

## Peningkatan Efikasi Cendawan *Lecanicillium lecanii* untuk Mengendalikan Telur Hama Kepik Coklat pada Kedelai

Yusmani Prayogo<sup>1</sup>, Teguh Santoso<sup>2</sup>, Utomo Kartosuwondo<sup>2</sup>, dan Lisdar I. Sudirman<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian

Jl. Raya Kendalpayak, Kotak Pos 66, Malang, Jawa Timur

<sup>2</sup>Departemen Proteksi Tanaman IPB

<sup>3</sup>Departemen Biologi IPB

Jl Raya Dramaga, Bogor, Jawa Barat

**ABSTRACT.** Increasing Efficacy of the *Lecanicillium lecanii* to Control Brown Stink Bug Eggs of Soybean. *Lecanicillium lecanii* is considered as an effective entomopathogenic fungi to control eggs of brown stink bug on soybean. Its efficacy is indicated by reducing the level of hatching of brown stink bug eggs. One factor affecting the efficacy of the entomopathogen in the field is its intolerant to sunlight exposure. A research was conducted in the screen house of the Indonesian Legumes and Tuber Crops Research Institute (ILETRI), Malang, from March to August 2008. The study was aimed at determining the effect of addition of vegetable oils on the efficacy of *lecanii* to control stink bug eggs on soybean. The trial was arranged in a randomized complete design with two factors. The first factor consisted of three vegetable oils i.e, peanut oil, soybean oil, and coconut oil. The second factor consisted of four oil concentration i.e; 2 ml/l, 5 ml/l, 10 ml/l, and without oil (control). Result showed that addition of vegetable oils as adjuvant increased significantly the growth and development of the entomopathogen, as indicated by the increase of colony diameter and number of conidia of *lecanii in vitro*. The fungal conidia persisted on the soybean plants until seven days after the adjuvant application at the rate of 10 ml/l water, while the conidia persisted only for one day on plants which was not applied with the vegetable oils. Hatchability of the brown stink bug eggs was only 20% when peanut oil was used as an adjuvant. Not all hatched eggs of the brown stink bug developed into adult, hence, the number of adult bugs that cause damages on soybean pods were reduced. In general, the addition of vegetable oil increased efficacy of the entomopathogen up to 40%. Among the vegetable oils tested, peanut oil was the most effective to increase the efficacy of *lecanii* to control brown stink bug egg on soybean.

Keywords: Vegetable oil, conidia persistence, egg hatching, empty pod, seed weight

**ABSTRAK.** *Lecanicillium lecanii* merupakan cendawan entomopatogen yang efektif untuk mengendalikan telur kepik coklat *Riptortus linearis*. Efikasi *L. lecanii* ditandai oleh telur kepik coklat yang tidak menetas hingga 80%. Salah satu faktor penghambat efikasi cendawan di lapangan adalah tidak toleran terhadap sinar matahari. Penelitian bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan minyak nabati terhadap efikasi cendawan entomopatogen *L. lecanii* dalam mengendalikan telur kepik coklat pada kedelai. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap yang disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah jenis minyak nabati (1) kacang tanah, (2) kedelai, dan (3) kelapa. Faktor kedua adalah konsentrasi minyak nabati (1) 2 ml/l, (2) 5 ml/l, (3) 10 ml/l, dan kontrol (*L. lecanii*). Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang, pada bulan Maret sampai Agustus 2008. Hasil penelitian menunjukkan minyak nabati sebagai bahan perekat berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan *L. lecanii* pada uji *in vitro*. Minyak nabati dengan

konsentrasi 10 ml/l mampu mempertahankan persistensi konidia *L. lecanii* di pertanaman kedelai hingga tujuh hari setelah aplikasi. Tanpa minyak nabati, persistensi cendawan hanya mampu bertahan satu hari. Minyak kacang tanah mampu meningkatkan efikasi *L. lecanii* sehingga telur kepik coklat yang menetas hanya 20%. Telur kepik coklat yang menetas tidak semuanya mampu berkembang menjadi serangga dewasa. Penambahan minyak nabati mampu mempertahankan efikasi *L. lecanii* di lapangan hingga 40% dibandingkan dengan kontrol. Di antara tiga jenis minyak yang diuji, minyak kacang tanah lebih efektif meningkatkan efikasi cendawan *L. lecanii* dalam mengendalikan telur kepik coklat.

Kata kunci: Minyak nabati, persistensi konidia, telur menetas, polong hampa, berat biji

Cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) Zare & Gams (Deuteromycotina: Hyphomycetes) sudah diakui sebagai agens hayati yang cukup potensial mengendalikan berbagai jenis hama dan penyakit tanaman (Kim *et al.* 2007; Xie *et al.* 2010). Hasil penelitian Wang *et al.* (2007) menunjukkan bahwa aplikasi cendawan *L. lecanii* mampu menekan jumlah telur *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) yang tidak menetas hingga mencapai 100%. Cendawan *L. lecanii* juga efektif mengendalikan *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) (Diaz *et al.* 2009). Bahkan Gan *et al.* (2007) melaporkan bahwa cendawan tersebut efektif sebagai agens pengendalian nematoda penyebab puru akar. Cendawan ini juga dapat digunakan sebagai agens hayati pada pengendalian penyakit embun tepung *Sphaerotheca fuliginea* pada buah mentimun (Kim *et al.* 2007; Kim *et al.* 2008). Salah satu penghambat yang mempengaruhi efikasi cendawan di lapangan adalah faktor abiotik, khususnya sinar matahari (Rangel *et al.* 2005; Fernandes *et al.* 2007). Sinar matahari selain menghasilkan panas juga mengandung sinar UV yang akan merusak konidia sehingga efikasi cendawan menjadi rendah (Rangel *et al.* 2008; Nascimento *et al.* 2010).

Tingkat kerusakan konidia akibat sinar UV bergantung pada lama konidia terpapar oleh sinar tersebut. Hasil penelitian Lerche *et al.* (2009)

menunjukkan bahwa cendawan *Lecanicillium* spp. yang terpapar pada sinar UV-B selama tiga jam masih mampu tumbuh namun pemaparan selama empat jam menyebabkan cendawan mati. Menurut Valero *et al.* (2007) dan Begum *et al.* (2009), dampak UV-A dan UV-B dari sinar matahari secara langsung akan menyebabkan kematian sel dan mutasi akibat kerusakan susunan kromosom pada DNA. Menurut Rahmatzadeh dan Khara (2007) UV-C menyebabkan terjadinya penundaan dan penurunan perkecambahan konidia.

Penurunan daya kecambah konidia cendawan disebabkan oleh meningkatnya respirasi dan aktivitas metabolik sehingga menurunkan cadangan makanan di dalam konidia. Hasil penelitian Perfetti *et al.* (2007) dan Cazorla *et al.* (2007) menunjukkan tingkat perkecambahan konidia ditentukan oleh kandungan poliol dan trehalosa. Kedua senyawa ini sangat berperan dalam pengaturan tekanan osmotik di dalam konidia dan tekanan osmotik ditentukan oleh suhu lingkungan tumbuh konidia. Oleh karena itu, dalam aplikasi di lapangan perlu dihindarkan dari pengaruh sinar matahari secara langsung, dengan mengatur waktu aplikasi maupun menggunakan bahan pelindung (Verhaar *et al.* 2004; Samodra dan Ibrahim 2006).

Menurut Rangel *et al.* (2008), ada beberapa strategi untuk melindungi biopestisida cendawan entomopatogen dari pengaruh degradasi sinar UV, yaitu (1) penggunaan bahan pelindung (*UV protectant*) yang dapat terlarut dalam minyak, (2) penggunaan emulsi minyak dan air, (3) penggunaan suspensi penyerap, dan (4) metode enkapsulasi. Ganga-Visalakshy *et al.* (2005) melaporkan minyak nabati mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *L. lecanii* sehingga efikasi cendawan meningkat. Hasil penelitian Silva *et al.* (2006) menunjukkan bahwa minyak nabati yang berasal dari biji sayuran mampu meningkatkan perkecambahan konidia cendawan *Paecilomyces fumosoroseus*, *Metarhizium anisopliae*, *L. lecanii*, dan *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) hampir mencapai 100% dalam waktu yang relatif singkat. Penelitian Prayogo (2004) menunjukkan beberapa jenis cendawan yang disebut di atas dapat digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan hama pengisap polong kedelai, contohnya kepik coklat *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera: Alydidae). Menurut Arifin dan Tengkan (2008), kepik coklat merupakan salah satu kendala utama dalam meningkatkan produksi kedelai di Indonesia. Penambahan minyak nabati untuk meningkatkan efikasi cendawan entomopatogen *L. lecanii* prospektif dikembangkan untuk pengendalian kepik coklat pada tanaman kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan

minyak nabati dalam meningkatkan efikasi *L. lecanii* untuk mengendalikan telur hama kepik coklat.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Rumah Kasa Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang pada bulan Maret sampai Agustus 2008. Rancangan percobaan yang digunakan adalah acak lengkap dan disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah jenis minyak nabati, yaitu (1) kacang tanah, (2) kedelai, dan (3) kelapa. Faktor kedua adalah konsentrasi minyak nabati, yaitu (1) 2 ml/l, (2) 5 ml/l, (3) 10 ml/l, dan (4) tanpa minyak (hanya *L. lecanii*). Setiap perlakuan diulang empat kali.

### Uji *In Vitro* Pertumbuhan dan Perkembangan Cendawan *L. lecanii* pada Media Minyak Nabati

Masing-masing jenis minyak nabati sesuai konsentrasi (0, 2, 5, dan 10 ml/l) ditambahkan pada media *water agar* (WA) kemudian disterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Media WA kemudian dituang ke cawan petri berdiameter 9 cm sebanyak 10 ml per cawan. *L. lecanii* yang digunakan adalah isolat LL-JTM11 (isolat laboratorium entomologi, Balitkabi) yang sebelumnya ditumbuhkan pada media PDA. Pada umur 14 hari setelah inokulasi (HSI), biakan *L. lecanii* dilubangi dengan bor berdiameter 1 cm kemudian diinokulasikan pada media yang mengandung minyak nabati sebagai perlakuan. Pada perlakuan kontrol, *L. lecanii* hanya ditumbuhkan pada media WA. Variabel yang diamati adalah (1) diameter koloni yang diukur setiap 24 jam setelah inokulasi sampai umur 21 HSI dengan cara mengukur jari-jari koloni, (2) jumlah konidia yang diproduksi setiap 1 g biakan cendawan yang dicampur dengan 100 ml air kemudian dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik, selanjutnya dihitung menggunakan *haemocytometer*, dan (3) daya kecambah konidia yang sudah diinkubasi dalam air selama 12 jam. Pengamatan pada semua variabel dilakukan dengan mikroskop optik merk Zeiss tipe 47.30159901 (Jerman).

### Uji Persistensi Cendawan *L. lecanii*

#### Penanaman Kedelai

Kedelai varietas Wilis ditanam dalam pot plastik yang berisi tanah sebanyak 5 kg. Setiap pot diisi dua tanaman dan dipelihara secara optimal. Tanaman diletakkan di rumah kaca dan bebas dari aplikasi insektisida kimia untuk menghindari pengaruh negatif terhadap *L. lecanii* yang akan diaplikasikan.

### Perbanyak dan Aplikasi Cendawan *L. lecanii*

Cendawan *L. lecanii* ditumbuhkan pada media PDA dalam cawan petri dengan diameter 9 cm. Pada umur 21 HSI, biakan cendawan ditambah 10 ml air kemudian koloni dikerok menggunakan kuas halus untuk mengambil konidia yang terbentuk. Suspensi konidia dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik kemudian dihitung kerapatan konidianya hingga memperoleh konsentrasi  $10^8$ /ml. Suspensi konidia dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer* 250 ml, kemudian ditambah dengan minyak nabati sesuai dengan masing-masing perlakuan. Suspensi konidia di dalam labu *erlenmeyer* kemudian dikocok menggunakan *shaker* selama 30 menit dengan tujuan suspensi dapat bercampur homogen dengan minyak nabati.

Suspensi konidia yang terbentuk diaplikasikan pada seluruh permukaan daun kedelai, pada pagi hari pukul 07.00 WIB di permukaan bagian atas daun yang terpapar pada sinar matahari secara langsung. Aplikasi dilakukan dengan cara disemprotkan dengan dosis 2 ml per tanaman. Suhu dan kelembaban di sekitar tanaman diukur menggunakan *Thermohygrograph* merk Lambercht (Göttingen) selama penelitian berlangsung.

### Isolasi Ulang Cendawan *L. lecanii*

Isolasi ulang dari daun kedelai yang sudah diaplikasi *L. lecanii* dilakukan setiap hari untuk mengetahui tingkat persistensi cendawan setelah penambahan minyak nabati. Daun kedelai yang sudah diaplikasi dengan suspensi konidia *L. lecanii* dipetik setiap hari, pengambilan daun dilakukan pada bagian atas dengan harapan memperoleh sinar matahari secara penuh. Setiap perlakuan diambil 1 g kemudian ditambah 9 ml air dan digerus dalam mortar hingga halus. Hasil gerusan daun dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik kemudian diambil 1 ml dengan mikropipet dan dimasukkan ke cawan petri. Media PDA sebanyak 9 ml ditambahkan ke cawan petri dan dicampur hingga homogen. Setelah tiga hari dilakukan pengamatan jumlah koloni *L. lecanii* yang tumbuh. Pengambilan contoh daun dihentikan apabila sudah tidak ditemukan koloni *L. lecanii* yang tumbuh pada media di masing-masing perlakuan.

### Penambahan Minyak Nabati untuk Mempertahankan Efikasi *L. lecanii*

#### Penanaman Kedelai

Penanaman kedelai dilakukan seperti pada kegiatan uji persistensi *L. lecanii*. Sebelum biji kedelai ditanam diberi perlakuan benih menggunakan insektisida tiamexosam

untuk mempertahankan tanaman dari serangan hama maupun patogen. Aplikasi insektisida kimia diperlukan apabila tanaman diserang hama, dan aplikasi dihentikan tujuh hari sebelum perlakuan untuk menghindari pengaruh negatifnya terhadap *L. lecanii*.

### Infestasi Telur Kepik Coklat

Telur kepik coklat diperoleh dengan cara pembiakan nimfa dan imago di laboratorium. Kelompok nimfa dan imago yang diperoleh dari lahan pertanian kedelai di Kebun Percobaan (KP) Kendalpayak, Malang, diambil menggunakan jaring serangga, kemudian dipelihara dalam sangkar dan setiap hari diberi pakan kacang panjang yang sudah membentuk polong. Setiap dua hari, pakan diganti dengan kacang panjang yang masih segar. Pada bagian dinding sangkar diselipkan benang-benang untuk peletakan telur oleh imago. Pemeliharaan serangga kepik coklat dilakukan terus-menerus hingga produksi telur mencapai 5.000 butir setiap hari.

Pada umur 35 HST, tanaman kedelai diinfestasi dengan telur kepik coklat berumur kurang satu hari atau yang baru diletakkan imago. Jumlah telur kepik coklat yang diinfestasikan adalah 25 butir per tanaman yang ditempelkan pada satu helai daun permukaan bagian atas menggunakan gom arab dengan harapan terpapar oleh sinar matahari.

### Aplikasi *L. lecanii*

Cendawan *L. lecanii* ditumbuhkan pada media PDA dalam cawan Petri berdiameter 9 cm. Pada umur 21 HSI, biakan cendawan di dalam setiap cawan ditambah air steril 10 ml, kemudian konidia dikerok menggunakan kuas halus. Suspensi konidia dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer* kemudian dikocok menggunakan *vortex* selama 60 detik dan dihitung hingga memperoleh kerapatan konidia  $10^8$ /ml. Suspensi konidia dicampur dengan minyak nabati sesuai dengan konsentrasi pada masing-masing perlakuan. Suspensi konidia dikocok menggunakan *shaker* selama 30 menit, kemudian diaplikasikan pada telur yang sudah diinfestasi di permukaan daun kedelai. Aplikasi suspensi konidia dengan dosis 2 ml per tanaman disemprotkan pada permukaan daun dengan harapan mengenai seluruh permukaan telur. Tanaman selanjutnya disungkup menggunakan sangkar kawat dan ditutup dengan kain trikot yang tembus sinar matahari.

Variabel yang diamati adalah (1) jumlah telur yang tidak menetas setelah terinfeksi *L. lecanii*, (2) jumlah nimfa II yang mampu bertahan hidup menjadi imago, (3) jumlah tusukan pada biji kedelai akibat tusukan stilet kepik coklat yang diambil secara acak dari 20 biji, kemudian direndam ke dalam larutan asam fushin

0,25%, (4) jumlah polong hampa dan polong isi yang terbentuk, dan (5) bobot kering biji per tanaman. Pengamatan perkecambah konidia *L. lecanii* setelah penambahan minyak nabati pada korion telur kepik coklat menggunakan mikroskop elektron, merk Jeol (Japan) tipe JSM-5310LV.

**Analisis Data**

Semua data yang diperoleh dianalisis menggunakan program MINITAB 14. Apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf nyata  $\alpha = 0,05$ .

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Pengaruh Penambahan Minyak Nabati terhadap Perkembangan *L. lecanii***

**Diameter Koloni *L. lecanii***

Jenis dan konsentrasi minyak nabati mampu meningkatkan pertumbuhan *L. lecanii* (Tabel 1). Semakin tinggi konsentrasi minyak nabati semakin bertambah diameter koloni *L. lecanii*. Pada umur 48 jam setelah inokulasi (JSI), rata-rata diameter koloni sudah mencapai di atas 20 mm. Diameter koloni terlebar terjadi pada perlakuan minyak kacang tanah dengan konsentrasi 10 ml, mencapai 27,2 mm. Minyak kedelai dengan konsentrasi 10 ml/l juga menghasilkan diameter koloni *L. lecanii* lebih lebar dibandingkan dengan konsentrasi lebih rendah. Diameter koloni tersebut

mencapai 27 mm dan tidak berbeda nyata dengan diameter koloni pada perlakuan minyak kacang tanah dengan konsentrasi 10 ml. Diameter koloni terendah terjadi pada perlakuan minyak kelapa dengan konsentrasi 2 ml/l, hanya 22,7 mm.

Pada umur 72 JSI, diameter koloni bertambah lebar dari masing-masing perlakuan, terutama pada perlakuan minyak kacang tanah dan kedelai pada konsentrasi 10 ml, yaitu di atas 36 mm, kecuali pada perlakuan minyak kelapa. Pada umur 120 JSI, diameter koloni pada perlakuan minyak kacang tanah tetap lebih lebar. Diameter koloni pada perlakuan minyak kedelai dengan konsentrasi 10 dan 5 ml/l berturut-turut 82,2 mm dan 82 mm. Pada perlakuan minyak kelapa, diameter koloni lebih rendah dibandingkan dengan minyak kacang tanah maupun kedelai pada konsentrasi yang sama.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penambahan minyak kacang tanah dan minyak kedelai secara *in vitro* dapat meningkatkan pertumbuhan koloni *L. lecanii* terutama dengan konsentrasi 10 ml/l. Diduga kandungan asam lemak tidak jenuh yang terdapat pada kedua jenis minyak nabati tersebut lebih tinggi dibanding minyak kelapa. Asam lemak tidak jenuh yang terkandung pada minyak kacang tanah dan kedelai masing-masing 82% dan 80%, sedangkan pada minyak kelapa hanya 10% (Mercola 2008; Luthana 2008). Namun, minyak kelapa memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi hingga mencapai 90%. Asam lemak jenuh yang tinggi mengakibatkan minyak lebih stabil sehingga sulit terhidrolisis (Luthana 2008).

Asam lemak merupakan sumber nitrogen yang baik bagi pertumbuhan mikroba yang biasanya dirombak oleh enzim lipase dari cendawan entomopatogen

Tabel 1. Rata-rata diameter koloni *L. lecanii* pada media yang mengandung beberapa minyak nabati. Rumah kaca Balitkabi, Malang 2008.

Jenis minyak nabati	Konsentrasi (ml/l)	Rata-rata diameter koloni <i>L. lecanii</i> pada ke ...n JSI (mm) ± SD*			
		48	72	90	120
Kacang tanah	0	18,2 ± 1,9 e	21,9 ± 2,4 d	22,5 ± 2,1 d	24,7 ± 2,1 f
	2	24,7 ± 1,1 c	32,8 ± 3,1 c	54,3 ± 1,3 bc	82,0 ± 3,4 b
	5	25,5 ± 2,8 bc	32,9 ± 3,1 c	54,5 ± 2,2 bc	83,4 ± 1,6 a
	10	27,2 ± 1,6 a	36,6 ± 2,3 a	64,4 ± 2,1 a	83,9 ± 2,2 a
Kedelai	0	18,1 ± 1,9 e	21,8 ± 0,6 d	22,3 ± 1,2 d	24,1 ± 2,4 f
	2	25,3 ± 1,7 bc	34,5 ± 1,0 b	50,9 ± 2,4 c	81,0 ± 1,5 c
	5	25,8 ± 3,0 b	34,8 ± 0,9 b	50,7 ± 1,3 c	82,0 ± 1,6 b
	10	27,0 ± 1,9 a	36,6 ± 1,3 a	59,6 ± 1,7 ab	82,2 ± 1,2 b
Kelapa	0	18,3 ± 2,4 e	21,2 ± 2,1 d	22,7 ± 2,9 d	24,9 ± 1,9 f
	2	22,7 ± 3,0 d	32,3 ± 1,5 c	50,8 ± 2,2 c	68,0 ± 0,6 e
	5	25,0 ± 0,9 bc	32,8 ± 1,3 c	50,7 ± 1,7 c	79,1 ± 1,3 d
	10	25,8 ± 1,4 b	34,3 ± 2,1 b	57,4 ± 1,0 abc	79,1 ± 1,2 d
DMRT (0.05)		0,9	0,8	6,8	0,7
KK (%)		2,0	1,3	7,1	2,5

\* JSI (jam setelah inokulasi).

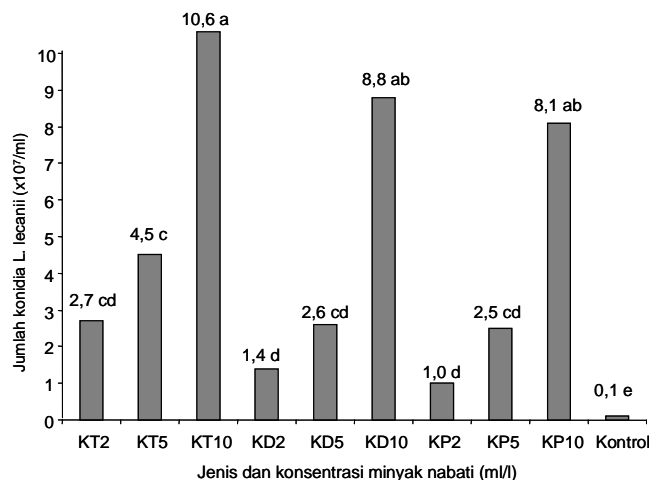
Angka selanjur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 DMRT

(Cliquet & Jackson 2005). Tahapan perombakan ini dimulai dengan dekomposisi gliserida menjadi gliserol dan asam lemak. Perombakan gliserol dapat menghasilkan sekitar 20 macam senyawa yang termasuk golongan aldehida, asam organik, dan senyawa lainnya (Ketaren 2005). Baik gliserol maupun asam lemak merupakan sumber energi yang baik bagi pertumbuhan maupun perkembangan mikroba.

### Jumlah Konidia *L. lecanii*

Konsentrasi dan jenis minyak nabati selain berpengaruh terhadap pertumbuhan juga berpengaruh terhadap perkembangan *L. lecanii*. Hal ini tampak dari jumlah konidia yang terbentuk lebih banyak pada masing-masing konsentrasi dan masing-masing jenis minyak nabati. Penambahan minyak kacang tanah dengan konsentrasi 10 ml/l mampu memproduksi konidia hingga mencapai  $10,6 \times 10^7$ /ml (Gambar 1). Pada konsentrasi 10 ml minyak kedelai dan minyak kelapa tidak berbeda nyata dengan perlakuan minyak kacang tanah meskipun jumlah konidia yang dihasilkan lebih sedikit. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua jenis minyak nabati tersebut pada konsentrasi 10 ml/l mempunyai peluang yang sama dengan efikasi minyak kacang tanah.

Konsentrasi 2 dan 5 ml/l masih memungkinkan digunakan sebagai bahan pelindung untuk aplikasi *L. lecanii* di lapangan meskipun kontribusinya tidak sebesar pada konsentrasi 10 ml/l. Hal ini ditunjukkan



Gambar 1. Jumlah konidia *L. lecanii* yang diproduksi pada media yang mengandung minyak nabati. KT2 (Kacang Tanah 2 ml/l), KT5 (Kacang Tanah 5 ml/l), KT10 (Kacang Tanah 10 ml/l), KD2 (Kedelai 2 ml/l), KD5 (Kedelai 5 ml/l), KD10 (Kedelai 10 ml/l), KP2 (Kelapa 2 ml/l), KP5 (Kelapa 5 ml/l), dan KP10 (Kelapa 10 ml/l). Rumah kaca Balitkabi, Malang, 2008.

oleh jumlah konidia yang diproduksi di atas  $1 \times 10^7$ /ml. Jumlah konidia tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan *L. lecanii* yang ditumbuhkan pada media *water agar* (WA), yaitu hanya  $0,1 \times 10^7$  konidia/ml. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penambahan minyak nabati selain mampu melindungi konidia dari faktor abiotik, khususnya sinar matahari, juga berfungsi sebagai sumber energi dalam pembentukan konidia.

Penambahan minyak ke dalam media tumbuh akan meningkatkan kandungan nutrisi pada media tersebut. Nutrisi yang optimal pada media tumbuh akan meningkatkan kuantitas maupun kualitas konidia (Cliquet & Jackson 2005; Safavi *et al.* 2007). Kualitas konidia yang baik akan meningkatkan virulensi cendawan dalam membunuh serangga inang (Rangel *et al.* 2008; Chelvi *et al.* 2010). Semakin banyak jumlah konidia yang diproduksi semakin efektif cendawan sebagai agens hayati dalam proses diseminasi sehingga epizooti cepat terjadi (Klinger *et al.* 2006). Hal ini disebabkan karena konidia merupakan organ infeksi yang digunakan untuk membunuh inang (Sugimoto *et al.* 2003). Selain itu, konidia juga merupakan organ penyebaran patogen ke serangga inang baru.

### Daya Kecambah Konidia *L. lecanii*

Daya kecambah konidia dapat digunakan sebagai tolak ukur potensi cendawan entomopatogen sebagai agens hayati. Semakin tinggi daya kecambah konidia, semakin besar peluang konidia menginfeksi serangga inang. Penambahan minyak nabati ke dalam media tumbuh mempengaruhi daya kecambah konidia *L. lecanii*. Daya kecambah terbanyak terjadi pada perlakuan media minyak kacang tanah dan minyak kedelai pada konsentrasi 10 ml/l, masing-masing 97,3% dan 97,2% meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan media yang mengandung minyak kacang tanah cenderung menghasilkan daya kecambah konidia lebih tinggi dibandingkan dengan jenis minyak lainnya. Daya kecambah konidia *L. lecanii* dengan penambahan minyak kelapa cenderung lebih rendah.

Daya kecambah konidia pada perlakuan kontrol (tanpa minyak) rata-rata di atas 95%. Namun apabila diaplikasikan di lapangan belum menjamin daya kecambah yang tinggi dapat menginfeksi inang. Hal ini disebabkan karena suspensi konidia belum dibekali dengan bahan pelindung sehingga masih memungkinkan terjadi dehidrasi akibat cekaman abiotik. Isolat yang digunakan pada penelitian ini adalah LI-JTM11, yang memiliki virulensi tertinggi di antara isolat lainnya. Dengan demikian, secara fisiologis isolat tersebut memang memiliki karakter yang lebih baik dibanding isolat lainnya. Menurut Loc & Chi (2007) ada korelasi

antara kecepatan kecambah konidia terhadap infektivitas cendawan dalam membunuh larva ulat kubis *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa aplikasi semua jenis minyak nabati pada semua konsentrasi memberikan daya kecambah di atas 95% setelah konidia diinkubasi di dalam air selama 12 jam. Kandungan nutrisi yang terdapat dalam minyak menjadikan kualitas media semakin baik sehingga konidia yang dihasilkan memiliki figur yang baik pula. Hal serupa juga dilaporkan oleh Rangel *et al.* (2006), daya kecambah konidia cendawan *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) meningkat lebih tinggi jika diformulasikan dengan minyak. Broetto (2010) dan Su *et al.* (2010) menyatakan bahwa perkecambahan konidia *M. anisopliae* dan *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) lebih tinggi pada media yang dimodifikasi dengan penambahan gliserol dibandingkan dengan kontrol. Tingkat perkecambahan konidia dengan penambahan gliserol meningkat hingga mencapai 92%, sedangkan tanpa gliserol hanya 47% setelah diinkubasi selama 14 jam.

Minyak tersusun dari trigliserida, gliserol, dan senyawa asam lemak yang banyak mengandung sumber karbon dan nitrogen. Karbon merupakan sumber utama dalam pembentukan konidia dan perkecambahan (Xu *et al.* 2010). Menurut Jackson dan Jaronski (2009), tingkat perkecambahan konidia dipacu oleh senyawa asam lemak tidak jenuh, terutama asam linoleat. Kandungan asam linoleat yang terdapat pada

minyak kacang tanah, kedelai, dan kelapa berturut-turut 21,8%, 12%, dan 2,5% (Christie 2002; Ketaren 2005).

Gliserol dapat digunakan sebagai salah satu sumber energi bagi pertumbuhan dan perkembangan konidia yang mengalami cekaman lingkungan, terutama pada daerah kering (Broetto *et al.* 2010; Su *et al.* 2010). Hal ini disebabkan karena gliserol tersusun dari gula dan karbohidrat (Sutanto 2008). Gliserol juga dapat mempertahankan kelembaban konidia karena mampu mengabsorpsi sinar matahari yang mendera sehingga konidia terlindung dari kekeringan (Rangel *et al.* 2005; Rangel *et al.* 2008).

### Pengaruh Penambahan Minyak Nabati terhadap Persistensi Konidia *L. lecanii*

#### Jumlah Koloni *L. lecanii*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konidia *L. lecanii* di pertanaman kedelai mampu bertahan lebih lama dengan penambahan minyak nabati (Tabel 2). Tanpa minyak nabati, cendawan hanya mampu bertahan satu hari.

Pada 1 HSA, persistensi *L. lecanii* tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan minyak kedelai pada konsentrasi 10 ml/l (135,7 koloni). Persistensi *L. lecanii* yang terendah terjadi pada perlakuan minyak kelapa pada konsentrasi 2 ml/l (76 koloni). Pada konsentrasi 2 ml/l, peran minyak nabati terhadap persistensi cendawan sangat lemah dibandingkan dengan

Tabel 2. Jumlah koloni *L. lecanii* yang tumbuh pada media PDA setelah konidia dipaparkan pada permukaan daun kedelai dengan penambahan minyak nabati. Rumah kaca Balitkabi, Malang 2008.

Perlakuan	Jumlah koloni <i>L. lecanii</i> yang tumbuh setelah dipaparkan di pertanaman kedelai pada ke..n (HSA)*							
	0	1	2	3	4	5	6	7
KT0	315,0 a	21,2 e	1,0 e	0,0 de	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KT2	315,0 a	90,7 bcd	35,3 d	19,7 cd	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KT5	314,0 a	104,0 bcd	41,0 cd	28,0 bc	14,7 cd	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KT10	315,0 a	119,3 ab	74,3 a	56,7 a	43,0 b	41,0 b	37,0 a	15,0 a
KD0	316,0 a	26,0 e	0,0 e	0,0 de	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KD2	315,0 a	80,3 cd	31,3 d	20,3 cd	8,0 d	3,0 d	0,0 c	0,0 c
KD5	317,0 a	111,7 abc	67,7 ab	39,0 b	16,0 c	5,7 d	0,0 c	0,0 c
KD10	316,0 a	135,7 a	67,7 ab	64,7 a	57,3 a	53,0 a	44,0 a	18,0 a
KP0	316,0 a	25,0 e	0,0 e	0,0 de	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KP2	314,0 a	76,0 d	54,7 bc	10,7 d	0,0 e	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KP5	316,0 a	98,7 bcd	63,7 ab	37,3 b	11,0 cd	0,0 d	0,0 c	0,0 c
KP10	315,0 a	106,0 abcd	65,7 ab	54,0 a	41,7 b	29,3 c	15,0 b	8,0 b
DMRT (0,05)	5,8	28,6	13,7	14,7	6,9	11,0	19,2	7,5
KK (%)	0,3	16,1	14,4	23,7	18,9	23,5	30,6	29,7

\* Data ditransformasi ke arc sin  $\bar{O}x$  sebelum uji sidik ragam

Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 DMRT

HSA (hari setelah aplikasi), KT2 (kacang tanah 2 ml/l), KT5 (kacang tanah 5 ml/l), KT10 (kacang tanah 10 ml/l), KD2 (kedelai 2 ml/l), KD5 (kedelai 5 ml/l), KD10 (kedelai 10 ml/l), KP2 (kelapa 2 ml/l), KP5 (kelapa 5 ml/l), dan KP10 (kelapa 10 ml/l),

konsentrasi yang lebih tinggi. Pada 2 HSA, jumlah *L. lecanii* terbanyak mencapai 74,3 koloni yang terjadi pada perlakuan minyak kacang tanah 10 ml/l. Jumlah koloni tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan minyak kedelai dan kelapa pada konsentrasi 5 maupun 10 ml/l. Tanpa penambahan minyak nabati (*L. lecanii*) sudah tidak ditemukan konidia yang mampu tumbuh. Dengan kata lain, *L. lecanii* tidak mampu bertahan lebih dari satu hari tanpa bahan pelindung.

Persistensi konidia *L. lecanii* hingga 5 HSA semakin rendah, koloni *L. lecanii* hanya ditemukan pada perlakuan penambahan minyak dengan konsentrasi 10 ml/l. Meskipun penambahan minyak kedelai pada konsentrasi 2 dan 5 ml masih ditemukan koloni yang tumbuh namun jumlahnya sangat rendah dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Dengan bertambahnya hari, jumlah koloni yang tumbuh semakin menurun, bahkan setelah lima hari hanya pada konsentrasi 10 ml/l yang mampu melindungi konidia di pertanaman. Pada konsentrasi 10 ml/l, minyak kacang tanah dan kedelai lebih baik dalam mempertahankan persistensi *L. lecanii* dibandingkan dengan minyak kelapa. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penambahan minyak nabati kacang tanah, kedelai, dan kelapa dengan konsentrasi 10 ml/l menambah daya persistensi konidia *L. lecanii* di pertanaman kedelai hingga tujuh hari. Oleh karena itu, aplikasi berikutnya dianjurkan setelah tujuh hari. Namun, aplikasi secara berulang-ulang tidak menunggu sampai hingga tujuh hari juga diperlukan apabila populasi maupun struktur populasi hama sangat tinggi di lapangan.

Menurut Michalaki *et al.* (2006), aplikasi cendawan *P. fumosoroseus* dianjurkan tiga kali secara berturut-turut selama tiga hari untuk menekan struktur populasi hama dari ordo Lepidoptera yang kurang seragam. Hal ini disebabkan karena larva yang dikendalikan banyak mengalami ganti kulit. Selain itu, persistensi cendawan sangat rendah karena tidak mampu bertahan lama

tanpa bahan pelindung. Meskipun penambahan minyak nabati dengan konsentrasi tinggi semakin efektif dalam mempertahankan persistensi konidia di pertanaman, namun perlu diuji lebih lanjut batasan maksimal konsentrasi yang dibutuhkan. Dikawatirkan, konsentrasi yang lebih tinggi akan meninggalkan residu yang berdampak buruk seperti fitotoksisitas terhadap organ tanaman, meskipun dampak negatif aplikasi minyak nabati terhadap tanaman belum dilaporkan (Bandani & Esmailpour 2006).

**Pengaruh Penambahan Minyak Nabati terhadap Efikasi Cendawan *L. lecanii* dalam Mengendalikan Telur Kepik Coklat**

**Jumlah Telur yang Menetas**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah telur kepik coklat yang mampu menetas dipengaruhi oleh jenis maupun konsentrasi minyak nabati yang digunakan sebagai bahan pelindung. Semakin tinggi konsentrasi minyak nabati semakin sedikit jumlah telur yang menetas, sehingga semakin efektif mempertahankan keefektifan cendawan. Pada konsentrasi (2 ml/l), jumlah telur yang menetas lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi 5 maupun 10 ml/l. Jumlah telur yang menetas terbanyak hingga mencapai 28,7% terjadi pada konsentrasi 2 ml/l dengan penambahan minyak kelapa (Tabel 3). Namun perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan minyak kedelai maupun minyak kacang tanah pada konsentrasi yang sama.

Pada konsentrasi 5 ml/l, jumlah telur yang menetas pada ketiga jenis minyak nabati lebih rendah dibanding konsentrasi 2 ml/l. Pada konsentrasi 10 ml, jumlah telur yang menetas terendah terjadi pada perlakuan penambahan minyak kacang tanah, hanya sekitar 20%. Pada perlakuan kontrol (*L. lecanii*), jumlah telur yang menetas mencapai 64%. Hal ini disebabkan karena konidia yang diaplikasikan pada telur tidak memperoleh

Tabel 3. Jumlah telur kepik coklat yang menetas setelah terinfeksi *L. lecanii* dengan penambahan minyak nabati. Rumah kaca Balitkabi, Malang 2008.

Jenis minyak nabati	Konsentrasi minyak nabati (ml/l)			
	0 (kontrol)	2	5	10
	Jumlah telur kepik coklat yang menetas (%)			
Kacang tanah	63,0 ± 7,1 d	25,5 ± 3,8 ab	25,1 ± 4,5 ab	20,7 ± 4,4 c
Kedelai	61,7 ± 11,9 d	26,1 ± 6,9 ab	25,4 ± 5,2 ab	22,3 ± 6,5 bc
Kelapa	64,7 ± 9,4 d	28,7 ± 9,4 a	25,1 ± 9,8 abc	23,3 ± 5,1 bc
KK (%)		8,9		
DMRT (0.05)		4,2		

\* Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 DMRT

bahan pelindung berupa minyak sehingga konidia banyak yang tidak mampu berkecambah. Dengan demikian, peluang konidia untuk menginfeksi telur juga rendah. Minyak yang ditambahkan pada suspensi konidia akan membentuk lapisan biofilm, sehingga konidia terhindar dari cekaman sinar matahari. Hal ini disebabkan sinar diabsorpsi oleh lapisan biofilm pada konidia (Rama *et al.* 2007; Sahayaraj *et al.* 2011). Pengamatan secara mikroskopis mengindikasikan bahwa suspensi konidia yang diaplikasikan pada telur tanpa bahan pelindung minyak, jumlah konidia yang berkecambah hanya sedikit setelah satu hari dipaparkan di alam terbuka.

Jumlah telur menetas terendah terjadi pada perlakuan minyak kacang tanah konsentrasi 10 ml/l. Hal ini diduga karena kandungan protein yang terdapat pada minyak tersebut lebih tinggi dibanding minyak kedelai maupun kelapa, sehingga mempengaruhi daya emulsi suspensi konidia dengan minyak. Biji kacang-kacangan memiliki kandungan protein lebih tinggi dibanding minyak kelapa (Sutanto 2008). Di dalam protein minyak kacang-kacangan terkandung senyawa lesitin dan kasein yang keduanya merupakan bahan pengemulsi yang baik (Daniel 2004; Lawhon 2008). Semakin tinggi kandungan protein pada minyak nabati semakin besar peluang konidia yang dapat teremulsi dengan minyak. Dengan demikian, konidia yang dapat dilindungi oleh minyak sebagai bahan pelindung semakin meningkat sehingga konidia yang terpapar di alam terbuka lebih toleran. Batta (2003) melaporkan bahwa minyak nabati yang berasal dari kacang-kacangan, khususnya kedelai, lebih baik daya emulsi dan viskositasnya dibandingkan dengan minyak kelapa.

Dalam minyak kacang tanah terkandung asam lemak sekitar 46-52% dan protein 25-30% (Bender 2005). Minyak kedelai dan kelapa mengandung lemak masing-masing hanya 19% dan 34%. Di dalam lemak (trigliserida), setelah terhidrolisis akan menghasilkan tiga molekul asam lemak yang berantai panjang dan satu molekul gliserol. Gliserol merupakan salah satu senyawa yang mampu mengabsorpsi sinar matahari. Dengan gliserol, kelembaban konidia dapat dipertahankan akibat penambahan gliserol, sehingga konidia menjadi lebih cepat berkecambah dalam jumlah yang lebih banyak.

Di dalam gliserol terkandung senyawa gula (Khomsan 2005; Sutanto 2008). Hasil penelitian Shi dan Zang (2006) menunjukkan bahwa penambahan larutan gula 2% meningkatkan pembentukan kecambah *L. lecanii* hingga 99% dalam waktu hanya 10 jam. Selain mempercepat pembentukan tabung kecambah, gliserol juga meningkatkan ukuran tabung kecambah yang terbentuk. Ukuran kecambah cendawan *L. lecanii* mencapai 45  $\mu\text{m}$  pada suspensi gliserol, sedangkan pada

air tanpa gliserol hanya 4  $\mu\text{m}$  (Chavao & Kadam 2010). Peningkatan pembentukan kecambah akan mempercepat proses penetrasi dan infeksi pada serangga inang sehingga epizooti patogen lebih cepat terjadi (Fatiha *et al.* 2007; Lawrence & Khan 2008).

Hasil penelitian ini mendukung Tarocco *et al.* (2005) bahwa bahan pelindung dari minyak nabati yang mengandung gliserol mampu mempertahankan efikasi cendawan *V. lecanii* dalam mengendalikan *Myzus persicae*. Nyam *et al.* (2008) juga melaporkan bahwa bahan pelindung dari minyak kacang-kacangan lebih baik dalam meningkatkan efikasi *V. lecanii* untuk mengendalikan aphid. Fenomena tersebut ditandai dengan jumlah anak yang lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol. Peranan gliserol sebagai bahan utama pelindung sudah banyak diperdagangkan. Trigliserida dan asam lemak yang dikandung oleh minyak kacang-kacangan merupakan sumber utama karbon dan nitrogen bagi mikroorganisme yang memiliki perangkat enzim lipase. Karbon dan nitrogen merupakan salah satu sumber nutrisi yang dibutuhkan cendawan untuk memproduksi konidia dan meningkatkan virulensi (Gao *et al.* 2006; Adejoye *et al.* 2006).

Minyak kacang tanah lebih baik dibandingkan minyak kedelai maupun minyak kelapa. Minyak dari biji kacang-kacangan, khususnya kacang tanah, banyak mengandung kasein selain lesitin yang keduanya berfungsi dalam mempersatukan dua senyawa yang berbeda sifat polaritas yaitu minyak (*non-polar*) dan air (*polar*). Semakin banyak kandungan kasein semakin besar pula peluang konidia yang dapat terlapsi oleh senyawa minyak. Kasein adalah asam amino yang dapat dirombak oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon dan energi (Xie *et al.* 2010). Hasil penelitian Ganga-Visalakshy *et al.* (2005) menunjukkan bahwa minyak bunga matahari dan biji mimba sangat efektif mempertahankan efikasi *L. lecanii* dibandingkan dengan minyak kacang tanah maupun kelapa. Perbedaan yang terjadi diduga karena varietas kacang tanah yang digunakan berbeda sehingga kandungan lemak yang terdapat pada minyak tersebut juga berbeda. Menurut Young *et al.* (2007) dan Shin *et al.* (2010), kandungan minyak maupun asam lemak kacang tanah ditentukan oleh varietas, lokasi, musim tanam, dan kelembaban tanah (irigasi).

#### **Jumlah Luka Akibat Tusukan Stilet Kepik Coklat pada Biji Kedelai**

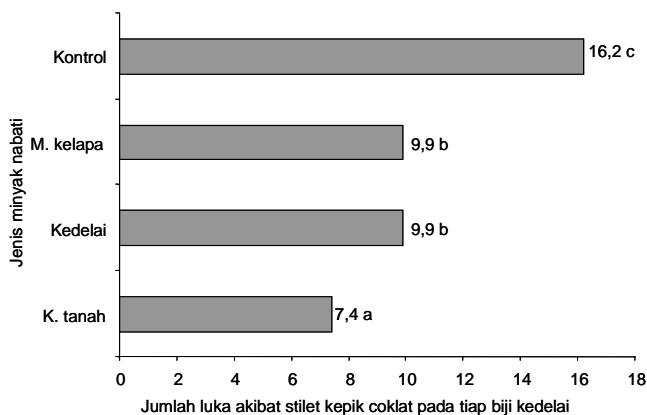
Penambahan minyak nabati bertujuan untuk melindungi konidia pada waktu aplikasi agar terhindar dari faktor abiotik sehingga proses penetrasi dan infeksi cendawan berjalan dengan baik. Hasil sidik ragam menunjukkan



tidak terdapat interaksi antara jenis dan konsentrasi minyak nabati terhadap keefektifan *L. lecanii* dalam menekan jumlah luka akibat tusukan stilet kepik coklat pada tiap biji. Namun jenis minyak dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kerusakan biji akibat kepik coklat.

Penambahan minyak kacang tanah mampu menekan jumlah luka pada biji sebesar 53,9% dibandingkan dengan tanpa penggunaan minyak (Gambar 2). Perlakuan minyak kedelai dan minyak kelapa tidak berbeda nyata dalam menekan jumlah luka pada biji, masing-masing 38,6% dan 38,4%. Pada perlakuan tanpa penambahan minyak nabati (*L. lecanii*), jumlah luka pada tiap biji rata-rata 16,2 tusukan. Jumlah luka pada tiap biji pada perlakuan minyak kacang tanah dalam penelitian ini lebih banyak dibandingkan dengan uji pendahuluan yang dilakukan Prayogo (2006), hanya 3,3 tusukan. Perbedaan jumlah luka tersebut diduga karena perbedaan suhu pada saat penelitian berlangsung. Pada tahun 2006, rata-rata suhu terendah 17,7°C dan tertinggi 30,4°C, sedangkan pada tahun 2008 suhu terendah 19,6°C dan tertinggi 32°C. Selain itu, kelembaban pada kedua musim tersebut juga berbeda meskipun tidak mencolok.

Peningkatan suhu sangat berpengaruh terhadap perubahan iklim mikro bagi konidia cendawan entomopatogen, hal ini mengakibatkan kandungan poliol dan trehalosa dalam konidia menurun (Hallsworth & Magan 2008; Kim et al. 2010). Poliol dan trehalosa merupakan senyawa yang terdapat di dalam konidia yang berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan stimulus dalam percepatan perkecambahan konidia. Dengan demikian, secara langsung akan mempengaruhi kondisi iklim mikro bagi perkembangan konidia sehingga konidia di lapangan terganggu (Boyette et al. 2007). Peningkatan



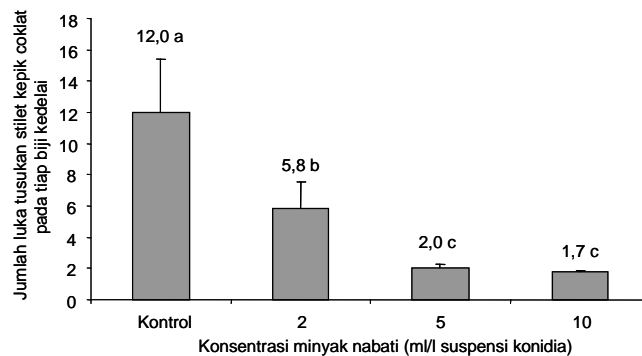
Gambar 2. Jumlah luka tusukan stilet kepik coklat pada biji kedelai setelah diaplikasi dengan *L. lecanii* yang ditambah dengan minyak nabati. Rumah kaca Balitkabi, Malang, 2008.

suhu yang terjadi dapat menyebabkan kerusakan sebagian besar konidia, sehingga kinerja *L. lecanii* menurun (Cuthbertson et al. 2005).

Hasil penelitian Prayogo et al. (2008) menunjukkan bahwa peningkatan suhu di atas 27°C menyebabkan pertumbuhan semua isolat *L. lecanii* menurun, bahkan cendawan mengalami stagnasi pada suhu 32°C. Kejadian ini mengindikasikan bahwa peningkatan suhu menjadi faktor pembatas dalam pengembangan agens hayati. Lazzarini et al. (2006) menambahkan bahwa selain suhu, kelembaban juga menjadi syarat utama bagi keberhasilan pengendalian hama *Triatoma infestan* (Hemiptera: Reduviidae) dengan menggunakan cendawan *M. anisopliae* dan *B. bassiana*. Oleh karena itu, untuk mempertahankan efikasi cendawan *L. lecanii* maka konidia yang akan diaplikasikan harus diformulasikan dengan bahan pelindung yang toleran terhadap sinar UV (Lee et al. 2006).

Semakin tinggi konsentrasi minyak nabati yang ditambahkan ke dalam suspensi konidia *L. lecanii* semakin efektif menekan jumlah luka tusukan kepik coklat, meskipun pada konsentrasi 5 ml/l tidak menampakkan perbedaan yang nyata apabila konsentrasi dinaikkan menjadi 10 ml/l (Gambar 3). Namun, jumlah luka tusukan pada tiap biji lebih rendah pada perlakuan penambahan minyak nabati dengan konsentrasi tinggi. Dengan demikian, konsentrasi minyak nabati 10 ml/l memberikan hasil yang lebih baik untuk menekan jumlah luka tusukan kepik coklat pada biji kedelai. Semakin banyak jumlah luka tusukan pada biji semakin tinggi tingkat kerusakan sehingga kualitas maupun kuantitas biji menjadi rendah.

Apabila tusukan stilet kepik coklat mencapai bagian dalam biji akan menyebabkan daya tumbuh biji menurun. Bahkan luka yang disebabkan kepik coklat pada waktu pengisian biji akan menyebabkan tidak



Gambar 3. Jumlah luka tusukan stilet kepik coklat pada tiap kedelai setelah diaplikasi dengan *L. lecanii* yang ditambah dengan minyak nabati pada konsentrasi berbeda. Rumah kaca Balitkabi, Malang, 2008.

terbentuknya biji sehingga polong menjadi hampa. Oleh karena itu, kepik coklat harus dikendalikan, jika dibiarkan akan menyebabkan kehilangan hasil hingga 80%. Hasil penelitian ini memberikan informasi baru bahwa pengendalian hama menggunakan agens hayati dengan cendawan entomopatogen masih memerlukan penelitian pendukung untuk mempertahankan efikasi cendawan di lapangan.

**Jumlah Polong Isi dan Polong Hampa**

Jumlah polong isi dan polong hampa dipengaruhi oleh interaksi antara jenis dan konsentrasi minyak nabati (Tabel 4). Penambahan ketiga jenis minyak nabati pada suspensi konidia *L. lecanii* dengan konsentrasi tertinggi menghasilkan jumlah polong isi lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi rendah. Rata-rata jumlah polong isi terbanyak mencapai 65,7 polong tiap tanaman terjadi pada perlakuan minyak kacang tanah dengan konsentrasi 10 ml/l, meskipun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 2 maupun 5 ml/l. Pada perlakuan kontrol (*L. lecanii*), jumlah polong isi hanya 31,1 buah.

Penambahan konsentrasi minyak kelapa meningkatkan jumlah polong isi. Hal ini disebabkan karena jumlah kepik coklat yang berkembang menjadi serangga dewasa semakin terbatas sehingga kerusakan polong menjadi rendah. Pada perlakuan minyak kedelai, kenaikan konsentrasi dari 5 ml/l menjadi 10 ml/l justru menurunkan jumlah polong isi dari 61,3 menjadi 57,3 buah meskipun tidak berbeda nyata.

Tabel 4. Pengaruh jenis dan konsentrasi minyak nabati terhadap keefektifan *L. lecanii* dalam mempertahankan jumlah polong isi dan menekan terbentuknya polong hampa pada tanaman. Rumah kasa Balitkabi, Malang, 2008.

Jenis minyak nabati	Konsentrasi (ml/l)	Jumlah polong isi/tanaman (± SD)	Jumlah polong hampa/tanaman (± SD)
Kacang tanah	0	31,1 ± 9,2 c	11,3 ± 3,2 a
	2	55,0 ± 5,8 ab	5,2 ± 0,1 bc
	5	60,3 ± 11,1 a	5,3 ± 1,1 bc
	10	65,7 ± 10,9 a	2,3 ± 0,6 c
Kedelai	0	33,8 ± 10,4 c	14,7 ± 3,9 a
	2	57,0 ± 9,9 ab	5,0 ± 3,9 bc
	5	61,3 ± 10,8 a	5,8 ± 2,7 bc
	10	57,3 ± 4,8 ab	7,0 ± 2,45 b
Kelapa	0	29,1 ± 9,1 c	12,1 ± 4,6 a
	2	53,3 ± 7,8 ab	5,8 ± 4,5 bc
	5	44,7 ± 4,9 b	6,5 ± 4,3 bc
	10	59,7 ± 11,1 a	4,7 ± 3,9 bc
KK (%)		10,2	29,6
DMRT (0,05)		14,7	4,5

\* Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 DMRT

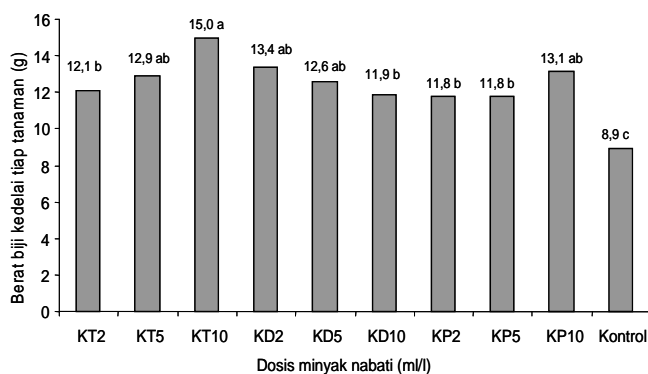
Pada Tabel 4 juga terlihat bahwa peningkatan konsentrasi minyak nabati cenderung menekan jumlah polong hampa. Kejadian tersebut terlihat pada perlakuan minyak kacang tanah maupun minyak kelapa. Namun jumlah polong hampa dengan penambahan minyak kedelai makin bertambah. Konsentrasi minyak kedelai 10 ml/l menambah jumlah polong hampa menjadi 7 polong tiap tanaman. Jumlah polong hampa terendah terjadi pada perlakuan minyak nabati kacang tanah pada konsentrasi 10 ml/l (rata-rata 2,3 buah). Rendahnya jumlah polong hampa pada perlakuan minyak kacang tanah dengan konsentrasi tinggi disebabkan karena jumlah telur yang mampu menetas juga lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Dengan demikian, jumlah imago yang terbentuk juga lebih sedikit sehingga peluang polong akan terserang serangga akibat tusukan stiletnya juga rendah.

**Bobot Biji Kedelai**

Bobot kering biji kedelai dipengaruhi oleh interaksi antara jenis dan konsentrasi minyak nabati yang ditambahkan pada suspensi konidia *L. lecanii* (Gambar 4). Semakin tinggi konsentrasi minyak nabati semakin meningkat bobot kering. Peningkatan konsentrasi minyak kacang tanah dari 2 ml/l menjadi 5 ml/l mampu meningkatkan bobot biji hingga 6,4%. Jika konsentrasi ditingkatkan hingga 10 ml/l maka bobot biji yang dapat diselamatkan mencapai 13,6%. Penambahan minyak kelapa juga mengindikasikan hal serupa, namun perlakuan minyak kedelai menurunkan bobot biji. Peningkatan konsentrasi dari 2 ml/l hingga 5 ml/l menurunkan bobot biji 5,9%.

Peningkatan konsentrasi dari 5 ml/l menjadi 10 ml/l menurunkan bobot biji 5,5% meskipun tidak berbeda nyata. Fenomena tersebut mengindikasikan konsentrasi 2 ml/l sudah cukup untuk mempertahankan efikasi cendawan dalam menekan kerusakan akibat kepik coklat. Hal ini dilihat dari jumlah polong isi yang terbentuk lebih sedikit dan jumlah polong hampa lebih banyak sehingga berpengaruh terhadap hasil. Fakta lain menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut cendawan masih mampu bertahan hingga 4 hari setelah aplikasi, meskipun jumlah telur yang menetas lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

Pada Gambar 4 tampak bobot biji terbanyak dicapai pada perlakuan minyak kacang tanah dengan konsentrasi 10 ml/l (15 g). Bobot biji terendah dicapai pada perlakuan kontrol (*L. lecanii*), hanya 8,9 g. Dengan demikian, minyak kacang tanah mampu mempertahankan efikasi cendawan sebesar 40,5%. Minyak kelapa mampu mempertahankan keefektifan cendawan 32,2%. Dilihat



Gambar 4. Bobot biji kedelai yang dihasilkan setelah mendapat perlakuan aplikasi *L. lecanii* yang ditambah dengan minyak nabati pada berbagai tingkat konsentrasi. KT2 (kacang tanah 2 ml/l), KT5 (kacang tanah 5 ml/l), KT10 (kacang tanah 10 ml/l), KD2 (kedelai 2 ml/l), KD5 (kedelai 5 ml/l), KD10 (kedelai 10 ml/l), KP2 (kelapa 2 ml/l), KP5 (kelapa 5 ml/l), dan KP10 (kelapa 10 ml/l),

dari potensinya maka minyak nabati mempunyai peluang besar untuk dapat digunakan sebagai bahan pelindung cendawan entomopatogen untuk mengendalikan hama. Dengan demikian, penurunan infektivitas cendawan entomopatogen akibat faktor abiotik, khususnya sinar matahari, dapat diatasi. Verhaar *et al.* (2004) melaporkan minyak nabati kacang tanah cukup efektif untuk mempertahankan kelembaban konidia *V. lecanii* dari pengaruh negatif sinar matahari yang akan merusak. Meskipun pemakaian bahan pelindung dianjurkan untuk mempertahankan persistensi cendawan dari pengaruh sinar UV (Ganga-Vislakshy *et al.* 2005; Silva *et al.* 2006), tetapi pemilihan strain yang memiliki toleransi tinggi masih tetap perlu dikedepankan untuk meningkatkan kinerja agens hayati tersebut (Vu *et al.* 2007; Park & Kim 2010).

### KESIMPULAN

1. Penambahan minyak nabati mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan *L. lecanii* secara *in vitro*.
2. Penambahan minyak nabati 10 ml/l menyebabkan telur kepik coklat yang tidak menetas mencapai 80%, sehingga peluang serangga kepik coklat untuk hidup rendah, dan polong yang dapat diselamatkan meningkat.
3. Minyak nabati kacang tanah lebih baik dibandingkan minyak kedelai maupun minyak kelapa dalam melindungi persistensi konidia *L. lecanii*. Minyak nabati kedelai dan kelapa dapat digunakan sebagai alternatif pengganti apabila minyak kacang tanah sulit diperoleh.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adejoye, O.D., B.C. Adebayo-Tayo, A.A. Ogunjobi, O.A. Olaoye, and F.I. Fadahunsi. 2006. Effect of carbon, nitrogen, and mineral sources on growth of *Pleurotus florida*, a Nigeria edible mushroom. *Afric J Biotechnol* 5(14):1355-1359.
- Arifin, M. dan W. Tengkanu. 2008. Tingkat kerusakan ekonomi hama kepik coklat pada kedelai. *J Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 27(1):47-54.
- Bandani, A.R., N. Esmailpour. 2006. Oil formulation of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against sunn pest *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutelleridae). *Commun Agric Appl Biol Sci* 71(2):443-448.
- Batta, Y.A. 2003. Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Crop Protect* 22(2):415-422.
- Begum, M., H.D. Hocking, and D. Miskelly. 2009. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UV-C). *Int J Food Microbiol* 31(1):74-77.
- Bender, D.A. 2005. *Arachis oil: A dictionary of food and nutrition*. Oxford University Press. <http://www.encyclopedia.com/doc/1039-arachisoil.html> [24 Mar 2008].
- Boyette, C.D., R.E. Hoagland, and M.A. Weaver. 2007. Effect of row spacing on biological control of sicklepod (*Sema obtusifolia*) with *Colletotrichum gleosporioides*. *Biocontr Sci and Technol* 17(9):957-967.
- Broetto, L., W.O.B. da-Silva, A.M. Bailao, C.D. A. Soares, M.H. Vainstein, and A. Schrank. 2010. Glyceraldelhyde-3-phosphate dehydrogenase of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* all surface localization and role in host adhesion. *FEMS Microbiol. Lett.* 312(2):101-109.
- Cavao, B.P. and J.R. Kadam. 2010. Effect of liquid formulations of *Pochonia (Verticillium lecanii)* (Zimm.) Viegas on viability and virulence against mealy bug. *Ann of Plant Protect Sci* 18(1):71-79.
- Cazorla, D., P.Y.A. Morales, and E. Maria. 2007. Influence of NaCl salinity and pH on *in vitro* sporulation of an autochthonous isolate of *Beauveria bassiana*. *Croizatia* (2):137-144.
- Chelvi, C.T., W.R. Thilagaraj, and R. Kandasamy. 2010. Laboratory culture and virulence of *Beauveria brongniarti* (Metsch.) isolates on sugarcane white grub *Holotrichia serata* F. (Coleoptera: Scarabidae). *J. of Biopest* 31(1):177-179.
- Christie, W.W. 2002. The analysis of conjugated linoleic acid. *Lipid Technol.* 12:64-66.
- Cliquet, S. and M.A. Jackson. 2005. Impact of carbon and nitrogen nutrition on the quality yield and composition of blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *J of Industrial Microbiol & Biotechnol* 32(5):204-210.
- Cuthbertson, A.G.S., J.P. North, and K.F.A. Walters. 2005. Effect of temperature and host plant leaf morphology on the efficacy of two entomopathogen biocontrol agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). *Bull. Entomol. Res.* 95:321-327.
- Daniel, K.T. 2004. Soy lecithin from sludge to profit. Wise traditions in food, farming and the healing arts. <http://Lecithin/Lecithin-growth.html> [2 Des 2008].
- Diaz, B.M., M. Oggerin, C.C. Lopez-Lastra, V. Rubio, and A. Fereres. 2009. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphid species. *Bio Contr* 54(6):825-835.
- Fatiha, L., S. Ali, S. Ren, and M. Afzal. 2007. Biological characteristic and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on eggplant. *Pak Entomol* 29(2): 63-72.

- Fernandez, E.K.K., D.E.N. Rangel, A.M.L. Morales, V.R.E.P. Bittencourt, and D.W. Roberts. 2007. Variability in tolerance to UV B radiation among *Beauveria* spp. isolates. *J. of Invertebr. Pathol.* 96(3):237-243.
- Gan, Z., J. Yang, N. Tao, L. Liang, Q. Mi, J. Li, and K.Q. Zhang. 2007. Cloning of the gene *Lecanicillium psalliotae* chitinase *Lpchil* and identification of its potential role in the biocontrol of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45(3):98-102.
- Ganga-Visalakshy, P.N., A. Krishnamoorthy, and A. Manoj-Kumar. 2005. Effect of plant oils and adhesive stickers on the mycelia growth and condition of *Verticillium lecanii*, a potential entomopathogen. *Phytopar* 33(4):367-369.
- Gao, L., M.H. Sun, X.Z. Liu, and Y.S. Che. 2006. Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycol. Res.* 111(1):87-92.
- Hallsworth, J.E. and N. Magan. 2008. Effect of KCl concentration on accumulation of acyclic sugar alcohols and trehalose in conidia on three entomopathogenic fungi. *Lett in Appl Microbiol.* 18(1):8-11.
- Jackson, M.A. and S.T. Jaronksi. 2009. Production microsclerotia of the fungal entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil inhabiting insects. *Mycological Res.* 113:842-850.
- Ketaren, S. 2005. Minyak dan lemak pangan. Penerbit Universitas Indonesia. Ed.1. 316 p.
- Khomsan, A. 2005. Dibalik gurihnya minyak goreng. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology and Engineering, Bogor Agricultural University. <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/1002/20/1001.htm>. [21 Mei 2009].
- Kim, J.J., M.S. Goettel, and D.R. Gillespie. 2007. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Contr.* 40(3):327-332.
- Kim, J.J., M.S. Goettel, and D.R. Gillespie. 2008. Evaluation of *Lecanicillium longisporum* Vertalec for simultaneous suppression of cotton aphid, *Aphis gossypii* and cucumber powdery mildew *Sphaerotheca fuliginea* on potted cucumbers. *Biol. Contr.* 45(3):404-409.
- Kim, J.S., M. Skinner, and B.L. Parker. 2010. Influence of whey permeate and millet as substrates on thermotolerance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* conidia during storage. *Biocontr. Sci. Technol.* 20:859-863.
- Klinger, E., E. Groden, and F. Drummond. 2006. *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadaver and adults of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say.). *Environ. Entomol.* 35:992-1000.
- Lawhon, C. 2008. Lecithin supplements effectiveness in weight loss. The health psychology home page. [http://www.Lecithin/LECITHIN\\_SUPPLEMENT.html](http://www.Lecithin/LECITHIN_SUPPLEMENT.html) [2 Des 2008].
- Loc, N.T. and V.T.B. Chi. 2007. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against diamondback moth *Plutella xylostella*. *Omonrice* 15:86-93.
- Lawrence, A. and A. Khan. 2009. Variation in germination and growth rates of two isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Deuteromycotina: Hyphomycetes) at different temperatures and their virulence to *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Brucidae). *J. Entomol.* 6:102-108.
- Lazzarini, G.M.J., L.F.N. Rocha, and C. Luz. 2006. Impact of moisture on invitro germination of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, and their activity on *Triatoma infestans*. *Mycol Res* 110(4):485-492.
- Lee, J., S. Lerche, H. Sermann, and C. Buttner. 2006. *Verticillium lecanii* spore formulation using UV protectan and wetting agent and the biocontrol of cotton Aphids. *Mycopathol.* 161(2):1041-1045.
- Lerche, S., H. Sermann, and C. Buttner. 2009. Persistence of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* (Zare & Gams) under outdoor conditions. [http://www.shoenmuth.de/Posterdok/Posterdokumentation-PM2009/Pamplona\\_2009/SandraPaper\\_10BC\\_Vorrage.pdf](http://www.shoenmuth.de/Posterdok/Posterdokumentation-PM2009/Pamplona_2009/SandraPaper_10BC_Vorrage.pdf) [8 Mar 2011].
- Luthana, Y.K. 2008. Minyak kelapa:Komposisi asam lemak. <http://www.food%20entertaining.html> [28 Mar 2009]
- Mercola, J. 2008. Virgin coconut oil – Certified organic from tropical tradition. <http://www.coconutoil-online.com/> [14 Mar 2008].
- Michalaki, M.P., S.G. Athanassiou, T. Steenberg, and C.T.H. Buchelas. 2006. Effect of *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise.) Brown and Smith (*Ascomycota:Hypocreales*) alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Jacquelin (Coleoptera:Tenebrionidae) and *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera:Pyralidae). *Biocontr* 40(2):280-286.
- Nascimento, E., S.H. da-Silva, E. d Reis Marques, D.W. Roberts, and G.U.L. Braga. 2010. Quantification of cyclobutane pyrimidine dimers induced by UV-B radiation in conidia of the *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Metarhizium acridum*, and *M. robertsii*. *Photochem & Photo biol.* 20(10):1-8.
- Nyam, K.L., C.P. Tim, O.M. Lai, K. Long, and Y.B. C. Man. 2009. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oil. *LWT Food Sci Technol* 42:1396-1403.
- Park, H. and K. Kim. 2010. Selection of *Lecanicillium* strains with high virulence against developmental stages of *Bemisia tabaci*. *Mycol* 38(3):210-214.
- Perfetti, D.J.C., P.M. Moreno, and M.E.C. Quintero. 2007. Effects of thermal, saniline and pH gradients on in vitro germination of a native isolat of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., pathogenic to *Rhodnius prolixus* and *Triatoma maculata*. *Revista Cientifica* 17(6):627-631.
- Prayogo, Y. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera:Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell (Araneida:Oxyopidae). [tesis]. Bogor. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Prayogo, Y. 2006. Pertumbuhan dan perkembangan cendawan *V. lecanii* pada berbagai jenis media alami. Laporan Penelitian Tahun 2006. [siap terbit].
- Prayogo, Y., T. Santoso, U. Kartosuwondo, L.I. Sudirman, dan Marwoto. 2008. Pengaruh perbedaan temperatur terhadap pertumbuhan dan perkembangan beberapa isolat cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams). *Agritek* 17(7):1679-1693.
- Raman, G.V. M. S. Rao, B. Venkateswarlu, and G. Srimannarayana. 2007. Field evaluation of custard apple extracts in groundnut crop against *Spodoptera litura*. *Indian J Plant Protect* 35(1):64-67.
- Rahmatzadeh, S. and J. Kara. 2007. Influence of ultraviolet C radiation on some growth parameters of mycorrhizal wheat plants. *Pak J. of Biol. Sci.* 10(23):4275-4278.
- Rangel, D.E.N., G.U.L. Braga, A.J. Anderson, D.W. Roberts. 2005. Influence of growth environment on tolerance to UV B radiation, germination speed and morphology of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* conidia. *J of Invertebr Pathol* 90(1):55-58.

- Rangel, D.E.N., A.J. Anderson, and D.W. Roberts. 2006. Growth of *Metarhizium anisopliae* on non-preferred carbon sources yields conidia with increased UV B tolerance. *J of Invertebr Pathol* 93(2):127-134.
- Rangel, D.E.N., A.J. Anderson, and D.W. Roberts. 2008. Evaluation physical and nutritional stress during mycelial growth as inducers of tolerance to heat and UV B radiation in *Metarhizium anisopliae* conidia. *Mycol Res* 112(11):1362-1372.
- Safavi, S.A., F.A. Shah, A.K. Pakdel, G.R. Rosulian, A.R. Bandani, and T.M. Butt. 2007. Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiol Lett* 270(1):116-123.
- Sahayaraj, K., S. K.R. Namasivayam, and J.M. Rathl. 2011. Compatibility of entomopathogenic fungi with extracts of plants and commercial botanicals. *Afric J of Biotechnol* 10(6):933-936.
- Samodra, H. and Y. Ibrahim. 2006. Effects of dust formulations of three entomopathogenic fungal isolates against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera:Curculionidae) in Rice grain. *J Bios* 17(1):1-7.
- Shi, Z., M. Li, and L. Zang. 2006. Effects of nutrients of germination of *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) conidia and infection of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). *Biol Contr. Sci. and Technol.* 16(6):599-606.
- Shin, E.C., R.B. Pegg, R.D. Phillips, and R.R. Eitenmiller. 2010. Commercial runner peanut cultivars in the USA: Fatty acid composition. *Europ J of Lipid Sci and Technol* 112(2):195-207.
- Silva, R.Z.D., P.M.O.J. Neves, P.H. Santoro, and E.S.A. Cavaguchi. 2006. Effect of agrochemicals based on vegetable and mineral oil on the viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, and *Paecilomyces* sp. Bainer. *Bioassay* 1(1):667-674.
- Sugimoto, M., M. Koike, N. Hiyana, and N. Nagao. 2003. Genetic, morphological and virulence characterization of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *J Invertebr Pathol* 82(3):176-187.
- Su, K.J., M. Skimer, and B.L. Parker. 2010. Plant oils for improving thermotolerance of *Beauveria bassiana*. *J Microbiol Biotechnol* 20(9):1348-1350.
- Sun, M.H. and X.Z. Liu. 2006. Carbon requirements of some nematophagous, entomopathogenic, and mycoparasitic Hyphomycetes as fungal biocontrol agents. *Mycopathol* 161(5):295-305.
- Sutanto, A. 2008. Minyak: Jenis dan komposisi. NTUST Indonesian Student Association. <http://www/NTUST%20Indonesian%20Association20-%20minyak%20Goreng.html> [15 Jan 2008].
- Tarroco, F., R.E. Lecuona, A.S. Couto, and J.A. Arcas. 2005. Optimization of erythritol and glycerol accumulation in conidia of *Beauveria bassiana* by solid-state fermentation, using response surface methodology. *Appl Microbiol Biotechnol* 68:481-488.
- Valero, A., M. Begum, S.L. Leong, A.D. Hocking, A.J. Ramos, V. Sanchis, and S. Marin. 2007. Effect of germicidal UV C light on fungi isolated from grapes and raisins. *Lett Appl Microbiol* 45(3):238-243.
- Vu, V.H., S.I. Hong, and K. Kim. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *J Bio Sci Bio Eng* 104:498-505.
- Verhaar, M.A., T. Hijwegen, and J.C. Zadoks. 2004. Improvement of the efficacy of *Verticillium lecanii* used in biocontrol of *Sphaerotheca fuliginea* by addition of oil formulation. *Biol Contr* 44(1):73-87.
- Wang, L., J. Huang, M. You, X. Guan, and B. Liu. 2007. Toxicity and feeding deterrence of crude toxin extracts of *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae). *Pest Manag Sci* 63(4):381-387.
- Young, C.T., S.L. Dwivedi, D.J. Bertioli, J.H. Crouch, J.F. Valls, H.D. Upadhyaya, A. Favero, M. Moretzsahn, and A.H. Paterson. 2007. Fatty acid composition of Spanish peanut oils as influenced by planting location, soil moisture conditions, variety, and season. *J The American Oil Chemists Society* 51(7):312-315.
- Xie, Y., W. Liu, J. Xue, G. Peng, Z. Han, and Y. Zhang. 2010. Integument of scale insects and the invasion of the pathogenic fungus *Lecanicillium lecanii*. *Entomol Hellenica* 19:66-75.
- Xu, X., Y. Yu, and Y. Shi. 2010. Evaluation of inert and organic carriers for *Verticillium lecanii* spore production in solid-state fermentation. *Biotechnol Lett.* <http://www.springerlink.com/content/uuq21397qj7034h54/> [9 Mar 2011].