

ISOLASI ENTOMOPATOGEN LAHAN GAMBUT DI KALIMANTAN BARAT DAN DETERMINASI VIRULENSINYA SEBAGAI MATERIAL BIOINSEKTISIDA

Tris Haris Ramadhan dan Kukuh Hernowo

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura
Jl. Jenderal Ahmad Yani, Pontianak 78124 Telp. (0561) 740191

ABSTRAK

Entomopatogen merupakan salah satu unsur penting dalam pengendalian hayati dan akan semakin baik jika dikembangkan secara khusus melalui eksplorasi dan pengujian di skala laboratorium. Diharapkan dari penelitian didapatkan entomopatogen lahan gambut yang potensial. Entomopatogen diisolasi dengan cara mengambil cuplikan tanah dan dipanaskan selama 60 menit pada suhu 85 °C. Sedangkan jamur patogen diisolasi dengan teknik mengencerkan cuplikan tanah lalu diinkubasi dalam media agar. Pengujian terhadap serangga di laboratorium dengan metode celup pakan pada media yang mengandung entomopatogen. Kematian serangga akibat perlakuan diamati sampai ulat uji menjadi imago. Hasil pengujian didapatkan tingkat kematian ulat yang diperlakukan dengan bakteri entomopatogen sebesar 33-40 persen sedangkan dengan perlakuan jamur entomopatogen kematian ulat 20-33,3 persen. Kematian pada perlakuan dengan bakteri terjadi pada fase larva-pupa sedangkan perlakuan jamur pada fase larva. Kematian serangga uji terjadi setelah perlakuan 6-18 hari. Isolat bakteri dan jamur entomopatogen dari lahan gambut memberikan harapan untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida

Kata kunci: Entomopatogen, isolasi, *Spodoptera litura*

ABSTRACT

Entomopathogenic is one of the important element in biological control and will get better if developed specifically through the exploration and testing in a laboratory scale. Expected from the study found entomopathogenic potential of peatlands. Entomopathogenic isolated by taking soil samples and heated for 60 minutes at a temperature of 85 °C. While the fungal pathogen was isolated with the technique by diluting soil and incubated in the agarose medium. Tests on insects in the laboratory was conducted by the method of food dyes on media containing entomopathogenic. Insect mortality due to treatment were observed until the caterpillar becomes adult. Test results obtained caterpillar mortality rates that were treated with bacterial entomopathogen by 33-40 percent while the entomopathogenic fungi treatment caterpillar mortality from 20 to 33.3 percent. Mortality in the treatment with bacteria occurs in larval-pupal phase whereas fungal treatment on the larval phase. Insect mortality occurred 6-18 days after treatment. Entomopathogenic bacteria and fungal isolates from peatlands provide hope for development as bio-insecticide

Key words: Entomopathogenic, isolation, Spodoptera litura

PENDAHULUAN

Beberapa pathogen diketahui menyerang serangga hama dan telah berhasil diisolasi, diformulasi dan diproduksi dalam skala industri. Salah satu jenis yang saat ini mendominasi ialah *Bacillus thuringiensis* (Bt) yang merupakan 90-95% jenis yang dikomersilkan dan dipakai petani di berbagai

negara (Bahagiawati 2002). Beberapa jenis cendawan entomopatogen juga diketahui menyerang serangga dan telah dimanfaatkan untuk mengendalikan hama tanaman. Cendawan-cendawan tersebut antara lain: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces* sp., *Verticillium* sp., dan *Spicaria* sp. (Widayat & Rayati 1993).

Pemanfaatan patogen serangga merupakan salah satu alternatif pengendalian hama non-kimiawi. Selain terbukti efektif terhadap hama sasaran, juga tidak mengakibatkan resistensi hama, dan aman bagi organisme bukan sasaran, termasuk mamalia (Mandal *et al.* 2003). Dari sisi efektivitas dan dampaknya terhadap lingkungan, prospek patogen serangga sebagai substitusi insektisida kimia sintetis cukup baik. Selain itu, pengendalian hama dengan patogen serangga cenderung lebih efisien dibanding pengendalian dengan insektisida kimia sintetis (Indrayani *et al.* 1989; Mandal *et al.* 2003).

Terdapat setidaknya enam kelompok mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai bioinsektisida, yaitu cendawan, bakteri, virus, nematoda, protozoa, dan rickettsia (Tanada & Kaya 1993). Dari sekian banyak pathogen serangga yang telah diketahui, *Bacillus thuringiensis* (Bt), merupakan jenis yang paling banyak dikaji. Secara komersial, jenis ini telah diformulasikan dan menguasai 90-95% dari bioinsektisida yang beredar dipasaran dan dipakai oleh petani di berbagai Negara (Bahagiawati 2002).

Kalimantan Barat yang sebagian besar wilayahnya merupakan dataran rendah memiliki areal tanah gambut yang cukup luas. Mengingat wilayah ini dilewati garis khatulistiwa, maka kondisi iklimnya cukup unik; ditandai dengan adanya suhu harian yang relatif tinggi dan dengan karakter curah hujan yang relatif tinggi pula. Kondisi geologis lahan gambut dan kondisi klimatis setempat yang unik tersebut diyakini sangat besar pengaruhnya terhadap karakteristik biota yang ada; termasuk didalamnya pengaruhnya terhadap patogen-patogen yang ada; tidak terkecuali patogen yang menyerang serangga atau yang sering disebut entomopatogen. Jenis-jenis entomopatogen yang ada di daerah ini mungkin saja tidak jauh berbeda dengan jenis yang ditemukan di lokasi lain. Namun demikian, dengan karakteristik faktor fisik setempat yang khas tidak tertutup kemungkinan untuk terjadinya strain yang berbeda dengan ekspresi atau tingkat virulensi yang berbeda pula. Dalam kaitannya dengan usaha pengembangan pemanfaatan entomopatogen spesifik lahan gambut sebagai material bioinsektisida, maka perlu dilakukan

kajian yang komprehensif terkait keragaman jenis, virulensi, spektrum inang, dan potensi entomopatogen yang ditemukan untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Isolasi Cendawan dari Tanah

Tanah diambil dari kedua lokasi pertanaman dengan kedalaman kurang lebih 10 cm beserta sisa-sisa tanaman, kemudian dicampur hingga homogen untuk mendapatkan patogen serangga yang ada dalam tanah. Tanah ditimbang 1 g kemudian dilarutkan dengan 9 ml air di dalam tabung reaksi. Larutan tanah diambil 1 ml dengan mikro pipet, kemudian dibuat seri pengenceran bertingkat di dalam tabung reaksi hingga 10^{-4} . Dari masing-masing seri pengenceran diambil 1 ml yang sebelumnya dikocok menggunakan vortex selama 30 detik, kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri steril yang diisi media PDA 10 ml untuk menumbuhkan patogen. Setelah koloni cendawan terbentuk (7 HSI) dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan cendawan diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan kunci determinasi menurut Samson *et al.* (1988).

Koleksi dan Isolasi *B. thuringiensis* dari Tanah

B. thuringiensis di koleksi dari lahan gambut yang terdiri dari tiga katagori yaitu lahan dengan tanaman sayuran brassicae, lahan tanaman jagung dan kacang-kacangan serta lahan gambut yang masih belum pernah digunakan sebagai areal pertanian. Diharapkan dari ketiga lahan tersebut akan didapatkan *B. thuringiensis* yang beragam daya patogenisitasnya terhadap serangga uji.

Teknik isolasi yang digunakan adalah dengan cara mengambil cuplikan tanah sebanyak satu sendok teh dan dimasukkan ke dalam botol kecil yang sudah steril. Untuk masing-masing lokasi diambil 50 titik sampel tanah yang berupa daerah cekungan atau di sekitar tanaman yang ada pada masing-masing lahan. Proses isolasi bakteri dilakukan dengan cara: tanah ditimbang 1 satu gram, lalu dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah aquades sampai volumenya 10 ml dan diaduk selama 5 menit sampai larut. Larutan dipindah

ke dalam tabung reaksi lain dan dipanaskan pada temperatur 65° C selama 30 menit. Dilakukan pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} dengan cara mengambil 2 ml cairan lalu dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 18 ml 0,85% NaCl, ini merupakan pengenceran 10x. Kemudian diambil 2 ml dan ditambahkan 18 ml 0,85% NaCl sampai pengenceran 10^{-5} . Larutan yang digunakan untuk mendapatkan koloni *B. thuringiensis* adalah yang 10^{-3} kemudian dikulturkan dalam media agar. Sebanyak 2 ml larutan 10^{-3} ditaburkan dalam cawan petri dan diratakan. Kultur disimpan selama 48 jam pada kondisi aseptik. Spora yang didapatkan dari kultur selanjutnya dimurnikan pada media agar yang baru. Setelah murni sediaan spora dipelihara pada media LB dalam agar miring.

Perbanyakan Serangga *Spodoptera litura*.

Larva *S. litura* yang dikumpulkan dari lapang dan dipelihara dalam stoples plastik yang bersih berventilasi kasa. Larva dipelihara di laboratorium dengan diberi pakan daun talas. Daun diganti setiap 2 hari. Larva yang sudah membentuk pupa dipindahkan ke dalam stoples lain yang seluruh dindingnya dilapisi kertas dan diletakkan kertas yang dilipat berbentuk kipas sebagai tempat ngengat meletakkan telur. Dalam wadah diletakkan kapas yang sudah direndam dalam larutan madu sebagai makanan ngengat. Imago yang telah kawin biasanya meletakkan kelompok telur di permukaan kertas. Telur tersebut dikumpulkan, dipindahkan ke stoples bersih, dan larva yang keluar akan dipergunakan dalam uji-uji selanjutnya

Uji efektifitas isolat

Setiap isolat yang diperoleh diuji efek mortalitasnya terhadap serangga uji *Spodoptera litura*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode oral, yaitu peracunan melalui jalur makanan. Untuk melakukan pengujian ini 10 ekor larva *S. litura* instar 2-3 diberi perlakuan makanan berupa daun kangkung yang diberi suspensi isolat patogen yang ditemukan. Pemberian suspensi dilakukan dengan cara pencelupan daun tersebut ke dalam suspensi isolat sampai seluruh permukaannya basah. Daun tersebut kemudian dikering anginkan. Setelah pelarutnya menguap, selanjutnya daun tersebut

diberikan pada larva uji selama 24 jam. Setelah 24 jam, makanan larva uji diganti dengan daun kacang panjang yang bebas isolat. Makanan diganti setiap hari sampai larva uji tersebut mati atau membentuk pupa. Kematian larva uji dinyatakan dengan persentase. Konsentrasi isolat yang diuji berkisar antara 85×10^5 - 65×10^{10} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Jenis Isolat dan Jumlah Entomopatogen dari Lahan Gambut

Hasil isolasi entomopatogen dari lahan gambut didapat 15 isolat bakteri dan 3 isolat jamur. Bakteri yang didapat 10 isolat dari isolasi tanah secara langsung, 3 isolat dari metode perangkap dengan menggunakan ulat hongkong (*Tenebriodes* sp) dan 2 isolat dari serangga mati yang didapat di lapangan. Sedangkan dua isolat jamur yang didapat semua berasal dari hasil metode perangkap. Hasil isolasi patogen dari tanah adalah a1 Pakis (a1 pakis 1, a1 pakis 2 dan a1 pakis 3) hasilnya didapat tiga isolat bakteri, a1 Jeruk (a1 jeruk 1, a1 jeruk 2 dan a1 jeruk 3) hasilnya didapat tiga isolat bakteri, a2 Pakis (a2 pakis 1, a2 pakis 2) didapat dua isolat bakteri dan a3 Cabe (a3 cabe1, a3 cabe 2) didapat dua isolat bakteri. Dari metode perangkap isolat yang didapatkan adalah: Pakis 3 (pakis 3 a, pakis 3 b) didapatkan dua isolate bakteri, Cabe 2 didapatkan 1 bakteri serta dua isolate dari ulat mati. Jamur yang didapatkan setelah diidentifikasi dapat dipastikan dari kelompok *Beauveria* sp, *Metarrizhium* sp dan satu isolate belum dapat diidentifikasi.

Karakter morfologi dan uji gram dari masing-masing bakteri yang didapat seperti terlihat pada Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi menunjukkan banyak bakteri yang ditemukan dengan bentuk koloni yang tidak teratur. Warna koloni bakteri yang didapat kebanyakan putih susu hanya tiga isolate yang berwarna kuning. Sementara dari uji gram yang dilakukan kebanyakan bakteri yang didapat bertipe gram negative hanya dua isolate yang bertipe gram positif. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri yang didapat bentuk selnya kebanyakan (> 50%) bertipe basil dan selebihnya berbentuk coccus.

Tabel 1. Karakter Morfologi dan Gram Bakteri Hasil Isolasi dari Tanah

Kode isolat	Ciri morfologi koloni bakteri				Hasil Uji Gram	Bentuk sel
	Warna	Tepi	Permukaan	Bentuk		
A1 pakis 1	Putih susu	Berombak	Cembung	Tidak teratur	- (negatif)	Coccus
A1 pakis 2	Putih susu	Berbelah	Timbul rata	Tidak teratur	- (negatif)	Basil
A1 pakis3	Kuning	Rata	Rata	Tidak teratur	+ (positif)	Basil
A1 jeruk 1	Putih susu	Berombak	Cembung	Tidak teratur	- (negatif)	Basil
A1 jeruk 2	Putih susu	Rata	Rata	Teratur	- (negatif)	Coccus
A1 jeruk 3	Putih susu	Berbenang	Rata	Tidak teratur	- (negatif)	Coccus
A2 pakis 1	Putih susu	Berbenang	Rata	Teratur	- (negatif)	Coccus
A2 pakis 2	Kuning	Rata	Rata	Teratur	+ (positif)	Basil
A3 cabe 1	Putih susu	Benang	Rata	Tidak teratur	- (negative)	Coccus
A3 cabe 2	Putih susu	Benang	Timbul rata	Tidak teratur	- (negatif)	Basil

Tabel 2. Pengujian Isolat Bakteri dan Jamur Pathogen terhadap *Spodoptera litura*

Kode isolat	Konsentrasi	Rentang waktu membunuh	Persentase kematian	Fase serangga mati
A1pakis 1	85x10 ⁵	8-18	40	larva-pupa
A3Cabe 1	90x10 ⁵	10-16	30	pupa
Cabe 2	65x10 ¹⁰	6-14	33	pupa
H2 B	55x10 ¹⁰	6-14	33	pupa
<i>Beauveria bassiana</i>	201x10 ⁵	11-16	23,3	larva
<i>Metarrizhium anisopliae</i>	195x10 ⁵	12-18	20	larva-pura
Kontrol	0	13	6,7	pupa

Pengujian Isolat Bakteri dan Jamur Entomopatogen

Hasil pengujian patogenesis bakteri dan jamur entomopatogen yang didapatkan dengan metode isolasi langsung contoh tanah maupun dengan metode perangkap didapatkan kemampuan membunuh masing-masing bakteri entomopatogen antara 30-40 persen sedangkan jamur patogen 20-23 persen. Rentang waktu kematian serangga uji akibat aplikasi masing-masing patogen berkisar antara 1-2 minggu dengan serangga uji yang mati terjadi pada fase larva dan pupa. Jika dilihat tingkat patogenesis antara bakteri dan jamur maka bakteri lebih baik daripada jamur, tetapi jika dilihat dari kecepatan membunuhnya maka jamur lebih baik dari bakteri, karena jamur mampu membunuh pada fase larva sedangkan bakteri hanya satu isolat yang mampu membunuh pada fase larva. Hasil pengujian isolat bakteri dan jamur pathogen terhadap ulat *Spodoptera litura* dapat dilihat pada Tabel2.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kematian serangga uji oleh entomopatogen dari kelompok bakteri dan jamur dalam rentang waktu yang hampir mirip, hanya saja untuk

kelompok bakteri seminggu setelah perlakuan sudah ada serangga yang mati tetapi untuk jamur ditemukan pada minggu ke dua. Secara umum entomopatogen tidak bekerja secara cepat seperti insektisida kimia, kebanyakan serangga uji akan mengalami kematian setelah beberapa hari perlakuan. Namun jika dibandingkan dari hasil beberapa penelitian yang pernah dilakukan, maka entomopatogen yang didapatkan termasuk berdaya kerja lambat, seperti yang didapatkan Ramadhan (1997), kelompok GV mampu membunuh ulat kentang dalam rentang waktu 4,5-6 hari, kemudian Tohidin *et al.* (1993) mendapatkan kematian walang sangit akibat perlakuan *Beauveria bassiana* sudah terjadi 5 hari setelah perlakuan namun puncak kematian pada 8 hari perlakuan. Kematian ulat akibat entomopatogen tidak seketika karena harus melewati proses fisiologis seperti masuknya partikel entomopatogen dalam haemolimp, kemudian setelah tertelan bakteri akan berkembang dalam usus serangga lalu melepas endotoksin, sedangkan jamur harus menumbuhkan spora dalam tubuh inangnya setelah spora dapat berkembang dalam tubuh

inang terjadilah proses kematian serangga uji (Steinhaus, 1949; Poinar and Thomas, 1982).

Hasil yang didapat dari pengujian patogenisitas merupakan informasi awal yang dapat digunakan untuk pengembangan entomopathogen dari lahan gambut. Dengan tingkat patogenisitas yang masih sangat rendah maka perlu penanganan khusus agar kemampuan masing-masing isolat dapat ditingkatkan baik melalui seleksi ulang atau pun dengan teknologi rekayasa. Namun, tingkat patogenisitas yang rendah jika digabungkan dengan peranan musuh alami lain di lapangan tentunya juga memberikan dampak positif dalam rangka pengendalian hama.

Pembahasan

Lahan gambut merupakan bagian terluas yang diusahakan petani sebagai lahan pertanian sayur dan buah di Kalimantan Barat khususnya Kota Pontianak. Lahan gambut merupakan salah satu ekosistem yang dapat menyediakan berbagai sumber isolat entomoptaogen khususnya dari kelompok bakteri dan jamur. Hasil isolasi bakteri yang membentuk spora dari lahan gambut telah didapatkan 15 isolat dan 3 isolat jamur. Isolat dari lahan gambut ini dapat dimanfaatkan sebagai isolat potensial yang perlu dikembangkan sebagai agensia pengendalian hayati dalam rangka memperbanyak pilihan terhadap agensia hayati untuk pengendalian hama tanaman. Dari 15 isolat bakteri yang berhasil diisolasi (Tabel 1), 4 isolat bakteri dan 2 isolat jamur telah dilakukan uji patogenisitasnya terhadap ulat *S. litura* dengan hasil seperti pada Table 2.

Tanah merupakan tempat yang paling banyak mengandung mikroorganisme dan beberapa di antaranya merupakan mikroorganisme yang bersifat pathogen bagi serangga. Biasanya mikroorganisme dari kelompok bakteri yang dapat diisolasi dari tanah dan berpotensi untuk mengendalikan serangga hama adalah dari golongan bakteri pembentuk spora. Jenis bakteri yang bersifat pathogen bagi serangga biasanya hidup secara saprofit di tanah dan sekali waktu jika menemukan inangnya yang rentan dapat menginfeksi sebagai parasit pada tubuh serangga (Coyne, 1999).

Tingkat kemampuan membunuh masing-masing isolat bakteri dan jamur tergolong rendah jika dibandingkan dengan apa yang pernah dilakukan oleh peneliti lain seperti Tohidin *et al.* (1993) yang mendapatkan *B. basssiana* mampu membunuh walang sangit sampai 97%, kemudian Sugiyarto (1991) mendapatkan Bt dari tanah di daerah Yogyakarta mampu membunuh nyamuk sampai 100 %,walaupun tidak semua isolat menghasilkan kematian yang sama besar. Banyak faktor yang mempengaruhi kemampuan membunuh entomopatogen seperti spesies entomopatogen, suhu, kelembaban, tanah tempat patogen hidup serta jenis serangga yang diujikan (Benz, 1987).

Hasil penelitian ini mendapatkan kecenderungan perilaku dan laju konsumsi makan serangga menjadi berkurang, larva yang diperlakukan cenderung tidak terlalu aktif jika dibandingkan dengan serangga kontrol. Laju konsumsi serangga uji pada daun yang diperlakukan dengan isolat entomopatogen terlihat jauh lebih rendah dibanding laju konsumsi pada kontrol. Rendahnya laju konsumsi dalam kasus penelitian ini sangat mungkin berimbas pada jumlah inokulum yang masuk kedalam tubuh serangga uji. Dengan jumlah inokulum tertelan yang tidak memadai, maka cukup masuk akal apabila serangga uji tersebut tidak mengalami akibat fatal. Selain itu, penelitian ini sekaligus mengkonfirmasi temuan Tanada dan Kaya, (1993) yang menyatakan bahwa infeksi entomopatogen dapat menurunkan aktivitas makan larva..Rendahnya laju konsumsi juga dibarengi dengan adanya perubahan perilaku dari serangga uji; dimana pada kelompok kontrol, serangga uji terlihat normal, aktif dan reaktif jika ada gangguan. Sementara itu serangga-serangga uji dari kelompok yang diberi perlakuan menunjukkan perilaku yang lebih pasif dan kurang reaktif terhadap gangguan. Hal tersebut memperlihatkan aktivitas entomopatogen dalam mempengaruhi proses biologi dari inangnya; dalam hal ini adalah perubahan aktivitas makan dan perilaku serangga uji. Poinar & Thomas (1982) menyatakan bahwa serangga yang terserang bakteri entomopatogen biasanya akan menunjukkan tanda-tanda awal berupa hilangnya selera makan, diare, kebocoran saluran pencernaan, muntah-muntah. Tahap

berikutnya, serangga akan menjadi lamban bergerak, kejang dan gerakannya tidak terkoordinasi yang diikuti dengan kelumpuhan dan kematian.

Kelompok entomopatogen dari golongan jamur seperti *M. anisopliae* mempunyai waktu paruh 14-275 hari di lahan pada kondisi suhu 25 °C dan kandungan air tanah 75%. Konidia jamur tidak terpengaruh oleh suhu yang dingin tetapi suhu yang terlalu panas dapat merusak viabilitas spora. Jamur yang disimpan pada suhu 55 °C selama sepuluh hari mengakibatkan konidia tidak dapat tumbuh. Sedangkan untuk *B. bassiana* kendala utama di lapangan adalah persaingan dengan *Penicilium* sp. yang dapat mengakibatkan populasi serta kemampuan patogenitasnya di lapangan akan menurun (Benz, 1987). Tanah dengan bahan organik yang tinggi merupakan tempat yang baik untuk pertumbuhan jamur entomopatogen dibandingkan tanah yang berspasir. Di tanah dengan bahan organik tinggi *B. bassiana* dan *M. anisopliae* mampu bertahan selama setahun setelah aplikasi, tetapi PH tanah yang terlalu masam mengakibatkan daya bunuh *M. anisopliae* terhadap *Cleoris punctiventris* menjadi berkurang.

SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian didapatkan 15 isolat bakteri dan 3 isolat jamur yang bersifat entomopatogen. Dari ciri morfologis bakteri dan hasil uji gram maka bakteri yang didapatkan di lokasi tanaman pakis mengindikasikan masuk kelompok *Bacillus thuringiensis*. Jamur pathogen yang didapatkan yaitu *Metarrizhium anisopliae* dan *Beauveria bassiana* dan isolat yang lain belum dapat teridentifikasi dengan baik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kematian serangga uji oleh bakteri lebih tinggi dari pada jamur. Perlakuan bakteri kematian antara 30-40 persen sedangkan perlakuan jamur hanya 20-30 persen. Sedangkan lama waktu membunuh masing-masing entomopatogen berkisar antara 6-18 hari. Akibat perlakuan daya makan serangga uji menjadi lebih rendah dibandingkan dengan serangga kontrol.

Saran

Hasil penelitian perlu dikembangkan ke arah penggunaan secara langsung di lapangan serta di uji daya persistensinya sehingga didapatkan data yang menyeluruh mengenai karakter entomopatogen yang dihasilkan. Untuk menjaga kelangsungan pathogen di lapangan maka perlu dilakukan penyuluhan di tingkat petani agar mengurangi penggunaan insektisida sintetik karena di lahan mereka sendiri sudah ada agens hayati yang hidup bebas di alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin AgroBio* 5: 21-28.
- Benz, G. 1987. Environment. Pp. 177-199. In Fuxa, James R and Y. Tanada. Epizootiology of insect diseases (eds.) Jon Wiley and Sons, Inc. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
- Coyne, MS. 1999. Introduction to Soil Microbiology. Delmar Cengage Learning. USA. 448P.
- Indrayani, IG.A.A., A.A.A Gothama, and F. Moscardi. 1989. Report on survey for pathogens of cotton pest in Indonesia. Proceedings on Biological Control of Pests in Tropical Agricultural Ecosystems. *Biotrop Spec. Publ.* 36: 151-156.
- Mandal, S.M.A., B.K. Mishra, and P.R. Mishra. 2003. Efficacy and economics of some biopesticides in managing *Helicoverpa armigera* (Hubner) on chickpea. *Annals of Plant Protection Sciences* 11: 201-203.
- Poinar, JPR. and Thomas, G.M. 1982. Diagnostic Manual for The Identification of Insect Pathogens. Plenum Press, New York. 184 p.
- Ramadhan, T.H., S. Mangoendiharjo, A. Pollet, E. Martono. 1987. Patogenisitas *Phthorimaea operculella* GV terhadap ulat penggerek umbi kentang. *Berkala penelitian pasca sarjana UGM* 10 : 227-236.

- Steinhaus .1949. Principles of Insect Pathology. Mcgraw Hill Book Co. Inc., New York. 757 p.
- Sugiyarto. 1991. Isolasi bakteri tanah pembentuk spora yang mampu membunuh larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* Say. Skripsi. Fakultas Biologi UGM. 54 p.
- Tanada, Y. and H.K. Kaya. 1993. Insect pathology. Academic Press, San Diego, California. 563p.
- Tohidin, A.T. Lisrianto, dan B.P. Machdar. 1993. Daya bunuh jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo)Vuillemin (Moniliales:Moniliacea) terhadap *Leptocoris acuta* Thunberg (Hemiptera:Alydidae) di rumah kaca. 135-144.In. E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (Eds.). Simposium Patologi Serangga I. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993.
- Widayat, W. dan D.J. Rayati. 1993. Hasil penelitian jamur entomopatogenik lokal dan prospek penggunaannya sebagai insektisida hayati. hlm. 61–74. Dalam E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (Eds.). Simposium Patologi Serangga I. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993.