



AGROSAINSTEK

Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian

Website jurnal : <http://journal.ubb.ac.id/index.php/agrosainstek>

Artikel Penelitian

Uji Efektifitas Agensia Hayati *Metarizhium anisopliae* Terhadap Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F) Secara *In Vitro*

Effectivity Test of Biological Agent Metarizhium anisopliae on Cluster Caterpillar (Spodoptera litura Fabr) by In Vitro Method

Riwan Kusmiadi^{1*}, Sitti Nurul Aini¹, Rion Apriyadi¹, Ciko¹

¹Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Pertanian, dan Biologi, Universitas Bangka Belitung

Diterima : 20 September 2017/Disetujui : 15 Desember 2017

ABSTRACT

Pests are one the reason of declined in crop production. one of them is *Spodoptera litura*. The purpose of this research was to determined the mortality rate of *Spodoptera litura* caused by *M. anisopliae* infection. The research is conducted at the Microbiology Laboratory of Agricultural Technology Department of the Faculty of Agriculture, Fishery, and Biology of Universitas Bangka Belitung. The research used factorial randomized block design with 2 treatment factors. The first factor (stage larvae) consists of L1=instar 3, L2=instar 4. The second factor (the concentration) consists of V0=control, V1= 30 g/l of water, V2=35 g/l of water, V3= 40 g/l of water, V4= 45 g/l of water. The data is analyzed using ANOVA with confidence level of 95% and is further tested using the Tukey Test with confidence level of 95%. The research results show that at concentration of 30 g/l of water and 35 g/l of water the mortality rate reaches 88,89%, while at the concentration of 40 g/l of water and 45 g/l of water the mortality rate reaches 100% with 3 to 7 days span of mortality. The larvae infected with *M. anisopliae* experience behavioral changes such as decreased appetite, less active movement, inactive, and transformed color to black with mycelium covering a part of the body.

Keywords: *M. anisopliae*, *Spodoptera litura*, mortality

ABSTRAK

Hama merupakan penyebab terjadinya penurunan dan produksi tanaman, salah satunya yaitu *Spodoptera litura*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat mortalitas *Spodoptera litura* akibat infeksi *Metarizhium anisopliae*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Agroteknologi Fakultas FPPB. Penelitian menggunakan RAKF dengan 2 faktor. Faktor pertama (stadia larva) yaitu L1 = instar 3, L2= instar 4. Faktor kedua (Konsentrasi aplikasi) yaitu V0=kontrol, V1=30 g/l air, V2=35 g/l air, V3= 40 g/l air, V4= 45 g/l air. Analisis data menggunakan ANOVA taraf kepercayaan 5% dan uji lanjut menggunakan BNJ taraf kepercayaan 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 30 g/l air dan 35 g/l air tingkat mortalitas mencapai 88,89 % sedangkan konsentrasi 40 g/l air dan 45 g/l air sebesar 100% dengan rentang waktu kematian rata-rata 3 sampai 7 hari . Larva yang terinfeksi *M. anisopliae* mengalami perubahan perilaku seperti nafsu makan berkurang, gerakan larva menjadi lamban, tubuh lunak, tidak aktif, serta terjadinya perubahan warna menjadi hitam dengan sebagian tubuh larva ditumbuhi miselium.

Kata kunci: *M. anisopliae*, *Spodoptera litura*, mortalitas

1. Pendahuluan

Permasalahan yang sering terjadi pada tanaman budidaya yaitu adanya serangan hama. Hama

merupakan organisme pengganggu tanaman yang berpotensi menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan dan produksi tanaman. Salah satu hama yang dapat menurunkan produksi dan mutu tanaman adalah hama ulat grayak (*Spodoptera litura*).

*Korespondensi Penulis.

E-mail: kusmiadi@gmail.com (R. Kusmiadi)

Hama ulat grayak bersifat polifag dan menyerang tanaman pada berbagai fase pertumbuhan. Kerusakan dan kehilangan hasil akibat serangan ulat grayak biasanya ditentukan oleh populasi hama, fase perkembangan serangga, fase pertumbuhan tanaman. Larva instar 1 dan 2 berkelompok makan secara bersama di bawah permukaan daun dan menyisakan lapisan epidermis atas sehingga daun terlihat transparan. Pada instar 3 dan 4 ulat ini makan seluruh daun sehingga menyebabkan daun berlubang-lubang. Pada serangan yang parah dapat menghabiskan seluruh daun tanaman (Durroh et al. 2013).

Serangan hama *S. litura* dapat menyebabkan terjadinya penurunan produksi pada budidaya tanaman, maka perlu dilakukan pengendalian hama yang tepat sehingga populasi hama tidak berkembang. Sejauh ini pengendalian hama tanaman yang dilakukan oleh para petani masih mengandalkan insektisida kimia (Marwoto 1992).

Penggunaan insektisida kimia sintetik secara intensif dapat menimbulkan kerugian seperti keracunan, pencemaran lingkungan dan resistensi serangga (Indraningsih 2008), sehingga menuntut pengendalian serangga menggunakan teknologi yang aman bagi lingkungan. Teknologi yang paling aman digunakan adalah pengendalian dengan penggunaan agen hayati.

Salah satu komponen pengendalian hama yang perlu dilakukan adalah penggunaan musuh alami yaitu mikroorganisme patogenik berupa cendawan, bakteri, virus dan nematoda patogen serangga.

Salah satu penggunaan musuh alami yang digunakan yaitu menggunakan cendawan *Metarrhizium anisopliae*. *M. anisopliae* memiliki aktifitas larvisidal karena menghasilkan *cyclopeptida*, *destruxin* A, B, C, D, E dan *desmethyl destruxin*. *Destruxin* telah dipertimbangkan sebagai bahan insektisida generasi baru. Efek *destruxin* berpengaruh pada organella sel target (mitokondria, retikulum endoplasma dan membran nukleus), menyebabkan paralisa sel dan kelainan fungsi lambung tengah, tubulus malphigi, *hemocyt* dan jaringan otot (Widiyanti dan Muyadihardja 2004).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Desy et al 2013 pada uji patogenisitas *Bacillus thuringiensis* dan *Metarrhizium anisopliae* terhadap mortalitas *Spodoptera litura* Fabr (Lepidoptera: Noctuidae) di laboratorium menunjukkan bahwa persentase mortalitas ulat grayak yang diaplikasikan dengan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 30 gr/ liter air menghasilkan tingkat mortalitas sebesar 76,67%.

Pengendalian hama serangga menggunakan pestisida sintetik dapat merusak lingkungan dan

menyebabkan terjadinya ledakan populasi, sehingga pengendalian hama dengan agen hayati merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi penggunaan pestisida kimia. Hal inilah yang mendasari peneliti untuk meneliti tingkat keefektifan penggunaan agen hayati *M. anisopliae* dalam mengendalikan hama ulat grayak (*S. litura*).

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari 2016 sampai dengan bulan Mei 2016. Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di laboratorium KP2 Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi di Desa Balunijuk Kecamatan Merawang Kabupaten Bangka, Provinsi Bangka Belitung. Alat dan bahan yang digunakan adalah Alat yang digunakan adalah cawan petri, gelas piala, jarum ose, kain kasa, lampu spiritus, gunting, pinset, gelas ukur, kuas, pipet tetes, erlenmeyer, *hand sprayer*, isolat *Metarrhizium anisopliae*, ulat grayak (*S. litura*) dan buku data serta alat tulis.

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial yang terdiri dari dua faktor.

Faktor I : Stadia larva

L1 : Larva instar III

L2 : Larva instar IV

Faktor II : Konsentrasi aplikasi

V0 : Kontrol

V1 : suspensi 30 g / l aquades

Isolat cendawan *Metarrhizium anisopliae* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Balai Proteksi Tanaman Provinsi Bangka Belitung. Cendawan dibiakkan pada media PDA (*potato dextrose agar*), media PDA yang digunakan dapat dibuat dari ekstrak kentang yang dicampur dengan sukrosa dan bahan pematat. Bahan yang digunakan yaitu 200 gram kentang yang dicuci lalu di potong seperti dadu. Masak kentang dengan menambahkan 1 liter aquades selama 30 menit hingga lunak. Air rebusan selanjutnya disaring dan dituang ke dalam tabung erlenmeyer, kemudian tambah 20 gram sukrosa, 15 gram agar, dan kloramfenikol 1 gram tuang aquades hingga volumenya 1 liter. Panaskan kembali komposisi sukrosa, agar-agar, ekstrak kentang dan kloramfenikol hingga homogen. Proses selanjutnya sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 30 menit setelah dingin masukkan media ke dalam kulkas (Trizelia et al. 2010).

Perbanyakan massal isolat dilakukan pada media jagung yang telah direbus selama 20 menit. Jagung dimasukkan dalam kantong plastik bening dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 1 jam, media diangkat dan dibiarkan

dingin selama 12 jam. Biakkan cendawan *M. anisopliae* dari media PDA dimasukkan ke dalam kantong plastik yang berisi jagung pecah. Biakkan dibiarkan selama 14 hari dan dibolak-balik setiap 2 hari. Pertumbuhan terlihat ditandai dengan cendawan yang telah menutupi permukaan bagian media jagung (Nur 2008).

Larva *S. litura* dikumpul dari pertanaman inang ulat grayak di lapangan. Larva-larva ini dipelihara dalam kotak plastik dan diberi makanan berupa daun kedelai yang masih segar. Pada waktu larva memasuki masa berpupa, di dasar kotak diberi serbuk gergaji. Semua imago yang keluar dari pupa dipelihara secara massal dalam kurungan serangga yang telah diberi daun kedelai segar sebagai pakannya serta disiapkan tempat peletakan telur. Pada fase imago diberikan pakan berupa madu dengan mengoleskannya pada gulungan kapas. Kelompok telur yang dihasilkan dari hasil pemeliharaan imago jantan dan betina dipindahkan ke kotak lain yang digunakan untuk pengujian. Telur kemudian dipelihara sampai menetas dan menjadi larva sampai mencapai instar III dan instar IV yang digunakan sebagai larva uji. (Trizelia *et al.* 2010).

Pengamatan bobot ulat dilakukan dengan cara menimbang berat ulat menggunakan timbangan analitik. Pengamatan dilakukan untuk melihat selisih pertambahan bobot ulat sebelum dan sesudah aplikasi *M. anisopliae*. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi. BU = pertambahan bobot sebelum perlakuan - pertambahan bobot sesudah perlakuan.

Pengamatan bobot makanan dilakukan dengan cara menimbang berat makanan yang diberikan kepada ulat menggunakan timbangan analitik dengan tujuan melihat laju makan ulat sebelum dan sesudah aplikasi *M. anisopliae*. Bobot makanan yang diberikan per unit perlakuan sebanyak 10 gr daun kedelai. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi. (Agastya 2011). BM = bobot makanan yang diberikan - bobot sisa makan.

Pengamatan dilakukan dengan cara melihat perilaku ulat (aktif dan tidak aktif) setelah aplikasi dan sebelum aplikasi cendawan *M. anisopliae* menggunakan metode Knolhoff dan Heckel (2011). Pengamatan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi.

Pengamatan perubahan warna ulat dilakukan dengan cara melihat warna ulat ketika sebelum diaplikasi cendawan *M. anisopliae* dan setelah aplikasi cendawan *M. anisopliae* menggunakan metode Xiong *et al* (2015). Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 setelah aplikasi cendawan *M. anisopliae*.

Pengamatan mortalitas dilakukan dengan cara mengamati dan menghitung jumlah ulat yang mati pada setiap perlakuan dan membandingkan dengan kontrol. Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 hari setelah aplikasi (hsa).

$$TM = \frac{U.A}{U.T} \times 100 \%$$

Keterangan :

U.A = jumlah ulat mati

U.T = jumlah ulat total

Pengamatan dilakukan dengan cara mengamati dan menghitung waktu kematian hama setelah diaplikasi dengan cendawan *M. anisopliae*. Pengamatan dilakukan pada hari ke-2 sampai 7 setelah aplikasi.

$$Im = T_1 - T_0$$

keterangan :

T₁ = waktu kematian (hari)

T₀ = waktu aplikasi (hari)

Pengamatan dilakukan dengan cara melihat tubuh ulat/larva yang telah ditutupi oleh spora cendawan *M. anisopliae*. Pengamatan dibagi kedalam 4 kategori yaitu : 1 (< 25 % penutupan), 2 (26-50 % penutupan), 3 (56-75 % penutupan), dan 4 (76-100 % penutupan). Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 setelah diaplikasikan cendawan *M. anisopliae*.

Data kuantitatif yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan apabila memperlihatkan pengaruh yang nyata, maka akan dilakukan uji dengan menggunakan BNJ pada taraf kepercayaan 5%. Data kualitatif disajikan dalam bentuk tabulasi dan dokumentasi berupa foto.

3. Hasil

Hasil pengamatan yang telah dilakukan terhadap parameter yang di uji untuk melihat tingkat efektivitas agensia hayati *M. anisopliae* terhadap hama ulat grayak (*S. litura* F) dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda. Hasil pengujian menunjukkan terdapat pengaruh perlakuan terhadap beberapa parameter yang di uji seperti yang terlihat pada Tabel 1 sidik ragam.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam terhadap peubah bobot ulat menunjukkan bahwa pada perlakuan instar menunjukkan hasil berbeda sangat nyata yaitu pada perlakuan instar dengan nilai F hitung sebesar 164,36 tetapi pada perlakuan konsentrasi untuk parameter bobot ulat menunjukkan tidak berbeda nyata yaitu nilai F hitung sebesar 2,17 serta terdapat interaksi dengan nilai F hitung sebesar 4,70. Hasil pengamatan pada peubah bobot makanan pada larva uji berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan tidak berbeda nyata

pada semua perlakuan, yaitu pada perlakuan instar, nilai F hitung yang didapat sebesar 1,69, pada perlakuan konsentrasi nilai F hitung sebesar 1,79, pada perlakuan kombinasi nilai F hitung yang didapat sebesar 1,40. Hasil pengamatan pada peubah mortalitas pada hasil sidik ragam menunjukkan hanya pada perlakuan konsentrasi yang berbeda sangat nyata yaitu nilai F hitung yang didapat sebesar 7,87, sedangkan pada perlakuan instar dan kombinasi berbeda tidak nyata yaitu nilai

F hitung 1,00 pada perlakuan instar dan 1,63 pada perlakuan kombinasi.

Pengamatan terhadap bobot ulat dilakukan untuk mengetahui perbandingan rata-rata kehilangan bobot ulat kontrol dengan bobot ulat perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke tujuh pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata pada perlakuan instar dan kombinasi. Data pengamatan disajikan dalam bentuk Tabel 2.

Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam pada pengujian perlakuan infeksi cendawan *M. anisopliae* terhadap parameter bobot ulat, bobot makanan serta tingkat mortalitas *S. litura* F.

| Peubah | Instar | | Konsentrasi | | Interaksi | | KK |
|---------------|--------------------|---------|--------------------|--------|--------------------|-------|-------|
| | F hitung | Pr>F | F hitung | Pr>F | F hitung | Pr>F | |
| Bobot ulat | 164,36** | <0,0001 | 2,17 ^{tn} | 0,11 | 4,70** | 0,009 | 11,76 |
| Bobot makanan | 1,69 ^{tn} | 0,21 | 1,79 ^{tn} | 0,17 | 1,40 ^{tn} | 0,275 | 26,68 |
| Mortalitas | 1,00 ^{tn} | 0,33 | 7,87** | 0,0007 | 1,63 ^{tn} | 0,21 | 13,36 |

Keterangan : * : berbeda nyata pada taraf kepercayaan 5%, ** : berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan 1 %, tn : tidak berbeda

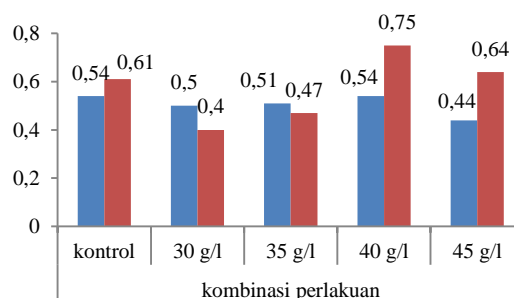
Tabel 2. Uji lanjut interaksi perlakuan konsentrasi *M. anisopliae* dan perlakuan instar terhadap peubah bobot ulat.

| Instar | Konsentrasi | | | | |
|--------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Kontrol | 30 g/l air | 35 g/l air | 40 g/l air | 45 g/l air |
| III | 0,28 ^b A | 0,29 ^b A | 0,37 ^b A | 0,27 ^b A | 0,28 ^b A |
| IV | 0,61 ^a A | 0,45 ^a A | 0,49 ^a A | 0,52 ^a A | 0,53 ^a A |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%. Huruf kecil dibaca vertikal (kolom) dan huruf kapital dibaca arah horizontal (baris).

Tabel 2 memperlihatkan bobot ulat kontrol pada instar IV lebih tinggi dibandingkan pada bobot ulat yang diinfeksi cendawan *M. anisopliae* pada semua perlakuan tetapi berbeda tidak nyata pada konsentrasi yang diberikan. Bobot ulat instar III pada perlakuan kontrol untuk berat bobot ulat yaitu sebesar 0,28 g lebih rendah dibandingkan bobot ulat pada 30 g/l sebesar 0,29 g, 35 g/l sebesar 0,37 dan lebih tinggi atau sama tinggi pada perlakuan 40 g/l yaitu sebesar 0,27 serta 45 g/l sebesar 0,28 g.

Pengamatan bobot makanan dilakukan untuk melihat selisih antar bobot makanan ulat kontrol dan bobot makanan ulat uji. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan melihat perbandingan bobot makanan kontrol dan bobot makanan uji. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa infeksi cendawan *M. anisopliae* berbeda tidak nyata pada semua perlakuan. Data pengamatan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bobot makanan *S. litura* akibat infeksi *M. anisopliae*.

Gambar 1 memperlihatkan rata-rata bobot makanan pada tiap-tiap instar berbeda. Pada instar III bobot makanan pada perlakuan kontrol sebesar 0,54 g dan lebih tinggi pada semua perlakuan yaitu pada perlakuan 30 g/l sebesar 0,50 g, 35 g/l sebesar 0,51 g, 40 g/l sebesar 0,54 g serta pada perlakuan 45 g/l sebesar 0,51 g. Pada instar IV rata-rata bobot

makanan pada tiap perlakuan berbeda-beda. Pada perlakuan kontrol bobot makanan rata-rata diperoleh sebesar 0,61 g lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan 30 g/l dan 35 g/l yaitu sebesar 0,40 g dan 0,47 g, akan tetapi lebih rendah dibandingkan pada perlakuan 40 g/l dan 45 g/l air yaitu sebesar 0,75 g dan 0,64 g.

Pengamatan terhadap tingkat mortalitas dilakukan untuk mengetahui jumlah *S. litura* yang mati setelah aplikasi pada hari ke tujuh pengamatan akibat infeksi cendawan *M. anisopliae*. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke tujuh pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata pada perlakuan konsentrasi. Data pengamatan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Tingkat mortalitas akibat infeksi *M. anisopliae* setelah aplikasi pengamatan hari ke tujuh.

| Instar | Perlakuan | | | | |
|--------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|
| | Kontrol | 30 g/l | 35 g/l | 40 g/l | 45 g/l |
| III | 55,56 ^b | 100 ^a | 88,89 ^a | 100 ^a | 100 ^a |
| IV | 77,78 ^b | 88,89 ^a | 100 ^a | 100 ^a | 100 ^a |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%.

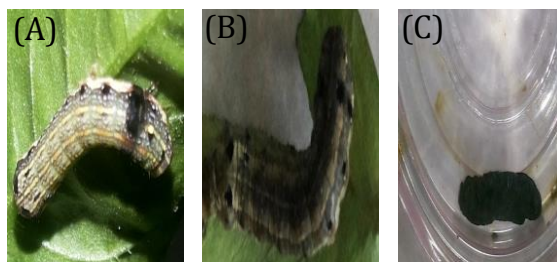
Tabel 3 memperlihatkan tingkat mortalitas pada perlakuan kontrol berbeda nyata pada perlakuan konsentrasi 30 g/l, 35 g/l, 40 g/l dan 45 g/l air. Pada ulat instar III rata-rata mortalitas perlakuan kontrol sebesar 55,56%, sedangkan pada perlakuan konsentrasi 30 g/l air tingkat mortalitas sebesar 100%, 35 g/l air sebesar 88,89%, 40 g/l air sebesar 100% dan 45 g/l air sebesar 100%. Pada ulat instar IV rata-rata mortalitas perlakuan kontrol sebesar 77,78% sedangkan pada perlakuan 30 g/l air tingkat mortalitas sebesar 88,89%, 35 g/l air sebesar 100%, 40 g/l air sebesar 100% dan 45 g/l air sebesar 100%.

Pengamatan perilaku ulat dan perubahan warna ulat *S. litura* yang disebabkan oleh cendawan *M. anisopliae* dilakukan setiap hari. Hasil pengamatan yang telah dilakukan terdapat adanya perbedaan gejala infeksi yang disebabkan oleh *M. anisopliae* seperti pada Tabel 4.

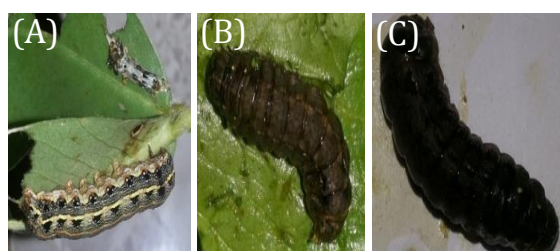
Pengamatan terhadap perubahan warna ulat sebelum dan setelah aplikasi cendawan *M. anisopliae* dapat dilihat seperti pada gambar 2 dan 3. Pengamatan terhadap interval waktu kematian dilakukan untuk mengetahui waktu kematian hama akibat infeksi cendawan *M. anisopliae* pada saat aplikasi sampai hama tersebut mengalami kematian. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke tujuh pengamatan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa infeksi cendawan *M. anisopliae* dengan rentang konsentrasi yang diberikan menunjukkan adanya pengaruh perbedaan waktu kematian pada tiap-tiap konsentrasi yang diberikan pada larva instar III dan larva instar IV.

Tabel 4. Gejala fisiologi serangga *S. litura* setelah aplikasi cendawan *M. anisopliae* pada semua konsentrasi

| Hari Setelah Aplikasi (HSA) | Instar | |
|-----------------------------|---|---|
| | Instar III | Instar IV |
| 1 | Belum menunjukkan gejala pada serangga uji, warna awal hijau (Gambar 15a). nafsu makan tinggi | Belum menunjukkan gejala pada serangga uji, warna awal hijau gelap (Gambar 16a), nafsu makan tinggi |
| 2 | Nafsu mulai berkurang, gerakan lamban, warna hijau pucat (Gambar 15b) | Nafsu makan berkurang, gerakan lamban, warna coklat pucat hingga coklat kekuningan. (Gambar 16b) |
| 3-5 | Tidak aktif, tubuh menggulung ketika disentuh, tubuh lunak, nafsu makan berkurang, mati, warna tubuh berubah menjadi hijau kehitaman (Gambar 15c) | Tidak aktif, mati, tubuh lunak, serta nafsu makan rendah, warna tubuh coklat kehitaman (Gambar 16c). |
| 6-7 | Tidak aktif, mati, tubuh larva mengeras dan kaku, warna larva berubah menjadi hitam. (Gambar 15c) | Tidak aktif, mati, tubuh larva mengeras dan kaku, warna larva hitam (Gambar 16c) dan sebagian tubuh ditumbuhi miselium. |



Gambar 2. Perubahan warna pada larva instar III (A) larva sebelum aplikasi, (B) dan (C) larva yang terinfeksi



Gambar 3. Perubahan warna pada larva instar IV (A) larva sebelum aplikasi, (B) dan (C) larva yang terinfeksi.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap peubah interval waktu kematian pada serangga uji menunjukkan bahwa rata-rata waktu kematian tertinggi pada semua perlakuan yaitu terjadi pada hari ke-3 setelah aplikasi, selanjutnya pada hari berikutnya mengalami penurunan pada hari ke-4 sampai hari ke-7 waktu pengamatan. Data pengamatan terhadap interval waktu kematian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil rata-rata perlakuan infeksi cendawan *M. anisopliae* terhadap interval waktu kematian.

| Perlakuan | Hari Setelah Aplikasi (HSA) | | | | | |
|-----------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 2 HSA | 3 HSA | 4 HSA | 5 HSA | 6 HSA | 7 HSA |
| L1V1 | 0 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| L1V2 | 0 | 5 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| L1V3 | 0 | 2 | 3 | 2 | 2 | 0 |
| L1V4 | 1 | 6 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| L2V1 | 0 | 4 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| L2V2 | 0 | 4 | 1 | 4 | 0 | 0 |
| L2V3 | 0 | 4 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| L2V4 | 0 | 2 | 3 | 4 | 0 | 0 |
| L1V0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 |
| L2V0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 |
| Total | 1 | 34 | 17 | 14 | 6 | 12 |

Pengamatan pada peubah penutupan tubuh *S. litura* oleh *M. anisopliae* dilakukan untuk melihat

persentase banyaknya tubuh ulat yang telah ditutupi oleh miselium cendawan *M. anisopliae*. Pengamatan pada peubah ini dilakukan pada saat memasuki hari ke-10 pengamatan. Hasil pengamatan menunjukkan adanya miselium yang tumbuh pada tubuh ulat yang terinfeksi seperti pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Penutupan tubuh *S. litura* oleh *M. anisopliae* pada hari ke-10 pengamatan

| Peubah | Kriteria | | | |
|---------|----------|------------|------------|-------------|
| | 1 (<25%) | 2 (26-50%) | 3 (56-75%) | 4 (76-100%) |
| Kontrol | 0% | 0% | 0% | 0% |
| L1V1 | 11,11% | 0% | 0% | 0% |
| L1V2 | 0% | 11,11% | 0% | 0% |
| L1V3 | 11,11% | 0% | 0% | 0% |
| L1V4 | 11,11% | 5,55% | 0% | 0% |
| L2V1 | 11,11% | 0% | 0% | 0% |
| L2V2 | 11,11% | 0% | 0% | 0% |
| L2V3 | 22,22% | 0% | 0% | 0% |
| L2V4 | 11,11% | 11,11% | 0% | 0% |

Berdasarkan Tabel 6 di atas terlihat bahwa pada perlakuan kontrol tidak terlihat adanya miselium yang tumbuh, sedangkan pada perlakuan konsentrasi yang diberikan pada serangga uji terlihat pada semua perlakuan menunjukkan adanya miselium yang tumbuh pada tubuh ulat meskipun persentase miselium yang tumbuh sedikit. Hal ini mengindikasikan bahwa cendawan *M. anisopliae* yang diaplikasikan pada serangga uji terjadi infeksi.

4. Pembahasan

Metarhizium anisopliae merupakan salah satu cendawan yang dapat digunakan untuk mengendalikan populasi serangga hama karena menyebabkan penyakit "*green muscardin fungus*" yang patogen terhadap serangga sasaran. Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa larva *S. litura* yang diaplikasikan dengan *M. anisopliae* mengalami kematian. Rentang waktu kematian *S. litura* akibat infeksi *M. anisopliae* berkisar antara 3-7 hari. Gejala *S. litura* yang mengalami kematian ditandai dengan munculnya miselium dalam tubuh serangga. Hal ini dikarenakan *M. anisopliae* yang diaplikasikan pada *S. litura* telah terinfeksi.

Berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan bahwa hanya perlakuan konsentrasi yang tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata, sedangkan

pada perlakuan instar dan kombinasi menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap bobot ulat. Pada perlakuan instar dan kombinasi berbeda sangat nyata karena dipengaruhi oleh umur larva yaitu larva instar III dan instar IV. Semakin tinggi umur larva maka berat bobot ulat juga semakin besar.

Hal ini diperkuat oleh pernyataan (Laba *et al.* 1999) yang menyatakan bahwa instar yang lebih lanjut mempunyai ukuran tubuh lebih besar dan lebih panjang dibanding instar awal, instar yang lebih tua mempunyai tubuh yang lebih berat daripada instar sebelumnya. Pada larva instar III memperlihatkan bahwa pada perlakuan konsentrasi 30 g/l air dan 35 g/l air lebih tinggi daripada perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi yang diberikan pada *S. litura* memberikan pengaruh tidak nyata terhadap penurunan bobot ulat. Pada larva instar IV terlihat bahwa bobot ulat perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dikarenakan tubuh larva telah diinfeksi *M. anisopliae*. Menurut (Prayogo dan Suharsono 2005) menyatakan bahwa semua jaringan dalam tubuh serangga dan cairan tubuh habis digunakan oleh jamur, sehingga serangga mati dengan tubuh yang mengeras seperti mumi.

Berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata pada semua perlakuan. Hal ini karena perlakuan konsentrasi yang diberikan cukup tinggi. Berdasarkan Gambar 11 bobot makanan *S.litura* pada instar III yang tertinggi pada perlakuan kontrol. Terjadinya jumlah bobot makanan yang berbeda-beda lebih dipengaruhi oleh ukuran tubuh larva yang mempunyai berat bobot ulat yang berbeda-beda. Pada larva normal konsumsi makan digunakan untuk pertumbuhan dan mengumpulkan energi. Menurut Rustama *et al.* (2008) menyatakan bahwa pada perlakuan *M. anisopliae* yang seharusnya bobot makanan digunakan untuk pertumbuhan larva, digunakan oleh jamur untuk melakukan perkembangan di dalam tubuh *S. litura*.

Bobot makanan pada instar IV dengan rata-rata bobot makanan yang tertinggi terjadi perlakuan 40 g/l air sebesar 0,75 g dan 45 g/l air sebesar 0,64 g dibandingkan pada perlakuan kontrol. Menurut Rustama *et al.* (2008) menyatakan bahwa terjadinya peningkatan nafsu makan pada *S. litura* adalah sebagai usaha *S.litura* melawan patogen dengan cara meningkatkan konsumsi makan untuk menambah jumlah hemolimf dalam tubuh serangga. Penurunan nafsu makan juga diduga akibat terganggunya aktivitas penyerapan nutrien oleh larva karena infeksi *M. anisopliae* serta terganggunya kerja otot pencernaan akibat

destruksin yang dihasilkan. Destruksin merupakan toksin neuromuskular yang dapat menginduksi depolarisasi membran otot serangga sehingga menyebabkan kelumpuhan otot serangga (Male *et al.* 2009).

Berdasarkan hasil sidik ragam terhadap tingkat mortalitas menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata terhadap konsentrasi yang diberikan dibandingkan dengan kontrol. Pada perlakuan instar memiliki kecenderungan yang sama pada peubah tingkat mortalitas yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula tingkat mortalitas *S. litura*. Pada konsentrasi 30 g/l, 40 g/l serta 45 g/l air pada instar III menunjukkan tingkat mortalitas sebesar 100%, akan tetapi pada konsentrasi 35 g/l air tingkat mortalitas yang dicapai sebesar 88,89 %. pada konsentrasi 30 g/l air pada instar IV menunjukkan tingkat mortalitas sebesar 88,89 %, sedangkan pada konsentrasi 35 g/l air sampai 45 g/l air menunjukkan tingkat mortalitas sebesar 100%. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi mortalitas.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Boucias dan Pendland (1998) bahwa semakin tinggi konsentrasi spora yang diinfeksi, maka semakin tinggi peluang kontak antara patogen dengan inang, sehingga semakin tinggi pula tingkat mortalitas yang terjadi. Lebih lanjut Pracaya (2004) menjelaskan, kematian serangga sangat ditentukan oleh kepadatan konidia cendawan entomopatogen yang diaplikasikan. Makin tinggi kepadatan konidia *M. anisopliae*, makin tinggi pula mortalitas serangga.

Hasil pengamatan terlihat jelas bahwa terdapat perubahan tingkah laku dan warna ulat. Perubahan perilaku ulat dan perubahan warna ditandai dengan nafsu makan mulai berkurang, gerakan larva *S. litura* menjadi lamban, tubuh menjadi lunak dan setelah beberapa hari tubuh menjadi mengeras, sedangkan perubahan warna *S. litura* pada instar III yang awalnya berwarna hijau menjadi hijau pucat sampai pada akhirnya menjadi hitam, begitu pula pada larva instar IV awalnya berwarna hijau gelap berubah menjadi coklat pucat hingga coklat kekuningan sampai pada akhirnya berwarna hitam. Hal ini disebabkan karena cendawan *M. anisopliae* telah menginfeksi tubuh *S. litura*.

Situmorang (1990) menyatakan bahwa serangga yang terinfeksi *M. anisopliae* mula-mula akan berwarna pucat kekuningan, gerakan menjadi lamban dan aktivitas makan menurun. Kemudian tubuh larva menjadi lunak dan pada akhirnya tubuh larva mengeras. Selain mengeras, tubuh larva juga berubah menjadi hitam. Menurut Boucias dan Pendland (1998) menyatakan bahwa perubahan

warna yang terjadi pada tubuh larva disebabkan oleh proses melanisasi yang merupakan bentuk pertahanan tubuh serangga melawan patogen.

Berdasarkan hasil yang diamati terhadap interval waktu kematian *S. litura* akibat infeksi *M. anisopliae* menunjukkan waktu kematian tertinggi pada semua perlakuan yaitu terjadi pada hari ke-3 setelah aplikasi, kemudian pada hari berikutnya mengalami penurunan pada hari ke-4 sampai hari ke-7 setelah aplikasi berbeda pada perlakuan kontrol yang menunjukkan rentang waktu kematian berkisar pada hari ke-7. Menurut Boucias dan Pendland (1998), menyatakan bahwa pada rayap, proses penetrasi hanya memerlukan waktu 48 jam (2 hari) Hasil ini memperlihatkan bahwa infeksi *M. anisopliae* terhadap *S. litura* mengalami waktu kematian yang cepat.

Lebih lanjut Brousseau et al. (1996) menyebutkan bahwa kecepatan kematian larva juga disebabkan oleh kerusakan pada usus akibat toksin yang dikeluarkan oleh jamur. Lebih lanjut Neves dan Alves (2004) menyatakan bahwa waktu awal kematian serangga dipengaruhi oleh patogenitas dan perbedaan konsentrasi pada saat aplikasi.

Hasil pengamatan pada perlakuan konsentrasi terlihat adanya miselium yang tumbuh pada tubuh ulat meskipun persentase miselium yang tumbuh sedikit. hal ini dikarenakan cendawan *M. anisopliae* telah menginfeksi tubuh *S. litura*. Pada umumnya, patogen memasuki tubuh serangga inang melalui membran intersegmental, menyebar ke seluruh lapisan dinding tubuh dengan bantuan enzim proteinase, lipase dan kitinase (Ferron 1985). Serangga yang mati akibat cendawan *M. anisopliae* tidak selalu disertai gejala pertumbuhan spora. Menurut Santoso (1993) apabila keadaan kurang mendukung, perkembangan cendawan hanya berlangsung di dalam tubuh serangga tanpa keluar menembus integumen.

5. Kesimpulan

1. Aplikasi cendawan *M. anisopliae* dapat menyebabkan mortalitas hama ulat grayak (*S. litura*) secara *in vitro* mencapai mortalitas sebesar 100 % dalam rentang waktu kematian 3 sampai 7 hari pengamatan.
2. Hama ulat grayak (*S. litura*) yang terinfeksi cendawan *M. anisopliae* mengalami perubahan perilaku seperti nafsu makan berkurang, gerakan larva menjadi lamban, tubuh lunak, tidak aktif, serta terjadinya perubahan warna menjadi hitam dengan sebagian tubuh larva ditumbuhi miselium.

6. Daftar Pustaka

- Adisarwanto T. 2009. Budidaya Kedelai dengan Pemupukan yang efektif dan pengoptimalan peran bintil akar kedelai. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Agastya I. 2011. *Potensi isolat bakteri patogen serangga sebagai pengendali hama Spodoptera litura* [Skripsi]. Mataram. Universitas Mataram.
- Boucias DG, JC Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publisher. London.
- Brousseau C, G Charpentier, S Belloncik. 1996. Susceptibility of Spruce Budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens, to Destruxins, Cyclodepsipeptidic Mycotoxin of *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrata Pathology* 68 :180-182.
- Desy YT, P Yuswani, Z Fatimah, M Fatiani. 2013. Uji Patogenitas *Bacillus thuringiensis* dan *Metarhizium anisopliae* Terhadap Mortalitas *Spodoptera litura* Fabr (Lepidoptera: Noctuidae) di Laboratorium. *Jurnal Online Agroekoteknologi* Vol.1 (3):
- Durroh H, H Thamrin, Isnawati, P Yusmani. 2013. Pengaruh Kombinasi jenis Cendawan Entomopatogen dengan kerapatan konodia terhadap Intensitas serangan Larva Ulat Grayak. *Jurnal Lentera Bio* Vol 2:19-23.
- Embriani. 2013. *Manfaat NPV Mengendalikan Ulat Grayak (Spodoptera litura F.)*. BBPPTP Surabaya. Surabaya.
- Hung SY, DG Boucias. 1996. Phenoloksidase Activity in Hemolymph of Naive and *Beauveria bassiana*-Infected *Spodoptera exigua* Larvae. Academic Press, Inc. Florida.
- Indraningsih. 2008. Pengaruh Penggunaan Insektisida Karbamat Terhadap Kesehatan Ternak dan Produknya. *Wartozoa*. 18:105-106.
- Knolhoff LM, DG Heckel. 2011. Behavioral and Genetic Components of a host Range Expansion in the Diamondback Moth. Thailand : Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus Nakhon Pathom.
- Laba MN, D Salbiah, JH Laoh. 1999. uji beberapa konsentrasi cendawan entomopatogen *B. Bassiana* isolat lokal untuk mengendalikan kumbang janur kelapa *Brontispa longissima* Gestro. Riau. Unri.
- Marwoto. 1992. *Masalah pengendalian Hama Kedelai Di Tingkat Petani*. Di dalam: Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Balai Penelitian Tanaman Pangan, Malang, 8-10 Agustus 1991, Malang: Balai Penelitian Tanaman Pangan.
- Marwoto, Suharsono. 2008. Strategi dan komponen teknologi pengendalian ulat grayak (*Spodoptera*

- litura fabricius*) pada tanaman kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian* 27(4):131-136.
- Male KB, YM Tzeng, J Montes, BL Liu, WC Liao, A Karmen, JHT Luong. 2009. probing inhibitory effect of destruxins from *M. anisopliae* using insect cell based impedance spectroscopy. *Inhibition chemical structure.analyst* 134:1447-1452.
- Neves PMOJ, SB Alves. 2004. External Events Related to the Infection Process of *Comitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of the Neotropical Entomol.* 33 (1) : 051-056
- Nur K. 2008. Pengendalian Hama Penggerek Tongkol Jagung *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera : Noctuidae) dengan *Beauveria bassiana* Strain Lokal pada Pertanaman Jagung Manis di Kabupaten Donggala [skripsi]. Palu : Universitas Tadulako.
- Pracaya. 2004. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Prayogo Y. 2005. Cendawan Entomopatogen *Verticillium lecanii* dan *Paecilomyces fumosoroseus* Sebagai Salah Satu Alternative Untuk Mengendalikan Telur Hama Pengisap Polong Kedelai. *Berita Puslitbangtan* (32): 10.
- Prayogo Y, W Tengkano, Marwoto. 2005. Prospek Cendawan Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* Pada Kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian*.Vol. 24 (1): 20-23.
- Rustama MM, Melanie, B irawan.2008. patogenisitas jamur entomopatogen *M. anisopliae* terhadap *Crocidolomia pavonana* Fab. Dalam kegiatan studi pengendalian hama terpadu tanman kubis dengan menggunakan agensia hayati [skripsi]. Bandung. Universitas padjajaran.
- Santoso T. 1993. Dasar-dasar Patologi Serangga. hlm. 1-15. *Dalam* E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (Ed.). *Simposium Patologi Serangga I. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*,12-13 Oktober 1993.
- Situmorang J. 1990. Petunjuk Praktikum Patologi Serangga. PLAV. Bioteknologi UGM. Yogyakarta. Hal 31
- Tanada Y, HK Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, Inc. California.
- Trizelia, Syahrawati, A Mardiah. 2010. Patogenisitas Beberapa Isolat Cendawan Entomopatogen *Metarhizium spp.* terhadap Telur *Spodoptera litura Fabricius* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Indon.*, April 2011 Vol. 8 (1): 45-54.
- Widiyanti NLPM, S Muyadihardja. 2004. Uji Toksisitas Jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap Larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Media Litbang Kesehatan* Vol. 14 (3): 25-30.
- Xiong HG, SH Xiong, Z Lin, LT Saha, C Wang, H Jiang, Z Zou. 2015. High throughput Profiling of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* immonutrans criptome during the fungal and bacterial infections. Beijing : Institute of Zoology.