

BAB III. PEMBIAKAN JAMUR AGENSIA HAYATI *BEAVERIA BASSIANA*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* DAN *TRICHODERMA SP.* PADA MEDIA LIMBAH JAGUNG

**Dyah Rini Indriyanti*, Siti Harnina Bintari, Ning Setiati,
Priyantini Widiyaningrum, Pramesti Dewi**

Program Studi Biologi, Universitas Negeri Semarang
dyahrini@mail.unnes.ac.id

ABSTRAK

Beauveria Bassiana, *Metarhizium anisopliae* dan *Trichoderma sp.* merupakan jamur agensia pengendali hayati, tumbuh seperti bubuk yang digunakan untuk mengendalikan serangga hama dan penyakit tanaman. Pembuatan ketiga jamur tersebut umumnya menggunakan media jagung terpotong kecil-kecil. Setelah media digunakan media menjadi limbah yang biasanya dibuang. Tujuan penelitian ini untuk mengolah media yang sudah pernah digunakan untuk pembiakan jamur, yang berasal dari limbah jagung terpotong kecil-kecil menjadi media baru yang dapat digunakan kembali sebagai media pembiakan jamur. Metode pembiakan dilakukan dengan menambah media bekas pembiakan jamur yaitu limbah jagung pecahan, selanjutnya dikeringkan dan diformulasikan kembali dengan air kelapa dan pupuk. Hasilnya jamur dapat tumbuh lebih baik pada media limbah jagung, karena penambahan nutrisi dari NPK dan air kelapa.

Kata kunci: *Pembiakan jamur*, air kelapa, pupuk, penyakit tanaman

LATAR BELAKANG

Pengendalian hama dan penyakit dapat dilakukan secara fisik, mekanik, penggunaan varietas tahan, kimia dan biologi. Pengendalian secara biologi merupakan salah satu pengendalian yang dinilai cukup aman. Pengendalian biologi dapat dilakukan dengan menggunakan agensia pengendali hayati (APH) atau

Biological Control Agens. APH meliputi subspecies, spesies, varietas, semua jenis protozoa, serangga, bakteri, jamur, virus serta organisme lainnya yang dalam tahap perkembangannya dapat dipergunakan untuk keperluan pengendalian hama dan penyakit tumbuhan.

Keuntungan pengendalian hayati yaitu 1) bersifat aman karena tidak menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan, tidak menimbulkan keracunan terhadap manusia dan hewan; 2) tidak menimbulkan resistensi terhadap hama; 3) musuh alami bekerja selektif terhadap mangsa atau inangnya; dan 4) biaya pengendalian lebih murah.

Salah satu APH yang sering digunakan untuk mengendalikan serangga hama yaitu dari golongan jamur atau cendawan, diantaranya adalah *Metarhizium anisopliae* dan *Beauveria bassiana*, sedangkan jamur *Trichoderma* sp digunakan untuk mengendalikan jamur yang menyebabkan penyakit pada tanaman atau dikenal sebagai jamur antagonis. Untuk memenuhi kebutuhan APH di lapangan, perlu dilakukan perbanyakkan APH secara massal. Pembiakan tersebut dapat dilakukan oleh petani atau kelompok tani atau instansi terkait.

Salah satu instansi pemerintah terkait yang berlokasi di Salatiga merupakan salah satu yang memproduksi APH. APH tersebut yaitu *M. anisopliae*, *B. Bassiana* dan *Trichoderma* sp. Pembuatan APH ketiga jamur dilakukan dengan menggunakan media biji jagung hancur/pecah. APH diinokulasikan pada media jagung hancur/pecah yang sudah matang dan disterilkan, kemudian diinkubasi kurang lebih dua sampai tiga minggu. Setelah itu konidia siap dipanen. Pemanenan konidia jamur dilakukan dengan cara merendam media yang sudah ditumbuhi jamur dengan air supaya konidia jamur dapat terpisahkan dari media jagung. Konidia hasil panen kemudian dicampur dengan bahan pembawa yaitu kaolin. Media jagung yang telah dipisahkan dari konidia tidak lagi digunakan dan menjadi limbah.

Salah satu upaya untuk mengurangi limbah jagung tersebut yaitu dengan memanfaatkan kembali limbah jagung bekas inokulum sebagai media pembiakan lagi untuk kedua kalinya.

Namun, pemanfaatan jagung bekas sebagai media inokulum memerlukan penambahan nutrisi dari luar, karena nutrisi awal media jagung sudah digunakan untuk pembiakan yang pertama. Sumber nutrisi yang dapat ditambahkan yaitu air kelapa dan NPK. Air kelapa mengandung banyak nutrisi dan mineral yang dapat menunjang pertumbuhan jamur APH. Kandungan air kelapa muda yang lengkap dapat digunakan sebagai pemenuh kebutuhan nutrisi media pertumbuhan jamur APH seperti karbohidrat, protein, nitrogen, dan ion organik (Mg^{2+} dan Ca^{2+}) yang dapat meningkatkan produksi konidia dan viabilitas APH.

Selain air kelapa, dapat ditambahkan nutrisi lain yaitu larutan NPK untuk limbah jagung. NPK mengandung makro elemen sebagai komponen utama nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur. NPK merupakan pupuk anorganik yang memiliki jenis pupuk majemuk karena mengandung unsur Nitrogen (N), Fosfor (F), dan Kalium (P). Kandungan pupuk NPK yang berwarna merah sebesar 15-15-15 artinya mengandung N (nitrogen) 15%, P (fosfor) 15%, dan K (kalium) 15%. Pupuk NPK yang berwarna biru atau dikenal pupuk Mutiara dengan porsi 16-16-16. Oleh sebab itu buku ini membahas tentang pengolahan limbah jagung menjadi media pembiakan yang kedua kalinya atau *reused* dengan penambahan nutrisi lain misalnya air kelapa atau pupuk NPK.

Produksi APH dengan media biji jagung pecah-pecah/hancur setelah digunakan sebagai media, karena sudah panen jamur dapat menghasilkan limbah karena hanya sekali pakai. Walaupun secara fisik bentuk limbah jagung tersebut masih utuh. Hal itu akan berdampak buruk bagi lingkungan sekitar akibat dari pembuangan limbah jagung tersebut. Upaya untuk meminimalisir limbah tersebut, maka perlu dilakukan upaya pemanfaatan kembali limbah jagung menjadi media pembiakan yang kedua kali.

Indikator keberhasilan pertumbuhan jamur APH adalah jamur dapat tumbuh menghasilkan konidia dengan kerapatan tertentu dan dapat tumbuh kembali dengan viabilitas tertentu. Berdasarkan BPT-BUN (2014) standar jumlah kerapatan konidia yang baik adalah jumlah kerapatan konidia di lebih besar dari 10^6

konidia/mL dan persentase perkecambahan konidia yang baik adalah minimal 80%.

Buku ini memberi informasi tentang cara mengolah limbah jagung bekas yang pecah-pecah atau hancur untuk proses inokulasi APH menjadi media pembiakan APH untuk kedua kalinya dengan penambahan nutrisi air kelapa dan pupuk.

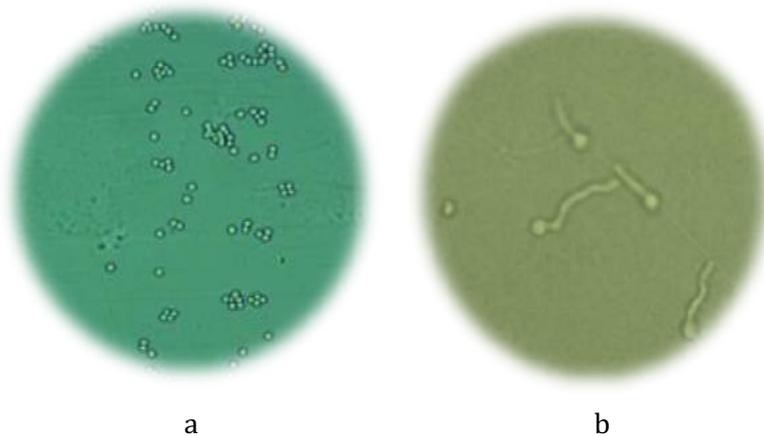
SIFAT BIOLOGI DAN EKOLOGI DARI JAMUR *BEAUVERIA BASSIANA*

B. bassiana merupakan salah satu jamur entomopatogen termasuk organisme heterotrof yang bersifat parasit bagi serangga inang. Kelebihan jamur entomopatogen sebagai agen pengendali hayati antara lain, memiliki sasaran atau inang yang luas, daya reproduksi tinggi, siklus hidup pendek, selektif, aman, bersifat non patogen bagi tanaman yang terserang hama dan mampu melakukan dormansi ketika berada pada lingkungan yang tidak menguntungkan. APH ini yang paling sering dimanfaatkan dalam pertanian. *B. bassiana* tidak memiliki inang yang spesifik, karena itu sering dimanfaatkan untuk pengendalian berbagai macam serangga hingga telah dilaporkan lebih dari 700 spesies serangga yang diparasit. Klasifikasi *B. bassiana* menurut CABI (2022) sebagai berikut:

| | |
|-----------|--|
| Domain | : Eukaryota |
| Kingdom | : Fungi |
| Phylum | : Ascomycota |
| Subphylum | : Pezizomycotina |
| Class | : Sordariomycetes |
| Subclass | : Hypocreomycetidae |
| Ordo | : Hypocreales |
| Family | : Cordycipitaceae |
| Genus | : Beauveria |
| Species | : <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill. |

Jamur *B. bassiana* tidak membentuk kladospora, namun dapat membentuk blastospora. *B. bassiana* memiliki bentuk konidia oval hingga bulat dan berwarna putih. Konidia *B. bassiana*

berbentuk lonjong agak bulat seperti buah anggur, berwarna putih semakin lama menjadi kekuningan (Gambar 3.1.). Hifa berbentuk bulat sampai lonjong berukuran 1-2 μm dan membentuk kelompok sel-sel konidiofor berukuran 3x3 μm^2 sampai 6x3 μm^2 . Hifa bercabang cabang dan menghasilkan sel-sel konidiofor yang berbentuk seperti botol.



Gambar 3.1. Konidia *B. bassiana* (a), sebelum berkecambah (b) setelah menjadi kecambah ((Indriyanti *et al.*, 2017a)

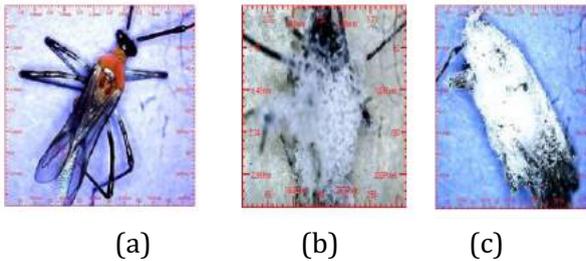
B. bassiana mempunyai sifat mudah diisolasi dari bangkai serangga atau dengan umpan tanah dengan serangga. *B. bassiana* juga dapat dibiakkan di laboratorium pada media sederhana yang mengandung nutrisi cukup, contohnya dengan media PDA (*Potato Dextrose Agar*).

B. BASSIANA SEBAGAI APH

B. bassiana memiliki sasaran hama atau inang yang sangat luas, yakni hampir semua jenis serangga terutama spesies dari ordo Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Homoptera dan Hymenoptera yang meliputi hama tanaman pangan, sayuran, buah, dan hortikultura seperti walang sangit (*Leptocorisa oratorius*), wereng batang coklat (*Nilaparva talugens*), hama kutu (*Aphis* sp.) pada tanaman sayuran, *Orytes rhinoceros*, ulat grayak (*Spodoptera*

litura), *Helopeltis* sp pada tanaman cacao (*Theobroma cacao*), dan lainnya.

Serangga yang terinfeksi *B. bassiana* akan mengeras dan mengeluarkan miselium berwarna putih. Proses *B. bassiana* dalam menginfeksi inang terdiri dari beberapa tahap, yakni penempelan konidia pada tubuh serangga, perkecambahan konidia, penetrasi dan invasi, serta pemusnahan. Penetrasi dimulai dengan pertumbuhan spora/konidia pada kutikula dan apresorium, selanjutnya hifa mengeluarkan enzim khitinase, lipase, dan protease yang membantu dalam menguraikan kutikula untuk melewati epidermis dan hipodermis serangga. Hifa yang sudah masuk ke tubuh serangga dapat menyerang jaringan dan dapat berkembang biak di dalam hemolimfa serangga. Jaringan pada hemocoel dikolonisasi membentuk blastophores, yang merupakan badan hifa seperti jamur. Semua sel rusak menyebabkan kematian inang segera setelah hifa keluar. Ketika *B. bassiana* jamur sudah ada di tubuh inang, jamur akan menghasilkan bahan kimia beracun seperti beauvericin, beauverolide, isorolide, pewarna dan asam oksalat. Gambar 3.2. dan 3.3. adalah contoh serangga *Helopeltis* yang terserang *B. bassiana*.



Gambar 3.2. *Helopeltis* sp yang sehat (A), yang terserang *B. bassiana* (B dan C) (Indriyanti *et al.*, 2017 a)

Beauvericin adalah racun yang menyebabkan kelumpuhan, sehingga serangga akan kehilangan koordinasi dalam sistem geraknya, yang menyebabkan gerakan acak, kemudian melemahkan inangnya dan akhirnya mengakibatkan kematian. Toksin yang dihasilkan *B. bassiana* akan menginfeksi jaringan

tubuh, seperti saluran pencernaan, pernafasan, dan menghancurkan pertahanan sistem imunitas larva, hingga menurunkan nafsu makan larva, hingga larva mati.



(a)

(b)

Gambar 3.3. Larva *Spodoptera* sp yang sehat (A), yang terserang *B. bassiana* (B) (Indriyanti *et al.*, 2017b)

Pertumbuhan jamur di luar tubuh inang kemudian akan membentuk konidia dan menyebar ke lingkungan sekitar untuk menginfeksi serangga target baru. Dalam kondisi kelembaban dan suhu yang sesuai, jamur menghasilkan konidia pada bagian luar inang yang spora infektifnya ditularkan ke larva di dekatnya baik melalui angin atau air. Inang yang terinfeksi ditandai dengan lapisan kutikula inang yang dipenuhi dengan miselium berwarna putih setelah kematian inang.

SIFAT BIOLOGI DAN EKOLOGI JAMUR *METARHIZIUM ANISOPLIAE*

M. anisopliae merupakan salah satu jamur entomopatogen bersifat parasit terhadap serangga. *M. anisopliae* dapat ditemukan di tanah, di rspher tanaman atau pada mayat arthropoda sebagai saprofit dan parasit pada serangga. *M. anisopliae* dapat diekstraksi dari tanah dan serangga yang terinfeksi.

Klasifikasi *M. anisopliae* menurut CABI (2022) adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|--------------|
| Domain | : Eukaryota |
| Kingdom | : Fungi |
| Phylum | : Ascomycota |

| | |
|-----------|---------------------------------|
| Subphylum | : Pezizomycotina |
| Class | : Sordariomycetes |
| Subclass | : Hypocreomycetidae |
| Order | : Hypocreales |
| Family | : Clavicipitaceae |
| Genus | : <i>Metarhizium</i> |
| Species | : <i>Metarhizium anisopliae</i> |

Suhu optimal untuk pertumbuhan jamur *M. anisopliae* yaitu berkisar antara 25-35°C, sedangkan keasaman atau pH optimum untuk pertumbuhan jamur berkisar antara 6,5–8,0. Perbanyak koloni jamur *M. anisopliae* dapat dilakukan dengan menggunakan medium jagung, beras maupun PDA. Koloni jamur *M. anisopliae* berwarna putih pada awal pertumbuhan, setelah beberapa hari pertumbuhan dan bertambahnya umur, warna koloni akan berubah menjadi berwarna hijau gelap, kemudian dilanjutkan pembentukan konidia. Pembentukan konidia terdiri dari kuncup dan tunas yang memanjang pada kedua sisi konidiofor tersebut. Konidia tersebut akan membengkak dan mengeluarkan tabung kecambah yang akan terus memanjang selama 30 jam.

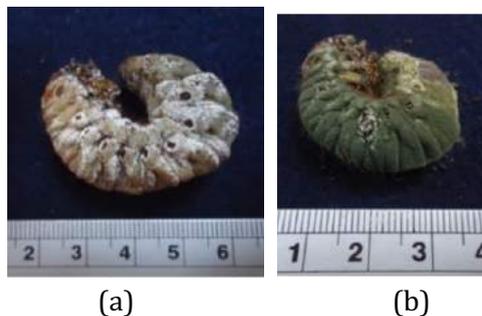
M. anisopliae memiliki konidiofor yang tegak, bercabang dan berlapis yang dipenuhi oleh konidia yang bersel tunggal (uniseluler) berbentuk silinder atau lonjong dengan ukuran 9,94 x 3,96 µm, warna hialin, dan massa spora berwarna hijau zaitun sehingga *M. anisopliae* juga dapat disebut *green muscardin fungus*. Konidia jamur *M. anisopliae* dapat berkecambah pada keadaan lembab.

Jamur *M. anisopliae* dapat membentuk dua jenis konidia, tergantung pada jenis media yang digunakan selama tahap pertumbuhan. Pada media padat, *M. anisopliae* akan membentuk konidia, sedangkan pada media cair menghasilkan blastospora. Konidia dinilai cenderung lebih stabil dalam pengaplikasian di lapangan dibanding dengan blastospora, sehingga *M. anisopliae* lebih banyak ditumbuhkan pada media padat.

METARHIZIUM ANISOPLIAE SEBAGAI APH

M. anisopliae telah berhasil digunakan sebagai pengendali hama kumbang kelapa. Pemanfaatan jamur *M. anisopliae* dalam mengendalikan larva *Oryctes rhinoceros* sudah terbukti seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Hal ini karena *M. anisopliae* mempunyai siklus hidup pendek, reproduksi tinggi, dan mampu membentuk spora yang tahan pada perubahan lingkungan.

M. anisopliae terbukti efektif dalam mengendalikan hama wereng cokelat (*Nilaparvata lugens*), wereng punggung putih (*Sogatella furcifera*), ulat grayak (*Spodoptera litura*), kutu putih (*Paracoccus marginatus*), penggerek batang padi kuning (*Scirpophaga incertulas*), *Plutella xylostella*, kutu daun (*Aphis gossypii*), jangkrik (*Gryllus sp.*) larva kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*). *M. anisopliae* menyerang serangga target dengan cara menembus kutikula serangga secara langsung melalui kombinasi mekanisme tekanan dan enzim pendegradasi kutikula.



Gambar 3.4. Larva *Oryctes rhinoceros* yang terinfeksi *M. anisopliae* (a). selama 8 hari aplikasi, (b). 12 hari aplikasi (Indriyanti *et al.*, 2018)

Mekanisme pertumbuhan *M. anisopliae* pada media (misalnya serangga target) terjadi melalui beberapa proses, yaitu: *M. anisopliae* akan menempel pada permukaan kulit serangga, jika kelembaban udara sesuai maka konidia akan berkecambah, terjadi penetrasi konidia pada integumen serangga dengan apresoria, enzim dan toksin untuk mendegradasi kutikula serangga, sehingga hifa masuk ke dalam tubuh serangga. *M.*

anisopliae memanfaatkan nutrisi pada media untuk proses perkecambahan dan perkembangan konida. Di dalam tubuh serangga terjadi diferensiasi hifa menjadi blastospora/badan hifa di dalam hemolimfa, kolonisasi pada media, dan ekstrusi ke permukaan tubuh serangga dan pembentukan konidiofor dan produksi konidia, dan siap untuk penyebaran konidia selanjutnya ke inang lain.

AIR KELAPA

Buah kelapa merupakan buah tropis yang cukup berlimpah di Indonesia. Kelapa muda (*Cocos nucifera*), merupakan buah dari pohon kelapa yang sengaja dipetik lebih cepat (sebelum buah kelapa itu tua atau jatuh sendiri dari pohonnya) dengan tujuan untuk dikonsumsi secara langsung air dan daging buahnya.



Gambar 3.5. Buah Kelapa dan Air Kelapa

Buah kelapa biasanya memiliki volume air kelapa sekitar 300 mL dan pH berkisar 3,5-6,1 (Gambar 3.5.). Umur buah 12-13 bulan, merupakan tingkat kematangan maksimal buah kelapa. Pada umur buah 5 bulan, dinding endosperm mulai terbentuk lapisan tipis biasa disebut sebagai kernel, yang mengelilingi air kelapa di dalamnya. Volume air kelapa mencapai maksimal pada umur 6-8 bulan, dan seiring dengan bertambahnya umur buah kelapa, volume air makin berkurang digantikan dengan kernel yang makin keras dan tebal. Saat kernel mencapai ketebalan maksimal yaitu pada umur 12-13 bulan, volume air kelapa hanya sekitar 15% dari berat buah kelapa.

Air kelapa kaya akan nutrisi yaitu gula, protein, dan lemak. Air kelapa muda juga mengandung air 95.50%, protein 0.10%,

lemak kurang dari 0.10%, karbohidrat 4.00%, dan abu 0.40% vitamin B, Mineral (N, P, K, Ca, Mg) dengan kadar maksimal pada umur 8 bulan, dan akan menurun pada umur selanjutnya. Air kelapa yang digunakan pada uji coba ini yaitu air kelapa saat buah sekitar umur 8 bulan. Komposisi kimia air kelapa muda menurut Yong *et al.* (2009) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Komposisi kimia air kelapa muda

| Proksimate | Komposisi (g/100g) |
|--------------------------------|---------------------------|
| Air | 94,99 |
| Nilai energi | 19 kkal (79 kJ) |
| Protein | 0,72 |
| Total lipid (lemak) | 0,2 |
| Abu | 3,71 |
| Karbohidrat gula | 1,1 2,61 |
| Inorganic ions | (mg/100g) |
| Kalsium, Ca | 24 |
| BEsi, Fe | 0,29 |
| Magnesium, Mg | 2 |
| Fosfor, P | 20 |
| Kalium, K | 250 |
| Sodium, Na | 105 |
| Zinc, Zn | 0,1 |
| Cuprum, Cu | 0,04 |
| Mangan, Mn | 0,142 |
| Selenium, Se | 0,001 |
| Vitamins | (mg/mL) |
| Vitamin C, total asam askorbat | 2,4 |
| Thiamin (B1) | 0,03 |
| Riboflavin (B2) | 0,057 |
| Niacin (B3) | 0,08 |
| Asam pantotenat (B5) | 0,043 |
| Piridoksin (B6) 0.032 | 0,032 |
| Folat, total | 0,03 |
| Asam folat | 0 |
| Folat, food | 0,003 |
| Folat, Diet Setara Folat | 3(μ g DFE*) |

*DFE= Dietary Folate Equivalen

Sumber Yong *et al.* (2009)

PUPUK NPK

Pupuk NPK Phonska (15:15:15) merupakan salah satu produk pupuk NPK yang telah beredar di pasaran dengan kandungan nitrogen (N) 15%, Fosfor (P₂O₅) 15%, Kalium (K₂O.)

15%, serta mengandung unsur mikro Bo, Cu, dan Mn, kadar air maksimal 2% (Gambar 3.6.). Jenis pupuk yang sama belum tentu mengandung analisis pupuk yang sama biasanya berbeda sekitar 1 atau 2, hal ini sangat tergantung pada produsen pupuk. Pupuk NPK yang berwarna biru biasa disebut pupuk Mutiara mempunyai kandungan unsur NPK (16-16-16). Pupuk majemuk ini hampir seluruhnya larut dalam air, sehingga unsur hara yang dikandungnya dapat segera diserap dan digunakan oleh tanaman dengan efektif.



Gambar 3.6. Pupuk NPK

Nitrogen merupakan unsur makro primer berbagai senyawa dalam tubuh tanaman yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan semua jaringan hidup. Nitrogen berperan dalam membentuk asam nukleat, protein, bioenzim, dan klorofil nitrogen diserap dalam bentuk NO_3^- (nitrat) dan NH_4^+ (ammonium). Berkaitan dengan jamur, nitrogen berfungsi untuk meningkatkan daya tumbuh miselium. Nitrogen bersama dengankarbon dimetabolisme oleh jamur untuk sintesis karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat, selanjutnya senyawa-senyawa tersebut akan digunakan untuk proses pembentukan dinding sel jamur, juga membantu proses pembentukan hifa.

Fosfor sebagai pembangun asam nukleat, fosfolipida, bioenzim, protein, senyawa metabolik, dan merupakan bagian dari ATP yang penting dalam transfer energi. Fosfor berfungsi dalam pembelahan sel aktif di daerah meristematik pucuk dan akar sehingga tinggi tanaman dan diameter batang meningkat. Fosfor diserap oleh jamur dalam bentuk H_2PO_4^- dan HPO_4^{2-} . Sebagian besar fosfor dalam pupuk NPK adalah sebagai zat pembangun dan

pendorong pertumbuhan miselium. Fungsi fosfor membentuk asam nukleat, menyimpan serta memindahkan energi ATP dan ADP, merangsang pembelahan sel dan membantu proses asimilasi dan respirasi. Sementara itu, kandungan fosfor dalam media pertumbuhan harus tetap tersedia meskipun dalam jumlah yang rendah. Fosfor termasuk dalam komposisi fosfolipida yang merupakan unsur penting untuk sintesis sel jamur dan asam nukleat. Kalium mengatur keseimbangan ion-ion dalam sel, yang berfungsi dalam pengaturan berbagai mekanisme metabolik seperti fotosintesis, metabolisme karbohidrat. Penambahan kalium ke dalam media untuk memperbanyak juga dapat meningkatkan tingkat virulensi/ aktivitas entomopatogenik jamur.

MEDIA PEMBIAKAN APH

Media pembiakan merupakan suatu media yang digunakan untuk menumbuhkan dan memperbanyak biakan mikroorganisme. Fungsi dari suatu media pembiakan adalah memberikan tempat dan kondisi yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan biakan mikroorganisme yang ditumbuhkan. Selain untuk menumbuhkan mikrobial, medium dapat digunakan untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikrobial. Media pembiakan jamur entomopatogen sangat menentukan kecepatan pembentukan koloni dan jumlah konidia selama pertumbuhan dan virulensi jamur patogen serangga, maka media biakan *B.bassiana* yang harus memenuhi persyaratan. Beberapa kriteria yang harus dipenuhi adalah komposisi media yang tepat mengandung sumber nutrisi yang mudah dimanfaatkan oleh mikroorganisme, memiliki tekanan osmosis, tegangan permukaan dan derajat keasaman yang sesuai (jamur membutuhkan pH optimum berkisar 4-7 untuk pertumbuhannya, tidak mengandung zat-zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut, serta memiliki luas permukaan yang tepat). Luas permukaan media tumbuh mempengaruhi jumlah konidia yang dihasilkan oleh jamur. Semakin luas area permukaan substrat, semakin banyak konidia yang dihasilkan. Substrat yang

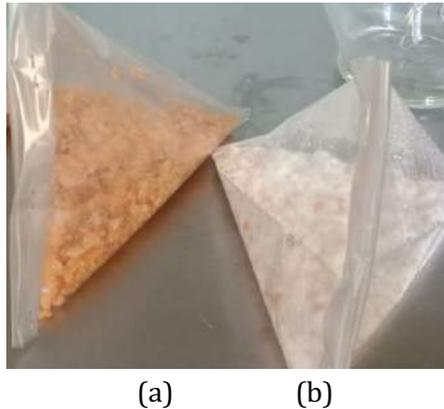
cenderung menggumpal akan memiliki luas permukaan yang sempit, sehingga produksi konidia akan berkurang.

Nutrisi pada media tumbuh berperan penting dalam pembentukan konidia, hifa dan sintesis enzim. Jamur entomopatogen memerlukan makronutrisi utama seperti karbohidrat dan protein tinggi sebagai sumber karbon, sumber nitrogen, ion anorganik serta memerlukan sumber vitamin dalam jumlah yang cukup sebagai penyedia pertumbuhan. Protein dan karbohidrat dibutuhkan oleh jamur untuk pertumbuhan vegetatif dan pembentukan konidia, dengan demikian konidia yang terbentuk akan berkecambah lebih cepat dan memiliki virulensi tinggi jika kebutuhan karbohidrat dan protein terpenuhi. Secara khusus, protein berkontribusi pada perkecambahan, ketahanan stres, adhesi pada substrat, dan virulensi. Karbon dan nitrogen dimetabolisme oleh jamur untuk sintesis karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat, selanjutnya senyawa-senyawa tersebut akan digunakan untuk proses pembentukan dinding sel jamur. Sementara itu adanya kandungan sumber nitrogen berperan dalam proses pembentukan hifa.

Jamur memerlukan makronutrisi lain seperti PO_4^{3-} , K, Mg dan sulfur yang disediakan dalam bentuk sulfat maupun dalam bentuk sistein atau methionin. Mikronutrisi penting yang juga dibutuhkan oleh jamur entomopatogen adalah kalsium, besi, tembaga, mangan, molydenum, zinc, dan vitamin B kompleks (khususnya biotine dan thiamine)

JAGUNG SEBAGAI MEDIA PEMBIAKAN APH

Ketersediaan agensia hayati di tingkat petani masih sangat terbatas. Hal ini dimungkinkan oleh keterbatasan pengetahuan dan biaya untuk pembiakan di lapangan. Oleh sebab itu diperlukan cara yang lebih mudah dan murah untuk memperbanyak APH supaya penggunaannya lebih efektif, efisien, dan terjangkau.



Gambar 3.7. Jagung sebagai media pembiakan APH
 (a). Limbah jagung pecah berwarna kuning, (b). Limbah yg sudah diberi perlakuan pembiakan *B bassiana*.

Penumbuhan jamur APH diperlukan media pembiakan, beras dan jagung umum digunakan untuk media pertumbuhan. Jagung pecah (biji jagung yang sudah dipecah menjadi lebih kecil ukurannya) dapat digunakan sebagai media pembiakan APH (Gambar 3.7.). Jagung dijadikan alternatif media pembiakan karena mudah didapat dan memiliki nutrisi yang diperlukan oleh jamur untuk mendukung pertumbuhannya. Kandungan gizi yang utama dari jagung yaitu karbohidrat (68-73%), protein (8-12%), serat kasar (0,8- 2,5%), lemak, vitamin, dan mineral. Karbohidrat dalam biji jagung mengandung gula pereduksi glukosa, fruktosa, sukrosa, yang berkisar antara 1-3%. Protein biji jagung terdiri atas albumin, globulin, prolamin, glutelin, dan nitrogen nonprotein. Asam lemak penyusun jagung terdiri atas asam lemak jenuh yang berupa palmitat dan stearat serta asam lemak tak jenuh berupa oleat dan linoleat. Adapun serat kasar pada biji jagung meliputi polisakarida yang tidak dapat dicerna, seperti selulosa, hemiselulosa, oligosakarida, pektin, gum, dan waxes. Vitamin yang ada pada biji jagung meliputi vitamin A, B, dan C. Kandungan zat gizi dalam 100 g jagung tertera dalam Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Kandungan zat gizi dalam 100 g biji jagung
Sumber: Wahyudi (2006)

| Zat gizi | Nilai |
|-----------------|-------|
| Energi (kal) | 129,0 |
| Protein (g) | 4,1 |
| Lemak (g) | 1,3 |
| Karbohidrat (g) | 30,3 |
| Kadar gula (%) | 9,0 |
| Kalsium (mg) | 5,0 |
| Fosfor (mg) | 108,0 |
| Besi (mg) | 1,1 |
| Vitamin A (SI) | 117,0 |
| Vitamin B (mg) | 0,2 |
| Vitamin C (mg) | 9,0 |
| Air (g) | 63,5 |

PEMANFATAN LIMBAH JAGUNG

1. Limbah jagung

Balai Proteksi Tanaman dan Perkebunan (BPT-BUN) Salatiga, Jawa Tengah telah memanfaatkan biji jagung pecah sebagai substrat atau media pembiakan bagi jamur APH untuk tumbuh. Hasil pembiakan APH menghasilkan limbah jagung yang secara fisik masih utuh dan baik, namun nutrisi yang ada sudah berkurang (Gambar 3.8.).



Gambar 3.8. Limbah jagung bekas inokulasi *B. bassiana*

Pemanfaatan limbah jagung diawali dengan cara dilakukan pengolahan terlebih dahulu. Limbah jagung dicuci dengan air hingga bersih, lalu ditiriskan dikering anginkan terlebih dahulu supaya kandungan air tidak terlalu banyak. Pembuatan biakan jamur APH dapat dilakukan sebagai berikut, pembuatan larutan media PDA, perbanyakkan jamur APH, pembuatan larutan stok NPK 1%, dan air kelapa muda. Berikut ini cara pembuatannya.

2. Pembuatan PDA

Media PDA digunakan sebagai media perbanyakkan isolat murni APH misalnya *B. bassiana* serta digunakan sebagai media tumbuh konidia pada saat uji viabilitas. Media yang dibuat sebanyak 1 L dengan komposisi sebagai berikut: Supaya 20 g, Dekstrosa 20 g, dan kentang 200 g. Kentang dikupas, dibersihkan, dipotong dadu, direbus dalam 1 L aquades selama kurang lebih 30 menit dengan api sedang. Ekstrak kentang disaring kemudian dicampur dengan supaya, dekstrosa, dan kloramfenikol sebanyak 2 kapsul (anti bakteri), dipanaskan, diaduk hingga homogen. Larutan PDA disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 2 atm dan suhu 121 °C selama 20 menit kemudian disimpan di dalam media pendingin.

3. Perbanyakkan *B. bassiana*

Isolat *B. bassiana* diperoleh dari Laboratorium BPTPHP Salatiga Jawa Tengah. Perbanyakkan dilakukan pada media PDA, secara aseptis koloni jamur diambil dan digoreskan secara *strike plate* pada media PDA dan diinkubasikan pada ruang gelap dengan suhu ruang selama 14 hari sampai jamur *B. bassiana* tumbuh pada media.

4. Pembuatan Larutan Stok NPK 1%

Tujuan pembuatan larutan stok untuk menghindari penimbangan yang berulang-ulang setiap kali pembuatan media. Larutan stok NPK 1% sebanyak 1 L dengan komposisi 10 g NPK dilarutkan dalam 990 mL aquades. Penambahan larutan NPK 1%, sebanyak 3 mL larutan NPK dalam 25 g media jagung atau kelipatannya.

5. Penyiapan air kelapa

Air kelapa yang digunakan berasal dari kelapa muda yang kurang lebih buahnya berumur 7-8 bulan. Kelapa sudah mengandung daging buah, biasa dikonsumsi. Air kelapa yang digunakan sebaiknya diambil dari kondisi segar langsung diambil dari buahnya. Air kelapa disaring dan dipasteurisasi dengan suhu 60-70°C selama 15 menit, lalu bahan disemprotkan pada media limbah jagung yang sudah didinginkan dengan suhu ruang. Apabila menggunakan air kelapa maka kadar air kelapa dalam media berkisar antara 11% dari media yang digunakan.

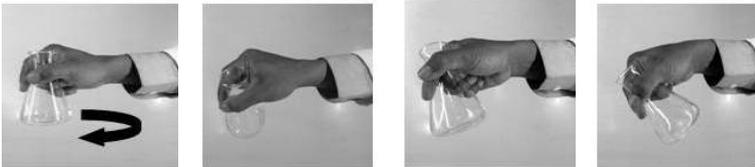
6. Inokulasi jamur pada media

Inokulasi dilakukan setelah semua perlengkapan baik bahan maupun peralatan siap dilakukan. Limbah jagung yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan supaya kadar airnya berkurang, dapat langsung diberi larutan nutrisi tambahan. Larutan nutrisi dapat menggunakan larutan NPK 1% sebanyak 3 mL dalam media seberat 25 g atau kelipatannya. Jika menggunakan air kelapa muda maka takarannya kurang lebih 11% air kelapa dalam media. Inokulasi dapat dilakukan secara aseptis menggunakan inkas atau di ruangan yang akan digunakan inokulasi sebelumnya dibersihkan dan disemprot dengan alkohol. Jumlah jamur yang diinokulasi tergantung berat medianya. Misalnya dengan media 25 g cukup satu ose jamur yang diberikan, lalu dikocok supaya merata. Wadah yang digunakan dapat menggunakan kantong plastik atau nampan, tergantung banyaknya media yang akan digunakan. Inokulasi dapat dilakukan selama kurang lebih dua minggu untuk jamur *B. bassiana*, dan *Trichoderma*, sedangkan untuk *M. anisopliae* memakan waktu lebih lama sekitar tiga minggu untuk menunggu pertumbuhannya. Setelah media ditumbuhi jamur APH, dilakukan pengecekan pertumbuhan jamur melalui kerapatan konidia/sporanya dan viabilitasnya.

7. Perhitungan kerapatan konidia

Kualitas APH perlu dilakukan perhitungan kerapatan dan viabilitas konidia atau spora. Perhitungan kerapatan konidia menggunakan alat hemositometer dan mikroskop. Caranya dengan membuat larutan suspensi jamur dulu dari biakan padat. Biakan

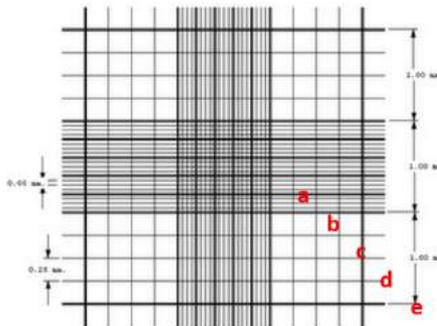
jamur diambil sebanyak 1 g kemudian diberi air steril sampai 100 mL kemudian dikocok atau digoyangkan selama beberapa menit sampai benar benar homogen (Gambar 3.9.). Teteskan 1 mL suspensi jamur secara perlahan pada bidang hitung dengan *syringe* (Gambar 3.10.). Penetesan suspensi pada bidang hitung dilakukan dengan cara menunggu kondisi pada posisi stabil selama satu menit. Kerapatan dihitung pada kotak hitung ($a+b+c+d+e$) dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 100x. (Gambar 3.11.).



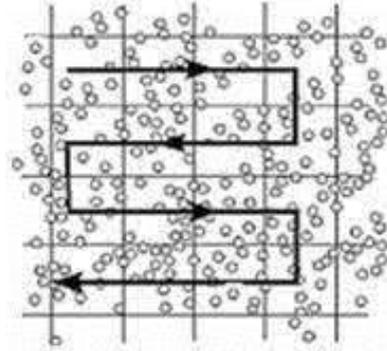
Gambar 3.9. Teknik menghomogenkan larutan (Azhar, 2013).



Gambar 3.10. Penetesan suspensi pada hemositometer



Gambar 3.11. Kotak hitung $a+b+c+d+e$



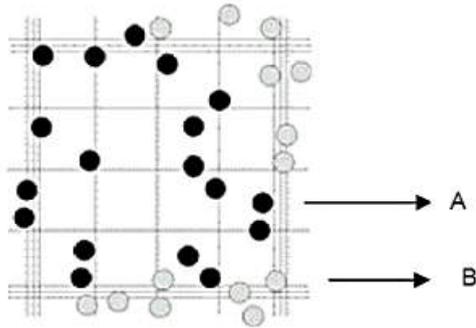
Gambar 3.12. Alur perhitungan spora

Perhitungan spora dilakukan sesuai dengan alur berikut (Gambar 3.12.). Spora yang dihitung adalah spora yang terletak didalam kotak hitung, dan apabila berada diantara garis batas kotak hitung maka spora yang dihitung yang terletak pada terdekat dengan kotak hitung (Gambar 3.13.). Ulangi perhitungan kerapatan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil yang valid yang ditunjukkan pada Gambar 3.14. Kerapatan konidia *M. anisopliae* dihitung dengan menggunakan rumus BPT-Bun (2019) seperti pada persamaan (1). Kerapatan minimal untuk jamur APH yang dapat dikatakan baik apabila mengandung konidia/spora 10^6 .

$$S = \frac{x}{(L \times t \times d)} \times 10^3 \quad (1)$$

Keterangan :

- S : kerapatan spora per ml larutan
- X : jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati
- L : luas kotak hitung ($0,04 \text{ mm}^2 \times 5 \text{ kotak} = 0,2 \text{ mm}^2$)
- t : kedalaman bidang hitung 0,1 mm
- d : faktor pengenceran
- 10^3 : volume suspensi yang dihitung ($1 \text{ mL} = 10^3 \text{ mm}^3$)



Gambar 3.13. Spora pada kotak hitung, A : spora yang dihitung
 B: spora yang tidak dihitung. Sumber: BPT-Bun, 2019



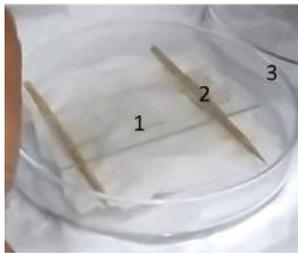
Gambar 3.14. Kerapatan konidia *M. anisopliae* setelah 14 hari ditanam menggunakan mikroskop 40x40.

8. Perhitungan Viabilitas konidia

Slide PDA dengan ketebalan 0,1 cm dipotong persegi dengan ukuran 2x2 cm (Gambar 3.15.). *Slide* PDA diletakkan pada gelas benda steril (satu gelas benda terdapat 3 *slide* PDA) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 16.



Gambar 3.15. Pemotongan slide PDA 2x2 cm menggunakan spatula.



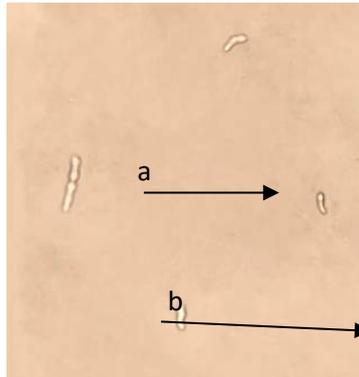
Gambar 3.16. Tiga slide PDA pada gelas benda

Suspensi jamur yang telah dibuat pada proses sebelumnya diambil menggunakan *syringe*, kemudian ditetaskan sebanyak satu tetes ($10 \mu\text{L}$) pada *slide* PDA. Setiap *slide* PDA yang telah ditetesi suspensi jamur ditutup menggunakan *deck glass*. Gelas tersebut diletakkan pada cawan petri yang telah diberi tisu yang telah disemprot air steril (supaya lembab) dan diatas tisu diberi pengganjal berupa tusuk gigi steril (Gambar 3.17).



Gambar 3.17. Cawan petri yang digunakan untuk proses inkubasi pada uji viabilitas.

Inkubasi selama lebih dari 18 jam (atau tergantung jenis APH), kemudian diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x. Hitung jumlah spora yang berkecambah dan spora yang tidak berkecambah. Spora dianggap berkecambah apabila telah terdapat apresorium, sedangkan spora yang tidak berkecambah tidak memiliki apresorium (Gambar 3.18.).



Gambar 3.18. Viabilitas *jamur* setelah ditetaskan pada PDA akan tumbuh (a). apresorium, (b). konidia

Viabilitas konidia ditentukan berdasarkan metode BPT-Bun (2019), dihitung berdasarkan rumus persamaan (2). Viabilitas cendawan dikatakan baik apabila minimal 80% menurut BPTBUN 2019

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

(2)

Keterangan :

- V = viabilitas (daya kecambah) konidia
- g = banyaknya konidia yang berkecambah
- u = banyaknya konidia yang belum berkecambah

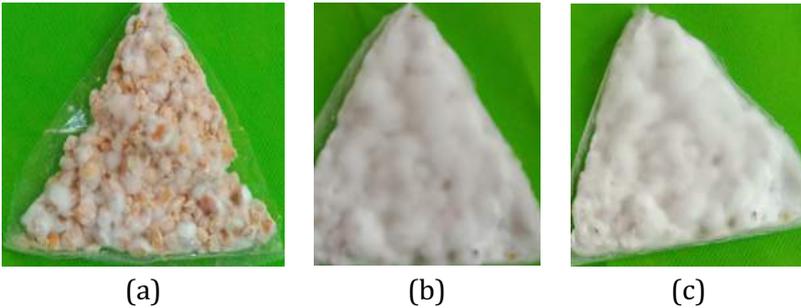
HASIL PEMBIAKAN *B. BASSIANA* DAN *M. ANISOPLIAE*

Hasil pembiakan jamur APH pada limbah jagung menjadi media kedua kalinya. Hasil perhitungan kerapatan dan kadar air konidia disajikan pada Tabel 3.3, sedangkan pertumbuhan jamur *B. bassiana* yang dibiakkan pada media limbah jagung ditambah

larutan NPK 1% dengan berbagai dosis ditunjukkan pada Gambar 19.

Tabel 3.3. Kerapatan konidia *B. bassiana* pada media limbah jagung inokulum pada perlakuan penambahan NPK

| Limbah jagung 25 g | NPK 1% | Kerapatan Konidia ($\times 10^8/\text{mL}$) | Kadar air (%) |
|--------------------|--------|---|---------------|
| (a). \checkmark | - | 5,67 | 35,68 |
| (b). \checkmark | 2 mL | 11,72 | 41,08 |
| (c). \checkmark | 3 mL | 16,48 | 48,20 |



Gambar 3.19. Hasil pembiakan *B. bassiana* pada 25 g limbah jagung setelah 14 hari dengan penambahan NPK (a). tanpa NPK (b). 2 mL larutan NPK 1% (c). 3 mL larutan NPK 1%

Kadar air menjadi salah satu faktor yang berpengaruh pada pertumbuhan jamur. Kadar air yang terlalu tinggi ataupun terlalu rendah dapat mengurangi porositas, difusi oksigen, serta mengganggu respirasi mikroba yang pada akhirnya berakibat pada produksi dan kelangsungan hidup konidia. Pada umumnya jamur *entomopatogen* dapat tumbuh pada kadar air 40-60%. Semakin tinggi dosis larutan NPK 1% yang ditambahkan dalam media limbah jagung, maka semakin tinggi juga kadar air dalam media. Media limbah jagung dengan penambahan larutan NPK 1% dosis 3 mL pada media seberat 25 g, memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Kadar air yang terlalu tinggi pada media menyebabkan mudah busuk, sehingga diperlukan kadar air yang optimal untuk pertumbuhan jamur.



Gambar 3.22. Pembungkusan limbah jagung bekas inokulasi yang diberi air kelapa



Gambar 3.23. Limbah jagung setelah dipanen dari pembiakan pertama *Trichoderma* sp.

Urutan pertumbuhan jamur yang cepat yaitu *Trichoderma* sp, *B. bassiana* dan *Metarhizium* sp. Dengan adanya pembiakan pada media yang sama untuk kedua kalinya maka akan menguntungkan secara ekonomis.



Gambar 3.24. Limbah jagung hasil pembiakan kedua *Trichoderma* sp.

PENUTUP

APH sangat diperlukan untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman, karena sifatnya yang aman terhadap manusia, lingkungan, tidak menimbulkan resistensi dan tepat pada sasaran hama dan penyakit tanaman yang dituju serta biayanya relative murah. Pembiakan massal kebutuhan APH diperlukan. Pembiakan massal APH dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai media. Pembiakan yang digunakan umumnya menggunakan media padat misalnya beras dan jagung pecah. Pembiakan dengan jagung pecah umumnya dilakukan hanya sekali panen saja. Konidia setelah dipanen, media jagungnya tidak lagi digunakan lagi sehingga menjadi limbah. Upaya memanfaatkan limbah jagung, dilakukan pengolahan limbah dengan penambahan nutrient lain yang dapat meningkatkan kandungan nutrisi pada media pembiakan. Nutrien tersebut diantaranya dengan penambahan NPK 1% pada media jagung atau penambahan air kelapa muda pada media limbah jagung sebesar kurang lebih 11% dari berat media. Produk APH yang berasal dari pengolahan limbah jagung dapat digunakan untuk pengendalian hama dan penyakit dengan cara tabur di tanah atau untuk penyemprotan pada tanaman. Jamur *Trichoderma* sp dan *B. bassiana* mudah dibiakan pada limbah jagung, namun untuk jamur *M. anisopliae* memerlukan waktu yang relatif lebih lama dibanding kedua jamur.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus N, Saranga A.P, Rosmana A, Sugiarti A. (2015). Viability and Conidial Production of Entomopathogenic Fungi *Penicillium* sp. *International Journal of Scientific and Technology Research*. 4 (1): 193-195.
- Alfiyan, J. M. Z. (2019). Media Pertumbuhan Jamur *Metarhizium anisopliae* Untuk Meningkatkan Kerapatan dan Viabilitas. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Ardiyati, A., Mudjiono, G., & Himawan, T. (2015). Uji patogenesis jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo)

- Vuillemin pada jangkrik (*Gryllus* sp.) (Orthoptera: Gryllidae). *Jurnal HPT*, 3(3): 43–51.
- Aw, K.M.S. & Hue, S.M. (2017). Mode of Infection of *Metarhizium* sp. Fungus and Their Potential as Biological Control Agents. *Journal of Fungi*, 30 (3): 1-20.
- Bara, G.T, Laing, M.D. (2020). Entomopathogens: Potential To Control Thrips In Avocado, with Special Reference to *Beauveria bassiana*. *Hortic Rev.* 47: 325–368.
- Bechara, I.J., Destefano, R.H.R., Bresil, C & Messias, C.L (2011). Histopathological Events and Detection of *Metarhizium anisopliae* Using Specific Primers in Infected Immature Stages of The Fruit Fly *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae). *Journal Biologia*, 1 (71): 91-98.
- Beys-da-Silva, W.O., Santi, L., Berger, M., D. Calzolari, D., Passos, D.O., Guimaraes, J.A. (2014). Secretome of the biocontrol agent *Metarhizium anisopliae* induced by the cuticle of the cotton pest *Dysdercus peruvianus* reveals new insights into infection. *Journal of Proteome Research* 13(5):2282-2296.
- BPT-Bun. (2019). *Buku Acuan Pengembangan dan Quality Control APH Golongan Jamur*. Jombang.
- Brunner-Mendoza, C., Reyes-Montes, M. D. R., Moonjely, S., Bidochka, M. J., & Toriello, C. (2019). A review on the genus *Metarhizium* as an entomopathogenic microbial biocontrol agent with emphasis on its use and utility in Mexico. *Biocontrol science and technology*, 29(1), 83-102.
- Bucarei, L. B., Vergara, P., & Cortes, A. (2016). Conditions to optimize mass production of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin 1883 in different substrates. *J. Agriculture*, 76 (4).
- Daud, I. D., Gassa, A. & Rizwaldy, A. (2020). Effectiveness of *Beauveria* Density and Viability of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Grown On The Low-pH In Vitro Medium. *J HPT Trop* 17: 119-127
- Dimbi, S., Maniania, N.K., Lux, S.A & Mueke, J.M. (2004). Effect of Constant Temperatures on Germination, Radial Growth and

- Virulence of *Metarhizium anisopliae* to Three Species of African Tephritid Fruit Flies. *Bio Control*, 49: 83-94.
- Effendy, T.A., Septiadi, R., Salim, A & Mazid, A. (2010). Jamur Entomopatogen Asal Tanah Lebak di Sumatera Selatan dan Potensinya sebagai Agensia Hayati Walang Sangit (*Leptocorisa oratorius* F.). *Jurnal HPT Tropika*, 10 (2): 154-161.
- Farapti, S.S. (2014). Air Kelapa Muda-Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah. *CDK-223* , 896-900.
- Gul, HT., Saeed, S, & Khan, F.Z. (2014). Entomopathogenic Fungi as Effective Insect Pest Management Tactic: A Review. *Applied Sciences and Business Economics*. 1(1):10-18.
- Hasyim, A., Setiawati, W., Hidayya, A & Luthfy. (2016). Sinergisme Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dengan Insektisida Kimia untuk Meningkatkan Mortalitas Ulat Bawang *Spodoptera exigua*. *J. Hortikultura*. 26(2), 257-266.
- Herlinda, S., Darmawan, K. A., Firmansyah, F., Adam, T., Irsan, C., & Thalib, R. (2015). Bioesai bioinsektisida *Beauveria bassiana* dari Sumatera Selatan terhadap kutu putih pepaya, *Paracoccus marginatus* Williams & Granara De Willink (Hemiptera: Pseudococcidae). *Jurnal Entomologi Indonesia*, 9(2), 81.
- Indriyanti, D.R., Putri, R.I.P. Widiyaningrum, P & Herlina,L. (2016). Density, Viability Conidia and Symptoms of *Metarhizium anisopliae* Infection on *Oryctes rhinoceros* Larvae. *Journal International Conference on Mathematics Science and Education*, 1-5.
- Indrayani, I.G.A.A., & Prabowo, H. (2010). Pengaruh Komposisi Media Terhadap Produksi Konidia Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri* 2 (2): 88 – 94.
- Indriyanti, D. R., Masitoh, M., Priyono, B. (2016). Keefektifan *Metarhizium Anisopliae* yang Dibiakkan di Media Beras dan yang Disimpan di Media Kaolin terhadap Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros*. *Jurnal Life Science* 5 (1) : 64 – 71.

- Indriyanti, D. R., Putri, R. I. P., Widiyaningrum, P., & Herlina, L. (2017). Density, viability conidia and symptoms of *Metarhizium anisopliae* infection on *Oryctes rhinoceros* larvae. *Journal of Physics: Conference Series*, 824 (1), 012058). IOP Publishing.
- Indriyanti, D. R., Widiyaningrum, P., Slamet, M., & Maretta, Y. A. (2017). Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* and Entomopathogenic Nematodes to Control *Oryctes rhinoceros* Larvae in the Rainy Season. *Journal of biological sciences: PJBS*, 20(7), 320-327.
- Indriyanti, D.R., Damayanti, I. B., Setiani, N. & Maretta, Y. A. (2018). Mortality and Tissue Damage of *Oryctes rhinoceros* Larvae Infected by *Metarhizium anisopliae*. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences* 13 (6): 2279 - 2286.
- Indriyanti, D.R., Nuraini, I & Slamet, M. (2017). The Effect of Water Content of Medium Containing *Oryctes rhinoceros* Larvae on *Metarhizium anisopliae* Pathogenicity. *Journal of Biology & Biology Education*, 2 (9): 363-369.
- Indriyanti, D.R., Faizah, S.N & Slamet, M. (2017a). Efficacy Of *Beauveria bassiana* Against *Helopeltis* sp. on Cacao (*Theobroma Cacao*). *International Journal of Scientific & Technology Research*. 6(10):14-17.
- Indriyanti, D.R., Mahmuda, S & Slamet, M. (2017b). Effect of *Beauveria bassiana* doses on *Spodoptera litura* Mortality. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 6(9): 206-210
- Indriyanti, D.R, Pertami, A.R.P., Widiyaningrum, P. (2016a). Intensitas Serangan *Oryctes rhinoceros* pada Tanaman Kelapa di Jebara. *Saintekno*. 14(1), 39-49.
- Indriyanti, D.R., Masitoh, dan Priyono, B. (2016b). Keefektifan *Metarhizium anisopliae* yang Dibiakkan di Media Beras dan yang Disimpan Di Media Kaolin Terhadap Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros*. *Life science*. 5 (1), 64-71.
- Iskandarov, U. S., Guzalova, A. G., & Davranov, K. D. (2006). Effects of nutrient medium composition and temperature on the

- germination of conidia and the entomopathogenic activity of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 42 (1): 72-76.
- Khairunnisa, A. Martina, & T. Titrawani. (2014). Uji Efektifitas Jamur *Metarhizium anisopliae* Cps.T.A Isolat Lokal terhadap Hama Rayap (*Coptotermes curvignathus*). *JOM FMIPA*, 1(2) : 430-438.
- Keswani, C. Singh, S.P., & Singh, H.B. (2013). *Beauveria bassiana*: Status, Mode of Action, Appli-Cations And Safety Issues. *Biotech Today*. 3 (1): 16-20.
- Kansrini, Yuliana. (2015). Uji Berbagai Jenis Media Perbanyakkan Terhadap Perkembangan Jamur *Beauveria bassiana* di Laboratorium. *Jurnal Agrica Ekstensia*. 9 (1): 34-39
- Moslim, R & Komarudin, N. (2014). The Use of Palm Kernel Cake in The Production of Conidia and Blastospores of *Metarhizium anisopliae* var. *major* for Control of The *Oryctes Rhinoceros*. *Journal of Oil Palm Research* 26 (2),133-139.
- Mustafa, U., & Kaur, G. (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).
- Novizan, N. (2002). *Petunjuk Pemupukan yang Efektif*. Jakarta : Agro Media Pustaka.
- Nunilahwati, H., Herlinda, S., Irsan, C., Pujiastuti, Y., Khodijah, & Meidelima, D. (2013). Uji Efikasi Bioinsektisida Jamur Entomopatogen Berformulasi Cair Terhadap *Plutella xylostella* (L.) di Laboratorium. *J. HPT Tropika* , 13(1): 52-60.
- Nurbiwanto, B.R. (2016). Kualitas Jamur *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Pada Berbagai Media dan Lama Penyimpanan terhadap *Tenebrio molitor*. *Skripsi*. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
- Prayogo, Y. (2004). Pemanfaatan Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin untuk Mengendalikan Hama Ulat Grayak *Spodoptera litura* pada

- Kedelai. *Kolokium Pengendalian Hama Terpadu*. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Raharjo, R. I. (2016). Perbanyakkan *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Menggunakan Teknik Dua Fase. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Rosmiyati, A., Hidayat, C., Firmansyah, E., & Setiati, Y. (2018). Potensi *Beauveria bassiana* Sebagai Agens Hayati *Spodoptera litura* fabr. Pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Agrikultura*. 29 (1): 43-47.
- Rengga, W. D. P., Harianingsih, H., Erwanto, A., & Cahyono, B. (2019). Keseimbangan Adsorpsi Isotermal Logam Pb Dan Cr Pada Limbah Batik Menggunakan Adsorben Tongkol Jagung (*Zea Mays*), *Journal of Chemical Process Engineering*, 4(2), 56-62.
- Safavi, S.A., Farooq, A.S., Azis, K.P., Reza, R.G., Ali, R.B & Tariq, M.B. (2007). Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiol. Lett.* 270(1):116-123.
- Sambiran, W.J. & Hosang, M.L.A. (2007). Patogenisitas *Metarhizium anisopliae* dari beberapa media air kelapa terhadap *Oryctes rhinoceros* L. *Buletin Palma* No.32: 1-11.
- Schrank, A., & Vainstein, M. H. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, 1267-1274.
- Thalib, R., Fernando, R., Khodijah, Meidalima, D., & Herlinda, S. (2013). Patogenisitas isolat *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* Asal Tanah Lebak dan Pasang Surut Sumatera Selatan untuk Agens Hayati Scirpophaga incertulas. *J. HPT Tropika*, 13(1): 10-18.
- Trizelia, Syahrawati, M., & Mardiah, A. (2011). Patogenisitas beberapa isolat jamur entomopatogen *Metarhizium* spp. terhadap telur *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera:Noctuidae). *J. Entomologi Indonesia*, 8(1): 45-54.

- Wahyudi P. 2002. Uji Patogenitas kapang Entomopatogen *Beauveria bassiana* Vuill. terhadap Ulat Grayak (*Spodoptera litura*). *Biosfera* 19:1-5
- Widiarti, D. G. (2018). Uji Patogenisitas Jamur *M. anisopliae* Isolat Lampung Selatan dan Salatiga terhadap Larva *Oryctes rhinoceros* di Laboratorium. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.
- Widiyanti, N.L.P.M & Muaydihardja, S. (2004). Uji Toksisitas Jamur *Metarhizium anisopliae* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Media Litbang Kesehatan*, 14 (3), 25-30.
- Yanuar, S. E & Sutrisno, A. (2015). Minuman Probiotik dari Air Kelapa Muda dengan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei*. *J. Pangan dan Agroindustri*. 3 (3), 909-917.
- Yong, Jean W.H, Liya Ge, Yan Fei Ng & Tan, S.N. (2009). The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules*. 14, 5144-5164.