

**VIRULENSI BEBERAPA ISOLAT *Metarhizium anisopliae* TERHADAP ULAT
GRAYAK (*Spodoptera litura* F.) DI LABORATORIUM**

(Skripsi)

Oleh

KETUT ARYO



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

VIRULENSI BEBERAPA ISOLAT *METARHIZIUM ANISOPLIAE* TERHADAP ULAT GRAYAK (*Spodoptera litura*F.) di LABORATORIUM

Oleh

Ketut Aryo

Ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) merupakan salah satu hama yang dapat hidup pada berbagai jenis tanaman, seperti kedelai, tembakau, kacang tanah, ubi jalar, cabai, bawang merah, kacang hijau, dan jagung. Ulat merusak daun sehingga tersisa hanya tulang-tulang daun, atau memakan seluruh bagian daun.

Pengendalian ulat grayak pada saat ini masih mengandalkan penggunaan insektisida. Pengendalian menggunakan insektisida kimia memiliki dampak buruk untuk kedepannya, selain merusak dan meracuni tanah insektisida mematikan serangga lain di sekitar area pertanaman yang bukan merupakan suatu hama. Untuk mendukung pengendalian hama yang berwawasan lingkungan maka perlu dilakukannya pengendalian yang ramah lingkungan.

Salah satu teknik pengendalian yang ramah lingkungan yaitu pengendalian hayati. Pengendalian hayati menggunakan parasitoid, predator, patogen, atau kompetitor yang dapat menekan populasi hama, sehingga menurunkan tingkat

kerusakan bila dibandingkan jika musuh alami tidak ada. Salah satu jenis patogen serangga adalah jamur entomopatogen. Salah satu jenis jamur entomopatogen yang cukup efektif dan merupakan bagian dari fokus penelitian ini adalah *Metarhizium anisopliae*.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pertumbuhan koloni, viabilitas spora serta kepadatan spora dari lima isolat *M. anisopliae* dan mempelajari pengaruh aplikasi *M. anisopliae* terhadap mortalitas *S. litura*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Bidang Proteksi Tanaman Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada akhir tahun 2013 (Tahap I) dan dilanjutkan pada awal tahun 2016 (Tahap II).

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa : Tidak terdapat perbedaan viabilitas spora *M. anisopliae* yang nyata antar 5 isolat asal Tegineneng, Trimurjo, Gadingrejo, Bantul dan UGM; Kepadatan isolat asal UGM adalah $2,25 \times 10^9$ spora/ml, lebih tinggi dibandingkan dengan isolat asal Gadingrejo, Bantul, Tegineneng dan Trimurjo; Isolat *M. anisopliae* asal UGM mampu membunuh ulat grayak (*S. litura*) hingga 86,67%, isolat lain memiliki kemampuan lebih rendah dibandingkan isolat asal UGM.

Kata kunci : pengendalian hayati, *Metarhizium anisopliae*, ulat grayak (*Spodoptera litura*).

**VIRULENSI BEBERAPA ISOLAT *Metarhizium anisopliae* TERHADAP
ULAT GRAYAK (*Spodoptera litura* F.) DI LABORATORIUM**

Oleh

KETUT ARYO

Skripsi

sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi

: **VIRULENSI BEBERAPA ISOLAT
Metarhizium anisopliae TERHADAP
ULAT GRAYAK (*Spodoptera litura* F.)
DI LABORATORIUM**

Nama Mahasiswa

: **Ketut Aryo**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 0914013115

Jurusan

: Agroteknologi

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.
NIP 196406131987031002



Ir. Lestari Wibowo, M.P.
NIP 196208141986102001

2. Ketua Jurusan Agroteknologi



Prof. Dr. Ir. Sri Yumnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

MENGESAHKAN

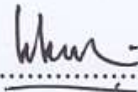
1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.



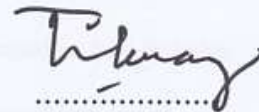
.....

Sekretaris/Anggota : Ir. Lestari Wibowo, M.P.



.....

**Penguji
Bukan Pembimbing : Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.**



.....



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **28 Desember 2016**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul : **“VIRULENSI BEBERAPA ISOLAT *Metarhizium anisopliae* TERHADAP ULAT GRAYAK (*Spodoptera litura* F.) DI LABORATORIUM”** merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Desember 2016

Penulis,



Ketut Aryo
NPM 0914013115

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 6 Agustus 1991 dan penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara pasangan Ketut Jaya Rata dan Made Sujati. Pada tahun 2002 penulis menyelesaikan pendidikan di SD Negeri 1 Setia Bakti Lampung Tengah, tahun 2006 di SMP Negeri 2 Way Seputih, dan tahun 2009 di SMA Negeri 1 Seputih Banyak Lampung Tengah. Pada tahun 2009 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Program Studi Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Pura Jaya Kecamatan Kebun Tebu Kabupaten Lampung Barat pada bulan Agustus–September 2012. Penulis juga melaksanakan Praktik Umum di PT. Great Giant Pineapple, Lampung Tengah, Lampung pada bulan Januari-Februari 2012.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi anggota Bidang Litbang Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (PERMA AGT) Fakultas Pertanian Universitas Lampung periode 2010–2011, pernah menjadi Staf Kesejahteraan Mahasiswa Badan Eksekutif Mahasiswa Universitas Lampung (BEM-U) periode 2012–2013, pernah menjadi anggota Bidang Organisasi Unit Kegiatan Mahasiswa Hindu Unila (UKM-H) periode 2011–2012, pernah menjadi Asisten

Dosen dalam praktikum mata kuliah Dasar-Dasar Budidaya Tanaman, Ilmu Hama Tumbuhan Umum. Pertanian Organik, Penyakit Penting Tanaman, Hama Gudang Dan Urban, .Hama Penting Tanaman, Dan Karantina Tumbuhan.

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur milik Ida Sang Hyang Widhi, Tuhan Semesta Alam.

Dengan segala kerendahan hati ku persembahkan skripsi ini kepada

Kedua orangtua ku tercinta,

yang tak pernah berhenti mendoakan ku untuk menjadi orang yang berguna.

Kakak-kakakku tersayang,

yang selalu memberikan dorongan semangat untuk keberhasilanku,

serta seluruh keluarga tersayang yang tidak pernah berhenti menyemangati

maupun menasihati.

“Oleh Karena Itu Hendaknya Seseorang Bertindak Atas Kewajiban, Tanpa Terikat Terhadap Karma Sebab Berkerja Dengan Tanpa Ikatan Karma Seseorang Sampai Kepada Yang MAHAKUASA” (BHAGAVAD-GITA 3.19)

“Mereka Memandangku Aneh Karena Aku Terlihat Berbeda, Aku Menertawakan Mereka Karena Mereka Semua Terlihat Sama” (KURT COBAIN)

“Apa Yang Terjadi Pada Saat Ini Adalah Yang Terbaik Pada Dirimu Sendiri Atas Apa Yang Telah Kamu Lakukan Atau Apa Yang Telah Dituliskan”

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ulat Grayak (<i>Spodoptera litura</i>)	6
2.2 <i>Metarhizium anisopliae</i>	7
III. BAHAN DAN METODE	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	11
3.4.1 Penyiapan Serangga <i>Spodoptera litura</i>	11
3.4.2 Pembuatan Media <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> (SDA).....	12
3.4.3 Penyiapan Isolat <i>Metarhizium anisopliae</i>	12

3.4.4 Pengukuran Diameter Koloni Jamur <i>Metarhizium anisopliae</i>	13
3.4.5 Pengamatan Kerapatan Spora <i>Metarhizium anisopliae</i>	13
3.4.6 Pengamatan Viabilitas Spora <i>Metarhizium anisopliae</i>	14
3.4.7 Pengujian Virulensi Entomopatogen <i>Metarhizium anisopliae</i>	15

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	17
4.1.1 Hasil Pengukuran Pertumbuhan Koloni Cendawan.....	17
4.1.2 Hasil Pengamatan Tingkat kerapatan Spora.....	18
4.1.3 Hasil Pengamatan Viabilitas Spora.....	20
4.1.4 Hasil Pengujian Virulensi <i>Spodoptera litura</i>	21
4.1.5 Hubungan antara Diameter Koloni, Kerapatan Spora, Viabilitas Spora <i>Metarhizium anisopliae</i> dan Persentase Kematian Serangga <i>Spodoptera litura</i>	21
4.2 Pembahasan.....	23

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran	28

PUSTAKA ACUAN

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Diameter pertumbuhan koloni cendawan <i>Metarhizium anisopliae</i>	18
2. Rerata Kerapatan spora <i>Metarhizium anisopliae</i>	19
3. Rerata Viabilitas spora <i>Metarhizium anisopliae</i>	20
4. Mortalitas <i>Spodoptera litura</i> pada 10 hari setelah aplikasi <i>Metarhizium anisopliae</i>	21
5. Diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 3 (cm).....	32
6. Analisis ragam pengujian diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 3 (cm)....	32
7. Diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 5 (cm).....	32
8. Analisis ragam pengujian diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 5.....	32
9. Diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 7 (cm).....	33
10. Analisis ragam pengujian diameter koloni <i>M. anisopliae</i> hari ke 7.....	33
11. Regresi linear pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i> ...	33
12. Analisis ragam Regresi linear pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i>	33
13. Tingkat kerapatan spora <i>M. anisopliae</i> .(spora/ml).....	34
14. Analisis ragam pengujian tingkat kerapatan spora <i>M. anisopliae</i>	34

15. Regresi linear antara kerapatan <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i>	34
16. Analisis ragam Regresi linear antara kerapatan <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i>	34
17. Tingkat viabilitas spora <i>M. anisopliae</i> (%).....	35
18. Analisis ragam pengujian tingkat viabilitas spora <i>M. anisopliae</i>	35
19. Regresi linear antara tingkat viabilitas spora <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i>	35
20. Analisis ragam Regresi linear antara viabilitas <i>M. anisopliae</i> dan mortalitas <i>S. litura</i>	35
21. Mortalitas <i>S. litura</i> terhadap <i>M. anisopliae</i> (%).....	36
22. Analisis ragam pengujian mortalitas <i>M. anisopliae</i>	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal Bantul.....	17
2. Kerapatan spora isolat asal UGM.....	19
3. Perkecambahan spora isolat asal UGM.....	21
4. Grafik regresi antara diameter koloni dan mortalitas serangga <i>S. litura</i> ..	22
5. Grafik regresi antara kerapatan spora dan mortalitas serangga <i>S. litura</i> ..	22
6. Grafik regresi antara viabilitas spora dan mortalitas serangga <i>S. litura</i> ..	23
7. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal UGM.....	37
8. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal Bantul.....	37
9. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal Gadingrejo.....	37
10. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal Trimurjo.....	38
11. Pertumbuhan koloni <i>M. anisopliae</i> asal Tegineneng.....	38
12. Konidia <i>M. anisopliae</i> di dalam <i>Haemocytometer</i> Isolat asal Bantul dan Gadingrejo.....	39
13. Konidia <i>M. anisopliae</i> di dalam <i>Haemocytometer</i> Isolat asal Tegineneng, Trimurjo dan UGM.....	39
14. Konidia <i>M. anisopliae</i> berkecambah isolat asal Bantul dan Gadingrejo.....	40

15. Konidia <i>M. anisopliae</i> berkecambah isolat asal Tegineneng, Trimurjo dan UGM.....	40
16. Serangga <i>S. litura</i> yang sudah terkena infeksi <i>M. anisopliae</i>	40

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) merupakan salah satu hama penting pada tanaman kedelai. *S. litura* dapat hidup pada berbagai jenis tanaman, seperti tembakau, kacang tanah, ubi jalar, cabai, bawang merah, kacang hijau, dan jagung. Ulat instar muda merusak daun sehingga bagian daun yang tersisa hanya tulang-tulang daun, dan ulat instar tua memakan seluruh bagian daun. Selain merusak daun, larva juga menyerang polong muda (Prayogo *et al.*, 2005).

Pengendalian ulat grayak pada saat ini masih mengandalkan penggunaan insektisida. Pengendalian menggunakan insektisida kimia diketahui memiliki dampak buruk untuk kedepannya. Selain merusak dan meracuni tanah, insektisida kimia dapat mematikan serangga lain di sekitar area pertanaman yang bukan merupakan suatu hama. Untuk mendukung pengendalian hama yang berwawasan lingkungan maka perlu dilakukannya pengendalian yang ramah lingkungan, Purnomo (2010) berpendapat bahwa salah satu alternatif teknik pengendalian yang ramah lingkungan yaitu pengendalian hayati, yang lebih fokus pada penggunaan musuh alami hama,

atau agens pengendali hayati. Pengendalian hayati adalah pengendalian hama menggunakan parasitoid, predator, patogen, atau kompetitor yang dapat menekan populasi hama, sehingga menurunkan tingkat kerusakan bila dibandingkan jika musuh alami tidak ada. Salah satu jenis patogen serangga adalah cendawan entomopatogenik. Menurut Prayogo *et al.*(2005), jenis cendawan entomopatogen yang telah berhasil diidentifikasi antara lain *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, dan *Nomuraea rileyi*.

Pemanfaatan cendawan entomopatogen berpotensi untuk dikembangkan. Salah satu jenis cendawan entomopatogen yang cukup efektif adalah *Metarhizium* spp.

Cendawan *Metarhizium* spp mampu membunuh serangga hama dari ordo Orthoptera (Farida, 2003), Lepidoptera (Furqon , 2012; Harjaka, 2005; Rustama *et al.*, 2008; Simamora *et al.*, 2013). Homoptera (Effendy *et al.*, 2009) dan Coleoptera (Faisol, 2005; Setiawan, 2012). Salah satu jenis cendawan *Metarhizium* spp yang sering digunakan dan merupakan salah satu bagian dari suatu fokus penelitian adalah ini *Metarhizium anisopliae*.

M. anisopliae dapat menginfeksi serangga dan menyebabkan penyakit *green muscardin fungus*. Spora cendawan yang melekat pada permukaan kutikula serangga akan membentuk hifa yang memasuki jaringan internal serangga melalui interaksi biokimia yang kompleks antara inang dan cendawan. Selanjutnya, enzim yang dihasilkan cendawan berfungsi mendegradasi kutikula serangga, hifa cendawan akan tumbuh ke dalam sel-sel tubuh serangga, dan menyerap cairan tubuh serangga. Hal

ini akan mengakibatkan serangga mati dalam keadaan tubuh yang mengeras seperti mumi (Tanada dan Kaya, 1993 *dalam* Furqon, 2012).

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi masalah dapat disusun tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mengetahui pertumbuhan koloni, viabilitas spora, serta kerapatan spora dari lima isolat *M. anisopliae*.
2. Mengetahui hubungan antara pertumbuhan koloni, viabilitas spora, dan kerapatan spora *Metarhizium anisopliae* dengan mortalitas *S. litura*.
3. Mengetahui virulensi *Metarhizium anisopliae* terhadap *S. litura*.

1.3 Kerangka Pemikiran

M. anisopliae memiliki spektrum yang luas dan dilaporkan dapat menginfeksi lebih dari 100 spesies. Cendawan ini bersifat parasit pada beberapa jenis serangga dan bersifat saprofit di dalam tanah dengan bertahan pada sisa-sisa tanaman. Cendawan ini pertama kali digunakan untuk mengendalikan hama kumbang kelapa lebih dari 85 tahun yang lalu, dan sejak itu digunakan sebagai agen hayati dan dapat menginfeksi beberapa jenis serangga, antara lain dari Ordo Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, Hemiptera, dan Isoptera (Van den Bosch *et al.*, 1973 *dalam* Simamora *et al.*, 2013).

Menurut Farida (2003), cendawan *M. anisopliae* melakukan infeksi terhadap inang mulai dari konidia yang berkecambah memasuki kutikula inang dengan bantuan

enzim kitinase, lipase, dan protease ditambah juga dengan tekanan mekanis. Hifa berkembang menjadi benang-benang miselia, dan kemudian miselia tersebut mengeluarkan senyawa beracun dan apabila berkembang sampai ke hemosol serangga maka akan mengakibatkan aktivitas yang ada dalam hemosol menjadi rusak dan tentunya dapat menghambat peredarannya.

Mortalitas serangga sangat ditentukan oleh kerapatan konidia cendawan entomopatogen yang diaplikasikan. Makin tinggi kerapatan konidia *M. anisopliae*, makin tinggi pula mortalitas *S. litura* (Prayogo & Tengkan, 2004 dalam Prayogo *et al.*, 2005). Hal ini sejalan dengan Anggraeni *et al.* (2011), salah satu faktor penting keberhasilan menginfeksi serangga hama adalah kerapatan jumlah spora yang kontak dengan tubuh inang. Semakin tinggi kerapatan spora yang menempel pada tubuh inang maka akan semakin cepat proses menginfeksi inang tersebut. Pada umumnya, kerapatan spora sebesar 10^6 spora/ml sudah cukup untuk menginfeksi tubuh inang.

Perbedaan asal isolat cendawan sering kali berakibat pada munculnya perbedaan dalam hal daya kecambah, kerapatan spora serta kemampuan isolat dalam membunuh serangga. Kecepatan cendawan *Metarhizium* sp. mematikan serangga dipengaruhi oleh kerapatan konidia yang menempel pada integumen serangga. Namun disamping rapatnya konidia yang menempel pada serangga seringkali memiliki kemampuan berkecambah yang berbeda. Kemampuan spora untuk berkecambah sangat menentukan keberhasilan cendawan dalam pertumbuhan selanjutnya. Daya kecambah (viabilitas) spora cendawan merupakan awal dari stadia pertumbuhan

cendawan sebelum melakukan penetrasi ke integumen serangga. Dalam penelitian Furqon (2012), *M. anisopliae* yang digunakan adalah *M. anisopliae* yang berasal dari lima daerah yaitu : UGM, Tegineneng, Bantul, Gading Rejo, dan Trimurjo.

Selanjutnya dinyatakan bahwa isolat dari Tegineneng dan Gading Rejo memiliki kerapatan, viabilitas serta virulensi yang relatif lebih baik dibandingkan isolat dari Bantul dan Trimurjo. Akan tetapi hasil analisis menunjukkan bahwa tingkat virulensi isolat dari Tegineneng, Gadingrejo, UGM, Bantul, dan Trimurjo tidak berbeda nyata antara satu dengan yang lainnya secara statistik, dengan hasil virulensi terhadap serangga *Helopeltis theivora* yang berkisar antara 61,250% - 81,250%.

1.4 Hipotesis

1. Terdapat perbedaan pertumbuhan koloni, viabilitas spora, serta kerapatan spora dari lima isolat *M. anisopliae*.
2. Terdapat hubungan antara pertumbuhan koloni, viabilitas spora, serta kerapatan spora dari lima isolat *M. anisopliae* terhadap mortalitas *S. litura*.
3. Terdapat perbedaan virulensi dari lima isolat *M. anisopliae* dalam menginfeksi hama *S. litura*

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)

Ulat grayak atau yang dahulu dikenal dengan sebutan ulat tentara merupakan serangga hama yang terdapat di banyak negara seperti Indonesia, India, Jepang, Cina, dan negaranegara lain di Asia Tenggara. Ulat grayak (*S. litura*) bersifat polifag atau mempunyai kisaran inang yang luas sehingga berpotensi menjadi hama pada berbagai jenis tanaman pangan, sayuran, buah dan perkebunan (Marwoto dan Suharsono, 2008). Ulat garayak dapat diklasifikasikan sebagai berikut : kingdom : Animalia, phylum : Arthropoda, kelas : Insekta ,ordo : Lepidoptera, famili : Noctuidae, genus : Spodoptera , spesies : *Spodoptera litura* F. (Kalshoven,1981)

Serangga *S. litura* juga merupakan salah satu serangga hama tanaman pertanian. Serangga ini merusak saat stadium larva dengan memakan daun sehingga daun menjadi berlubang-lubang dan serangannya biasanya menggerombol (Kalshoven, 1981).

Sayap ngengat bagian depan berwarna coklat atau keperak-perakan, sayap belakang berwarna keputih-putihan dengan bercak hitam. Seekor ngengat betina dapat meletakkan 2000-3000 telur. Telur berbentuk hampir bulat dengan bagian datar melekat pada daun (kadang-kadang tersusun dua lapis), berwarna coklat kekuningkuningan diletakkan berkelompok (masing-masing berisi 25-500 butir) yang bentuknya bermacam-macam pada daun atau bagian tanaman lainnya. Kelompok telur tertutup bulu seperti beludru yang berasal dari bulu-bulu tubuh bagian ujung ngengat betina. Ulat berkepompong dalam tanah, membentuk pupa tanpa rumah pupa (kokon), berwarna coklat kemerahan dengan panjang sekitar 1,6 cm. Siklus hidup berkisar antara 30-60 hari (lama stadium telur 2-4 hari, larva yang terdiri dari 5 instar : 20-46 hari, pupa : 8-11 hari) (Ardiansyah, 2007). Larva mempunyai warna yang bervariasi, mempunyai kalung/bulan sabit berwarna hitam pada segmen abdomen yang keempat dan kesepuluh. Pada sisi lateral dan dorsal terdapat garis kuning. Ulat yang baru menetas berwarna hijau muda, bagian sisi coklat tua atau hitam kecoklat-coklatan dan hidup berkelompok. Siang hari bersembunyi dalam tanah (tempat yang lembab) dan menyerang tanaman pada malam hari. (Hera, 2007).

2.2 Metarhizium anisopliae.

Cendawan merupakan salah satu entomopatogen yang digunakan sebagai pengendali hayati untuk mengurangi populasi hama oleh musuh alami. Musuh alami hama lainnya yang dikenal sebagai agensi hayati adalah predator dan parasitoid. Penggunaan musuh alami tersebut biasanya melibatkan peran aktif manusia.

Cendawan *M. anisopliae* dikenal sebagai cendawan entomopatogen dan dapat dikembangkan sebagai insektisida mikroba. Robert & Yendol (1971) dalam Sambiran *et al.* (2007), mencatat sekitar 200 spesies serangga terutama yang hidup dalam tanah dapat diinfeksi oleh *M. anisopliae*.

Morfologi *Metarhizium* sp. yang telah banyak diketahui yaitu konidiofor tumbuh tegak, spora berbentuk silinder atau lonjong dengan panjang 6-16 mm, warna hialin, bersel satu, massa spora berwarna hijau zaitun. *Metarhizium* sp. tumbuh pada pH 3,3-8,5 dan memerlukan kelembaban tinggi. Radiasi sinar matahari dapat menyebabkan kerusakan pada spora. Suhu optimum bagi pertumbuhan dan perkembangan spora berkisar pada 25-30°C. *Metarhizium* mempunyai miselia yang berseptat, dengan konidia yang berbentuk lonjong. *M. anisopliae* bersifat saprofit pada media buatan, awal mula pertumbuhannya adalah tumbuhnya konidium yang membengkak dan mengeluarkan tabung-tabung kecambah (P2APH, 2013).

Prayogo *et al.* (2005), menggolongkan empat tahapan etiologi penyakit serangga yang disebabkan oleh cendawan. Tahap pertama adalah inokulasi, yaitu kontak antara propagul cendawan dengan tubuh serangga. Selain konidia, organ lain seperti hifa juga berfungsi sebagai alat infeksi pada serangga inang. Dalam proses ini, senyawa mikopolisakarida memegang peranan penting. Tahap kedua adalah proses penempelan dan perkecambahan propagul cendawan pada integumen serangga. Kelembapan udara yang tinggi dan bahkan kadang-kadang air diperlukan untuk perkecambahan propagul cendawan (Silva & Messias, 1985; Glare & Milner, 1991 dalam Prayogo *et al.*, 2005). Pada tahap ini, cendawan dapat memanfaatkan

senyawa-senyawa yang terdapat pada integumen. Tahap ketiga yaitu penetrasi dan invasi. Penembusan dilakukan secara mekanis atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim dan toksin. Tahap keempat yaitu destruksi pada titik penetrasi dan terbentuknya blastospora yang kemudian beredar ke dalam hemolimfa dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang jaringan lainnya (Lee & Hou, 1989; Tanada & Kaya, 1993; Strack, 2003 *dalam* Prayogo *et al.*, 2005).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Bidang Proteksi Tanaman Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada akhir tahun 2013 (Tahap I) dan dilanjutkan pada awal tahun 2016 (Tahap II).

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini ialah serangga ulat grayak (*Spodoptera litura*), tanaman padi, media SDA (*sabouraud dextrose agar*), tisu, alkohol 70%, kapas, aqua destilata steril, isolat *Metarhizium anisopliae* dari Tegineneng, Gading Rejo, Bantul, UGM, dan Trimurjo.

Sedangkan alat-alat yang dibutuhkan yaitu toples plastik, plastik tahan panas, kain kasa, tabung pemelihara serangga, nampan plastik, cawan petri, *haemocytometer*, erlenmeyer, *rotamixer*, jarum ose, bor gabus, mikropipet, *laminar air flow*, mikroskop, preparat, kaca penutup, *Autoclave*, dan tabung reaksi.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini berupa percobaan dalam rancangan acak kelompok (RAK) yang dibagi dalam 2 bagian. Pertama pengukuran pertumbuhan koloni cendawan, pengamatan kerapatan spora, dan viabilitas spora. Pengukuran pertumbuhan koloni cendawan terdiri dari 5 perlakuan dan 4 kelompok, pengamatan kerapatan spora dan viabilitas spora terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kelompok, dan kedua uji virulensi terdiri dari 6 perlakuan dan 3 kelompok. Pengamatan pertumbuhan koloni cendawan sebagai perlakuan adalah 5 isolat *M. anisopliae* (Tegineneng, Gading Rejo, UGM, Bantul, dan Trimurjo), kelompok berdasarkan berapa kali dilakukan pengukuran. Pengamatan kerapatan spora dan viabilitas spora sebagai perlakuan adalah 5 isolat *M. anisopliae* (Tegineneng, Gading Rejo, UGM, Bantul, dan Trimurjo), kelompok berdasarkan waktu pengamatan. Pengujian virulensi sebagai perlakuan adalah 5 isolat *M. anisopliae* (Tegineneng, Gading Rejo, UGM, Bantul, dan Trimurjo) dan 1 kontrol, kelompok berdasarkan waktu aplikasi yang berbeda.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Langkah-langkah dalam penelitian ini adalah menyiapkan serangga, pembuatan media SDA, persiapan isolat *M. anisopliae*, pengukuran pertumbuhan koloni cendawan *M. anisopliae*, pengamatan kerapatan spora *M. anisopliae*, pengamatan viabilitas spora *M. anisopliae*, pengujian virulensi *M. anisopliae*

3.4.1 Penyiapan Serangga *Spodoptera litura*.

Pembiakan serangga ulat grayak dilakukan di laboratorium. Serangga diperoleh dari penangkapan di lapangan pada area pertanaman sayuran dan jagung manis. Sepuluh ekor serangga kisaran instar 4-5 dimasukkan ke dalam toples plastik berukuran diameter 15 cm x tinggi 7 cm yang berisi daun talas muda yang telah dipotong sebagai sumber makanan.

3.4.2 Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sabouraud Dextrose Agar merupakan media yang mengandung pepton di dalamnya. 1 liter media ini dikomposisikan dari 40 g Dextrose, 5 g Pepton, 5 g kasein, 15 g agar dan 1 liter air destilata. Semua larutan dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan aluminium foil, dikencangkan dengan karet gelang dan dibungkus plastik tahan panas. Selanjutnya larutan SDA diautoclave selama \pm 15 menit. Setelah itu diangkat dan didiamkan sebentar supaya sedikit lebih dingin. Kemudian larutan SDA dituangkan ke masing-masing petridish dalam ruangan steril (*Laminar Air Flow*).

3.4.3 Penyiapan Isolat *Metarhizium anisopliae*

Isolat *M. anisopliae* didatangkan dari 5 tempat berbeda, yaitu dari Tegineneng, Gadingrejo, Bantul, UGM, dan Trimurjo. Kemudian diisolasi guna mempertahankan dan memperbanyak isolat murni. Isolasi dilakukan di laboratorium hama dan penyakit jurusan Proteksi Tanaman menggunakan media. SDA kemudian melalui

tahapan inkubasi selama 1 bulan. Setelah itu, cendawan siap digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

3.4.4 Pengukuran Diameter Koloni Cendawan *Metarhizium anisopliae*.

Isolat cendawan diambil menggunakan bor gabus dan ditumbuhkan pada bagian tengah media SDA. Setelah itu cendawan diinkubasi untuk melihat pertumbuhannya dengan diukur diameter koloninya. Pengukuran dilakukan pada 4 cawan isolat di hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah inokulasi. Hal ini menunjukkan pertumbuhan konidia cendawan pada hari ke-7 pertumbuhan konidia cendawan telah maksimal.

Pengamatan dilakukan terhadap diameter koloni cendawan yang tumbuh dari tiap-tiap jenis cendawan *Metarhizium* sp. Data diameter yang didapat merupakan nilai rata-rata 4 kali pengukuran diameter koloni cendawan yang tumbuh pada setiap sisinya.

3.4.5 Pengamatan Kerapatan Spora *Metarhizium anisopliae*

Biakan cendawan *M. anisopliae* pada masing-masing media diambil sebanyak 1 potongan bor gabus lalu ditambahkan ke dalam air steril dalam tabung reaksi steril berukuran 10 ml dan dikocok dengan *shaker* hingga tercampur merata (\pm 10 menit). Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} . Kerapatan spora dihitung dengan menggunakan alat hemasitometer di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 400 kali. Kerapatan spora dihitung menggunakan rumus Gabriel & Riyatno (1989) sebagai berikut:

$$C = \frac{t \times d}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan:

- C = kerapatan spora per ml larutan
 t = jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati
 d = tingkat pengenceran
 n = jumlah kotak sampel (5 kotak besar x 16 kotak kecil)
 0,25 = faktor koreksi kotak sampel skala kecil pada haemositometer
 10⁶ = konstanta.

Data kerapatan spora isolat cendawan *M. anisopliae* dianalisis menggunakan ANOVA. Kemudian dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Isolat cendawan *M. anisopliae* yang mempunyai kerapatan spora terbesar merupakan media pertumbuhan bagi isolat cendawan *M. anisopliae* yang mempunyai tingkat virulensi tertinggi.

3.4.6 Pengamatan Viabilitas Spora *Metarhizium anisopliae*

Viabilitas spora cendawan *M. anisopliae* ditentukan setelah suspensi spora diinkubasi selama 24 jam. Satu tetes suspensi tersebut diteteskan pada kaca preparat dan ditutup dengan gelas penutup dan diletakan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Selanjutnya akan dihitung jumlah spora yang berkecambah pada luasan bidang pandang yang telah ditentukan. Perhitungan vabilitas spora dilakukan setiap 2 jam sekali mulai sejak 12 jam sampai dengan 24 jam setelah inkubasi. Viabilitas spora dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

V = persentase konidia yang berkecambah

g = jumlah rata-rata konidia yang berkecambah

u = jumlah rata-rata konidia yang tidak berkecambah.

Data viabilitas spora isolat *M. anisopliae* dianalisis menggunakan ANOVA.

Kemudian dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Isolat cendawan *M. anisopliae* yang mempunyai viabilitas spora terbesar merupakan media pertumbuhan bagi isolat cendawan *M. anisopliae* yang mempunyai tingkat virulensi tertinggi.

3.4.7 Pengujian Virulensi Entomopatogen *Metarhizium anisopliae*.

Spora yang diambil dari media diencerkan dengan air steril sampai 10^{-3} /ml, kemudian disemprotkan pada 10 ekor ulat grayak instar 5. Lalu serangga dipindahkan ke tempat pemeliharaan toples plastik dan diberi makan berupa daun talas. Pengamatan serangga yang mati dilakukan setiap hari sampai hari ke- 7 setelah aplikasi (HSA). Menurut Rustama *et al.* (2008) bahwa mortalitas serangga dapat dihitung menggunakan rumus seperti berikut:

$$M = \frac{\sum n}{\sum N} \times 100\%$$

Keterangan:

M : mortalitas serangga (%)

n : serangga yang mati (ekor)

N : jumlah serangga yang diuji (ekor)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil pada penelitian ini adalah:

1. Tidak terdapat perbedaan yang nyata pada viabilitas spora 5 isolat *M. anisopliae* (Tegineneng, Trimurjo, Gadingrejo, Bantul dan UGM).
2. Tingkat kerapatan spora *M. anisopliae* tertinggi terdapat pada isolat asal UGM ($2,25 \times 10^9$ spora/ml).
3. Virulensi *M. anisopliae* terhadap ulat grayak (*S. litura*) tidak dipengaruhi oleh pertumbuhan koloni, viabilitas spora, dan kerapatan spora *M. anisopliae*.
4. Virulensi isolat *M. anisopliae* asal UGM terhadap ulat grayak (*S. litura*) mencapai 86,67%, paling tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka penulis menyarankan untuk melakukan penelitian lanjutan yang dilakukan di lapangan.

PUSTAKA ACUAN

- Anggraeni, T., Wiriawan A. dan Umrah. 2011. Perbandingan Efektivitas Jamur *Beauveria Bassiana* (Balsamo) dan *Metarhizium Anisopliae* (Metschnikoff) dalam mengendalikan Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* (Linnaeus) . *Jurnal Eukariotik*, 9(1):1– 6
- Ardiansyah. 2007. Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)Megganas. www.tempointeraktif.com/hg/nusa/sumatra/2007/04/29/brk.20070429-99022,i... – 35k - . Diakses tanggal 19 Februari 2016
- Desyanti. 2007. Kajian Pengendalian Rayap Tanah *Coptotermes spp.* (Isoptera: Rhinotermitidae) dengan Menggunakan Cendawan Entomopatogen Isolat Lokal. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 97 hlm.
- Effendy, Siti, H., Chandra, I., Salim, A., dan Erni. 2009. Seleksi Substrat Jamur *Metarhizium Sp.* Untuk Mengendalikan Wereng Coklat *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Homoptera: Delphacidae) Di Tanaman Padi. *Majalah ilmiah Sriwijaya*. 16(8) : 68-74.
- Effendy, T.A. 2010. Uji Toksisitas Bioinsektisida Jamur *Metarhizium sp.* Berbahan Pembawa Bentuk Tepung Untuk Mengendalikan *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Homoptera: Delphacidae). Prosiding Seminar Nasional Unsri. Palembang, 20-21 Oktober 2010.
- Effendy, T.A., Robby S., Abdullah S., dan Abdul M. 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.
- Faisol, R. 2005. Keefektifitasan Cendawan *Metarhizium brunneum* Petch Terhadap Hama Ubi Jalar *Clyas formisarius* F. Skripsi. Departemen Proteksi tanaman. IPB. 30 hal