

# PENGARUH INFEKSI BEBERAPA STRAIN JAMUR *Beauveria bassiana* DAN PATOGENISITASNYA TERHADAP ULAT PENGGEREK BUAH KAPAS *Helicoverpa armigera*

IG.A.A. Indrayani<sup>1)</sup>, Heri Prabowo<sup>1)</sup>, dan Deciyanto Soetopo<sup>2)</sup>

- 1) Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Malang
- 2) Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Bogor

## ABSTRAK

Jamur entomopatogen *B. bassiana* sudah banyak dimanfaatkan dalam pengendalian serangga hama. Namun demikian, potensinya dalam mengendalikan ulat buah kapas, *H. armigera* belum banyak diteliti. Jamur *B. bassiana* dikenal memiliki kisaran inang yang luas karena variasi strainnya sangat tinggi. Setiap strain mempunyai spesifikasi khusus terhadap inangnya, oleh karena itu setiap spesies serangga hanya dapat terinfeksi oleh strain tertentu saja. Penelitian pengaruh infeksi jamur *B. bassiana* terhadap patogenisitasnya pada ulat *Helicoverpa armigera* Hubner dilakukan di Laboratorium Patologi Serangga Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang, mulai Januari sampai dengan Desember 2009. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan strain yang paling efektif menginfeksi ulat *H. armigera*. Penelitian terdiri atas uji skrining dan uji patogenisitas. Pada uji skrining digunakan sembilan strain jamur *B. bassiana* yang diisolasi dari berbagai spesies serangga sebagai perlakuan: (1) BbEd 1, (2) BbEd 2, (3) BbEd 3, (4) BbEd 3a, (5) BbEd 6, (6) BbEd 7, (7) BbEd 9, (8) BbEd 10, dan (9) BbLd. Masing-masing strain terdiri atas 50 ulat *H. armigera* sebagai ulat uji yang diperlakukan dengan konsentrasi  $1,0 \times 10^7$  konidia/ml. Untuk memilih strain *B. bassiana* yang patogenik, selain menyebabkan mortalitas tinggi dan ada gejala mikosis, juga harus menunjukkan laju pertumbuhan yang cepat pada media Sabouraud Dextrose Agar + yeast ekstrakts (SDAY), serta produksi konidia yang tinggi. Strain terpilih kemudian diuji patogenisitasnya terhadap ulat *H. armigera* dengan tujuan mengestimasi nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  pada empat konsentrasi:  $1,0 \times 10^8$ ;  $1,0 \times 10^9$ ;  $1,0 \times 10^{10}$ ;  $1 \times 10^{11}$  konidia/ml. Setiap perlakuan disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) dengan empat kali ulangan, dan masing-masing strain diujikan terhadap 100 ulat *H. armigera* instar 2. Parameter yang diamati adalah persentase mortalitas ulat dan menghitung  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa BbEd 2, BbEd 6, BbEd 10, dan BbLd adalah strain yang lebih patogenik terhadap *H. armigera* dengan mortalitas berkisar 40–60%, sedangkan pada strain lainnya mortalitas sekitar 10–30%. Laju pertumbuhan strain terpilih lebih cepat (2,2–2,5 mm/hari) dan jumlah konidianya lebih banyak ( $2,3\text{--}6,0 \times 10^7$  konidia/ml), sedangkan strain yang lain pertumbuhannya lebih lambat (1,0–1,7 mm/hari) dengan jumlah konidia lebih sedikit ( $1,0\text{--}3,5 \times 10^7$  konidia/ml).  $LC_{50}$  terendah adalah  $6,5 \times 10^5$  konidia/ml pada BbEd 10 dengan  $LT_{50}$  mencapai 1,8 hari.

Kata kunci: *Beauveria bassiana*, *Helicoverpa armigera*, patogenisitas, mortalitas

## EFFECT OF *Beauveria bassiana* STRAINS INFECTION AND ITS PATOGENISITY AGAINST COTTON BOLLWORM *Helicoverpa armigera*

### ABSTRACT

Entomopathogenic fungus *B. bassiana* has been used for control insect pests. But this fungus has not been well studied for control cotton bollworm, *H. armigera*. *B. bassiana* infects a number of insect species, because this fungus consists of many different strains that pathogenic to different insect pests. A study on the effect of *B. bassiana* infection against cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* has been conducted at Insect Pathology Laboratory of Indonesian Tobacco and Fibre Crops Research Institute (IToFCRI) from January to December 2009. The aim of study was to get the pathogenic strains of *B. bassiana* against *H. armigera* larvae and to estimate  $LC_{50}$  and  $LT_{50}$ . Nine strains of *B. bassiana*, viz. (1) BbEd 1, (2) BbEd 2, (3) BbEd 3, (4) BbEd 3a, (5) BbEd 6, (6) BbEd 7, (7) BbEd 9, (8) BbEd 10, and (9) BbLd were used as treatment. A suspense of  $1 \times 10^7$  conidia/ml of each strain was inoculated to 50 larvae of *H. armigera*. Larval mortality, the rate growth on artificial medium and high conidia production were used as parameters to select the most pathogenic strain. Selected strains were then tested for their further pathogenicity against *H. armigera* larvae in order to estimate the  $LC_{50}$  and  $LT_{50}$  by using four concentrations of conidia, viz.  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^{10}$ , and  $1 \times 10^{11}$  conidia/ml. Treatments were arranged in randomized block design (RBD) with four replications. Larval mortality was recorded to estimate the  $LC_{50}$  and  $LT_{50}$ . Result showed that BbEd 2, BbEd 6, BbEd 10, and BbLd were more pathogenic

strain of *B. bassiana* against *H. armigera* due to 40–60% of larval mortality compared to 10–30% of larval mortality on other strains. These strains also grew on SDAY medium (2.2–2.5 mm/day) and produced higher conidia ( $2.3\text{--}6 \times 10^7$  conidia/ml) compared to the other tested strain. These strains were also killed 40–100% of their host just in the first three days of inoculation. BbEd 10 showed the lowest  $LC_{50}$  ( $6.5 \times 10^5$  conidia/ml) and fastest  $LT_{50}$  (1.8 day).

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Helicoverpa armigera*, pathogenicity, mortality

## PENDAHULUAN

Ulat penggerek buah kapas *Helicoverpa armigera* (Hubner) di beberapa lokasi pengembangan kapas di Jawa Timur hingga saat ini masih menjadi salah satu faktor pembatas produksi. Stadia ulat adalah yang paling efektif menyebabkan kerusakan karena satu ulat *H. armigera* mampu menghabiskan 10–12 badan buah (kuncup bunga, bunga, dan buah muda) dan kerusakan yang diakibatkannya dapat mencapai >50%. Hingga saat ini sebagian besar petani kapas secara intensif mengendalikan *H. armigera* dengan menggunakan insektisida kimia yang salah satu dampak negatifnya adalah meningkatkan resistensi hama terhadap bahan kimia tersebut. Dampak lain penggunaan insektisida kimia adalah terbunuhnya berbagai spesies musuh alami yang mulai berkembang bersamaan dengan perkembangan serangga hama. Hal ini menyebabkan berkurangnya faktor mortalitas biotik di alam sehingga berpotensi meningkatkan kerusakan tanaman dan menurunkan produktivitas. Untuk mengurangi ketergantungan terhadap insektisida kimia, maka perlu dicari teknik pengendalian *H. armigera* yang efektif, efisien, dan aman bagi serangga musuh alami dan lingkungan. Salah satunya adalah pengendalian secara biologi dengan memanfaatkan berbagai mikroorganisme potensial, khususnya jamur entomopatogen.

Pengendalian serangan hama ulat *H. armigera* di beberapa lokasi pengembangan kapas di Indonesia selama ini cukup efektif dengan penyemprotan insektisida kimia serendah mungkin atau jika diperlukan saja, dengan harapan musuh alami (parasitoid dan predator) masih berperan sebagai faktor mortalitas yang efektif. Pada sebagian petani, rekomendasi tersebut cukup berhasil diterapkan, tetapi mengubah kebiasaan petani yang sudah sangat tergantung pada kebiasaan menyemprot (*spray-minded*) merupakan suatu hal yang sulit dilakukan. Kebiasaan menyemprot tersebut boleh sa-

ja tidak bisa ditinggalkan oleh petani, tetapi bahan yang disemprotkan harusnya bukan insektisida kimia lagi tetapi diganti dengan agensi pengendali yang aman bagi serangga berguna, musuh alami, serta aman bagi lingkungan, misalnya bioinsektisida.

Di negara-negara maju jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* sudah banyak diproduksi sebagai bioinsektisida dan digunakan dalam pengendalian hama berbagai komoditas, baik perkebunan, hortikultura, pangan, maupun kehutanan. Namun informasi pemanfaatannya dalam pengendalian hama penggerek buah kapas, khususnya *H. armigera* masih sangat kurang karena di beberapa negara, seperti Amerika Serikat, Australia, Brasil, dan Cina ulat-ulat penggerek buah kapas telah sukses dikendalikan populasinya dengan varietas kapas transgenik yang mengandung gen ketahanan (gen *cry*) terhadap semua spesies hama penggerek buah, termasuk *H. armigera*. Di Indonesia varietas transgenik tersebut hingga kini belum tersedia, sehingga masih menerapkan teknik konvensional sebagai satu-satunya cara pengendalian yang ada. Hal ini membuka peluang untuk menemukan teknik pengendalian berbasis pemanfaatan keanekaragaman hayati Indonesia, dan salah satunya adalah dengan jamur entomopatogen *B. bassiana*.

*B. bassiana* adalah salah satu jamur entomopatogen yang dikenal sebagai agensi pengendali hama yang efektif (Nguyen Thi Loc dan Vo Thi Bich Chi 2007; Kaur dan Padmaja 2008; Amer *et al.* 2008). Jamur ini diketahui memiliki kisaran serangga inang yang sangat luas, karena setiap strainnya virulen dan patogenik terhadap lebih dari satu spesies serangga hama (Hatting *et al.* 2004; Shapiro-Ilan *et al.* 2005; Quesada-Moraga *et al.* 2006). Sudah banyak hasil penelitian yang mengungkapkan tentang keefektifan jamur ini dalam mengendalikan berbagai hama penting (El-Hady 2004; El-Husseini 2006), tetapi hasil-hasil penelitian tentang pemanfaatannya dalam pengendalian *H. armigera*

pada kapas masih sangat terbatas, oleh karena itu dengan adanya jumlah strain yang banyak diharapkan beberapa di antaranya berpotensi mengendalikan ulat buah kapas *H. armigera*.

Pengendalian beberapa serangga hama dari ordo Lepidoptera, seperti hama ulat kubis *Plutella xylostella* di Vietnam dengan jamur *B. bassiana* pada dosis  $6 \times 10^{12}$  konidia/ha efektif meningkatkan hasil kubis hingga 68,2% (Nguyen Thi Loc dan Vo Thi Bich Chi 2007). Di Iran, pengendalian ulat penggerek jagung *Ostrinia nubilalis* dengan *B. bassiana* pada dosis  $10^8$  konidia/ml menyebabkan mortalitas sebesar 57,67% (Safavi *et al.* 2010). Demikian pula pada pengendalian ulat *Sylepta derogata* pada kapas di India menggunakan *B. bassiana* pada dosis  $3,1 \times 10^6$  konidia/ml menyebabkan mortalitas sebesar 89,43% pada hari kelima dan 60% ulat yang diperlakukan menunjukkan gejala mikosis (infeksi jamur). Hasil-hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa ulat *H. armigera* kemungkinan juga dapat terinfeksi oleh salah satu strain *B. bassiana* karena sejumlah spesies serangga dari ordo Lepidoptera juga termasuk inang dari jamur ini.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan strain jamur *B. bassiana* yang patogenik terhadap ulat *H. armigera* dan mengestimasi nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  pada ulat penggerek buah kapas ini.

## BAHAN DAN METODE

### Isolat Jamur *B. bassiana* dan Perbanyakannya

Jamur *B. bassiana* yang digunakan terdiri atas sembilan strain yang diisolasi dari beberapa spesies serangga hama (Tabel 1) (Deciyanto *et al.* 2005), yaitu (1) BbEd 1, (2) BbEd 2, (3) BbEd 3, (4) BbEd 3a, (5) BbEd 6, (6) BbEd 7, (7) BbEd 9, (8) BbEd 10, dan (9) BbLd. Semua strain isolat disubkulturkan pada media agar standar, *potato carrot agar* (PCA), untuk memperoleh kultur murni sebagai sumber inokulum. Selanjutnya inokulum jamur *B. bassiana* diperbanyak pada masing-masing 30 *petridish* (diameter 10 cm) dengan menggunakan media *Sabouraud Dextrose Agar* diperkaya dengan ekstrak yeast (SDAY) (Sharma *et al.* 2002; Alves *et al.* 2002), dan diinkubasikan selama 4 minggu pada suhu 25°C. Konidia *B. bassiana* dipanen dari *petridish* dengan cara dikerok dengan menggunakan

*skalpel* steril, kemudian dicampur dengan 100 ml larutan 0,05% Tween 80 yang sudah disterilkan pada suhu 120°C selama 20 menit. Konsentrasi konidia hasil panen dihitung dengan menggunakan *hemocytometer* dengan bantuan mikroskop.

Tabel 1. Strain *B. bassiana* yang diuji dan serangga asal

| Isolat  | Serangga asal             | Negara asal |
|---------|---------------------------|-------------|
| BbEd 1  | <i>Nilaparvata lugens</i> | Indonesia   |
| BbEd 2  | Kepik Alydid              | Indonesia   |
| BbEd 3  | Kumbang Cerambycidae      | Indonesia   |
| BbEd 3a | Kumbang Scolytidae        | Indonesia   |
| BbEd 6  | Kumbang Scolytidae        | Indonesia   |
| BbEd 7  | Kepik Tingidae            | Indonesia   |
| BbEd 9  | Kumbang Curculionidae     | Indonesia   |
| BbEd 10 | Trips                     | Indonesia   |
| BbLd    | Lundi                     | Indonesia   |

### Perbanyakkan Ulat *H. armigera*

Induk ulat *H. armigera* dikoleksi dari tanaman kapas di lapangan, kemudian dipelihara di ruang insektarium laboratorium patologi selama beberapa generasi. Satu generasi *H. armigera* lamanya  $\pm 45$  hari dengan stadia ulat yang memiliki 6 instar lamanya 20–25 hari. Selama pemeliharaan, ulat *H. armigera* diberikan pakan buatan yang berbahan dasar tepung kedelai + agar + vitamin dan disterilisasi pada suhu 120°C. Selama stadia prepupa dan pupa (10–12 hari), vial-vial pemeliharaan diisi pasir steril, dan imago yang muncul diberi pakan larutan madu yang disterilkan dengan cara merebus hingga mendidih kemudian didinginkan pada suhu kamar. Biasanya pakan buatan maupun larutan madu disiapkan sehari sebelum diberikan pada serangga, dan disimpan di dalam almari es.

Untuk mencegah kontaminasi patogen, khususnya virus, maka telur yang menempel pada kasa peneluran dan juga pupa disterilisasi dengan larutan sodium hipoklorit 0,05% selama 30 menit kemudian dijemur supaya cepat kering. Kemudian telur diinkubasi di dalam stoples penetasan selama 2–3 hari. Untuk pengujian digunakan ulat generasi baru yang bebas dari kontaminasi patogen.

### Uji Skrining Strain *B. bassiana* Terhadap Ulat *H. armigera*

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Serangga Balittas, Malang mulai Januari hingga Desember 2009. Sebanyak sembilan strain *B.*

*bassiana* yang sudah diperbanyak pada media SDAY, yaitu (1) BbEd 1, (2) BbEd 2, (3) BbEd 3, (4) BbEd 3a, (5) BbEd 6, (6) BbEd 7, (7) BbEd 9, (8) BbEd 10, dan (9) BbLd digunakan sebagai perlakuan untuk diketahui keefektifannya pada ulat *H. armigera*. Masing-masing strain diinfeksi pada 50 ulat *H. armigera* dengan menggunakan konsentrasi konidia standar untuk uji skrining di laboratorium, yaitu  $1 \times 10^7$  konidia/ml (Sabbour dan Sahab 2005). Ulat *H. armigera* instar 2 direndam di dalam suspensi masing-masing strain *B. bassiana* selama 10 detik, selanjutnya ulat dipelihara di dalam vial-vial plastik (diameter 2,5 cm, tinggi 5 cm) yang diberi sepotong kecil ( $1 \text{ cm}^3$ ) pakan buatan. Ulat yang telah diinfeksi dengan jamur kemudian diinkubasikan selama 14 hari pada suhu  $25^\circ\text{C}$ . Respon ulat terhadap perlakuan diamati setiap hari, terutama mortalitas yang disertai dengan gejala mikosis (infeksi jamur). Persentase mortalitas ulat, laju pertumbuhan, dan produksi konidia adalah tiga kriteria untuk menyeleksi strain yang virulen dan patogenik. Strain *B. bassiana* yang memiliki ketiga kriteria tersebut kemudian diuji kembali patogenisitasnya terhadap *H. armigera* untuk mengetahui  $\text{LC}_{50}$  dan  $\text{LT}_{50}$ .

#### Uji Patogenisitas *B. bassiana* Terhadap Ulat *H. armigera*

Dalam penelitian ini digunakan empat strain isolat *B. bassiana* potensial hasil skrining sebelumnya, yaitu (1) BbEd 2; (2) BbEd 6; (3) BbEd 10, dan (4) BbLd. Sebelum diperlakukan pada ulat, keempat strain jamur tersebut diisolasi terlebih dahulu dari inangnya yang baru, yaitu ulat *H. armigera* yang mengalami mikosis. Caranya adalah, konidia diisolasi dari ulat *H. armigera*, kemudian ditumbuhkan pada media SDAY sampai diperoleh kultur murni (bebas kontaminasi) sebagai sumber inokulum dalam memperbanyak konidia. Perlakuan terdiri atas empat konsentrasi dari masing-masing strain: (1)  $1 \times 10^8$ ; (2)  $1 \times 10^9$ ; (3)  $1 \times 10^{10}$ ; (4)  $1 \times 10^{11}$  konidia/ml, dan (5) kontrol (tanpa perlakuan jamur). Perlakuan disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) dengan empat kali ulangan. Sebanyak 100 ulat *H. armigera* instar 2 per perlakuan

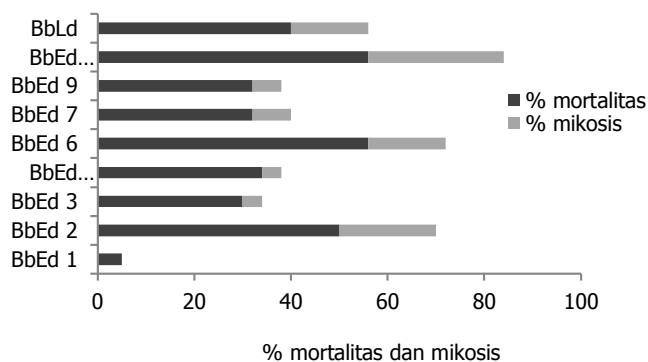
(25 ulat/ulangan) diinfeksi jamur *B. bassiana* dengan menggunakan metode penetesan pada media pakan daun kapas muda. Ulat *H. armigera* ditempatkan di dalam vial-vial plastik yang telah dialasi dengan kertas saring lembap dan di atasnya diberi sepotong daun kapas ( $1 \text{ cm}^2$ ). Setiap daun kapas ditetesi 50  $\mu\text{L}$  suspensi jamur dengan menggunakan mikropipet, kemudian diinfestasikan 1 ulat *H. armigera* instar 2 per vial dan diinkubasikan selama 10 hari pada suhu  $25^\circ\text{C}$ . Pakan daun yang sudah habis dimakan oleh ulat diganti dengan pakan buatan sampai menjadi prepupa, sedangkan ulat yang mati dikoleksi, kemudian diamati gejala mikosisnya. Parameter yang diamati adalah mortalitas harian ulat *H. armigera* selama 9 hari,  $\text{LC}_{50}$  dan  $\text{LT}_{50}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Uji Skrining Strain *B. bassiana* Terhadap Ulat *H. armigera*

Hasil skrining menunjukkan bahwa setiap strain *B. bassiana* memiliki tingkat patogenisitas terhadap ulat *H. armigera* berbeda-beda yang ditunjukkan dengan perbedaan persentase mortalitas. Untuk meningkatkan efektivitas terhadap inang yang baru, strain harus diperbanyak secara *in vivo* pada ulat *H. armigera* (*insect passage*) sebagai inang baru, kemudian diisolasi dari ulat *H. armigera* yang terinfeksi dan kemudian diperbanyak pada media SDAY. Sebagaimana pendapat Safavi *et al.* (2010) bahwa serangga inang baru yang tidak sekerabat dengan inang asli dari mana isolat diisolasi, sangat mempengaruhi kemampuan infeksi.

Keberhasilan mendapatkan strain *B. bassiana* yang patogenik merupakan kesempatan untuk memperoleh faktor mortalitas biotik baru yang efektif terhadap ulat *H. armigera* selain faktor biotik yang sudah banyak diteliti, seperti virus dan musuh alami parasitoid dan predator. Hasil skrining menunjukkan bahwa BbEd 2, BbEd 6, BbEd 10, dan BbLd adalah strain-strain yang patogenik terhadap ulat *H. armigera*. Mortalitas ulat yang di-



(1a)



(1b)

Gambar 1. Persentase mortalitas dan mikosis pada ulat *H. armigera* setelah diperlakukan dengan berbagai strain jamur *B. bassiana* (1a), dan mikosis pada ulat *H. armigera* terinfeksi yang ditunjukkan oleh adanya miselium yang berwarna putih pada ulat terinfeksi (1b)

sebabkan oleh keempat strain tersebut rata-rata lebih tinggi (40–60%) dibanding strain yang lain (10–30%), dan diikuti pula dengan adanya mikosis (Gambar 1a). Selain itu, persentase ulat *H. armigera* yang menunjukkan adanya mikosis akibat infeksi BbEd 2, BbEd 6, BbEd 10, dan BbLd rata-rata lebih tinggi dibanding strain yang lain. Gambar 1b menunjukkan adanya mikosis pada ulat yang mati akibat terinfeksi *B. bassiana*. Namun demikian, dalam penelitian ini tidak semua strain *B. bassiana* yang terinfeksi menunjukkan gejala mikosis. Hal tersebut erat kaitannya dengan aktivitas senyawa metabolit yang bersifat toksik yang diproduksi oleh *B. bassiana*. Hasil penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa sejumlah strain *B. bassiana* diketahui memproduksi senyawa toksin yang secara cepat menurunkan daya tahan tubuh serangga, terutama setelah hemolimfa terinfeksi. Senyawa-senyawa toksik tersebut antara lain: beauvericin, beauverolides, bassianolide, pigmen, dan asam oksalat (Roberts 1981, dalam Draganova *et al.* 2006). Senyawa metabolit yang bersifat insektisidal tersebut diproduksi oleh sejumlah strain *B. bassiana* dan merupakan bagian dari proses terjadinya mikosis pada ulat. Kematian ulat yang tidak disertai dengan mikosis menandakan toksin yang diproduksi oleh strain *B. bassiana* tersebut bersifat kurang toksik.

Laju pertumbuhan dan produksi konidia merupakan parameter penting dalam produksi massal jamur-jamur entomopatogen. Dalam penelitian ini, laju pertumbuhan semua strain jamur *B. bassiana*

pada media SDAY bervariasi mulai dari 0,8 mm/hari pada BbEd 1 hingga 2,5 mm/hari pada BbEd 10 (Tabel 2). Laju pertumbuhan dan produksi konidia berkorelasi dengan kandungan nutrisi dalam media, terutama rasio antara karbon (C) dan nitrogen (N). Gao *et al.* (2007) dan Shah *et al.* (2005) mengatakan bahwa setiap spesies dan bahkan strain jamur entomopatogen membutuhkan tingkat kadar nutrisi, terutama karbon dan nitrogen, yang berbeda-beda di dalam media tumbuhnya. Seperti pada hasil penelitian Mustafa dan Kaur (2009) bahwa sejumlah strain *B. bassiana* yang ditumbuhkan pada media glukosa-agar dengan rasio C:N berbeda (10:1 dan 75:1) menunjukkan laju pertumbuhan berturut-turut sekitar 1,0–3,0 mm/hari dan 0,8–1,8 mm/hari, dengan produksi konidia berturut-turut mencapai  $1,0\text{--}3,9 \times 10^7$  konidia/ml dan  $1,0\text{--}5,5 \times 10^7$  konidia/ml. Hasil penelitian lain juga membuktikan bahwa isolat *B. bassiana* strain ATCC74250 dapat memproduksi konidia dalam jumlah yang cukup tinggi, yaitu  $12,2 \times 10^8$  konidia/ml (Vega *et al.* 2003). Tampaknya tidak ada batasan tertentu mengenai produksi tertinggi konidia *B. bassiana* karena setiap strainnya memiliki kemampuan menghasilkan konidia yang berbeda-beda. Di samping itu, *B. bassiana* yang diperbanyak pada media beras dan jagung cenderung produksi konidianya lebih tinggi dibanding pada media agar. Hasil uji laboratorium ini menunjukkan bahwa konsentrasi konidia tertinggi ( $6,0 \times 10^7$  konidia/ml) dihasilkan oleh strain BbEd 10 dan terendah  $1,7 \times 10^7$  konidia/ml oleh strain BbEd 1.

Tabel 2. Laju pertumbuhan miselium dan produksi konidia strain *B. bassiana* pada media SDAY pada 2 minggu setelah diinokulasi

| Strain<br><i>B. bassiana</i> | Laju pertumbuhan miselium (mm/hari) | Produksi konidia (konidia/ml) |
|------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| BbEd 1                       | 0,8 a                               | $1,7 \times 10^7$             |
| BbEd 2                       | 2,2 c                               | $4,0 \times 10^7$             |
| BbEd 3                       | 2,1 c                               | $1,0 \times 10^7$             |
| BbEd 3a                      | 1,0 a                               | $2,3 \times 10^7$             |
| BbEd 6                       | 2,3 cd                              | $5,5 \times 10^7$             |
| BbEd 7                       | 1,4 b                               | $2,0 \times 10^7$             |
| BbEd 9                       | 1,7 b                               | $3,5 \times 10^7$             |
| BbEd 10                      | 2,5 d                               | $6,0 \times 10^7$             |
| BbLd                         | 2,3 cd                              | $4,0 \times 10^7$             |

Keterangan: Angka didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji BNT 5%.

### Uji Patogenisitas *B. bassiana* Terhadap Ulat *H. armigera*

Hasil pengamatan mortalitas harian menunjukkan bahwa semua strain *B. bassiana* yang diuji memperlihatkan pengaruhnya terhadap ulat *H. armigera* mulai hari ke-3 setelah perlakuan dengan menyebabkan rata-rata persentase mortalitas 25–100% (Gambar 2). Penurunan mortalitas pada hari-hari berikutnya (5, 7, dan 9 hari) mungkin dipengaruhi oleh semakin kerasnya kutikula untuk bisa dipenetrasi oleh jamur disebabkan instar ulat semakin lanjut. Hasil penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa tiga hari pertama setelah perlakuan *B. bassiana* tercapai 35–45% mortalitas ulat *Plodia interpunctella* (Buda dan Peciulyte 2008). Perbedaan persentase mortalitas ulat *H. armigera* pada hari ke-3 sangat jelas pada semua strain yang diuji. Pada konsentrasi konidia tertinggi ( $1 \times 10^{11}$  konidia/ml) setiap strain menunjukkan persentase mortalitas berbeda-beda. Strain BbEd 10 menyebabkan mortalitas ulat dengan kisaran 90–100%, kemudian BbEd 2 sekitar 70–80%, dan BbEd 6 sekitar 50–60%, serta BbLd sekitar 25–30%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *B. bassiana* strain BbEd 10 merupakan strain yang memiliki tingkat patogenisitas tertinggi dibanding strain lainnya.

Apabila diamati pengaruh konsentrasi konidia terhadap mortalitas ulat *H. armigera*, maka terlihat bahwa semua konsentrasi pada semua strain *B. bassiana* efektif menyebabkan mortalitas pada ulat (Gambar 2). Semakin meningkat konsentrasi yang diberikan, semakin tinggi persentase mortalitas ulat. Mortalitas ulat meningkat secara nyata mulai pada konsentrasi  $1 \times 10^9$  dan  $1 \times 10^{10}$

konidia/ml dengan mortalitas >50% terutama pada strain BbEd 2, BbEd 6, dan BbEd 10, sedangkan pada BbLd mortalitas hanya sekitar 25%.

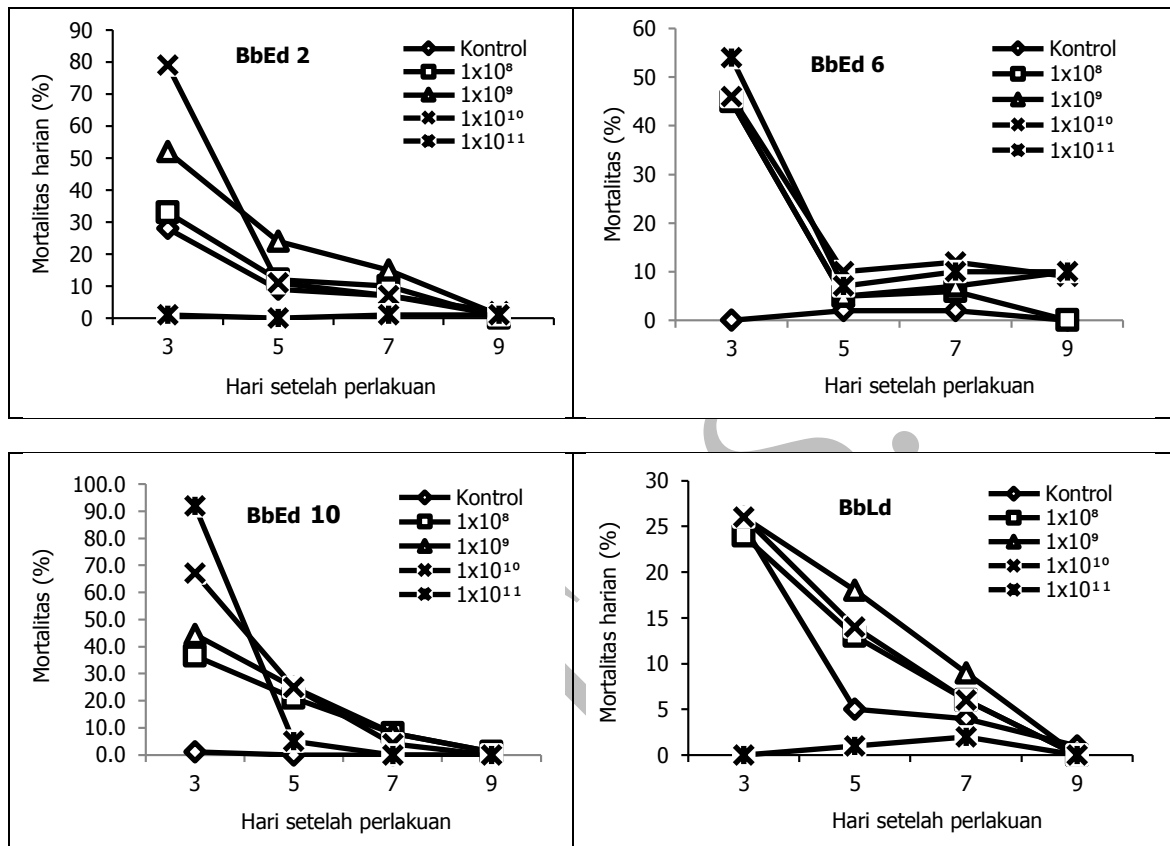
Gambar 3 menunjukkan bahwa BbLd adalah strain *B. bassiana* yang kurang patogenik karena pada konsentrasi konidia terendah ( $1 \times 10^8$  konidia/ml) hingga tertinggi ( $1 \times 10^{11}$  konidia/ml) secara keseluruhan hanya menyebabkan persen mortalitas ulat *H. armigera* tidak lebih dari 40%. Keefektifan suatu spesies, isolat, atau strain jamur dipengaruhi oleh faktor biotik (kisaran serangga inang, kemampuan infeksi, dan laju pertumbuhan) dan abiotik (kelembapan dan suhu) (Shaw *et al.* 2002; Takhur *et al.* 2005). Aslantas *et al.* (2008) mengatakan bahwa umumnya jamur-jamur entomopatogen memiliki variasi genetik tinggi yang menyebabkan patogenisitas pada inang bervariasi. Sifat ini juga berperan menghambat terjadinya resistensi hama terhadap infeksi patogen. Oleh karena itu, kestabilan patogenisitas jamur entomopatogen tergantung spesies, strain, serta daerah asal di mana jamur tersebut diisolasi pertama kali (Gauthier *et al.* 2007; Meyling dan Eilenberg 2007). Strain jamur entomopatogen yang diisolasi dari daerah yang sama dengan inangnya biasanya lebih virulen dibanding dengan yang dari daerah lain, karena pengaruh adaptasi.

Mengestimasi tingkat patogenisitas strain jamur *B. bassiana* pada ulat *H. armigera* dilakukan dengan cara menghitung nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain terefektif dengan nilai  $LC_{50}$  terendah adalah BbEd 10, yaitu  $6,5 \times 10^5$  konidia/ml, kemudian disusul strain BbEd 6, BbEd 2, dan BbLd dengan masing-masing  $LC_{50}$  berturut-turut  $1,2 \times 10^6$ ;  $2,8 \times 10^6$ ; dan  $8,5 \times 10^{10}$  konidia/ml (Tabel 3). Waktu yang diperlukan untuk menyebabkan 50% mortalitas ( $LT_{50}$ ) pada ulat *H. armigera* pada semua strain *B. bassiana* berkisar 1,8–7,2 hari. Nilai  $LT_{50}$  terendah adalah 1,8 hari yang dicapai pada strain BbEd 10 dan tertinggi 7,2 hari pada strain BbLd. Kisaran  $LC_{50}$  maupun  $LT_{50}$  *B. bassiana* terhadap setiap spesies serangga berbeda-beda.

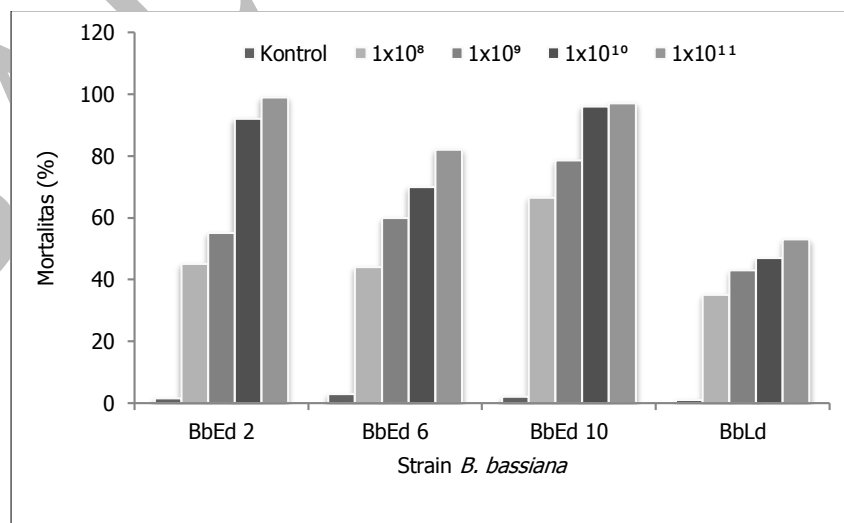
Perbedaan  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  pada beberapa serangga hama sangat dipengaruhi oleh spesiesnya, karena setiap spesies hama memiliki kekuatan integumen yang berbeda-beda yang mempengaruhi ke-

mampuan konidia untuk menembus kutikula. Beberapa contoh hasil uji patogenisitas *B. bassiana* terhadap sejumlah serangga hama, antara lain pada hama ulat kentang, *Phthorimaea operculella* nilai

LC<sub>50</sub> mencapai  $2,1 \times 10^8$  konidia/ml (Hafez *et al.* 1994), bioesai terhadap tungau ketela pohon, *Mononychellus tanajoa* di Brasil mencapai LC<sub>50</sub> sebesar  $3,9 \times 10^6$  konidia/ml, dan terhadap ulat *Spo-*



Gambar 2. Persentase mortalitas harian ulat *H. armigera* setelah terinfeksi masing-masing strain *B. bassiana*



Gambar 3. Mortalitas ulat *H. armigera* kumulatif yang disebabkan infeksi empat strain *B. bassiana* pada tiga konsentrasi konidia berbeda dan kontrol

Tabel 3. Estimasi LC<sub>50</sub> dan LT<sub>50</sub> strain *B. bassiana* pada ulat *H. armigera*

| Strain <i>B. bassiana</i> | LC <sub>50</sub> (konidia/ml) | LT <sub>50</sub> (hari) |
|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| BbEd 2                    | 2,8 x 10 <sup>6</sup>         | 3,2                     |
| BbEd 6                    | 1,2 x 10 <sup>6</sup>         | 2,7                     |
| BbEd 10                   | 6,5 x 10 <sup>5</sup>         | 1,8                     |
| BbLd                      | 8,5 x 10 <sup>10</sup>        | 7,2                     |

*doptera littoralis* menghasilkan LC<sub>50</sub> sebesar 3,0 x 10<sup>6</sup> konidia/ml (Gloriana *et al.* 2000; El-Kawaas dan El-Gawad 2002), terhadap tungau *Tetranychus urticae* yang mencapai LC<sub>50</sub> sebesar 1,2 x 10<sup>7</sup> konidia/ml (Alves *et al.* 2002). Belum banyak yang melaporkan secara rinci tentang nilai LC<sub>50</sub> dan LT<sub>50</sub> *B. bassiana* pada *H. armigera*. Meskipun demikian, Hem *et al.* (1997) dan Ismail dan Sabbour (2002) menyatakan bahwa jamur *B. bassiana* juga sudah digunakan dalam pengendalian hama pengerek buah kapas selain *Helicoverpa* spp., yaitu *Pectinophora gossypiella*, dan *Earias vitella*.

Infeksi *B. bassiana* pada ulat juga dipengaruhi oleh umur ulat karena hal ini berhubungan dengan proses ganti kulit (*molting*). Biasanya infeksi jamur kurang efektif pada serangga yang periode ganti kulitnya lebih cepat (1–2 hari), karena sebagian deposit konidia pada integumen ulat kemungkinan hilang terbawa oleh kulit lama yang mengelupas dan kejadian ini berpotensi memperkecil peluang untuk dapat menginfeksi inangnya. Tetapi, menurut Yubak Dhoj *et al.* (2008) tidak sedikit strain *B. bassiana* yang sudah memulai infeksi pada inang dalam waktu 24 jam setelah perlakuan, sehingga peluang untuk keberhasilan penetrasi lebih tinggi.

Parameter LT<sub>50</sub> menunjukkan kecepatan daya bunuh entomopatogen pada hama sasaran. Nilai LT<sub>50</sub> setiap strain jamur *B. bassiana* yang diuji berbeda-beda tergantung spesies serangga inang. Pada pengendalian tungau *Mononychellus tanajoa* dengan 10 strain *B. bassiana* pada konsentrasi 1 x 10<sup>8</sup> konidia/ml nilai LT<sub>50</sub> mencapai kisaran 2,2–17 hari (Barreto *et al.* 2004). Hasil penelitian lain mengungkapkan bahwa pengendalian dengan beberapa strain *B. bassiana* terhadap hama kumbang Scolytidae, *Ips sexdentatus* yang menyerang tanaman hutan potensial di Beograd nilai LT<sub>50</sub> mencapai sekitar 4,73–17,5 hari (Draganova *et al.* 2006). Selain itu, beberapa produk formulasi *B. bassiana* yang sudah komersial (Bio-Power, Bio-Catch, Prio-

riety) yang diujikan pada ulat *S. littoralis* dan *Agrotis ipsilon* pada kisaran konsentrasi 0,1–1,0 x 10<sup>9</sup> konidia/ml mencapai nilai LT<sub>50</sub> antara 3,6–15,1 hari dengan mortalitas sekitar 27,5–87,5% (El-Hawary dan Abd. El-Salam 2009).

Pada pengendalian serangga hama dengan *B. bassiana* dalam skala luas di lapangan biasanya menggunakan konsentrasi tinggi (LC<sub>90</sub>–LC<sub>95</sub>) dengan tujuan untuk menyediakan inokulum jamur dalam jumlah besar untuk mempertinggi peluang terjadinya kontak antara jamur dan hama sasaran. Selain itu, umumnya entomopatogen juga memiliki kemampuan untuk melakukan perbanyakan sendiri di lapangan dengan cara menginfeksi inang secara alami, sehingga dapat meningkatkan jumlah koloni untuk menjadi sumber infeksi bagi generasi hama berikutnya.

Dari Vietnam dilaporkan bahwa aplikasi *B. bassiana* pada konsentrasi 9 x 10<sup>8</sup> konidia/ml di lapangan dapat menurunkan populasi ulat *Plutella xylostella* hingga 81,25% hingga hari ke-8 setelah aplikasi (Nguyen Thi Loc dan Vo Thi Bich Chi 2007). Demikian pula aplikasi *B. bassiana* strain OM<sub>2</sub>-SDO pada dosis 6 x 10<sup>12</sup> konidia/ha menyebabkan mortalitas ulat *P. xylostella* sebesar 75,3% (Nguyen Thi Loc dan Vo Thi Bich Chi 2007). Dalam skala luas, konsentrasi konidia dapat ditingkatkan lagi, seperti pada pengendalian hama sayuran *Plutella xylostella* di Vietnam yang menggunakan *B. bassiana* dengan konsentrasi 6 x 10<sup>12</sup> konidia/ha (Nguyen Thi Loc 1995 dalam Nguyen Thi Loc dan Vo Thi Bich Chi 2007). Pada pengendalian ulat *Delia radicum* yang menyerang tanaman kubis di Australia sangat efektif menggunakan *B. bassiana* pada konsentrasi 5 x 10<sup>14</sup> konidia/ha (Bruck *et al.* 2005). Masalah dalam penggunaan konsentrasi tinggi, kendalanya hanya pada bagaimana cara memproduksi konidia dalam jumlah banyak. Produksi pada media SDAY tentu saja akan sangat mahal. Banyak hasil-hasil penelitian yang menunjukkan bahwa *B. bassiana* dapat diproduksi massal pada media beras dan jagung. Hasil penelitian Nelson *et al.* (1996) mengungkapkan bahwa penggunaan media beras dapat memproduksi 2,6 x 10<sup>11</sup> konidia kering/g yang setara dengan 7,8 x 10<sup>9</sup> konidia/g media beras. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa dengan media beras dapat dihasilkan 1,6 x 10<sup>10</sup>

konidia kering/g atau  $2,3 \times 10^9$  konidia/g media setelah 15 hari inkubasi (Indrayani *et al.* 2009).

Tingkat LC<sub>50</sub> yang rendah terhadap ulat *H. armigera* instar 2 pada perlakuan strain BbEd 10 menunjukkan bahwa strain ini sangat virulen dan patogenik. Tidak semua strain *B. bassiana* memiliki virulensi dan patogenisitas tinggi terhadap inangnya. Contohnya, beberapa strain *B. bassiana* yang menginfeksi ulat *Pieris rapae*, *Plutella xylostella*, dan *Spodoptera exigua* membutuhkan konsentrasi konidia lebih tinggi untuk menimbulkan mortalitas serangga inang 50% (LC<sub>50</sub>) berturut-turut:  $1,3 \times 10^{10}$ ;  $8,7 \times 10^9$ ; dan  $6,5 \times 10^9$  konidia/ml (Gloriana *et al.* 2000).

Pengujian di lapangan sering tidak menunjukkan hasil yang sama dengan pengujian di laboratorium. Hal tersebut disebabkan kondisi di lapangan sangat kompleks dan banyak faktor yang turut memberi pengaruh terhadap efektivitas entomopatogen pada hama sasaran. Meskipun penelitian *B. bassiana* ini belum mencapai pengujian di lapangan, tetapi keberhasilannya dalam pengendalian berbagai serangga hama sasaran sudah banyak dilaporkan dari hasil-hasil penelitian terdahulu, seperti aplikasi salah satu strain *B. bassiana* yang efektif menurunkan serangan ulat kubis, *P. xylostella* hingga 31, 28, dan 21% berturut-turut pada 20, 50, dan 90 hari setelah perlakuan (Sabbour dan Sahab 2005). Demikian pula terhadap ulat *P. rapae*, aplikasi *B. bassiana* efektif mengurangi persentase serangan hama ini sebesar 24, 27, dan 20% berturut-turut setelah 20, 50, dan 90 setelah aplikasi (Sabbour dan Sahab 2005). Masih banyak hasil-hasil penelitian lain yang menunjukkan bahwa jamur *B. bassiana* sangat potensial dalam pengendalian hama. Strain potensial BbEd 10 yang diunggulkan dalam penelitian akan diuji lebih lanjut apabila bersifat patogenik pula terhadap hama utama kapas yang lain, baik terhadap ulat penggerek buah lainnya (*Earias vitella* dan *Pectinophora gossypiella*) maupun terhadap hama pengisap daun, *Amrasca biguttula*.

Untuk mengetahui konsentrasi konidia *B. bassiana* yang efektif menginfeksi dan membunuh satu ulat sasaran di lapangan bukanlah hal mudah, karena kondisi di lapangan sangat kompleks, terutama disebabkan adanya aktivitas faktor mortalitas

lain yang juga berperan mengendalikan populasi hama. Hal ini sangat memungkinkan satu ulat berpotensi terinfeksi oleh lebih dari satu faktor mortalitas sehingga ikut mempercepat kematian. Hal tersebut bisa juga terjadi pada penggunaan *B. bassiana* dalam pengendalian ulat *H. armigera* pada pertanaman kapas di lapangan. Faktor yang paling efektif untuk mengukur tingkat keberhasilan suatu agensi hayati dalam pengendalian hama di lapangan adalah parameter-parameter, seperti penurunan populasi dan intensitas serangan, tingkat kerusakan tanaman, dan produktivitas. Parameter inilah yang umum digunakan pada penilaian keefektifan suatu teknik pengendalian hama di lapangan, termasuk dalam penggunaan entomopatogen.

## KESIMPULAN

Diperoleh empat strain jamur *B. bassiana* hasil skrining yang patogenik terhadap ulat *H. armigera* instar 2, yaitu BbEd 2, BbEd 6, BbEd 10, dan BbLd. Laju pertumbuhan tercepat dengan produksi konidia tertinggi adalah strain BbEd 10, yaitu berturut-turut 2,5 mm/hari dan  $6 \times 10^7$  konidia/ml. Efektivitas setiap strain jamur sudah mulai tampak pada hari ke-3 setelah perlakuan yang ditunjukkan oleh mortalitas ulat *H. armigera* 25%–100%. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa strain BbEd 10 mencapai nilai LC<sub>50</sub> terendah dibandingkan strain lainnya, yaitu  $6,5 \times 10^5$  konidia/ml dengan kecepatan membunuh dalam 1,8 hari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alves, S.B., L.S. Rossi, R.B. Lopes, M.A. Tamai & R.M. Pereira. 2002. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Invertebrate Pathology 81:70–77.
- Amer, M.M., T.I. El-Sayed, H.K. Bakheit, S.A. Moustafa & Y.A. El-Sayed. 2008. Pathogenicity and genetic variability of five entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis*. J. Agriculture and Biological Sciences 4(5):354–367.
- Aslantas, C. Eken & R. Hayat. 2008. *Beauveria bassiana* pathogenicity to the cherry slugworm, *Caliroa cerasi* (Hymenoptera: Tenthredinidae) larvae.

World Journal of Microbiology and Biotechnology 24:119–122.

- Barreto, R.S., E.J. Marques, M.G.C. Gondim Jr. & J.V. de Oliveira. 2004. Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. For the control of the mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar). Sci. Agric. 61(6): 659–664.
- Bruck, D.J., J.E. Snelling, A.J. Dreves & S.T. Jaronski. 2005. Laboratory bioassays of entomopathogenic fungi for control of *Delia radicum* (L.) larvae. J. Invertebrate Pathology 89:179–183.
- Buda, V. & D. Peculyte. 2008. Pathogenicity of four fungal species to Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). Ekologija 54(4):265–270.
- Deciyanto, S., S.G. Reyes & D.R. Santiago. 2005. Laboratory assay of *Beauveria bassiana* isolates against *Helicoverpa armigera*. Proceedings of The 1<sup>st</sup> International Conference of Crop Security. Brawijaya University, Malang, Indonesia September 20<sup>th</sup>–22<sup>th</sup>. 10pp.
- Draganova, S., D. Takov & D. Doychev. 2006. Bioassays with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae). Plant Science 44:24–28.
- El-Hady, M.M. 2004. Susceptibility of the citrus brown mite, *Eutetranychus orientalis* (Klein) to the entomopathogenic fungi, *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae*. Egyptian J. Biological Pest Control 14(2):409–410.
- El-Hawary, F.M. & A.M.E. Abd. El-Salam. 2009. Laboratory bioassay of some entomopathogenic fungi on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) larvae (Lepidoptera: Noctuidae). Egypt. Acad. J. Biolog. Sci. 2(2):1–4.
- El-Husseini, M.M. 2006. Microbial control of insect pests: is it an effective and environmentally safe alternative? Arab J. Plant Protection 24(2):162–168.
- El-Kawaas, M.A.M. & H.A.S.A. El-Gawad. 2002. The efficacy of two plant extracts (Fenugreek and Lupine) and a commercial bioinsecticides (Biofly) on the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae as a new approach of control. J. Egypt. Ger. Soc. Zool. 37:39–57.
- Gao Li, Man H. Sun, Xing Z. Liu & Yong C.S. 2007. Effect of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. Mycol. Res. 111(1):87–92.
- Gauthier, N., C. Dalleau-Clouet, J. Fargues & M.C. Bon. 2007. Microsatellite variability in the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* genetic diversity and population structure. Mycologia 99(5):693–704.
- Gloriana, A.S., N. Raja, S. Seshadri, S. Janarthanan & S. Ignacimuthu. 2000. Entomopathogens, *Bacillus thuringiensis* ssp. *Kurstaki* and *Beauveria bassiana* to larvae *Spodoptera littoralis* and *Pericallia ricini*. Biol. Agric. Hortic. 18:235–242.
- Hafez, M., F.N. Zaki, A. Moursy & M. Sabbour. 1994. Biological effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Seller). J. Islamic Academy of Sciences 7(4):211–214.
- Hatting, J.L., S.P. Wright & R.M. Miller. 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) for control of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on resistant wheat under field conditions. Biocontrol Sci. Technol. 14:459–473.
- Hem, S., R. Ahmed & H. Saxena. 1997. Field evaluation of *Beauveria bassiana* (Balsamo) against *Helicoverpa armigera* (Hubner) infecting chickpea. J. Biol. Cont. 1:93–96.
- Indrayani, I.G.A.A., Deciyanto-Soetopo & H. Prabowo. 2009. Pengaruh Komposisi Media dan Suhu Terhadap Produksi Konidia Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Laporan Hasil Penelitian Proyek Penelitian Dana Riset Nasional TA 2009. 12 hlm.
- Ismail, A.I. & M. Sabbour. 2002. The role of certain terpenes in increasing the efficacy of microbial insecticides against cotton bollworms. J. Egypt. Ger. Soc. Zool. 2:1–12.
- Kaur, G. & V. Padmaja. 2008. Evaluation of *Beauveria bassiana* isolates for virulence against *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae) and their characterization by RAPD-PCR. J. Microbiology Research 2:299–307.
- Meyling, N.V. & J. Eilenberg. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. Biological Control 43(2):145–155.
- Mustafa, U. & G. Kaur. 2009. Effects of carbon and nitrogen sources and ratio on the germination, growth, and sporulation characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates. African Journal of Agricultural Research 3(10):922–930.
- Nelson, T.L., A. Low & T.R. Glare. 1996. Large scale production of New Zealand strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium*. Proc. 49<sup>th</sup> N.Z. Plant Protection Conference. p. 257–261.
- Nguyen Thi Loc & Vo Thi Bich Chi. 2007. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beau-*

*veria bassiana* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. Omonrice 15:86-93.

Quesada-Moraga, E., E.A.A. Maranhao, P. Valverde-Garcia & C. Santiago-Alvarez. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the white flies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirement and toxicogenic activity. Biological Control 36:274–287.

Sabbour, M.M. & A.F. Sahab. 2005. Efficacy of some microbial control agents against cabbage pests in Egypt. Pakistan J. Biological Sciences 8(10):1351–1356.

Safavi, S.A., A. Kharrazi, R. Rasoulizadeh & A.R. Bandani. 2010. Virulence of some isolates of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. J. Agr. Sci. Tech. 12:13–21.

Shah, F.A., C.S. Wang & T.M. Butt. 2005. Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. FEMS Microbiol. Lett. 251:259–266.

Shapiro-Ilan, D.I., J.R. Fuxa, L.A. Lacey, D.W. Onstad & H.K. Kaya. 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. J. Invertebrate Pathology 88:1–7.

Sharma, S.P., R.B.L. Gupta & C.P.S. Yadava. 2002. Selection of a suitable medium for mass multipli-

cation of entomofungal pathogens. Indian J. Entomol 14(1):255–261.

Shaw, K.E., G. Davidson, S.J. Clark, B.V. Bell, J.K. Pell, D. Chandler & K.D. Sunderland. 2002. Laboratory bioassays to assess the pathogenicity of mitosporic fungi to *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasitic mite of the honeybee, *Apis mellifera*. Biological Control 24:266–276.

Takhur, R., R.C. Rajak & S.S. Sandhu. 2005. Biochemical and molecular characteristics of indigenous strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* of Central India. Biocontrol Science Technology 15(7):733–744.

Vega, F.E., M.A. Jackson, Guy Mercadier & T.J. Poprawski. 2003. The impact of nutrition on spore yields for various fungal entomopathogens in liquid culture. World J. of Microbiology & Biotechnology 19:363–368.

Yubak Dhoj, G.C., S. Keller, P. Nagel & L. Kafle. 2008. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against common white grubs in Nepal. J. Formosan Entomol. 28:11–20.

## DISKUSI

- Tidak ada pertanyaan.