

Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Jamur Entomopatogen dari Rizosfir Pertanaman Kubis

Nuraida¹, dan A. Hasyim²

¹Fakultas Pertanian, Universitas Al-Azhar, Medan 20142

²Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jl. Tangkuban Parahu 517, Lembang, Bandung 40391

Naskah diterima tanggal 6 Mei 2008 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 9 Februari 2009

ABSTRAK. Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi dan mengkarakterisasi jamur entomopatogen dari rizosfir pertanaman kubis. Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Entomologi dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Andalas dan Laboratorium Entomologi, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika Solok dari Maret sampai Agustus 2006. Pengujian sporulasi jamur entomopatogen menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan 2 faktor yaitu jenis isolat dan substrat. Sebanyak 500 g tanah diambil dari pertanaman kubis di Padang Panjang (Desa Koto Panjang) dan Alahan Panjang (Desa Rimbo Data) kemudian dimasukkan ke dalam kotak plastik. Sebanyak 10 ekor *Tenebrio molitor* stadia larva instar ketiga yang baru berganti kulit dimasukkan ke dalam kotak yang berisi tanah, kemudian ditutup dengan selapis tipis tanah dan dilembabkan dengan menyemprotkan akuades steril di atasnya sebanyak 100-150 ml. Kotak tersebut diletakkan di laboratorium dengan kelembaban >90%. Larva yang terinfeksi setelah 3-4 hari digunakan sebagai sumber isolat jamur entomopatogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur yang menginfeksi *T. molitor* adalah jamur entomopatogen yang dapat menyebabkan kematian hama krop kubis *Crocidolomia pavonana* F.. Enam jenis jamur patogen serangga berhasil dibiakkan pada media SDAY. Genus jamur patogen tersebut adalah *Fusarium* sp., *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., *Nomuraea* sp., *Paecilomyces* sp., dan *Achersonia* sp.. Beras dan gandum adalah substrat yang paling baik bagi perbanyakan dan pertumbuhan koloni jamur dibandingkan substrat lainnya. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa spesies jamur entomopatogen tersebar secara alami di lingkungan kebun tanaman kubis.

Katakunci: *Brassica oleracea*; Isolasi; Karakterisasi; Identifikasi; Jamur entomopatogen; *Crocidolomia pavonana*.

ABSTRACT. Nuraida and A. Hasyim. 2009. **Isolation, Identification, and Characterization of Entomopathogenic Fungi from Rhizosphere of Cabbage Plant.** This experiment was conducted at Entomology and Phytopathology Laboratory Faculty of Agriculture, Andalas University and Entomology Laboratory of Tropical Fruit Research Institute, Solok, West Sumatera, from March to August 2006. A factorial completely randomized design with 2 factors, i.e. fungi isolates and its substrates was applied. About 500 g soil samples were collected from cabbage fields in Padang Panjang (Koto Panjang Village) and Alahan Panjang (Rimbo Data Village) and placed into plastic bags. The soils were screened for the presence of entomopathogenic fungi. The new third instars larvae of *Tenebrio molitor* L. were used as baits. About 10 larvae were placed on the soil surface in plastic bowl and covered with lid. Then the bowl was incubated under laboratory condition with >90% RH. The infected larvae, after 3-4 days, were used as source of entomopathogenic fungi isolate. The results showed that fungi isolated from *T. molitor* bait were all entomopathogenic causing mortality of *Crocidolomia pavonana*. Six entomopathogens were successfully cultured on SDAY. These were *Fusarium* sp., *Beauveria* sp., *Metarhizium* sp., *Nomuraea* sp., *Paecilomyces* sp., and *Achersonia* sp.. Rice and wheat produced better cultures and growth of fungal colony than those other substrates. The present study has provided strong evidence that entomopathogenic fungal species were naturally spread in the soil environment of cabbage field.

Keywords: *Brassica oleracea*; Isolation; Characterization; Identification; Entomopathogenic fungi; *Crocidolomia pavonana*.

Berbagai jenis jamur entomopatogen dapat diperoleh dari dalam tanah menggunakan metode umpan serangga (Samson *et al.* 1988, Keller dan Zimmerman 1989, Klingen dan Haukeland 2006). Untuk mendeteksi keberadaan jamur entomopatogen di dalam tanah telah dilakukan dengan berbagai media selektif (Veen dan Ferron 1966, Doberski dan Tribe 1980, Chase *et al.* 1986). Salah satu media selektif yang digunakan umumnya berupa umpan serangga *Galleria*. Umpan *Galleria* dapat memerangkap spesies jamur

entomopatogen, antara lain adalah *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin dan *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. Keberadaan dan distribusi jamur entomopatogen di dalam tanah pertanian secara intensif telah banyak dieksplorasi di luar negeri (Chandler *et al.* 1997, Bidochka *et al.* 1998, Ali-Shtayeh *et al.* 2002, Klingen *et al.* 2002, Keller *et al.* 2003, Meyling dan Eilenberg 2006).

Di Indonesia, perkembangan penggunaan jamur *B. bassiana* dalam pengendalian hama juga

cukup pesat. Penelitian uji potensi dan efektivitas jamur entomopatogen di laboratorium maupun lapangan juga telah dilakukan. Efektivitas *B. bassiana* telah diuji terhadap hama kelapa *Brontispa longissima*, hama penggerek bonggol pisang *Cosmopolites sordidus*, hama bubuk buah kopi, hama kumbang kelapa, dan kelapa sawit (Hosang 1995, Hasyim dan Azwana 2003, Hasyim 2006). Aplikasi biakan *B. bassiana* dapat menekan serangan hama bubuk buah kopi, *Hypothenemus hampei*, dan penggerek buah kakao sebanyak 87% dan dapat menurunkan populasi hingga 76%, hama tajuk tanaman kelapa sawit, *Darna catenata* di Sulawesi Selatan dengan mortalitas ulat rerata 46-93%, bahkan mortalitas hama penggerek bonggol pisang akibat infeksi jamur *B. bassiana* dapat mencapai 100%.

Sebagian besar jamur entomopatogen termasuk dalam divisi *Eumycotina*, subdivisi *Deuteromycotina* dan kelas *Deuteromycetes*, ordo *Moniliales*, famili *Moniliaceae*, genus *Beauveria bassiana* (Vandenberg *et al.* 1988, Feron 1978), *Metarhizium* (Lee dan Hou 1989, Stract 2003, Vestergaard *et al.* 1995), *Nomuraea* (Fargues dan Rodrigues-Rueda 1980, Lezzama-Gutierrez *et al.* 2001), *Paecilomyces* (Lacey 1997), dan *Fusarium* (Tachi 2004, Lacey 1997).

Infeksi jamur entomopatogen pada serangga terjadi akibat adanya kontak konidia (konidiospora) secara pasif dengan bantuan angin. Konidia menembus kutikula serangga dengan bantuan enzim pengurai (Bateman *et al.* 1997, Bateman *et al.* 1993, Feron 1981, Starnes *et al.* 1993). Enzim tersebut, antara lain kitinase, lipase, amilase, fosfatase, esterase, dan protease serta racun dari golongan destruksin, beauverisin, dan mikotoksin yang menghambat produksi energi dan protein. Akibat gangguan toksin tersebut, gerakan serangga menjadi lambat, perilaku tidak tenang, kejang-kejang, dan akhirnya mati. Setelah serangga mati, jamur membentuk klamidiospor di dalam tubuh serangga (Tanada dan Kaya 1993, Lee dan Hou 1989, Freimoser *et al.* 2003).

Infeksi jamur entomopatogen dapat terjadi melalui sistem pernafasan serangga dan celah di antara segmen tubuh serta bagian *cauda* (ekor) serangga (Clarson dan Charnley 1996, Butt *et al.* 1994). Dari dalam tubuh serangga tumbuh hifa (*hyphal bodies*) menyebar melalui jaringan *haemocoel* (Flexner *et al.* 1986).

Jamur *M. anisopliae* menghasilkan destruksin (enzim perusak) yang mengakibatkan serangga mengalami paralisis dan mati setelah 3-14 hari. Pada permukaan tubuh serangga mati ditumbuhi konidia (Hasyim 2007, Nankinga *et al.* 1994, Whitten dan Oakeshott 1991, Starnes *et al.* 1993, Junianto dan Sukanto 1995) yang menyebar dan menginfeksi serangga lain (Bateman *et al.* 1996). Pertumbuhan jamur sangat bergantung pada suhu dan kelembaban. Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan jamur berkisar antara 20-30°C dengan kelembaban di atas 90% (Flexner *et al.* 1986, Mc Coy *et al.* 1988, Nankinga *et al.* 1996, Nankinga dan Ongenga-latigo 1996, Ignaffo 1992).

Jamur entomopatogen yang virulen dapat diperoleh dari hama target atau dari rizosfir pada ekosistem pertanian di mana hama tersebut berada, karena tanah merupakan *reservoir* alami bagi jamur entomopatogen. Penggunaan jamur entomopatogen yang terdapat secara alami merupakan hal yang utama dalam program PHT. Agar dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati, hama *C. pavonana*, maka informasi tentang keberadaan alami dan keanekaragaman jamur entomopatogen pada ekosistem di mana hama tersebut berada, sangat diperlukan. Penelitian bertujuan mengidentifikasi dan mengkarakterisasi jamur entomopatogen dari rizosfir pertanian kubis.

BAHAN DAN METODE

Jamur entomopatogen yang digunakan diambil dari rizosfir pertanian kubis Padang Panjang (Desa Kayu Tanduk Air Angek, Kecamatan Padang Panjang Timur) 1.242 m dpl. dan Alahan Panjang (Desa Air Batumbuk, Kecamatan Lembah Gumanti) 1.293 m dpl. masing-masing sebanyak 6 sampel tanah. Identifikasi dan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Entomologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas Padang dan Laboratorium Entomologi, Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika Solok. Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret sampai Agustus 2006.

Sampel tanah diambil dengan menggali tanah pada kedalaman 5-10 cm di sekitar perakaran tanaman kubis. Setiap sampel masing-masing berisi 400 g tanah, diambil dari lokasi tersebut, kemudian contoh tanah dimasukkan ke dalam

kantong plastik dan diberi label yang berisi informasi tentang lokasi, jenis komoditas, dan tanggal pengambilan. Pengambilan sampel tanah di tiap lokasi dilakukan secara diagonal, selanjutnya sampel tanah dari tiap lokasi digabung menjadi satu. Sampel tanah dibersihkan dari perakaran tanaman, diayak dengan ayakan 600 mesh, dan dimasukkan ke dalam kotak plastik berukuran 13x13x10 cm masing-masing berisi sebanyak 400 g (tiap sampel menggunakan 4 buah kotak). Tanah kemudian dilembabkan dengan akuades steril sampai tanah terlihat basah, kemudian dimasukkan 10 ekor larva *T. molitor* L. instar 3 yang baru berganti kulit (kulit masih berwarna putih) ke dalam kotak yang berisi sampel tanah (Papierok dan Hajek 1997, Hasyim dan Azwana 2003). Kemudian larva ditutup dengan selapis tanah dan permukaan bagian atas dilembabkan dengan menyemprotkan akuades steril. Selanjutnya kotak ditutup dengan potongan kain kasa yang juga telah dilembabkan. Pengamatan terhadap infeksi jamur pada larva *T. molitor* diamati 3 hari setelah preparasi dan pengamatan berikutnya dilakukan setiap hari. Jamur yang tumbuh pada permukaan larva diisolasi dan dibiakkan sebagai sumber isolat untuk bahan pengujian berikutnya (Papierok dan Hajek 1997, Zimmerman 1986).

Permukaan larva yang terinfeksi jamur entomopatogen terlebih dahulu disterilisasi dengan 1% natrium hipoklorit selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan dikeringanginkan di atas kertas filter steril. Larva dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi kertas tisu lembab steril dan diinkubasikan untuk merangsang pertumbuhan jamur entomopatogen. Konidia jamur entomopatogen yang keluar dari tubuh larva yang terinfeksi diambil dengan jarum ose steril dan dipindahkan pada medium *sabauraud dextrose agar yeast extract* (SDAY) (Samuels *et al.* 2002), dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 23-25°C (Pionar dan Thomas 1984, Papierok dan Hajek 1997). Jamur yang sudah murni ditumbuhkan pada media SDAY, diidentifikasi dan dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis, serta karakter struktur reproduktif menggunakan buku kunci determinasi jamur entomopatogen yang disusun oleh Domsch *et al.* 1980, Nelson *et al.* 1983, Samson *et al.* 1988. Karakterisasi masing-masing jamur dilakukan

dengan mengamati sifat-sifat morfologi, fisiologi (daya kecambah konidia, laju pertumbuhan koloni), dan sporulasi dari jamur tersebut.

Untuk mengetahui daya kecambah konidia, masing-masing jamur entomopatogen yang berumur 15 hari diambil 1 ml suspensi dengan konsentrasi 10^6 konidia/ml diteteskan pada gelas objek dan ditetesi media SDAY, kemudian diinkubasi selama 6, 12, dan 24 jam pada suhu 25°C. Setiap perlakuan diulang 5 kali. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya. Persentase kecambah dihitung dari 500 konidia. Konidia dinyatakan berkecambah apabila telah membentuk tabung kecambah.

Untuk mengetahui laju pertumbuhan koloni, masing-masing jamur entomopatogen dengan diameter 1 cm diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang telah berisi media SDAY, kemudian diinkubasikan pada suhu 25°C. Pengamatan diameter koloni dari masing-masing jamur diukur setiap hari sampai 7 hari setelah inokulasi. Data yang diperoleh dihitung menggunakan persamaan regresi.

Pengujian sporulasi jamur dilakukan pada beberapa jenis substrat menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial yang terdiri atas 2 faktor, yaitu jenis jamur dan berbagai substrat dengan 5 ulangan. Substrat yang digunakan adalah beras, jagung, kedelai, dan gandum. Masing-masing bahan substrat dicuci, kemudian direbus hingga agak lunak (± 45 menit). Selanjutnya substrat jagung, beras, kedelai, dan gandum sebanyak 250 g dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 60 menit. Selanjutnya didinginkan selama ± 12 jam. Biakan masing-masing jamur entomopatogen yang berumur 15 hari diambil sebanyak 5 ml suspensi konidia (kerapatan konidia 10^7 per ml suspensi) kemudian diinokulasikan ke dalam kantong plastik yang berisi substrat. Selanjutnya kantong ditutup dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruangan (29°C).

Kantong diperiksa setiap 2 hari sekali sambil diaduk dengan cara menggoyang-goyangkannya. Setelah 14 hari berada pada substrat, koloni jamur sudah dapat dipanen. Dari masing-masing biakan jamur entomopatogen diambil sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi

serta ditambahkan 5 ml akuades steril. Biakan divorteks, disaring, dan diencerkan sampai 4 kali. Jumlah konidia/g substrat/ml dihitung menggunakan haemositometer.

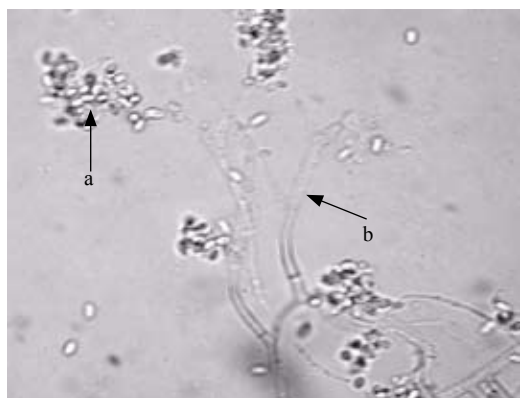
Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam, bila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji signifikansi beda nilai rerata perlakuan menggunakan DMRT pada taraf 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Jamur Entomopatogen

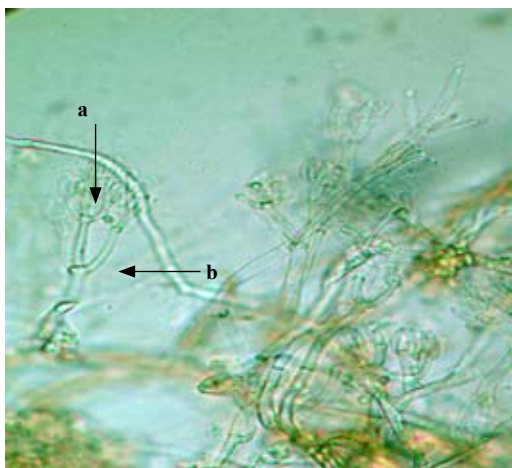
Berdasarkan hasil identifikasi jamur pada media SDAY, ditemukan 6 genus jamur dengan karakteristik dan warna koloni yang berbeda (Tabel 1). Secara rinci karakteristik morfologi dari keenam jamur tersebut adalah sebagai berikut.

- a. *Beauveria*, memiliki hifa pendek, hialin lurus, dan tebal. Kelompok hifa muncul dari tengah dengan ukuran panjang 3-4 μm dan lebar 1-2 μm , bentuk koloni berwarna putih, konidia bulat dengan ukuran (2-3) x (2-2,4) μm , hialin, bersel satu, terbentuk secara soliter pada ujung konidiofor, dan melekat pada sterigma yang pendek dengan pola pertumbuhan berselang seling, pertumbuhan konidioforanya zigzag (simpodial) (Vandenberg *et al.* 1988 Domsch *et al.* 1980, Samson *et al.* 1988) (Gambar 1).



Gambar 1. *Beauveria*: (Perbesaran 100x)
a. konidia, b. hifa (*Beauveria*: (X100) a. konidia, b. hyphae)

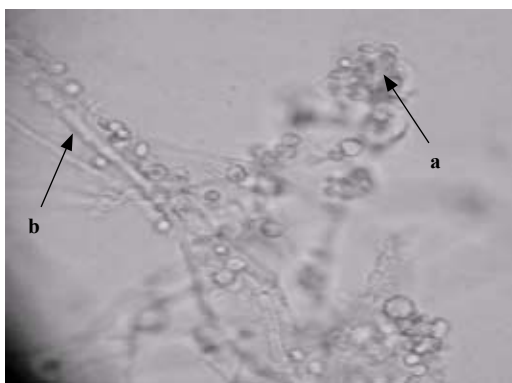
- b. *Metarhizium* mempunyai miselium yang bersekat, konidiofor tersusun tegak dengan ukuran bervariasi antara (4-13,4)x(1,4-2,5) μm , berlapis dan bercabang yang dipenuhi dengan konidia, konidia bersel



Gambar 2. *Metarhizium* (perbesaran 400x):
a. konidia, b. fialid (*Metarhizium* (400x) : a. konidia, b. phialide)

satu berwarna hialin, dan berbentuk bulat silinder. 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 (Vandenberg *et al.* 1988, Domsch *et al.* 1980; Samson *et al.* 1988) (Gambar 2).

- c. *Nomuraea* memiliki konidia berbentuk oval tidak bersepta dan dalam kelompok berwarna hijau pucat, hifa tipis dan halus, bersepta, dan hialin agak berpigmen. Hifa vegetatif berukuran 2-3 μm , sedangkan fialidnya pendek dan agak bulat dengan ukuran 3-3,5 μm . Konidiofor tegak seperti beludru dan



Gambar 3. *Nomuraea* (perbesaran 400x) a. konidia, b. hifa (*Nomuraea* (400x) a. konidia, b. hyphae)

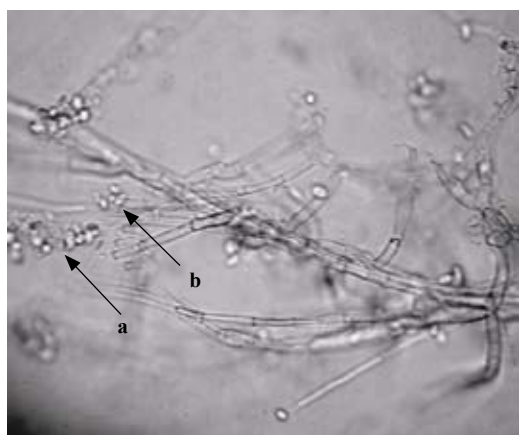
Tabel 1. Karakterisasi morfologi jamur entomopatogen yang berumur 14 hari setelah dibiakkan pada media SDAY (*Morphological characterization of entomopathogenic fungi of 14 days old on SDAY*)

Isolat jamur entomopatogen (<i>Entomopathogenic fungi isolates</i>)	Asal (<i>Origin</i>)	Warna koloni (<i>Colony color</i>)	Hifa (<i>Hyphae</i>)	Konidia (<i>Conidia</i>)	Genus (<i>Genus</i>)
BPP1	P.P	Putih	Hialin	Bulat, hialin	<i>Beauveria</i>
BAP5	A.P	Putih	Hialin	Bulat, hialin	<i>Beauveria</i>
MAP1	A.P	Hijau muda-hijau tua	Hialin	Bulat silinder, hialin	<i>Metarhizium</i>
MAP5	A.P	Hijau muda-hijau tua	Hialin	Bulat silinder, hialin	<i>Metarhizium</i>
NPP1	P.P	Hijau pucat	Tipis, halus, hialin, bersepta	Oval, tidak bersepta	<i>Nomuraea</i>
NAP3	A.P	Hijau pucat	Tipis, halus, hialin, bersepta	Oval, tidak bersepta	<i>Nomuraea</i>
NAP5	A.P	Hijau pucat	Tipis, halus, hialin, bersepta	Oval, tidak bersepta	<i>Nomuraea</i>
PPP4	P.P	Putih kekuningan	Hialin, bersepta	Oval-fusoid, hialin	<i>Paecilomyces</i>
PAP2	A.P	Putih kekuningan	Hialin, bersepta	Oval-fusoid, hialin	<i>Paecilomyces</i>
PAP3	A.P	Putih kekuningan	Hialin, bersepta	Oval-fusoid, hialin	<i>Paecilomyces</i>
PAP6	A.P	Putih kekuningan	Hialin, bersepta	Oval-fusoid, hialin	<i>Paecilomyces</i>
FPP3	P.P	Kuning muda	Hialin	Mikrokonidia: oval elips, silindris makrokonidia: bentuk kurva	<i>Fusarium</i>
FAP1	A.P	Coklat muda	Hialin	Mikrokonidia: oval elips, silindris makrokonidia: bentuk kurva	<i>Fusarium</i>
FAP5	A.P	Coklat muda	Hialin	Mikrokonidia: oval elips, silindris makrokonidia: bentuk kurva	<i>Fusarium</i>
APP4	P.P	Putih, oranye	<i>Hemispherical</i> atau <i>cushion shaped</i>	Fusoid, tidak bersepta, hialin	<i>Aschersonia</i>

BPP1 = *Beauveria* (asal P. Panjang), BAP5 = *Beauveria* (asal A. Panjang), MAP1/MAP5 = *Metarhizium* (asal A. Panjang), NPP1 = *Nomuraea* (asal P. Panjang), NAP3/NAP5 = *Nomuraea* (asal A. Panjang), PPP4 = *Paecilomyces* (asal P. Panjang), PAP2/PAP3/PAP6 = *Paecilomyces* (asal A. Panjang), FPP3 = *Fusarium* (asal P. Panjang), FAP1/FAP5 = *Fusarium* (asal A. Panjang), APP4 = *Aschersonia* (asal P. Panjang) (BPP1 = *Beauveria* (from P. Panjang), BAP5 = *Beauveria* (from A. Panjang), MAP1/MAP5 = *Metarhizium* (from A. Panjang), NPP1 = *Nomuraea* (from P. Panjang), NAP3/NAP5 = *Nomuraea* (from A. Panjang), PPP4 = *Paecilomyces* (from P. Panjang), PAP2/PAP3/PAP6 = *Paecilomyces* (from A. Panjang), FPP3 = *Fusarium* (from P. Panjang), FAP1/FAP5 = *Fusarium* (from A. Panjang), APP4 = *Aschersonia* (from P. Panjang))

bersepta dengan ukuran (3-4)x(2,5-3,5) µm. Hasil identifikasi ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Humber (1997), Edelstein *et al.* (2005), Vandenberg *et al.* (1988), Domsch *et al.* (1980), Samson *et al.* (1988) (Gambar 3).

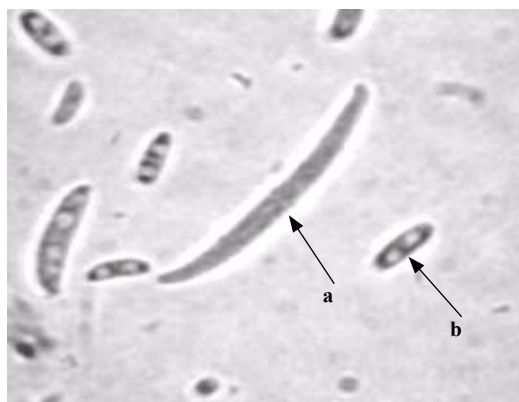
d. *Paecilomyces* memiliki konidia berbentuk oval dengan ukuran bervariasi antara (2-4) x(1-2), fusoid, hifa bersepta, dan hialin, konidiofor bercabang dan memiliki fialid di bagian ujungnya, fialid tipis dengan dasarnya membesar dan ujungnya panjang, berukuran



Gambar 4. *Paecilomyces* (Perbesaran 100x)
a. konidia, b. filialid (*Paecilomyces*
(100x) a. conidia, b. phialide)

(5-6,5)x(2,4) μm , serta kadang-kadang memiliki kladiospora. Hasil identifikasi ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Vandenberg *et al.* (1988), Domsch *et al.* (1980) Samson *et al.* (1988) (Gambar 4).

- e. *Fusarium* mempunyai 2 tipe konidia, makrokonidia dan mikrokonidia. Makrokonidia tipis dengan ukuran (27-46)x(3-5) μm bentuk kurva, sedangkan mikrokonidia bentuk oval dengan ukuran (5-11)x(2,1-3,3) μm , silindrikal, koloni jamur berwarna coklat muda, kuning, oranye, dan merah muda (Domsch *et al.* 1980, Nelson *et al.* 1983, Samson *et al.* 1988) (Gambar 5).
- f. *Aschersonia* spp. memiliki konidia fusoid dan kadang-kadang berbentuk oval atau seperti



Gambar 5. *Fusarium* (Perbesaran 100x) a.
makrokonidia b. mikrokonidia
(*Fusarium* (100x) a. macroconidia
b. microconidia)



Gambar 6. *Aschersonia* (Perbesaran 100x),
a. stroma, b. konidia (*Aschersonia*
(100x), a. stroma, b. conidia)

jarum dengan ukuran konidia bervariasi antara (9-15)x(1,5-2) μm , tidak bersepta, satu sel, hifa tipis, koloni jamur berwarna putih, kuning, dan oranye (Vandenberg *et al.* 1988, Domsch *et al.* 1980, Samson *et al.* 1988) (Gambar 6).

Karakterisasi Fisiologi Isolat Jamur Entomopatogen

Daya Kecambah Konidia

Sebanyak 12 isolat jamur entomopatogen mempunyai daya kecambah konidia yang tergolong rendah (<60%), yaitu *Nomuraea* (isolat NPP1, NAP3, dan NAP5), *Metarhizium* (isolat MAP1 dan MAP5), *Fusarium* (isolat FAP1 dan FAP5), *Paecilomyces* (isolat PAP2, PAP3, PPP4, dan PAP6), dan *Aschersonia* (isolat APP4), sedangkan 3 isolat jamur entomopatogen yang mempunyai daya kecambah tergolong tinggi (>70%) yaitu *Fusarium* (isolat FPP3) dan *Beauveria* (isolat BAP5 dan BPP1) (Tabel 2). Adanya perbedaan daya kecambah konidia dari masing-masing jamur tersebut, mungkin disebabkan perbedaan kebutuhan nutrisi oleh masing-masing jamur (faktor genetik). Jamur entomopatogen membutuhkan media dengan kandungan gula yang tinggi di samping protein. Media dengan kadar gula yang tinggi dapat meningkatkan virulensi jamur entomopatogen (Kuecera 1971, Samsinakova *et al.* 1971, Samsinakova *et al.* 1977). Nutrisi untuk pertumbuhan jamur entomopatogen sangat bervariasi bergantung pada spesies dan strain jamur (Taborsky 1992). Di samping itu,

keberadaan jamur entomopatogen di dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor abiotik dan biotik termasuk cara budidaya (olah tanah dan tanpa olah tanah) (Gaugler *et al.* 1989, Sosa-Gomez dan Moscardi 1994). Faktor lain yang memengaruhi keanekaragaman jamur dalam tanah, adalah kandungan air tanah, tingginya kandungan bahan organik tanah, dan suhu yang rendah (Sosa-Gomez dan Moscardi 1994, Chandler 1997, Ekesi *et al.* 2003, Venninen 1996). Aplikasi pestisida untuk mengendalikan hama target pada tanaman secara tidak langsung akan menyentuh tanah, sehingga memengaruhi keberadaan jamur entomopatogen yang ada di dalamnya (Dinalva *et al.* 2006, Mochi *et al.* 2005). Pengaruh aplikasi insektisida terhadap jamur entomopatogen sangat bervariasi bergantung dan secara umum akan menghambat pertumbuhan konidiogenesis, sporulasi, dan mutasi gen (Li dan Holdom 1994).

Pertumbuhan dan sporulasi jamur entomopatogen membutuhkan suhu dan kelembaban tertentu. Hasil penelitian Walstad *et al.* (1970) membuktikan bahwa suhu optimal untuk pertumbuhan dan sporulasi konidia antara 25-30°C dengan kelembaban 100%. Selanjutnya Junianto dan Sukamto (1995)

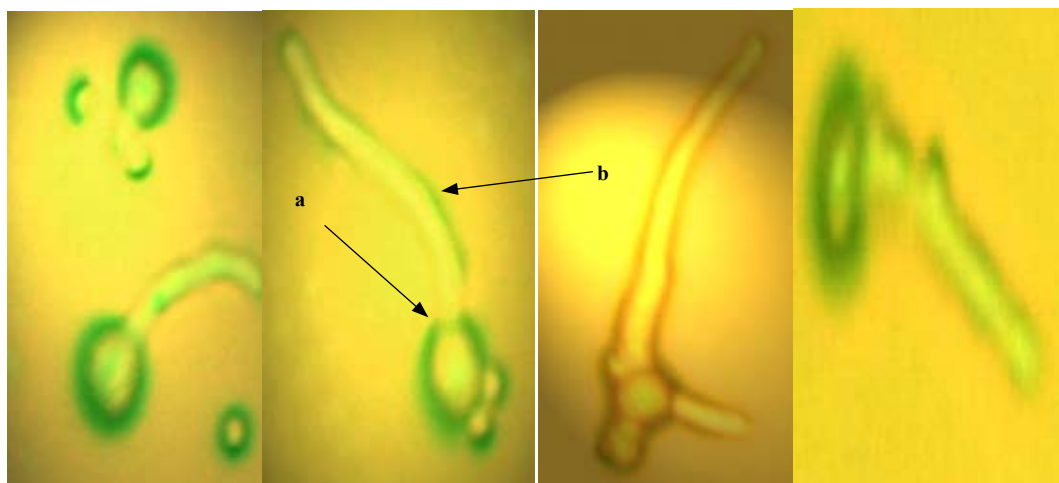
melaporkan bahwa beberapa jamur yang berasal dari dataran tinggi, jika dibiakkan pada suhu ruang memperlihatkan pertumbuhan yang lebih rendah dibandingkan dengan jamur yang diperoleh dari dataran rendah. Masing-masing jamur memiliki sifat-sifat yang sesuai dengan daerah asalnya. Persentase daya kecambah konidia sangat menentukan keberhasilan jamur dalam pertumbuhan selanjutnya dan proses infeksi pada serangga (Hanel dan Watson 1983, Prayogo *et al.* 2005). Menurut Inglis *et al.* (1999), konidia jamur entomopatogen dinyatakan berkecambah apabila panjang tabung kecambah telah melebihi diameter konidia (Gambar 7).

Laju Pertumbuhan Koloni

Laju pertumbuhan koloni masing-masing jamur entomopatogen pada 1 sampai 7 hari masa inkubasi, berbeda-beda (Tabel 3). Jamur *Fusarium* (isolat FAP5 dan FPP3), *Paecilomyces* (isolat PPP4 dan PAP6), dan pertumbuhan koloninya lebih cepat dibanding dengan jamur yang lain. Dalam waktu 7 hari, diameter koloni sudah mencapai rerata lebih dari 6 cm (Gambar 8). Demikian juga dengan laju pertumbuhan diameter koloni jamur *Fusarium* (isolat FPP3), terlihat relatif lebih besar dibanding dengan jamur lainnya. Hal ini juga dapat dilihat dari kemiringan

Tabel 2. Perkembangan perkecambahan konidia jamur entomopatogen setelah 6, 12, dan 24 jam masa inkubasi (*Conidia germination development of entomopathogenic fungi after 6, 12, and 24 hours incubation*)

Isolat jamur (<i>Fungi isolates</i>)	Rerata perkecambahan konidia/konidia awal (<i>Mean of conidia germination/500 conidia</i>)		
	6 jam±SD	12 jam±SD	24 jam±SD
BPP1	19,20±4,27	36,00±5,20	72,00±23,93
BAP5	7,20±3,63	32,00±12,58	75,00±15,73
NPP1	17,60±4,88	31,40±7,56	46,20±2,89
NAP3	21,60±21,09	32,80±20,08	34,60±16,20
NAP5	13,00±8,51	26,20±7,46	58,20±12,48
MAP1	1,00±1,41	15,60±8,59	26,40±7,89
MAP5	3,80±1,30	10,80±3,49	20,80±3,96
FAP1	4,80±0,84	12,40±4,28	54,80±22,40
FPP3	34,00±4,18	53,00±5,87	77,20±8,79
FAP5	9,20±1,64	18,40±6,50	31,20±11,82
PAP2	2,60±1,52	14,80±7,66	20,20±8,35
PAP3	3,20±2,17	10,60±1,95	40,00±8,57
PPP4	21,00±9,06	34,80±11,58	56,60±5,77
PAP6	12,40±9,13	26,60±16,35	36,20±22,02
APP4	13,40±3,44	27,20±7,26	56,40±18,42



Gambar 7. Perkecambahan konidia jamur entomopatogen setelah 24 jam masa inkubasi (a) konidia, (b) tabung kecambah (perbesaran 400x) (*Conidia germination of entomopathogenic fungi after 24 hours incubation (a) conidia, (b) germ tubes (400x)*)

persamaan regresi pertumbuhan koloni beberapa jamur entomopatogen (Gambar 9), di mana tingkat kemiringan jamur *Fusarium* (isolat FPP3) terlihat lebih tinggi dibanding dengan jamur entomopatogen lainnya. Keempat jamur, yaitu *Fusarium* (isolat FAP5 dan FPP3) dan *Paecilomyces* (isolat PAP4 dan PAP6), walaupun pertumbuhannya cepat, tetapi koloninya lebih tipis sehingga agak sulit dipanen. Selanjutnya pertumbuhan koloni *Fusarium* (isolat FAP1), *Paecilomyces* (isolat PAP2 dan PAP3), *Nomuraea* (isolat NAP3, NAP5 dan NPP1), *Metarhizium* (isolat MAP1 dan MAP5), *Aschersonia* (isolat APP4), dan jamur *Beauveria* (isolat BAP5 dan BPP1), terlihat lebih lambat sampai dengan masa inkubasi 7 hari dengan diameter koloni rerata <5 cm. Laju pertumbuhan koloninya juga lebih rendah. Hal ini dapat dilihat dari kemiringan persamaan regresi di mana derajat kemiringan dari masing-masing jamur tersebut lebih rendah dan cenderung mendatar, tetapi konidianya lebih tebal dan mudah dipanen (Gambar 8 dan 9).

Terdapatnya perbedaan pertumbuhan koloni dari masing-masing jamur ini mungkin disebabkan oleh kebutuhan nutrisi yang tidak sama. Setiap genus ataupun spesies jamur membutuhkan nutrisi, pH, kandungan air dalam media, suhu optimal, cahaya, aerasi, dan periode inkubasi untuk pertumbuhan dan pembentukan konidia (Johnpulle 1997, Barlett dan Jaronski 1988, Latge

dan Moletta 1988, Kleespies dan Zimmermann 1992).

Suhu optimal setiap cendawan bervariasi tidak saja antarspesies, tetapi juga antarisolat (Yeo *et al.* 2003, Thomas dan Jenkins 1997, Alasoadura 1963). Suhu optimal untuk perkecambahan konidia adalah 25-30°C, dengan suhu minimum 10°C dan maksimum 32°C, sedangkan pH optimal untuk pertumbuhan adalah 5,7-5,9, tetapi idealnya pH 7-8 (Goral dan Lappa 1972). Selanjutnya jamur *Nomuraea* dapat tumbuh baik pada suhu 25,5°C, tetapi masih dapat berkembang pada suhu yang lebih tinggi dan lebih rendah antara 11-30°C (Edelstein *et al.* 2005). Untuk jamur *M. anisopliae* dapat tumbuh baik pada kisaran suhu 20-30°C dengan kelembaban 90% (Fargues *et al.* 1997). Pertumbuhan konidia *V. lecanii* (isolat HRI 1.72) pada temperatur 10°C relatif lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan isolat jamur entomopatogen lainnya.

Isolat jamur *Beauveria* mempunyai diameter koloni lebih rendah, yaitu 2,15 cm, dengan masa inkubasi 7 hari. Azwana dan Hasyim (2003) mengemukakan bahwa dengan masa inkubasi 7 hari, diameter koloni yang dihasilkan jauh lebih tinggi, yaitu 16,50 mm.

Sporulasi pada Beberapa Substrat

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat jumlah konidia antarjamur dan

antarsubstrat yang berbeda nyata. Interaksi antara substrat dan jamur tidak menunjukkan perbedaan, seperti terlihat pada Tabel 4. Dari keempat substrat yang digunakan, substrat gandum dan beras paling baik untuk pertumbuhan koloni. Hal ini terlihat dengan tingginya jumlah konidia yang dihasilkan pada gandum dan beras, masing-masing berkisar antara $(0,28-2,92) \times 10^{10}$ konidia/g substrat dan $(0,47- 2,75) \times 10^{10}$ konidia/g substrat dan substrat kedelai memiliki jumlah konidia paling rendah dari beberapa jamur entomopatogen, yaitu berkisar antara $(0,02-1,85) \times 10^{10}$ konidia/g substrat.

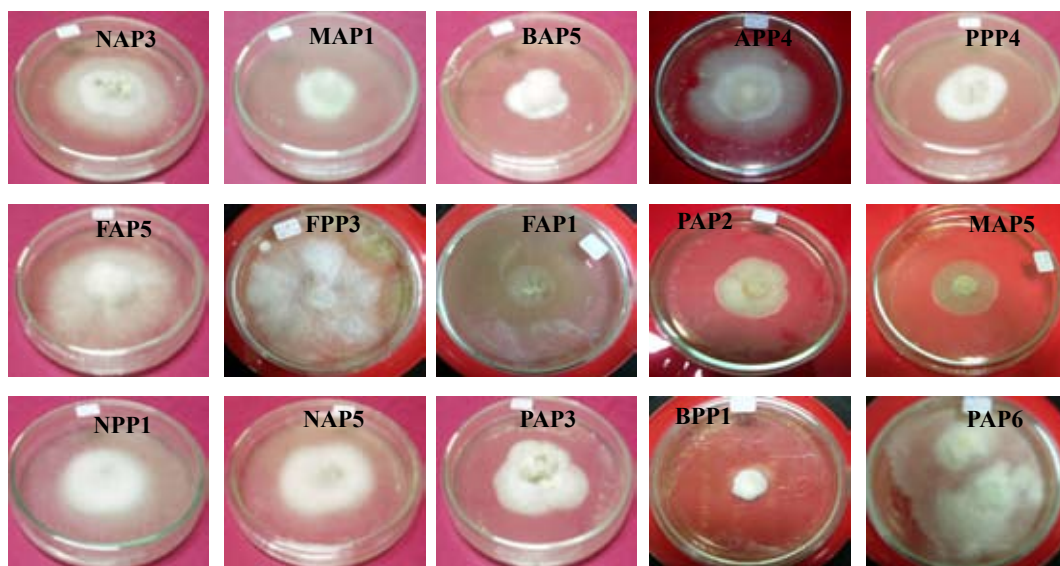
Jamur yang tumbuhnya paling baik pada semua substrat yang diuji adalah *Beauveria* (isolat BAP5 dan BPP1), tetapi tidak berbeda nyata dengan jamur *Fusarium* (isolat FPP3), *Metarhizium* (isolat MAP1), dan *Paecilomyces* (isolat PPP4). Hal ini terbukti dengan tingginya jumlah konidia yang dimiliki oleh masing-masing jamur tersebut, yaitu berturut-turut $2,18 \times 10^{10}$, $2,17 \times 10^{10}$, $1,57 \times 10^{10}$, $1,52 \times 10^{10}$, dan $1,50 \times 10^{10}$ konidia/g substrat, tetapi berbeda nyata dengan jamur lainnya di mana jumlah konidia yang dihasilkan lebih rendah.

Penggunaan berbagai jenis sereal, selain beras, sebagai media perbanyakan *B. bassiana* perlu dipertimbangkan mengingat kandungan nutrisinya yang sangat bervariasi (Jenkins *et al.* 1998). Perbedaan kandungan nutrisi sangat memengaruhi produksi konidia. Oleh karena itu, pemilihan bahan media substrat untuk perbanyakan jamur entomopatogen harus dilakukan secara tepat, terutama memilih bahan yang memiliki kemampuan memproduksi konidia secara konsisten. Hasil penelitian lain juga membuktikan bahwa beras putih merupakan bahan media perbanyakan *B. bassiana* yang tepat karena produksi konidia yang tinggi (Alves dan Pereira 1989, Mendonca 1992, Ibrahim dan Low 1993, Milner *et al.* 1993).

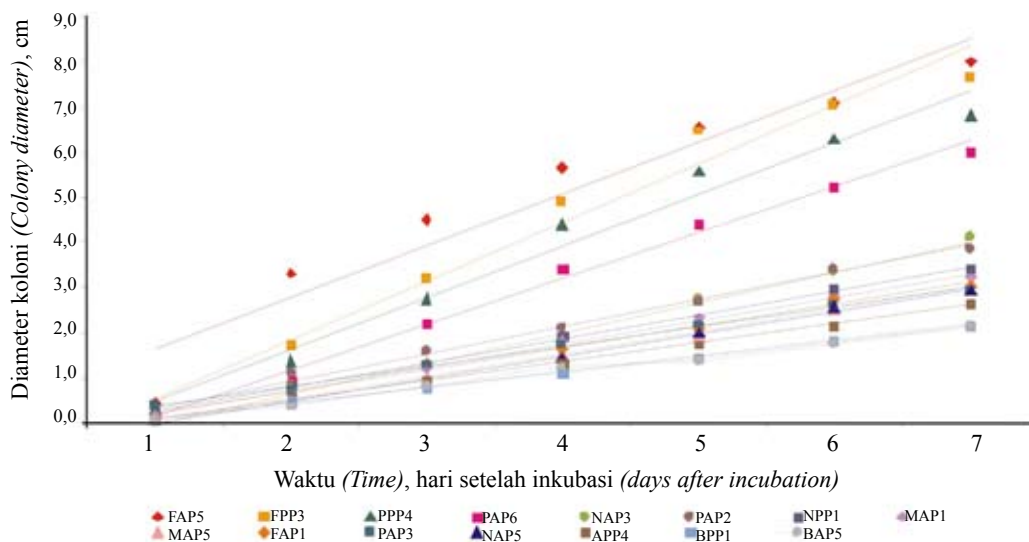
Untuk menghasilkan konidia dalam jumlah maksimal diperlukan media dengan partikel yang permukaannya lebih luas. Bahan media yang cenderung menggumpal memiliki luas permukaan yang sempit, sehingga produksi konidia juga sedikit. Media yang ideal adalah media yang tidak hanya mempunyai partikel dengan permukaan luas, tetapi juga yang dapat mempertahankan keutuhan partikel selama proses produksi konidia jamur

Tabel 3. Diameter koloni, persamaan regresi, serta laju pertumbuhan (r) beberapa isolat jamur entomopatogen pada media SDAY (Colony diameter, regression equation, and growth rate (r) of some entomopathogenic fungi isolates on SDAY medium)

Jenis isolat (Kind of isolates)	Diameter (Diameter) 7 HSI (DAL), cm	Laju pertumbuhan (Growth rate) Hari (Days), cm	Persamaan regresi (Regression equation)
FAP5	8,00	r=1,15	Y=0,48+1,15x ; R ² =0,93
FPP3	7,65	r=1,30	Y=0,75+1,30x ; R ² =0,97
FAP1	3,02	r=0,48	Y=0,24+0,48x ; R ² =0,99
PPP4	6,82	r=1,15	Y=0,66+1,15x ; R ² =0,98
PAP6	6,03	r=1,02	Y=0,87+1,02x ; R ² =0,99
PAP2	3,87	r=0,61	Y=0,30+0,61x ; R ² =0,99
PAP3	2,95	r=0,44	Y=0,04+0,44x ; R ² =0,99
NAP3	4,12	r=0,68	Y=0,72+0,68x ; R ² =0,98
NAP5	2,95	r=0,50	Y=0,48+0,50x ; R ² =0,99
NPP1	3,45	r=0,52	Y=0,24+0,52x ; R ² =0,99
MAP1	3,21	r=0,51	Y=0,29+0,51x ; R ² =0,99
MAP5	3,08	r=0,49	Y=0,43+0,49x ; R ² =0,99
APP4	2,67	r=0,42	Y=0,31+0,42x ; R ² =0,99
BPP1	2,19	r=0,35	Y=0,24+0,35x ; R ² =0,99
BAP5	2,15	r=0,34	Y=0,23+0,34x ; R ² =0,99



Gambar 8. Pertumbuhan koloni 15 jenis cendawan entomopatogen setelah 7 hari masa inkubasi pada suhu ruang (29°C) (*The colony growth of 15 entomopathogens fungi after 7 days incubation under room temperature (29°C)*)



Gambar 9. Laju pertumbuhan koloni beberapa jamur entomopatogen 1-7 hari masa inkubasi (*The growth rate of several entomopathogens colony after 1-7 days incubation*)

entomopatogen (Maheva *et al.* 1984, Bradley *et al.* 1992). Tiga jenis bahan media alami yang telah dicoba dalam perbanyakan *B. bassiana* skala besar di New Zealand adalah beras, gandum, dan

barley. Hasilnya, beras merupakan media paling sesuai bagi perkembangan *B. bassiana* dengan produktivitas konidia tertinggi mencapai $4,38 \times 10^9$ konidia/g beras (Nelson dan Glare 1996).

Tabel 4. Jumlah konidia yang dihasilkan oleh berbagai isolat jamur entomopatogen pada beberapa jenis substrat 14 hari masa inkubasi (*The number of conidia from several isolates of entomopathogenic fungi in some substrates 14 days after incubation*)

Jenis isolat (<i>Kind of isolates</i>)	Rerata konidia/g substrat ($\times 10^{10}$) (<i>Mean conidia /g substrate ($\times 10^{10}$)</i>)				Pengaruh isolat (<i>Effect of isolate</i>)
	Beras (<i>Rice</i>)	Gandum (<i>Wheat</i>)	Jagung (<i>Maize</i>)	Kedelai (<i>Soybean</i>)	
BAP5	2,75	2,55	1,65	1,75	2,18 a
BPP1	2,45	2,92	1,45	1,85	2,17 a
FPP3	2,25	1,95	0,97	1,10	1,57 ab
FAP5	2,15	1,00	1,15	0,52	1,20 bcd
FAP1	1,70	1,07	0,31	1,35	1,11 bcd
MAP1	1,27	2,80	1,27	0,77	1,52 ab
MAP5	0,47	2,10	0,53	0,42	0,88 bcd
NPP1	1,23	1,87	1,40	0,38	1,22 bcd
NAP3	1,90	2,20	1,35	0,02	1,37 bc
NAP5	1,10	2,15	0,52	0,25	1,01 bcd
PPP4	1,27	2,20	1,07	1,47	1,50 ab
PAP6	0,52	1,77	0,72	1,27	1,07 bcd
PAP3	1,00	0,92	1,27	0,37	0,89 bcd
PAP2	0,83	0,28	0,06	0,85	0,51 d
APP4	1,15	1,30	0,23	0,02	0,68 cd
Pengaruh substrat (<i>Effect of substrates</i>)	1,47 A	1,80 A	0,93 AB	0,82 B	

KESIMPULAN

1. Dari lokasi pertanaman kubis di Padang Panjang dan Alahan Panjang diperoleh 6 genus jamur entomopatogen, yaitu *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Fusarium*, dan *Aschersonia*, yang memiliki karakter morfologi dan fisiologi yang berbeda.
2. Jamur *Fusarium* (isolat FAP5 dan FPP3), *Paecilomyces* (isolat PPP4 dan PAP6) mempunyai diameter dan laju pertumbuhan koloni lebih besar dibanding dengan jamur lainnya.
3. Substrat yang paling baik untuk pertumbuhan koloni beberapa jamur entomopatogen adalah gandum dan beras.
4. Jamur *Beauveria* (isolat BPP1 dan BAP5) paling baik karena memiliki sporulasi lebih tinggi.

PUSTAKA

1. Alasoadura, S.O. 1963. Fruiting in *Sphaerobolus* with Special Reference to Light. *Annals. Botany.* 27:123-145.
2. Ali-Shtayeh, M.S., A.B.B.M., Mara, and R.M. Jamous. 2002. Distribution, Occurrence, and Characterization of Entomopathogenic Fungi in Agricultural Soil in the Palestinian Area. *Mycopathologia.* 156:235-244.
3. Alves, S.B. and R.M. Pereira. 1989. Production of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Plastic Trays. *Ecosystema.* 14: 188-192.
4. Azwana dan A. Hasyim. 2003. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Jamur Entomopathogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in West Sumatera. (*Abstract in English*). *J. Stigma.* XI(2):170-176.
5. Barlett, M.C. and S.T. Jaronski. 1988. Mass Production of Entomogenous Fungi for Biological Control of Insects. In Burge, M.N. (Ed) *Fungi in Biological Control Systems.* Manchester, UK, Manchester University Press. pp. 61-85.
6. Bateman RP., M. Carrey, D. Moore and C. Prior. 1993. The Enhanced Infectivity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Oil Formulation to Desert Locusts at Low Humidities. *Ann. Appl. Biol.* 145-152

7. _____, M. Carey, D. Batt, C. Prior, Y. Abraham, D. Moore, N. Jenkins, and J. Felon. 1996. Screening for Virulent Isolates of Entomopathogenic Fungi Against the Desert Locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biocontrol Science and Technol.* 6:549-560.
8. _____. 1997. The Development of a Mycopenicidic for the Control of Locusts and Grasshoppers. *Outlook on Agric.* 26(XX):113-118.
9. Bidochka, M.J., J.E. Kasperski, and G.A.M. Wild. 1998. Occurrence of the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Soils from Temperate and Near-Northern Habitats. *Can. J. Bot.* 76, 1198-1204.
10. Bradley, C.A., W.E. Black, R. Kearns and P. Wood. 1992. Role of Production Technology in Mycoinsecticide Development. In Leatham, G.F. (Ed) *Frontiers in Industrial Mycology*. London, Chapman and Hall. p. 160-173.
11. Butt, T.M., L. Ibrahim, B.W. Ball, and S.J. Clark. 1994. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* Against Crucifer Pests and Honey Bee. *Biocontrol Sci. Technol.* 4:207-214.
12. Chandler, D., D. Hay, and A.P. Reid. 1997. Sampling and Occurrence of Entomopathogenic Fungi and Nematodes in UK Soils. *Appl. Soil Ecol.* 5:133-141.
13. Chase, A.R., L.S. Osborne, and V.M. Ferguson. 1986. Selective Isolation of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from an Artificial Potting Medium. *Fla. Entomol.* 69:285-292.
14. Clarkson, J.M. and A. K. Charnley 1996. New Insights in to the Mechanisms of Fungal Pathogenesis in Insects. *Trends in Microbiol.* 4(5):197-203.
15. Dinalva, A., A.C. M. Mochi, S.A. De Bortoli, H.S. Doria., and J.C. Barbosa. 2006. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for *Ceratitidis capitata* (Diptera; Tephritidae) in Soil with Different Pesticide. *Neotrop. Entomol.* 35(3):389-393.
16. Doberski, J. and H.T. Tribe. 1980. Isolation of Insect-associated Fungi from Elm Bark and Soil with Reference to Ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 74:95-100.
17. Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*, Vol. 1. Academic Press, London. p. 893.
18. Edelstein, J. D., E.V. Trumper, and R.E. Lecuona. 2005. Biological Control. Temperature-dependent Development of The Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson in *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* 34(4):1-13.
19. Ekesi S., N. K. Maniania, and SA. Lux. 2002. Mortality in Three African Tephritid Fruit Fly Puparia and Caused by the Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Sci. and Technol.* 12:7-17.
20. Fargues, J. 1978. Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Fungi. *Ann. Rev. Entomol.* 23:409-442.
21. _____ and S. Rodrigues-Rueda. 1980. Sensibilite des Larves de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) aux Hyphomycetes Entomopathogenes *Nomuraea rileyi* et *Pacilomyces fumosoroseus*. *Entomophaga.* 25:43-54.
22. _____. 1981. Pest Control by The Fungi *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium*. *Microbial Control Invertebr. Pathol.* 15:447-450.
23. _____, M.S. Goettle, N. Smith, A. Quedraogo, and M. Rougier, 1997. Effect of Temperature on Vegetative Growth of Entomopathogenic Fungi Isolates from Different Origins. *Mycologia.* 89(3):383-392.
24. Flexner, J.L. B. Lighthart, and B.A. Croft. 1986. The Effect of Microbial Pesticides to Non Target, Beneficial Arthropods. *Agric. Ecos and Environ.* 16:203-254.
25. Freimoser, F. M., S. Screen., S. Bagga., G. Hu, and R. J. St. Leger. 2003. Expressed Sequence Tag (EST) Analysis of Two Subspecies of *Metarhizium anisopliae* Reveals a Plethora of Secreted Proteins With Potential Activity in Insect Hosts. *Microbiol.* 239-247.
26. Gaugler, R., S.D. Costa, and J. Lashomb. 1989. Stability and Efficacy of *Beauveria bassiana* Soil Inoculations, *Environ. Entomol.* 18:412-417.
27. Goral, W.M. and N.V. Lappa. 1972. The Effect of Medium pH on Growth and Virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Mikrobiol Zh.* 34(4):454-457.
28. Hanel, H., and J. A. L. Watson. 1983. Preliminary Field Test on the Use of *Metarhizium anisopliae* for the Control of *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). *Bull. Ent. Res.* 73:305-313.
29. Hasyim, A. dan Azwana. 2003. Patogenisitas Isolat *Beauveria bassiana* dalam Mengendalikan Hama Penggerek Bonggol Pisang, *Cosmopolites sordidus* Germar. *J. Hort.* 13(2):120-130.
30. _____. 2006. Evaluasi Bahan Carrier dalam Pemanfaatan Jamur Entomopatogen, *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin untuk Mengendalikan Hama Penggerek Bonggol Pisang, *Cosmopolites sordidus* Germar. *J. Hort.* 16(3):202-210.
31. _____. 2007. Peningkatan Infektifitas Jamur Entomoptogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. dengan Menggunakan Berbagai Bahan Carrier untuk Mengendalikan Hama Penggerek Bonggol Pisang, *Cosmopolites sordidus* Germar di Lapangan. *J. Hort.* 17(4):335-342.
32. Hosang, M.L.A. 1995. Patogenisitas Cendawan *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill terhadap *Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Hispidae). *MS Thesis* (Unpublished). Bogor Agricultural University (IPB). 66 p.
33. Humber, R.A. 1997. Fungi : Identification. In Lacey, I. A. (Ed.). *Biological Techniques. Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press London. 152-185.
34. Ibrahim, Y.B. and W. Low. 1993. Potential of Mass Production and Field Efficacy of Isolates of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* Against *Plutella xylostella*. *J. Pest Management.* 39:288-292.

35. Ignoffo, C.M. 1981. The Fungus *Nomuraea rileyi* as a Microbial Insecticide, In H.D. Burges (Ed). *Microbial Control of Pest and Plant Disease 1970-1980*. Academic Press. New York. p. 513-538.
36. _____. 1992. Environmental Factors Affecting Persistence of Entomopathogens. *Florida Entomologist*. 75:516-523.
37. Inglis, G.D., G.M. Duke, L.M. Kawchuk, and M.S. Goetzel. 1999. Influence of Oscillating Temperatures on the Infection and Colonization of The Migratory Grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. *Biol. Control*. 14:111-120.
38. Jenkins, N.E., G. Hevievo, J. Langewald, A. J. Cherry, and C.J. Lomer. 1998. Development of Mass Production Technology for Aerial Conidia for Use as Mycopensticides. *Biocontrol News and Information*. 19(1):21-32.
39. Johnpulle, A.L. 1997. Temperatures Lethal to the Green Muscardine Fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. *Tropical Agriculturalist*. (1):29-46.
40. Junianto, Y.D. dan S. Sukanto. 1995. Pengaruh Suhu dan Kelembaban Relatif terhadap Perkecambahan, Pertumbuhan dan Sporulasi Beberapa Isolat *Beauveria bassiana*. *Pelita Perkebunan*. 11(2):64-75.
41. Keller, S. and G., Zimmerman. 1989. Mycopathogens of Soil Insects. In Wilding, N., N.M. Collins, P.M. Hammond, and J.F. Webber (Eds.), *Insect-Fungus Interactions*. Academic Press, London. p. 240-270.
42. _____, P. Kessler and C. Schweizer. 2003. Distribution of Insect Pathogenic Soil Fungi in Switzerland with Special Reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol*. 48:307-319.
43. Kleespies, R.G. and G. Zimmermann. 1992. Production of Blastospores by Three Strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok in Submerged Culture. *Biocontrol Sci. and Technol*. 2:127-135.
44. Klingen, I., J. Eilenberg, and R. Meadow. 2002. Effects of Farming System, Field Margins, and Bait Insect on the Occurrence of Insect Pathogenic Fungi in Soils. *Agric. Ecosyst. Environ*. 91:191-198.
45. _____ and S. Haukeland. 2006. The Soil as a Reservoir for Natural Enemies of Pest Insects and Mites with Emphasis on Fungi and Nematodes. In Eilenberg, J., and H.M.T. Hokkanen (Eds.), *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Series: *Progress in Biological Control*. p. 145-211.
46. Kuecera, M. 1971. Toxin of the Entomophagous Fungus *Beauveria bassiana*: Effect of Nitrogen Sources on Formation of the Toxic Protease in Submerged Culture. *J. Invertebr. Pathol*. (17):211-215.
47. Lacey, L.A. 1997. Initial Handling and Diagnosis of Diseases Insect. In Lacey, L.A. (Ed.) *Insect Pathology an Advanced Teatise*. Academic Press. New York. 233-271.
48. Latgë, J.P. and R. Moletta. 1988. Biotechnology. In: Samson, R.A., H. Evans, J.P. Latgë, (Eds.) *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Berlin: Springer-Verlag. p. 152-164.
49. Lee, P.C. and R. Hou., 1989. Pathogenesis of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* in The Smaller Brown Planthopper, *Laodelphax Striatellus*. *Chinese J. Entomol*. (9):13-19.
50. Lezama-Gutierrez, R., R. Hamm, J.J. Molina-Ochoa, and M.Lopez-Edward. 2001. Occurrence of Entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in The Mexico States of Michoacan, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomol*. 84(1):23-30.
51. Li, D.P. and D.G. Holdom. 1994. Effects of Pesticides of Growth and Sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Deutero: Hyphomycets). *J. Invertebr. Pathol*. 63:209-211.
52. Maheva, E., G. Djelveh, C. Larroche, and J.B. Gros. 1984. Sporulation of *Penicillium roqueforti* in Solid Substrate Fermentation. *Biotechnol. Letters*. 6:97-102.
53. _____, R.A. Samson, and D.G. Bouclas. 1988. Entomogenous Fungi. In C.M. Ignoffo (Ed). *CRC Handbook of Natural Pesticides. Microbial Insecticides, Part A. Entomogenous Protozoa and Fungi*. CRC Press, Boca Rotan, Florida. 5:151-236.
54. Mendonca, A.F. 1992. Mass Production, Application and Formulation of *Metarhizium anisopliae* for Control of Sugarcane Froghopper, *Mahanarva posticata* in Brasil. In Lomer, C.J and C. Prior, (Eds) *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. Wallingford, UK: CAB International. p. 239-244.
55. Meyling, N. and J. Eilenberg. 2006. Occurrence and Distribution of Soil Borne Entomopathogenic Fungi Within a Single Organic Agroecosystem *Agric. Ecosyst. Environ*. 113:336-341.
56. Milner, R.J., D.J. Rogers, C.M. McRae, R.J. Huppertz, and H. Brier. 1993. Preliminary Evaluation of the Use of *Metarhizium anisopliae* as a Mycopensticide for Control of Peanut Scarabs. *Pest Control in Sustainable Agriculture*. Melbourne, Australia CSIRO. p. 253-255.
57. Mochi, D.A., A.C. Monteiro, and J.C. Barbosa. 2005. Action of Pesticides to *Metarhizium anisopliae* in Soil. *Neotrop. Entomol*. 34:961-971.
58. Nankinga, C. M. and W. M. Ongenga-Latigo. 1996. Effect of Method of Application on The Effectiveness of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to the Banana Weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Afr. J. Plant Protection*. 6:12-21.
59. _____, G.B. Allard, and J. Ogwang. 1994. Studies on the Potential of *Beauveria bassiana* for the Control of the Banana Weevil *Cosmopolites sordidus* Germar in Uganda. *Afr. Crop Sci. J*. 1:300-302.
60. _____, 1996. Pathogenicity of Indigenous Isolate of *Beauveria bassiana* Against the Banana Weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Afr. J. Plant Protection*. 6:1-11.
61. Nelson, P.E., and T.R. Glare. 1996. Large Scale Production of New Zealand Strains of *Beauveria* and *Metarhizium*. *Proceedings 49th N.Z. Plant Protection Conf*. p. 257-261

62. _____, Toussoun, and W.F.O Marasas. 1983. *Fusarium Species: an Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State University Press, University Park and London. p. 193.
63. Papierok, B. and E.A. Hajek. 1997. Fungi: Entomophthorales. In Lacey. L.A. (Ed.). *Biological Techniques. Manual of Techniques in Insect Pathology*. 187-212.
64. Poinar, O.G. and M.G. Thomas. 1984. *Laboratory Guide to Insect Pathogens and Parasites*. Plenum Press. New York. 392 p.
65. Prayogo, Y., W. Tengkan, dan Marwoto. 2005. Prospek Cendawan Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* pada Kedelai. *J. Litbang Pertanian*. 24(1):19-26.
66. Samuels, G.J., S.L. Dodd, W. Gams, L.A. Castlebury, and O. Petrini. 2002. Trichoderma Species Associated with the Green Mold Epidemic of Commercially Grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*. 94:146-170.
67. Samsinakova, A., S. Misikova, and J. Leopold. 1971. Action of Enzymatic Systems of *Beauveria bassiana* on the Cuticle of The Greater Wax Moth Larvae *Galleria mellonella*. *J. Invertebr. Pathol.* (18):322-330.
68. _____, C. Bajan, S. Kalalova, K. Kmitowa, and M. Wojciechowska. 1977. The Effect of Some Entomophagous Fungi on the Colorado Beetle and Their Enzyme Activity. *Bull. Acad. Pol. Sci.* (25):521-526.
69. Samson, R.A., H.C. Evans, and J.P. Latge. 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, New York. p. 187.
70. Sosa-Gomez, D.R., and F. Moscardi. 1994. Effect of Till and No-Till Soybean Cultivation on Dynamics of Entomopathogenic Fungi in the Soil. *Florida Entomol.* 77(2):284-287.
71. Starnes, R.L., C.L. Liu., and P.G. Marrone. 1993. History, Use and Future of Microbial Insecticides. *J. Amer. Entomol.* 39:83-91.
72. Strack, B. H. 2003. Biological Control of Termites by The Fungal Entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. <http://www.Utoronto.ca/forest/termite/metani-1.htm> [20 Desember 2003]. p.8.
73. Tachi, S.K. 2004. *Entomopathogenic Fungi Database (EPFDB)*. National Institute of Fruit Tree Science (NIFTS). p. 20.
74. Tanada, Y., and H.K. Kaya, 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, Inc., New York, NY. p 666.
75. Taborsky, V. 1992. Small Scale Processing Microbial Insecticide. FAO. *Agric. Services. Bull.* (96):30-42.
76. Thomas, M.B. and N.E. Jenkins. 1997. Effects of Temperature on Growth of *Metarhizium flavoviridae* and Virulence to the Variegated Grasshopper *Zonocerus variegatus*. *Mycol. Res.* 101:1469-1474.
77. Vinninen, I. 1996. Distribution and Occurrence of Four Entomopathogenic Fungi in Finland: Effect of Geographical Location, Habitat Type and Soil Type. *Mycol. Res.* 100:93-101.
78. Walstad, S., R.F. Anderson, and W.J. Stanbaugh. 1970. Effects of Environmental Condition on Two Species Muscardine Fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). *J. Invertebr. Pathol.* 16:221-226.
79. Vendenberg, J.D., M. Ramos and J.A. Altre. 1988. Dose Response and Age and Temperature Related Susceptibility of the Diamondback Moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to Two Isolated of *Beauveria bassiana* (Hypomycetes: Moniliales). *Environ. Entomol.* 27:1017-1021.
80. Veen, K.H. and P., Ferron, 1966. A Selective Medium for the Isolation of *Beauveria tenella* and of *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 8:268-269.
81. Vestergaard, S., A.T. Gillespie, G. Schreiter, and J. Eilenberg. 1995. Pathogenicity of the Hyphomycete Fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Sci. and Technol.* 5(2):185-192.
82. Whitten, M.J. and J.G. Oakeshott. 1991. Opportunities for Modern Biotechnology in Control of Insect Pests and Weeds, with Special Reference to Developing Countries. *FAO Plant Protection Bull.* 39(4):155-181.
83. Yeo H., J.K. Pell, P.G. Alderson, S. J Clark, and B. J. Pye. 2003. Laboratory Evaluation of Temperature Effects on the Germination and Growth of Entomopathogenic Fungi and on Their Pathogenicity to Two Aphid Species. *J. Pest Management Sci.* 59(2):156-165.
84. Zimmermann, G. 1986. The *Galleria* Bait Method for Detection of Entomopathogenic Fungi in Soil. *J. Appl. Entomol.* 102:213-215.