan II

Perlakuan	UL	Kerapatan spora pada minggu ke- (10^7)	
		I	II
BWI 25 ⁰ C	1	0,69	1,20
BWI 25 ⁰ C	2	0,65	1,37
BWI 25 ⁰ C	3	0,61	1,52
BWI 30 ⁰ C	1	2,40	16,67
BWI 30 ⁰ C	2	2,07	13,35
BWI 30 ⁰ C	3	1,90	12,05
BWI 35 ⁰ C	1	0,38	0,80
BWI 35 ⁰ C	2	0,40	0,78
BWI 35 ⁰ C	3	0,36	0,79
BWI 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Bondowoso 25 ⁰ C	1	0,37	1,55
Bondowoso 25 ⁰ C	2	0,47	1,92
Bondowoso 25 ⁰ C	3	0,46	2,07
Bondowoso 30 ⁰ C	1	3,57	10,0
Bondowoso 30 ⁰ C	2	3,25	9,55
Bondowoso 30 ⁰ C	3	3,52	11,62
Bondowoso 35 ⁰ C	1	0,32	0,74
Bondowoso 35 ⁰ C	2	0,34	0,64
Bondowoso 35 ⁰ C	3	0,33	0,69
Bondowoso 40 ⁰ C	1	0,32	0,25
Bondowoso 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Bondowoso 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Jombang 1 25 ⁰ C	1	0,78	3,92
Jombang 1 25 ⁰ C	2	0,68	2,15
Jombang 1 25 ⁰ C	3	0,66	3,10
Jombang 1 30 ⁰ C	1	5,20	6,45
Jombang 1 30 ⁰ C	2	4,25	5,37
Jombang 1 30 ⁰ C	3	4,30	5,25
Jombang 1 35 ⁰ C	1	0,38	0,51
Jombang 1 35 ⁰ C	2	0,37	0,59
Jombang 1 35 ⁰ C	3	0,39	0,70
Jombang 1 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Jombang 2 25 ⁰ C	1	1,33	2,50
Jombang 2 25 ⁰ C	2	1,73	4,30
Jombang 2 25 ⁰ C	3	1,51	3,22

Jombang 2 30 ⁰ C	1	10,87	14,35
Jombang 2 30 ⁰ C	2	9,25	9,63
Jombang 2 30 ⁰ C	3	10,22	10,75
Jombang 2 35 ⁰ C	1	0,57	0,93
Jombang 2 35 ⁰ C	2	0,50	0,98
Jombang 2 35 ⁰ C	3	0,54	0,78
Jombang 2 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	3	0,00	0,00
Kediri 25 ⁰ C	1	0,55	1,2
Kediri 25 ⁰ C	2	0,61	0,93
Kediri 25 ⁰ C	3	0,62	1,13
Kediri 30 ⁰ C	1	1,65	12,65
Kediri 30 ⁰ C	2	2,37	16,57
Kediri 30 ⁰ C	3	1,85	7,62
Kediri 35 ⁰ C	1	0,39	0,47
Kediri 35 ⁰ C	2	0,39	0,38
Kediri 35 ⁰ C	3	0,41	0,46
Kediri 40 ⁰ C	1	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	2	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	3	0,00	0,00

Lampiran 5. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk produktivitas spora *M. anisopliae*

ANOVA Table for produktifitas spora

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
isolat	4	22,520	5,630	3,192	,0229	12,768	,779
suhu	3	1125,890	375,297	212,770	<,0001	638,311	1,000
isolat * suhu	12	108,539	9,045	5,128	<,0001	61,535	1,000
Residual	40	70,554	1,764				

Tabel Lampiran 6. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Banyuwangi	25°C	1,36	b	4,11	5,36	20
	30°C	14,02	a			
	35°C	0,79	b			
	40°C	0	b			
Bondowoso	25°C	1,85	b	4,11	5,36	20
	30°C	10,39	a			
	35°C	0,69	b			
	40°C	0,08	b			
Jombang 1	25°C	3,06	ab	4,11	5,36	20
	30°C	5,69	a			
	35°C	0,6	b			
	40°C	0	b			
Jombang 2	25°C	3,34	b	4,11	5,36	20
	30°C	11,58	a			
	35°C	0,9	b			
	40°C	0	b			
Kediri	25°C	1,09	b	4,11	5,36	20
	30°C	12,28	a			
	35°C	0,44	b			
	40°C	0	b			

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

Lampiran 7. Data Prosentase Perkecambahan spora *Metarhizium anisopliae* pada minggu ke II

Perlakuan	UL	Prosentase Perkecambahan spora Minggu ke II pada- (%)			
		6 (jsi)	12 (jsi)	18 (jsi)	24 (jsi)
BWI 25 ⁰ C	1	68,22	90,59	98,29	100,00
BWI 25 ⁰ C	2	50,00	83,68	94,78	100,00
BWI 25 ⁰ C	3	62,79	87,33	100,00	100,00
BWI 30 ⁰ C	1	86,48	97,63	100,00	100,00
BWI 30 ⁰ C	2	69,76	90,69	100,00	100,00
BWI 30 ⁰ C	3	79,74	93,67	100,00	100,00
BWI 35 ⁰ C	1	42,71	76,40	80,32	82,20
BWI 35 ⁰ C	2	39,92	64,69	70,23	75,38
BWI 35 ⁰ C	3	37,5	61,42	73,07	78,18
BWI 40 ⁰ C	1	0,00	0,00	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	2	0,00	0,00	0,00	0,00
BWI 40 ⁰ C	3	0,00	0,00	0,00	0,00
Bondowoso 25 ⁰ C	1	49,12	91,22	100,00	100,00
Bondowoso 25 ⁰ C	2	54,08	87,95	95,08	100,00
Bondowoso 25 ⁰ C	3	77,45	85,29	98,03	100,00
Bondowoso 30 ⁰ C	1	80,95	88,88	98,41	100,00
Bondowoso 30 ⁰ C	2	77,70	92,50	100,00	100,00
Bondowoso 30 ⁰ C	3	85,29	94,11	100,00	100,00
Bondowoso 35 ⁰ C	1	32,89	62,89	72,10	78,33
Bondowoso 35 ⁰ C	2	48,61	63,88	83,33	90,27
Bondowoso 35 ⁰ C	3	46,60	73,78	80,58	89,32
Bondowoso 40 ⁰ C	1	0,00	4,87	29,26	51,21
Bondowoso 40 ⁰ C	2	0,00	0,00	0,00	0,00
Bondowoso 40 ⁰ C	3	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 1 25 ⁰ C	1	75,53	92,55	100,00	100,00
Jombang 1 25 ⁰ C	2	76,47	100,00	100,00	100,00
Jombang 1 25 ⁰ C	3	59,67	85,48	94,78	100,00
Jombang 1 30 ⁰ C	1	88,88	92,41	100,00	100,00
Jombang 1 30 ⁰ C	2	92,18	96,87	100,00	100,00
Jombang 1 30 ⁰ C	3	87,80	100,00	100,00	100,00
Jombang 1 35 ⁰ C	1	46,06	79,88	84,38	90,03
Jombang 1 35 ⁰ C	2	54,08	78,77	92,85	94,89
Jombang 1 35 ⁰ C	3	42,37	83,05	87,52	91,52
Jombang 1 40 ⁰ C	1	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	2	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 1 40 ⁰ C	3	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 2 25 ⁰ C	1	81,70	95,12	100,00	100,00
Jombang 2 25 ⁰ C	2	67,92	83,11	100,00	100,00
Jombang 2 25 ⁰ C	3	75,60	100,00	100,00	100,00

Jombang 2 30 ⁰ C	1	94,64	100,00	100,00	100,00
Jombang 2 30 ⁰ C	2	92,18	96,87	100,00	100,00
Jombang 2 30 ⁰ C	3	95,89	100,00	100,00	100,00
Jombang 2 35 ⁰ C	1	42,02	75,36	81,15	87,10
Jombang 2 35 ⁰ C	2	47,86	82,05	88,03	93,16
Jombang 2 35 ⁰ C	3	44,08	87,17	96,77	100,00
Jombang 2 40 ⁰ C	1	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	2	0,00	0,00	0,00	0,00
Jombang 2 40 ⁰ C	3	0,00	0,00	0,00	0,00
Kediri 25 ⁰ C	1	50	83,33	97,43	100
Kediri 25 ⁰ C	2	55	85	97,5	100
Kediri 25 ⁰ C	3	62,5	94,67	100,00	100,00
Kediri 30 ⁰ C	1	83,33	97,22	100,00	100,00
Kediri 30 ⁰ C	2	78,57	92,85	100,00	100,00
Kediri 30 ⁰ C	3	81,96	96,72	100,00	100,00
Kediri 35 ⁰ C	1	45,88	61,17	70,58	85,88
Kediri 35 ⁰ C	2	47,05	83,82	88,23	92,64
Kediri 35 ⁰ C	3	46,03	73,01	79,36	85,71
Kediri 40 ⁰ C	1	0,00	0,00	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	2	0,00	0,00	0,00	0,00
Kediri 40 ⁰ C	3	0,00	0,00	0,00	0,00

Lampiran 8. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk perkecambahan spora *M. anisopliae*

ANOVA Table for perkecambahan spora

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
isolat	4	1027,711	256,928	3,491	,0155	13,964	,822
suhu	3	331527,479	110509,160	1501,584	<,0001	4504,753	1,000
isolat * suhu	12	1424,078	118,673	1,613	,1271	19,350	,731
Subject(Group)	40	2943,802	73,595				
Category for perkecambahan spora	3	21771,572	7257,191	342,121	<,0001	1026,362	1,000
Category for perkecambahan spora * iso...	12	521,062	43,422	2,047	,0256	24,564	,915
Category for perkecambahan spora * suhu	9	9486,288	1054,032	49,690	<,0001	447,206	1,000
Category for perkecambahan spora * iso...	36	1027,849	28,551	1,346	,1193	48,455	,963
Category for perkecambahan spora * Su...	120	2545,483	21,212				

Tabel Lampiran 9. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Banyuwangi	25°C	100	A	21,81	5,36	20
	30°C	100	A			
	35°C	78,62	A			
	40°C	0	B			
Bondowoso	25°C	100	A	21,81	5,36	20
	30°C	100	A			
	35°C	85,98	A			
	40°C	17,07	B			
Jombang 1	25°C	100	A	21,81	5,36	20
	30°C	100	A			
	35°C	92,15	A			
	40°C	0	B			
Jombang 2	25°C	100	A	21,81	5,36	20
	30°C	100	A			
	35°C	93,42	A			
	40°C	0	B			
Kediri	25°C	100	A	21,81	5,36	20
	30°C	100	A			
	35°C	88,08	A			
	40°C	0	B			

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

Tabel 10. Data Prosentase Mikosistas *Tenebrio molitor* pada Suhu 25^o, 30^o, 35^o dan 40^oC

Perlakuan	UL	Prosentase mikosis pada hari ke- (%)						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
BWI 25 ^o C	1	0	0	10	10	10	15	15
BWI 25 ^o C	2	0	0	5	5	10	20	20
BWI 25 ^o C	3	0	0	10	10	15	15	20
BWI 30 ^o C	1	0	0	25	40	40	45	45
BWI 30 ^o C	2	0	0	5	25	30	40	40
BWI 30 ^o C	3	0	0	5	30	30	30	35
BWI 35 ^o C	1	0	0		0	5	5	5
BWI 35 ^o C	2	0	0	0	5	10	10	10
BWI 35 ^o C	3	0	0	0	0	0	0	0
BWI 40 ^o C	1	0	0	0	0	0	0	0
BWI 40 ^o C	2	0	0	0	0	0	0	0
BWI 40 ^o C	3	0	0	0	0	0	0	0
Bondowoso 25 ^o C	1	0	0	0	5	5	5	5
Bondowoso 25 ^o C	2	0	0	5	5	10	15	15
Bondowoso 25 ^o C	3	0	0	5	5	15	20	25
Bondowoso 30 ^o C	1	0	0	10	30	40	40	40
Bondowoso 30 ^o C	2	0	0	15	35	45	45	45
Bondowoso 30 ^o C	3	0	0	15	30	35	35	40
Bondowoso 35 ^o C	1	0	0	0	0	0	0	0
Bondowoso 35 ^o C	2	0	0	0	10	25	20	20
Bondowoso 35 ^o C	3	0	0	0	5	5	10	10
Bondowoso 40 ^o C	1	0	0	0	0	0	0	0
Bondowoso 40 ^o C	2	0	0	0	0	0	0	0
Bondowoso 40 ^o C	3	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 1 25 ^o C	1	0	0	5	5	10	10	10
Jombang 1 25 ^o C	2	0	0	5	10	10	10	15
Jombang 1 25 ^o C	3	0	0	0	5	5	10	15
Jombang 1 30 ^o C	1	0	0	5	30	45	50	50
Jombang 1 30 ^o C	2	0	0	10	35	40	40	45
Jombang 1 30 ^o C	3	0	0	0	25	35	40	40
Jombang 1 35 ^o C	1	0	0	0	10	10	10	10
Jombang 1 35 ^o C	2	0	0	0	5	5	5	5
Jombang 1 35 ^o C	3	0	0	0	5	10	10	10
Jombang 1 40 ^o C	1	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 1 40 ^o C	2	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 1 40 ^o C	3	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 2 25 ^o C	1	0	0	10	15	15	25	30
Jombang 2 25 ^o C	2	0	0	10	10	15	20	25
Jombang 2 25 ^o C	3	0	0	5	10	30	35	45

Jombang 2 30 ⁰ C	1	0	0	40	65	70	70	75
Jombang 2 30 ⁰ C	2	0	0	5	35	50	55	60
Jombang 2 30 ⁰ C	3	0	0	10	45	55	60	65
Jombang 2 35 ⁰ C	1	0	0	0	0	5	5	5
Jombang 2 35 ⁰ C	2	0	0	0	10	10	10	10
Jombang 2 35 ⁰ C	3	0	0	0	15	15	20	20
Jombang 2 40 ⁰ C	1	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 2 40 ⁰ C	2	0	0	0	0	0	0	0
Jombang 2 40 ⁰ C	3	0	0	0	0	0	0	0
Kediri 25 ⁰ C	1	0	0	5	5	10	15	15
Kediri 25 ⁰ C	2	0	0	10	10	25	30	35
Kediri 25 ⁰ C	3	0	0	5	5	15	20	20
Kediri 30 ⁰ C	1	0	0	15	20	25	30	35
Kediri 30 ⁰ C	2	0	0	5	15	30	35	35
Kediri 30 ⁰ C	3	0	0	10	15	35	40	40
Kediri 35 ⁰ C	1	0	0	0	5	5	5	5
Kediri 35 ⁰ C	2	0	0	0	10	10	15	15
Kediri 35 ⁰ C	3	0	0	0	10	10	10	10
Kediri 40 ⁰ C	1	0	0	0	0	0	0	0
Kediri 40 ⁰ C	2	0	0	0	0	0	0	0
Kediri 40 ⁰ C	3	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 11. Hasil analisis Repeated Measures anova untuk Mikosistas *Tenebrio molitor*

ANOVA Table for prosentase mikosis h+7

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
isolat	4	1231,667	307,917	9,123	<,0001	36,494	,999
suhu	3	17891,250	5963,750	176,704	<,0001	530,111	1,000
isolat * suhu	12	1331,667	110,972	3,288	,0023	39,457	,983
Residual	40	1350,000	33,750				

Tabel Lampiran 12. Hasil Uji Tukey Perlakuan Kombinasi

Perlakuan		Rata-rata	Notasi UJT 5%	Nilai BNJ 5%	q (5%;dbE;p)	Jarak p
Banyuwangi	25°C	18,33	b	17,98	5,36	20
	30°C	40	a			
	35°C	5	bc			
	40°C	0	c			
Bondowoso	25°C	15	b	17,98	5,36	20
	30°C	41,67	a			
	35°C	10	b			
	40°C	0	b			
Jombang 1	25°C	13,33	b	17,98	5,36	20
	30°C	45	a			
	35°C	8,33	b			
	40°C	0	b			
Jombang 2	25°C	33,33	b	17,98	5,36	20
	30°C	66,67	a			
	35°C	11,67	c			
	40°C	0	c			
Kediri	25°C	23,33	ab	17,98	5,36	20
	30°C	36,67	a			
	35°C	10	bc			
	40°C	0	c			

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