

EFIKASI CENDAWAN ENTOMOPATOGEN *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) UNTUK PENGENDALIAN HAMA KEPIK COKLAT PADA KEDELAI

Yusmani Prayogo¹

ABSTRAK

Kepik coklat (*Riptortus linearis*) merupakan salah satu hama pengisap polong kedelai yang sangat penting karena mampu menyebabkan kehilangan hasil hingga mencapai 80%. Lebih dari 95% petani kedelai dalam mengendalikan hama tersebut hanya mengandalkan kemampuan dari insektisida kimia. *Lecanicillium lecanii* merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama kepek coklat. Cendawan ini bersifat kosmopolit sehingga mudah ditemukan di daerah tropis maupun subtropis dan mempunyai inang meliputi; ordo Orthoptera, Hemiptera, Homoptera, Thysanoptera, Hymenoptera, Coleoptera, dan Lepidoptera. Cendawan tumbuh pada suhu 15–30 °C namun suhu optimum terjadi pada suhu 25 °C. Kelebihan cendawan tersebut mampu menginfeksi semua stadia kepek coklat, baik stadia nimfa, imago maupun stadia telur. Efikasi cendawan *L. lecanii* terhadap kepek coklat nimfa instar I dan II lebih tinggi dibandingkan terhadap imago. Meskipun stadia nimfa dan imago juga dapat terinfeksi oleh cendawan namun mobilitas kedua stadia serangga tersebut cukup tinggi sehingga suspensi konidia cendawan yang diaplikasikan kurang efektif. Aplikasi cendawan *L. lecanii* pada stadia telur lebih efektif dan mampu menekan perkembangan populasi kepek coklat hingga di bawah ambang kendali karena hama sudah ditekan lebih awal sebelum terjadi peledakan. Stadia telur belum mampu merusak polong kedelai, dan stadia telur tidak dapat dikendalikan menggunakan insektisida kimia. Pengendalian telur kepek coklat menggunakan cendawan *L. lecanii* dianjurkan pada telur yang baru diletakkan oleh imago (0–1 hari) atau pertama kali *R. linearis* datang di pertanaman kedelai varietas Wilis yaitu terjadi pada umur 35 hari setelah tanam (HST). Ditinjau dari beberapa efikasi *L. lecanii* maka cendawan tersebut sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida dalam program pengelolaan hama terpadu kepek coklat.

Kata kunci: Telur, *R. linearis*, *L. lecanii*, konidia, kedelai

¹ Peneliti Hama dan Penyakit Balitkabi Malang Jalan Raya Kendalpayak km 8, Kotak Pos 66 Malang, 65101, email manik_galek@yahoo.com

ABSTRACT

Riptortus linearis is one of the most important soybean pod sucking bug that could cause crop losses up to 80%. More than 90% of the soybean farmers spray their crop using efficacy of chemical insecticide. *Lecanicillium lecanii* is one of the entomopathogenic fungi can be use to control *R. linearis*. As a cosmopolite fungus therefore easy were obtained widely in tropic or subtropic areas and has many host includes; Orthoptera, Hemiptera, Homoptera, Thysanoptera, Hymenoptera, Coleoptera, and Lepidoptera insect order respectively. These fungus grown on temperture 15–30 °C, however optimum temperature on 25 °C. The advantage of the fungi capable to infect all stage, either nymph, adult or egg. The efficacy of fungi to the nymph I and II more virulence than adult stage. Even though, the nymph and adult stages can be infected by fungi however the conidia suspension were applicated could not infective caused mobilization of both stage more active. The egg control by *L. lecanii* more effective and capable to pressure the pest population till under the economic threshold caused pest control by fungi were pressed before outbreak. The egg stage could not damage to the pod and it stage could not controlled by chemical insecticides. The pest control using *L. lecanii* could be suggested on newly oviposited egg (0–1 day) or at 35 day after planting on Wilis variety which is usually coincide with the insect arrival to soybean plantation. Several advantages of this entomopathogenic fungi expressing its high potential to develop and promote as biopesticide on integrated pest management (IPM) program of pod sucking bug.

Key words: Egg, *R. linearis*, *L. lecanii*, conidia, soybean.

PENDAHULUAN

Salah satu kendala dalam usaha peningkatan produksi kedelai di Indonesia adalah adanya serangan hama dan penyakit. Hama utama kedelai dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu hama perusak daun dan hama perusak polong. Telah diketahui ada dua jenis hama utama perusak polong, yaitu penggerek dan pengisap polong. *Riptortus linearis* F. (Hemiptera; Alydidae) atau kepek coklat merupakan salah satu jenis hama pengisap polong yang mampu menyebabkan

kehilangan hasil mencapai 80% jika tidak dilakukan usaha pengendalian (Tengkano *et al.* 1992). Hama tersebut ditemukan hampir di seluruh sentra produksi kedelai di Indonesia (Tengkano *et al.* 2006). Oleh karena hama tersebut memiliki kisaran inang yang cukup luas maka populasi kepik coklat di lapangan mampu bertahan sepanjang musim dan sulit dikendalikan. Pengendalian kepik coklat menggunakan insektisida kimia belum memperlihatkan hasil yang memuaskan. Hal ini disebabkan insektisida kimia hanya mampu membunuh stadia nimfa maupun imago. Sedangkan stadia telur masih mampu bertahan sehingga populasi di lapangan selalu tumpang tindih dan mengakibatkan perkembangan populasi hama terus meningkat.

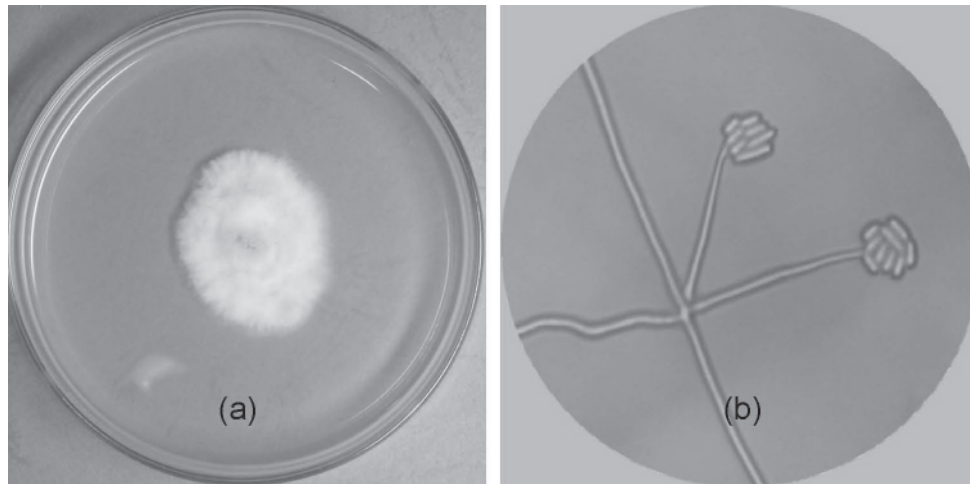
Aplikasi insektisida kimia pada stadia nimfa hingga imago dianggap kurang efektif karena mobilitas serangga cukup tinggi sehingga penyemprotan tidak mengenai hama sasaran. Oleh karena itu, mendorong petani untuk meningkatkan konsentrasi dan frekuensi aplikasi (Rauf *et al.* 1994). Meskipun petani sudah meningkatkan konsentrasi maupun frekuensi aplikasi insektisida, namun kenyataan di lapangan menunjukkan bahwa hama pengisap polong masih menjadi kendala utama dalam usaha peningkatan produksi. Beberapa laporan menunjukkan bahwa kasus seperti resistensi hama sasaran, resurgensi, terbunuhnya musuh alami dan serangga berguna lainnya, serta pencemaran lingkungan merupakan akibat dari penggunaan pestisida yang berlebihan dan kurang bijaksana (Kannan *et al.* 2004; Doggett *et al.* 2004; Karunaratne *et al.* 2007; Badji *et al.* 2007; Romero *et al.* 2007). Untuk menekan penggunaan insektisida kimia secara berlebihan dalam pengendalian hama, maka pengendalian biologis dengan memanfaatkan peran agens hayati perlu dikembangkan secara optimal.

Berbagai jenis agens hayati yang dapat dikembangkan untuk mengendalikan hama pengisap polong kedelai adalah predator, parasitoid, dan patogen serangga (Tengkano & Bedjo 2002; Prayogo 2009). Cendawan entomopatogen termasuk salah satu jenis patogen serangga yang cukup penting karena dapat menekan populasi hama di lapangan secara alamiah jika kondisi cukup optimal. Menurut Sopp *et al.* (2006), *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) merupakan cendawan yang prospektif untuk mengendalikan

beberapa jenis hama tanaman. Hasil penelitian Prayogo (2004) menunjukkan bahwa cendawan *L. lecanii* dapat menginfeksi stadia nimfa maupun imago kepik coklat. Efikasi *L. lecanii* ditandai dengan mortalitas nimfa kepik coklat hingga mencapai di atas 50% di laboratorium. Perkembangan lebih lanjut mengindikasikan bahwa *L. lecanii* juga mampu menginfeksi stadia telur kepik coklat (Prayogo *et al.* 2004; Prayogo 2009). Kolonisasi miselium *L. lecanii* pada telur kepik coklat mampu menggagalkan penetasan telur hingga 80%. Selain itu, telur-telur yang sudah terinfeksi *L. lecanii* dan mampu menetas selanjutnya nimfa yang terbentuk tidak dapat berganti kulit (*moulting*) sehingga akhirnya nimfa mati. Dengan demikian peluang kelangsungan hidup nimfa menjadi imago sangat terbatas sehingga perkembangan populasi hama untuk meledak (*out break*) mungkin sulit terjadi.

KARAKTERISTIK CENDAWAN *Lecanicillium lecanii*

Lecanicillium lecanii (Zare & Gams) merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang memiliki kisaran inang cukup luas dan bersifat kosmopolit sehingga mudah dijumpai di daerah tropis maupun subtropis. Menurut Kouvelis *et al.* (1999) *L. lecanii* pertama kali ditemukan oleh Zimmermann pada tahun 1898 pada hama buah kopi di pulau Jawa. Pada waktu itu cendawan tersebut diberi nama *Cephalosporium lecanii*. Pada tahun 1939, Viegas mengubah nama menjadi *Verticillium lecanii* berdasarkan studi kisaran inang (Kouvelis *et al.* 1999). Didasarkan pada pengamatan lebih lanjut terhadap morfologi dan analisis molekuler, cendawan tersebut mengalami perubahan nama menjadi *L. lecanii* hingga sekarang (Zare & Gams 2001; Cortez-Madrigal *et al.* 2003; Roy *et al.* 2006; Zare & Gams 2008). Berdasarkan karakter morfologi dan molekulernya cendawan *L. lecanii* dibedakan dari spesies *L. muscarium*, *L. longisporum*, *L. nodulosum*, dan *L. psalliotae* yang umumnya ditemukan di daerah subtropik (Marshall *et al.* 2003; Koike *et al.* 2007; Kouvelis *et al.* 2008). Sedangkan spesies *Lecanicillium* yang ditemukan di Indonesia adalah *L. lecanii* (Kouvelis *et al.* 2008). Di luar negeri, baik *L. muscarium* maupun *L. longisporum* sudah dikomersialkan dengan nama produk masing-masing *Mycotal* dan



Gambar 1. Bentuk dan warna koloni cendawan *L. lecanii* (a) dan tangkai konidiofor yang mendukung sekumpulan konidia (b). Sumber: Prayogo (2009).

Vertalec, sedangkan nama produk *L. nodulosum* dan *L. psalliotae* belum ada laporan (Kouvelis *et al.* 2008).

Koloni *L. lecanii* berwarna putih pucat dengan diameter berkisar dari 4,0–7,3 cm setelah 20 hari inokulasi pada media *potato dextrose agar* (PDA) (Gambar 1a) (Fatiha *et al.* 2007). Konidiofor berbentuk berupa fialid (*whorls*) seperti huruf V, setiap konidiofor memproduksi 5–10 (Gambar 1b) konidia yang terbungkus dalam kantong lendir (Aiuchi *et al.* 2007). Bentuk konidia berupa silinder hingga elips, terdiri dari satu sel, tidak berwarna (hialin), berukuran 1,9–2,2 x 5,0–6,1 μm (Feng *et al.* 2002). *L. lecanii* mudah tumbuh pada berbagai jenis media, terutama pada PDA maupun beras. Cendawan tumbuh baik pada suhu 15–30 °C, namun pertumbuhan optimum terjadi pada suhu 25 °C dan pada suhu 35 °C pertumbuhan cendawan mengalami penghambatan (Yeo *et al.* 2003; Cuthbertson *et al.* 2005). Pada kelembaban lebih dari 90%, cendawan akan tumbuh optimal (Helyer *et al.* 2006). Kelembaban yang tinggi berfungsi untuk perkecambahan konidia dan proses infeksi terhadap serangga inang (Monteiro *et al.* 2004). Konidia akan berkecambah lebih cepat pada suhu 20–25 °C (Barbosa *et al.* 2002).

KISARAN INANG CENDAWAN *L. lecanii*

Cendawan entomopatogen *L. lecanii* ditemukan oleh Zimmermann pertama kali menginfeksi serangga kutu sisik (*scale insect*) (Homoptera:

Diaspididae) yang menyerang tanaman kopi di pulau Jawa dan diberi nama *Cephalosporium lecanii* (Zimmermann 1898 dalam Fatiha *et al.* 2007). *L. lecanii* yang sebelumnya diberi nama *V. lecanii* dilaporkan juga mampu menginfeksi beberapa jenis serangga inang meliputi ordo Orthoptera, Hemiptera, Homoptera, Thysanoptera, Coleoptera, Hymenoptera, dan Lepidoptera dengan tingkat mortalitas yang sangat bervariasi (Quesada-Moraga *et al.* 2006). Perbedaan tingkat mortalitas serangga akibat infeksi cendawan ini dipengaruhi oleh asal isolat dan serangga inang (Sugimoto *et al.* 2003). Menurut Kim *et al.* (2001), cendawan ini mampu menginfeksi *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) dengan mortalitas mencapai 50%. Gindin *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa cendawan ini mampu menginfeksi kutu kebul *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) dengan kematian serangga mencapai 52%. Hasil penelitian Cuthbertson dan Walters (2005) menunjukkan bahwa aplikasi cendawan tersebut mampu menyebabkan mortalitas *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae) di atas 90%. Cendawan ini juga dapat menyebabkan kematian larva kumbang (*large elm bark beetle*) *Scolytus scolytus* (Coleoptera: Scolytidae) hingga 100% (Barson 2008).

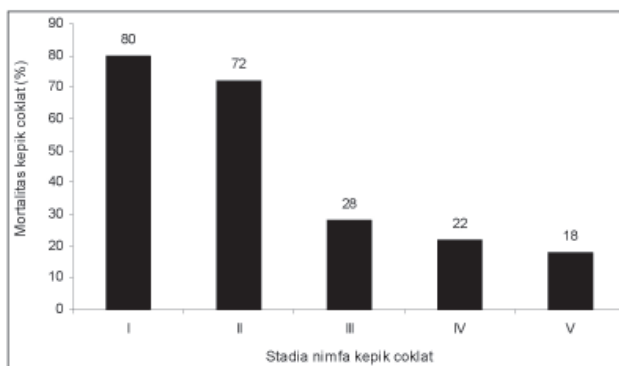
Olivares-Bernabeu dan Lopez-Llorca (2002) melaporkan bahwa *V. lecanii* juga dapat menginfeksi telur nematoda parasit tanaman. Selanjutnya, Uziel dan Sikora (1992) juga menginformasikan

masikan bahwa cendawan tersebut sangat toksik terhadap juvenil nematoda *Globodera pallida* Stone pada tanaman kentang. Selain itu cendawan ini dilaporkan juga toksik terhadap telur maupun juvenil nematoda *Heterodera glycines* (Shinya *et al.* 2008).

Efikasi Cendawan *L. lecanii* terhadap Hama Kepik Coklat

1. Efikasi *L. lecanii* pada Berbagai Stadia Nimfa Kepik Coklat

Hasil penelitian Prayogo *et al.* (2005) mengindikasikan bahwa cendawan *L. lecanii* mampu menginfeksi seluruh stadia nimfa kepek coklat, namun kerentanan masing-masing instar terhadap cendawan sangat bervariasi (Gambar 2). Aplikasi suspensi konidia *L. lecanii* menggunakan kerapatan konidia $10^7/\text{ml}$ mampu membunuh nimfa kepek coklat mulai tiga hari setelah aplikasi (HSA). Pada gambar tersebut mengindikasikan bahwa nimfa instar I dan II lebih rentan terhadap infeksi cendawan dibandingkan dengan nimfa III, IV maupun V. Pada nimfa yang lebih tua (III, IV dan V) mortalitas serangga hanya di bawah 30%. Kerentanan ini disebabkan karena lapisan integumen serangga yang masih muda lebih tipis dibandingkan nimfa yang lebih tua sehingga menyebabkan konidia cendawan lebih mudah penetrasi ke dalam lapisan kutikula setelah membentuk tabung kecambah (*penetration peg*). Integumen serangga yang masih muda juga mempercepat proses kolonisasi miselium pada seluruh tubuh serangga yang sudah mati (Gambar 3).



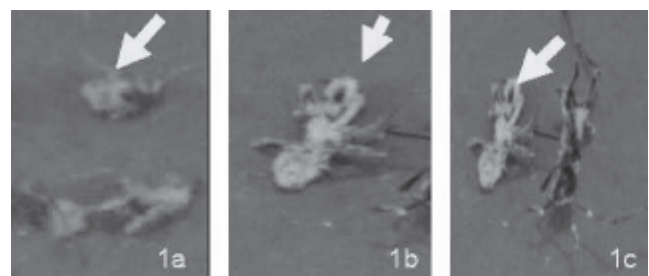
Gambar 2. Mortalitas berbagai instar nimfa kepek coklat yang terinfeksi *L. lecanii*. Sumber: (Prayogo 2004).

Penyebab lain dari efikasi *L. lecanii* adalah mobilitas pada nimfa instar I dan II lebih rendah dibandingkan pada instar yang lebih tua sehingga suspensi konidia cendawan yang diaplikasikan lebih banyak yang menempel pada integumen serangga pada waktu aplikasi. Menurut Santoso (1993) keberhasilan konidia cendawan entomopatogen menginfeksi serangga ditentukan oleh konfigurasi lapisan integumen serangga sewaktu proses penetrasi. Sementara itu, Widayat dan Rayati (1993) menyatakan bahwa tingkat mortalitas serangga yang terinfeksi cendawan entomopatogen sangat ditentukan oleh persentase serangga yang sedang berganti kulit (*moulting*). Serangga yang sering mengalami ganti kulit akan lebih sulit terinfeksi cendawan dibandingkan stadia serangga yang tidak ganti kulit atau menjelang proses jadi imago.

Hasil penelitian Prayogo dan Tengkanu (2002) pada ulat grayak *Spodoptera litura* mengindikasikan bahwa instar I dan II meskipun jaringan integumen serangga masih muda namun persentase serangga yang mengalami ganti kulit lebih rendah dibandingkan instar III, IV maupun V. Dengan demikian mortalitas *S. litura* yang terinfeksi cendawan *Metarhizium anisopliae* pada instar I dan II juga lebih rendah dibandingkan dengan instar III dan IV meskipun secara statistik tidak berbeda nyata. Namun, Hoddle (1999) menyimpulkan bahwa cendawan entomopatogen *L. lecanii* sangat efektif untuk mengendalikan nimfa instar I, II, III, dan telur *Bemisia tabaci* dibandingkan stadia yang lebih tua.

2. Efikasi *L. lecanii* pada Imago Kepik Coklat

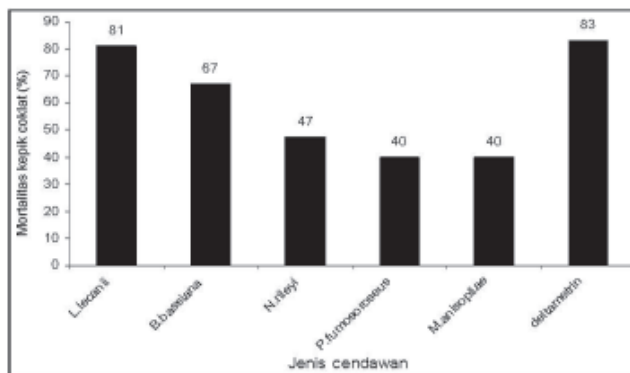
Banyak jenis cendawan entomopatogen yang dapat menginfeksi serangga hama kepek coklat



Gambar 3. Nimfa kepek coklat yang terkolonisasi miselium *L. lecanii*, (a) instar I, (b) instar II, dan (c) instar III. Sumber: (Prayogo 2004).

meliputi; *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Nomuraea rileyi*, *Metarhizium anisopliae* selain *L. lecanii*. Hasil penelitian Prayogo (2004) dari lima jenis cendawan entomopatogen yang diaplikasikan ke imago kepiik coklat menunjukkan bahwa cendawan *L. lecanii* memiliki efikasi lebih tinggi dibandingkan cendawan entomopatogen yang lain. Mortalitas imago kepiik coklat yang terinfeksi *L. lecanii* hingga di atas 80% hampir sebanding dengan efikasi dari insektisida deltametrin yang dilaporkan sangat efektif terhadap kepiik coklat (Gambar 4). Penelitian tersebut dilakukan di rumah kaca pada tanaman kedelai yang dikurung dengan kain kasa sehingga peluang mobilitas serangga uji untuk keluar dari sangkar sangat rendah bahkan tidak ada. Dengan demikian, suspensi konidia cendawan yang diaplikasikan hampir 90% mengenai serangga uji. Kematian serangga uji juga lebih cepat karena kelembaban dan suhu cukup optimal bagi perkembangan cendawan. Pada umur tiga hari setelah aplikasi *L. lecanii* sudah ditemukan serangga yang mati dengan ditandai adanya miselium yang berwarna putih di bagian sutura pada abdomen maupun torak (Gambar 5a). Kolonisasi miselium pada seluruh tubuh serangga tidak berlangsung lama hanya membutuhkan 11 hari setelah aplikasi (Gambar 5b).

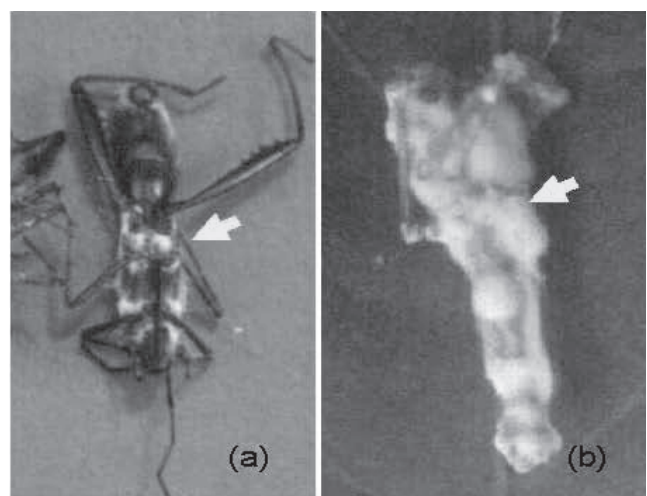
Tingginya efikasi cendawan ini disebabkan oleh mekanisme kerja toksin yang dihasilkan oleh cendawan akan menyebabkan terjadinya kenaikan pH hemolimf, penggumpalan hemolimf, dan terhentinya peredaran hemolimf (Robert 1981; Cheung dan Gula 1982). Di samping itu, toksin



Gambar 4. Mortalitas imago kepiik coklat setelah terinfeksi oleh berbagai jenis cendawan entomopatogen. Sumber: Prayogo (2004).

dari cendawan juga menyebabkan kerusakan jaringan/organ tubuh seperti saluran makanan, otot, sistem saraf, dan sistem pernafasan. Farques *et al.* (1994) mengemukakan bahwa aplikasi cendawan entomopatogen *B. bassiana* akan mempengaruhi aktivitas makan *Colorado potato beetle*. Penurunan konsumsi makan pada serangga yang terinfeksi cendawan entomopatogen karena disebabkan terganggunya sistem hormonal sebagai pengendali syaraf (Thomas *et al.* 1997; Ekesi 2001; Gindin *et al.* 2006; Hussain *et al.* 2009). Akhir dari akibat keseluruhan proses tersebut serangga mengalami kematian.

Keberhasilan penggunaan agens hayati umumnya terbatas digunakan tanaman buah dan sayuran yang ditanam di dalam rumah kaca (Ugine *et al.* 2007; Gouli *et al.* 2008). Umumnya sebagian besar agens hayati akan mengalami penurunan efikasi secara drastis hingga di atas 70% (Ramaegowda *et al.* 2007). Oleh karena itu, untuk mempertahankan efikasi cendawan perlu dikaji lebih lanjut mengenai perbaikan formulasi dari cendawan, penambahan bahan perekat untuk melekatkan suspensi konidia yang diaplikasikan agar tidak terlepas dari tubuh serangga, mencari waktu aplikasi yang tepat, dan menambah frekuensi aplikasi. Stadia nimfa maupun imago karena memiliki perilaku mobilitas yang cukup tinggi maka aplikasi insektisida kimia juga kurang memperoleh hasil yang optimal tidak seperti yang diharapkan.



Gambar 5. Imago kepiik coklat yang terinfeksi cendawan *L. lecanii* pada 3 HSA (a) dan imago kepiik coklat yang terkolonisasi miselium *L. lecanii* pada 12 HSA (b).

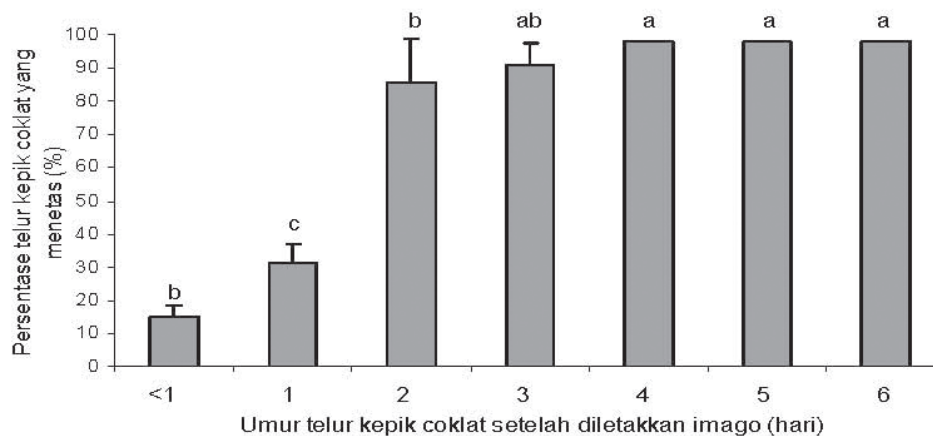
3. Efikasi *L. lecanii* pada Berbagai Umur Telur Kepik Coklat

Di depan telah dipaparkan bahwa cendawan *L. lecanii* mampu menginfeksi semua stadia kepik coklat. Namun demikian, stadia nimfa maupun stadia imago memiliki perilaku mobilitas serangga yang cukup tinggi sehingga mengurangi efikasi cendawan yang diaplikasikan. Penelitian lebih lanjut mengkaji efikasi cendawan terhadap stadia telur memberi hasil yang cukup baik karena cendawan bersifat ovisidal sehingga telur-telur yang terinfeksi cendawan akhirnya tidak menetas. Meskipun telur yang terinfeksi *L. lecanii* masih mampu menetas namun akhirnya nimfa yang terbentuk juga tidak dapat melangsungkan hidupnya karena cendawan sudah menginfeksi di dalam embrio. Pengendalian hama pada stadia telur lebih menguntungkan karena hama sudah ditekan lebih awal sebelum populasi berkembang secara optimal. Selain itu, telur tidak bergerak sehingga suspensi konidia yang diaplikasikan hampir 99% mampu mengenai hama sasaran dibandingkan aplikasi pada nimfa dan imago. Telur belum mampu merusak polong maupun biji kedelai sehingga kehilangan hasil dapat diselamatkan. Oleh karena itu, pengendalian pada stadia telur mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan dibandingkan pengendalian pada stadia nimfa maupun imago.

Perbedaan umur telur kepik coklat setelah diletakkan imago mempunyai kerentanan yang berbeda terhadap infeksi *L. lecanii*. Semakin tua

umur telur setelah diletakkan imago, semakin toleran terhadap infeksi *L. lecanii*. Telur kepik coklat yang berumur empat, lima, dan enam hari setelah diletakkan imago sangat toleran terhadap infeksi *L. lecanii* (Gambar 6). Pada umur tersebut struktur jaringan kulit telur (*chorion*) sudah mengalami melanisasi, sehingga konidia yang sudah menempel sulit untuk berkecambah dan melakukan penetrasi ke dalam telur. Proses melanisasi merupakan faktor yang sangat berperan dalam meningkatkan ketahanan serangga terhadap serangan patogen (Wilson *et al.* 2008). Melanisasi pada struktur telur *Spodoptera exempta* F. (Lepidoptera: Noctuidae) lebih besar perannya terhadap pertahanan diri dari infeksi cendawan *B. bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) dibandingkan dengan melanisasi pada stadia larva (Wilson *et al.* 2008).

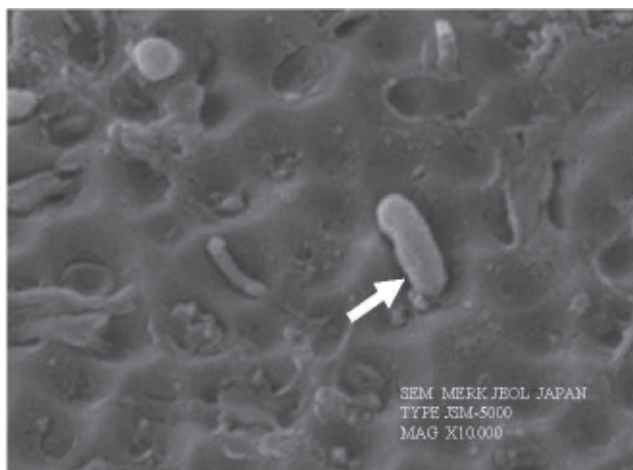
Pengamatan menggunakan mikroskop elektron pada konidia yang disemprotkan di permukaan korion telur yang berumur enam hari, setelah 24 jam tidak ada konidia yang berkecambah (Gambar 7). Terdapat sejumlah konidia yang mampu berkecambah pada korion yang berumur empat, lima, dan enam hari namun tabung kecambah akhirnya mati karena kesulitan menembus struktur korion yang sudah mengeras. Oleh karena itu, Sahayaraj dan Namasivayam (2008) menganjurkan untuk menambahkan bahan pembawa sebelum aplikasi cendawan untuk melindungi kelembaban konidia.



Gambar 6. Jumlah telur kepik coklat pada berbagai umur yang menetas setelah terinfeksi *L. lecanii*. Sumber: Prayogo *et al.* (2009) dan Prayogo (2009).

Telur kepik coklat yang berumur enam hari pada bagian struktur ujung telur sudah pecah sehingga telur segera menetas dan nimfa sudah terbentuk (Gambar 8). Pada kondisi tersebut telur kurang rentan, namun cendawan masih berpeluang dapat menginfeksi nimfa kepik coklat yang sudah terbentuk karena *L. lecanii* juga mampu menginfeksi stadia nimfa dan imago selain stadia telur (Prayogo *et al.* 2005). Kondisi ini berbeda dengan hasil penelitian del-Prado *et al.* (2008), telur *coconut whitefly* (*Aleyrodiscus cocois*) (Curtis) (Hemiptera: Aleyrodidae) yang sudah akan menetas (umur ± 7 hari) sangat rentan terhadap infeksi *L. lecanii*. Hal ini ditandai dengan mortalitas nimfa I hingga 82%, sedangkan telur yang baru diletakkan imago (1–2 hari) lebih toleran karena telur yang berhasil menetas menjadi nimfa II di atas 90%. Struktur telur *A. cocois* pada umur tujuh hari sudah mulai pecah meskipun belum sepenuhnya. Sementara itu, suspensi konidia yang diaplikasikan pada waktu tersebut tidak hanya menempel pada bagian korion terluar akan tetapi ada yang menempel pada embrio di dalam telur. Selanjutnya, proses penetrasi dan infeksi dari cendawan lebih mudah terjadi karena embrio pada saat itu dalam kondisi yang masih sangat rentan terhadap berbagai cekaman (del-Prado *et al.* 2008).

Umur telur kepik coklat yang sangat rentan terhadap infeksi cendawan *L. lecanii* adalah yang berumur kurang dari satu hari hingga satu hari

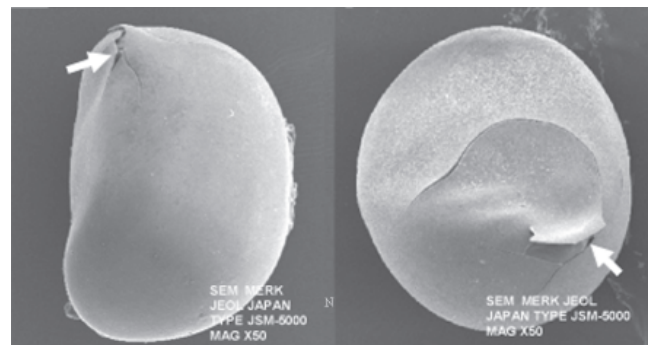


Gambar 7. Konidia *L. lecanii* yang tidak berkecambah setelah 24 jam inokulasi pada permukaan korion telur kepik coklat yang berumur 6 hari. Sumber: Prayogo (2009).

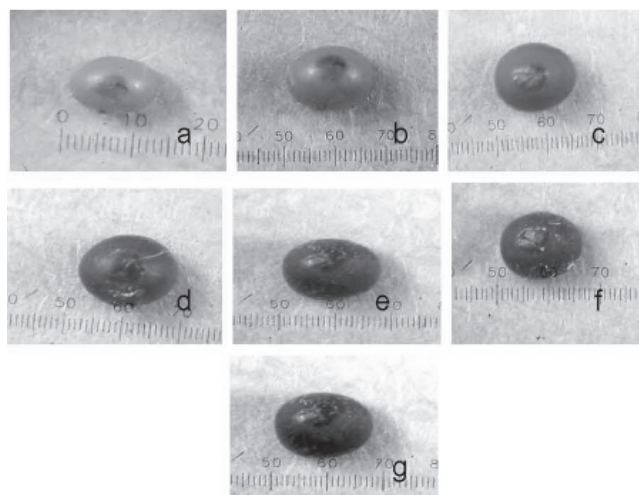
(<1–1 hari). Pada umur tersebut telur berwarna hijau dengan struktur korion sangat lentur (Gambar 9a & 9b). Dengan bertambahnya umur maka struktur kulit telur mulai mengeras (*melanization*) dan mengalami perubahan warna menjadi hijau gelap (Gambar 10c & 10d) bahkan cenderung berwarna coklat setelah empat hari (Gambar 10e, 10f, dan 10g). Struktur korion telur yang masih lentur akan mempermudah konidia *L. lecanii* menempel pada korion.

Konidia *L. lecanii* yang menempel pada korion kemudian berkecambah dan berkembang membentuk apresorium (Gambar 11) selanjutnya melakukan penetrasi ke dalam korion menggunakan perangkat enzim yang dimiliki oleh cendawan atau melalui lubang mikropil. Di sekitar lubang mikropil dilengkapi oleh lapisan gel yang diproduksi oleh kelenjar asesori imago betina yang berfungsi sebagai sarana untuk melekatkan telur pada substrat. Di lapangan, gel tersebut berfungsi untuk melekatkan telur pada organ tanaman yang umumnya pada permukaan daun di sekitar sumber makanan yang tersedia, yaitu polong kedelai. Gel tersebut diduga akan memicu proses pertumbuhan tabung kecambah karena kondisi di sekitar mikropil menjadi lebih lembab sehingga sangat kondusif bagi cendawan dalam proses penetrasi ke dalam telur, meskipun fenomena tersebut belum banyak dilaporkan.

Menurut Sahlen (2000) dan Gaino *et al.* (2008) telur yang baru diletakkan dibekali senyawa berbentuk gel yang dihasilkan oleh kelenjar asesori imago betina yang berfungsi untuk melekatkan telur pada suatu tempat di dekat



Gambar 8. Struktur telur kepik coklat yang akan menetas pada umur 6 hari setelah diletakkan imago tanpa aplikasi *L. lecanii*. Sumber: Prayogo (2009).

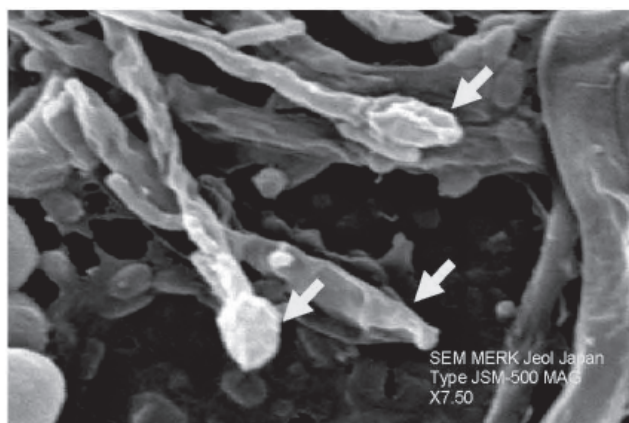


Gambar 9. Struktur korion telur kepik coklat umur kurang satu hari (a), satu hari (b), dua hari (c), tiga hari (d), empat hari (e), lima hari (f), dan enam hari (g) setelah diletakkan imago. Sumber: Prayogo (2009).

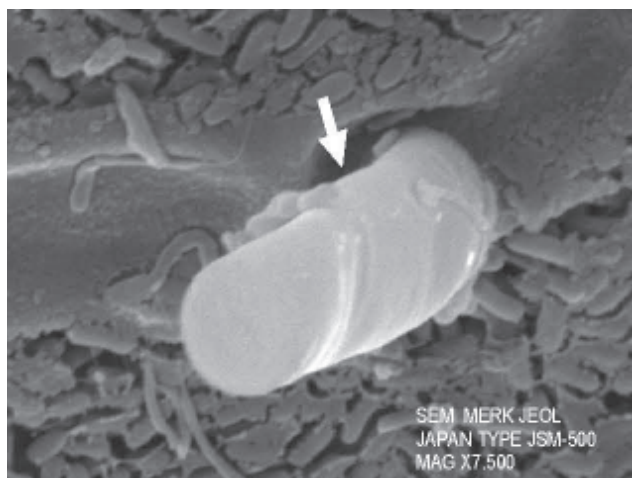
sumber makanan yang tersedia bagi keturunan (*offspring*) yang akan terbentuk. Gel tersusun dari gliserol yang mengandung gula sehingga merupakan senyawa yang dibutuhkan oleh perkembangan cendawan.

Telur serangga terdiri dari tiga lapisan, yaitu (1) eksokorion yang mengandung karbohidrat, (2) endokorion tersusun dari protein, dan (3) lapisan kristalin paling dalam mengandung protein (dos-Santos & Gregorio 2003). Beberapa senyawa yang terkandung pada lapisan korion tersebut merupakan senyawa yang dibutuhkan oleh konidia meskipun harus melalui perombakan terlebih dahulu. Cendawan *L. lecanii* menghasilkan beberapa jenis enzim meliputi protease, lipase, amilase, dan kitinase yang berfungsi sebagai perombak struktur dinding sel yang tersusun dari protein, lemak, karbohidrat, dan kitin (Fenice *et al.* 1998; Liu *et al.* 2003; Wang *et al.* 2005).

Karbohidrat dan protein merupakan sumber nutrisi utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan cendawan entomopatogen (Barbosa *et al.* 2002; Gao *et al.* 2003). Setelah miselium terbentuk, cendawan dapat mengeksploitasi sumber nutrisi yang ada di dalam telur. Pada kondisi tersebut telur sudah tidak normal atau embrio yang terbentuk di dalam telur sudah mati sehingga cendawan dalam fase saprogenesa. Fase

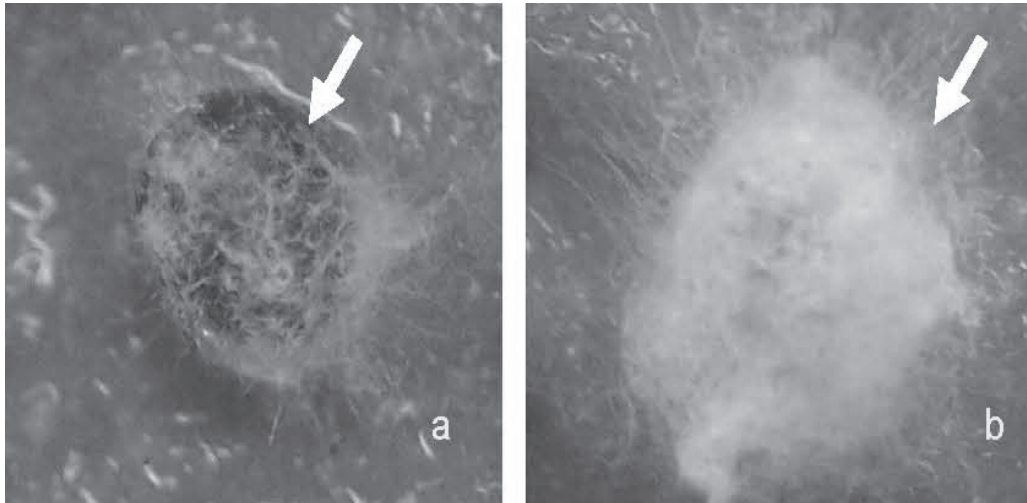


Gambar 10. Apresorium *L. lecanii* yang terbentuk sebelum penetrasi ke dalam telur kepik coklat pada 13 jam setelah aplikasi. Sumber: Prayogo (2009).

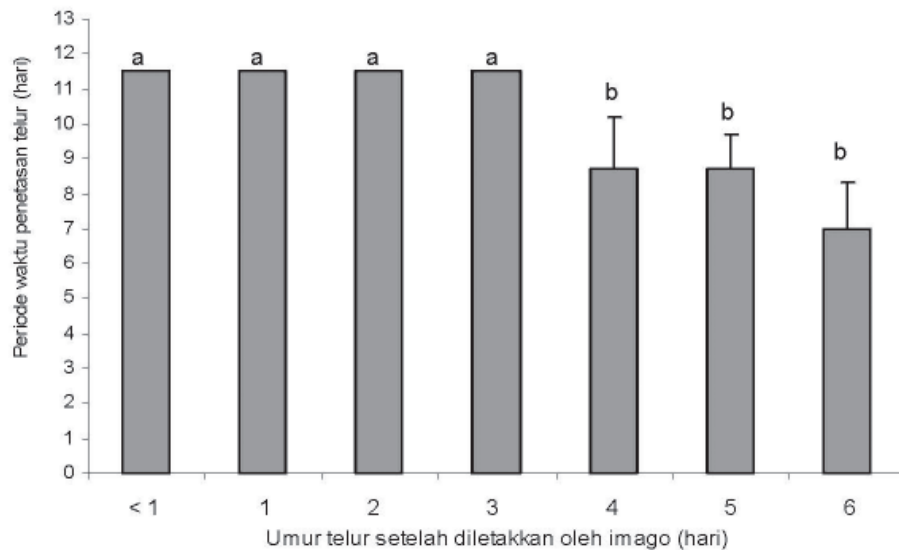


Gambar 11. Miselium *L. lecanii* yang menembus keluar struktur korion telur kepik coklat pada 4 HSA. Sumber: Prayogo (2009).

selanjutnya yaitu, miselium tumbuh keluar menembus korion telur (Gambar 11), kemudian miselium mengkolonisasi seluruh permukaan telur dan bersporulasi (Gambar 12) yang berfungsi untuk penularan patogen ke inang yang sehat. Behnke dan Yendol (2006) melaporkan bahwa telur *Galleria mellonella*, baik telur sehat maupun yang sudah rusak dapat terinfeksi oleh cendawan *Aspergillus flavus*. Keadaan tersebut menginformasikan bahwa telur merupakan sumber inang yang potensial bagi perkembangan cendawan.



Gambar 12. Telur kepik coklat yang tidak menetas setelah terkolonisasi miselium *L. lecanii* pada 7 HSA (a) dan 10 HSA (b). Sumber: Prayogo (2009)



Gambar 13. Waktu penetasan telur kepik coklat setelah terinfeksi *L. lecanii* pada berbagai umur telur. Sumber: Prayogo (2009).

Akibat aplikasi cendawan *L. lecanii* menyebabkan waktu penetasan telur kepik coklat semakin terlambat. Apabila telur yang berumur kurang satu hari (baru diletakkan imago) terinfeksi *L. lecanii*, maka akan menetas pada hari ke 11,5 (Gambar 13). Sementara itu, waktu penetasan telur normal (tanpa infeksi) terjadi pada tujuh hari setelah diletakkan imago. Dengan kata lain bahwa telur akan terlambat menetas selama 4,5 hari jika dibandingkan dengan telur normal. Keterlambatan waktu penetasan telur yang sama juga terjadi pada telur kepik coklat

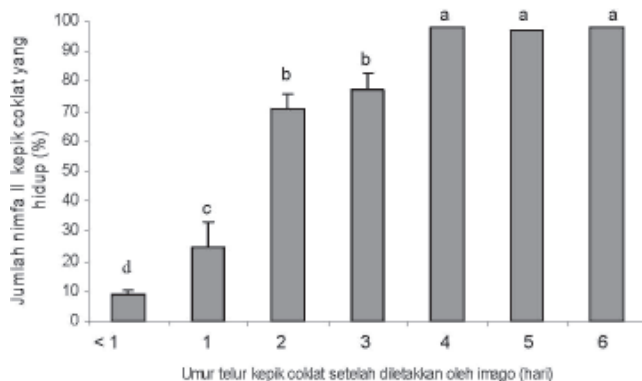
yang terinfeksi *L. lecanii* pada umur satu, dua, dan tiga hari. Telur kepik coklat yang berumur empat dan lima hari jika terinfeksi *L. lecanii* mengakibatkan telur akan menetas pada hari ke 8,7 yang artinya terlambat berkisar selama 1,7 hari.

Menurut Hoddle (1999), aplikasi *L. lecanii* pada telur *B. tabaci* dan *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) menyebabkan penetasan telur akan terlambat dan peluang telur yang menetas hanya 1%. Wang *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa telur *B. tabaci* yang terinfeksi

L. lecanii akan terlambat menetas, bahkan dapat menggagalkan penetasan telur hingga 100%. Telur yang tidak menetas ditandai dengan perubahan warna, yaitu kusam dan tidak berkilau. Kejadian tersebut disebabkan dari aktivitas toksin yang diproduksi *L. lecanii* yang bersifat ovisidal (Lacey *et al.* 1999; Lu *et al.* 2005; Watts 2006). Dua toksin dengan kode V3450 dan VP28 yang dihasilkan oleh ekstrak kasar dari miselium *L. lecanii* juga bersifat ovisidal dan larvisidal (Liande *et al.* 2007).

Hasil penelitian pada cendawan lain, yaitu *B. bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) yang menginfeksi telur *Nezara viridula* (Hemiptera: Alydidae) juga mengakibatkan waktu penetasan telur menjadi terhambat dan jumlah telur yang menetas juga terbatas (Soesanto & Darsam 1993). Hal ini disebabkan karena telur yang terinfeksi cendawan entomopatogen akan mengalami penghambatan dalam proses metabolismenya sehingga proses pematangan embrio menjadi terhambat. Selain itu, serangga yang keluar dari telur akhirnya mati karena secara fisiologis tumbuh tidak normal akibat infeksi cendawan dari fase mebrrio. Hoddle (1999) juga menyatakan bahwa telur *Rhipicephalus appendiculatus* dan *Amblyoma variegatum* (Acari: Ixodidae) yang terinfeksi cendawan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* akan mengalami penghambatan waktu penetasan. Lebih lanjut dilaporkan bahwa telur *R. appendiculatus* dan *A. variegatum* yang terinfeksi cendawan akhirnya tidak menetas hingga 100%.

Semakin muda umur telur kepik coklat terin-



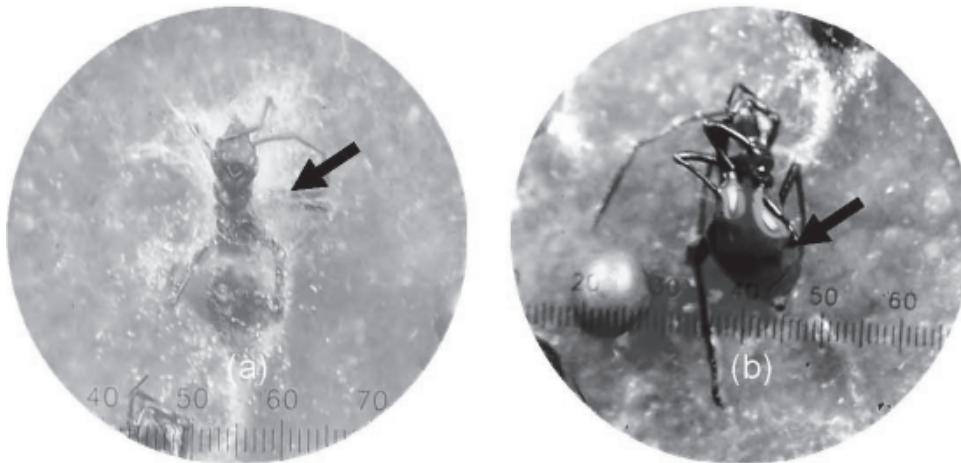
Gambar 14. Persentase nimfa II kepik coklat yang mampu hidup dari telur yang terinfeksi *L. lecanii*. Sumber: Prayogo *et al.* (2009)

feksi cendawan *L. lecanii*, semakin terlambat telur menetas dan persentase telur yang menetas semakin rendah. Kelambatan waktu penetasan telur akan mengakibatkan bergesernya perkembangan stadia kepik coklat yang terbentuk. Di lapangan, kondisi tersebut sangat menguntungkan bagi keselamatan polong dan biji kedelai yang terbentuk karena perkembangan stadia serangga tidak sesuai dengan perkembangan polong kedelai. Hal ini terjadi karena nimfa yang masih bertahan hidup akan kesulitan mendapatkan polong yang masih muda karena polong yang ada sudah mengalami proses pemasakan biji sehingga struktur polong mengeras dan akhirnya stilet serangga tidak berhasil menjangkau biji di dalam polong. Akibatnya intensitas serangan kepik coklat berkurang/lebih rendah.

4. Peluang Kelangsungan Hidup Nimfa Kepik Coklat yang Sudah Terinfeksi *L. lecanii*

Telur kepik coklat yang terinfeksi dan terkolonisasi *L. lecanii* tidak semuanya berhasil menetas. Telur yang berhasil menetas menjadi nimfa I akhirnya tidak dapat berkembang membentuk stadia lebih lanjut. Telur yang berumur kurang satu hari jika terinfeksi *L. lecanii* hanya sekitar 9% yang berhasil berkembang menjadi nimfa II (Gambar 14). Hal ini terjadi karena kurang lebih 6% nimfa I dari 15% tidak dapat berganti kulit (*moulting*) menjadi nimfa II (Gambar 15a). Diduga karena embrio di dalam telur sebenarnya sudah terinfeksi cendawan sebelum telur menetas sehingga perkembangan embrio terganggu dan tidak dapat bertahan lebih lanjut.

Infeksi *L. lecanii* pada telur mengakibatkan banyak nimfa I kepik coklat yang tidak dapat berkembang menjadi nimfa II, meskipun pada tubuh serangga tidak tampak adanya kolonisasi miselium. Kematian serangga ditandai pembengkakan dan rusaknya organ tubuh serangga khususnya pada bagian abdomen yang terlihat perubahan warna cenderung menjadi hitam (Gambar 15b). Kejadian ini disebabkan serangga mengalami lisis pada struktur abdomen bagian dalam. Diduga penyebab kerusakan struktur organ tersebut sebagai akibat dari reaksi toksin *beauvericin*, *dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid*, dan *cyclosporin* yang dihasilkan oleh *L. lecanii* yang mampu mendegradasi dinding kutikula serangga (Charnley 2003a & 2003b).



Gambar 15. Nimfa I kepek coklat yang gagal berkembang menjadi nimfa II setelah terkolonisasi *L. lecanii* (a) dan struktur abdomen nimfa I kepek coklat yang mengalami lisis setelah terinfeksi *L. lecanii* (b).

Sumber: Prayogo (2009).

Paralisis pada tubuh serangga muda yang diakibatkan oleh toksin dari cendawan entomopatogen telah banyak dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Soman *et al.* 2001; Asaff *et al.* 2005; Isaka *et al.* 2005; Liande *et al.* 2007).

Kerentanan telur terhadap infeksi *L. lecanii* sangat dipengaruhi umur telur setelah diletakkan imago. Telur yang baru diletakkan oleh imago (<1–1 hari) sangat rentan terhadap infeksi *L. lecanii*. Oleh karena itu, untuk menekan perkembangan kepek coklat di lapangan sebaiknya dianjurkan aplikasi *L. lecanii* segera setelah imago datang di pertanaman kedelai. Hasil pengamatan yang dilakukan oleh Tengkanu *et al.* (1992) menunjukkan bahwa awal peletakan telur kepek coklat di pertanaman kedelai pada varietas Wilis terjadi pada umur kurang lebih 35 hari setelah tanam (HST). Oleh karena itu, pada waktu tersebut aplikasi *L. lecanii* merupakan saat yang paling tepat dilakukan untuk menekan perkembangan populasi kepek coklat.

Aplikasi *L. lecanii* pada telur kepek coklat yang berumur lebih tua kurang efektif dibandingkan telur yang berumur muda, namun demikian telur-telur yang berhasil dikolonisasi oleh cendawan dapat berperan sebagai sumber inokulum sekunder yang potensial bagi penyebaran patogen di

lapangan. Dengan demikian, sumber inokulum tersebut juga memberi kontribusi yang cukup besar dalam proses epizooti sehingga keberadaannya perlu diperhitungkan dalam mempertahankan populasi hama di lapangan.

KESIMPULAN

1. *L. lecanii* merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang mampu menginfeksi semua stadia kepek coklat, baik stadia telur, nimfa maupun imago.
2. Kepek coklat stadia nimfa I dan II lebih rentan terhadap infeksi cendawan *L. lecanii* dibandingkan stadia yang lebih tua.
3. Untuk menekan peledakan kepek coklat di lapangan maka pengendalian stadia telur menggunakan *L. lecanii* lebih prospektif dibandingkan stadia nimfa maupun imago.
4. Telur kepek coklat yang berumur <1–1 hari lebih rentan terhadap infeksi cendawan *L. lecanii* dibandingkan dengan telur yang berumur yang lebih tua.
5. Aplikasi cendawan *L. lecanii* dianjurkan pada telur yang baru diletakkan imago atau berumur satu hari, pada kondisi di lapangan umumnya terjadi pada tanaman kedelai varietas Wilis yang berumur 35 HST.

DAFTAR PUSTAKA

- Asaff, A., C. Cerda-Gracia-Rojas, and M. deLa. Torre. 2005. Isolation of dipicolinic acid as an insecticidal toxin from *Paecilomyces fumosoroseus*. *Appl Microbiol and Biotechnol* 68(4): 542–547.
- Aiuchi, D., Y. Baha, K. Inami, R. Shinya, and M. Tani. 2007. Screening of *Verticillium lecanii* (= *Lecanicillium lecanii*) hybrid strains based on evaluation of pathogenicity against cotton aphid and greenhouse whitefly and viability on the leaf surface. *J Appl Entomol and Zool* 51: 205–212.
- Badji, C.A., R.N.C. Guedes, A.A. Silva, A.S. Correa, M.E.L.R. Queiroz, and M. Michereff-Filho. 2007. Non-target impact of deltamethrin on soil arthropods of maize fields under conventional and no-tillage cultivation. *J App Entomol* 131(1): 50–58.
- Barbosa, C.C., A.C. Monteiro, and A. C. B. Correia. 2002. Growth and sporulation of *Verticillium lecanii* isolates under different nutritional conditions. *Pesq Agropec Braz* 37(6): 821–829.
- Barson, G. 2008. Laboratory studies on the *Verticillium lecanii*, a larval pathogen of the large elm bark beetle (*Scolytus scolytus*). *Ann Appl Biol* 83(2): 207–214.
- Behnke, C.N and W.G. Yendol. 2006. Pathogenesis of an *Aspergillus flavus* infection of *Galleria mellonella* eggs. *Biol Contr* 14(2): 177–184.
- Charnley, A.K. 2003a. Fungal pathogens of insects from mechanisms of pathogenicity to host defense. Department of Biology & Biochemistry University of Bath. <http://www.bath.ac.uk/expertice/showperson.php?employeeenumber=573> [12 September 2008].
- Charnley, A.K. 2003b. Fungal pathogens of insects: Cuticle degrading enzymes and toxins. *Advances in Botanical Res* 40: 241–321.
- Cheung, P.Y.K. and E.A. Grula. 1982. In Vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the Corn earworm (*Heliothis zea*). 39(3): 303–313.
- Cortez-Madrigal, H., R. Alatorre-Rosas, G. Mora-Aguilera, H. Bravo-Mojica, C.F. Ortiz-Gracia, and L.A. Aceves-Navarro. 2003. Characterization of multi-sporic and monosporic isolates of *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) for the management of *Toxoptera aurantii* in cocoa. *Biol Contr* 48: 321–334.
- Cuthbertson, A. G. S and K. F A. Walters. 2005. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* against the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* under laboratory and glasshouse conditions. *Mycopathol* 160: 315–319.
- Doggett, S.L., M.J. Geary, and R.C. Russell. 2004. The resurgence of bed bugs in Australia, with notes on their ecology and control. *Environmental Health* 4: 30–38.
- del-Prado, E.N., J. Lannacone, and H. Gomez. 2008. Effect of two entomopathogenic fungi in controlling *Aleurodiscus cocois* (Curtis) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Chilean J Agric Res* 68(1): 21–30.
- dos-Santos, D.C and E.A. Gregorio. 2003. Deposition of the eggshell layers in the sugar cane borer (Lepidoptera: Pyralidae): ultrastructure aspects. *Acta Microsc* 12(1): 37–41.
- Ekesi, S. 2001. Pathogenicity and antifeedant activity of entomopathogenic hyphomycetes to the cowpea leaf beetle *Ootheca mutabilis* Shalberg. *Insect Sci Appl* 21: 55–60.
- Farques, J., J.C. Delmas JC, and R.A. Lebrun. 1994. Leaf consumption by larva of the *Colorado Potato Beetle* (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. *J of Econ Entomol* 87:67–71.
- Fatiha, L., S. Ali, S. Ren, and M. Afzal. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on eggplant. *J Pak Entomol* 29(2): 63–72.
- Feng, K.C., B.L. Liu, and Y.M. Tzeng. 2002. Morphological characterization and germination of aerial and submerged spores of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *World J Microbiol and Biotechnol* 18(3): 217–224.
- Fenice, M., L. Selbmann, R. Di-Giambattistar, and F. Federici. 1998. Chitinolytic activity at low temperature of an antarctic strain (A3) of *Verticillium lecanii*. *Res in Microbiol* 149(4): 289–300.
- Gaino, E., S. Piersanti, and M. Rebora. 2008. Egg envelop synthesis and chorion modification after oviposition in the dragonfly *Libellula depressa* (Odonata: Libellulidae). *Tissue and Cell* 40(5): 317–324.
- Gao, L., M.H. Sun, X.Z. Liu, and S. Che. 2006. Effect of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycol Res* 111(1): 87–92.
- Gindin, G., B. Geschtovt, B. Raccach, and I. Barash. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Phytopar* 28(3): 213–237.
- Gindin, G., S. Levski, I. Glazer, and V. Soroker. 2006. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Phytopar* 34(4): 370–379.
- Gouli, S., V. Gouli, M. Skinner, B. Parker, J. Marcelino, and M. Shcernshis. 2008. Mortality of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* under influence of single and mixed fungal inoculations. *J of Agric Technol* 4(2): 37–47.

- Helyer, N., G. Gill, A. Bywater, and R. Chamber. 2006. Elevated humidities for control of *Chrysanthemum* pests with *Verticillium lecanii*. *Pest Manag Sci* 36(4): 373–378.
- Hoddle, M.S. 1999. The biology and management of Silverleaf Whitefly *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown ornamentals. <http://www.biocontrol.urc.edu/bemisia.html#verticillium> [5 September 2008].
- Hussain, A., M.Y. Tiyan, Y.R. He, and S. Ahmed. 2009. Entomopathogenic fungi disturbed the larval growth and feeding performance of *Ocinara varians* (Lepidoptera: Bombycidae) larvae. *Insect Sci* 16(6): 511–517.
- Isaka, M., P. Kittakoop, K. Kirtikara, N. L. Hywel-Jones, and Y. Thebtaranonth. 2005. Bioactive substances from insect pathogenic fungi. *Acc Chem Res* 38:813–823.
- Kannan, M., S. Uthamasamy, and S. Mohan. 2004. Impact of insecticides on sucking pests and natural enemy complex of transgenic cotton. *Current Sci* 86(5): 726–729.
- Karunaratne, S.H.P.P., B.T. Damayanthi, M.H.J. Fareena, V. Imbuldeniya, and J. Hemingway. 2007. Insecticide resistance in the tropical bedbug *Cimex hemipterus*. *Pesticide Biochem and Physiol* 88: 102–107.
- Kim, J.J., M.H. Lee, C.S. Yoon, H.S. Kim, J.K. Yoo, and K.C. Kim. 2001. Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with a fungal pathogen. <http://www.agnet.org/library/article/eb502b.html>. [17 September 2006].
- Koike, M., T. Kodama, A. Kikuchi, M. Okabe, K. Kuramoto, and Y. Saito. 2007. Reclassification of Japanese isolates of *Verticillium lecanii* to *Lecanicillium lecanii*. *Japan J Appl Entomol and Zool* 51(3): 234–237.
- Kouvelis, V.N., R. Zare, P.D. Bridge, and M.A. Typas. 1999. Differentiation of mitochondrial subgroups in the *Verticillium lecanii* species complex. *Letters in Appl Microbiol* 28: 263–268.
- Kouvelis, V.N., A. Sialakouma, and M.A. Typas. 2008. Mitochondrial gene sequences alone or combined with ITS region sequences provide firm molecular criteria for the classification of *Lecanicillium* species. *Mycol Res* 112: 829–844.
- Lacey, L.A., A.A. Kirk, L. Millar, G. Mercadier, and C. Vidal. 1999. Ovicidal and larvicidal activity of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay system allowing prolonged survival of control insects. *Biol Contr Sci Technol* 9: 9–18.
- Liande, W., H. Jian, Y. Minsheng, G. Xiong, and L. Bo. 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.
- Liu, B.L., P.M. Kao, Y.M. Tzeng, and K.C. Feng. 2003. Production of chitinase from *Verticillium lecanii* F091 using submerged fermentation. *Enzym and Microbiol and Technol* 33(4): 410–415.
- Lu, Z.X., A. Laroche, and H.C. Huang. 2005. Isolation and characterization of chitinases from *Verticillium lecanii*. *Can J Microbiol* 51(12): 1045–1055.
- Marshall, R.K., M.T. Lester, T.R. Glare, and J.T. Christeller. 2003. The fungus *Lecanicillium muscarium*, is an entomopathogen of passionvine hopper (*Scolypopa australis*). *New Zealand J Crop and Horticult Sci* 31: 1–7.
- Monteiro, A.C., C.C. Barbosa, and A.C.B. Correia. 2004. Growth and sporulation of *Verticillium lecanii* isolates under different environmental conditions. *Pesq Agropec Braz* 39(6): 561–565.
- Olivares-Bernabeu, C.M. and L.V. Lopez-Llorca. 2002. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. *Rev Iberoam Micol* 19: 104–110.
- Prayogo, Y. Dan W. Tengkan. 2002. Pengaruh umur larva *Spodoptera litura* terhadap efektivitas *Metarhizium anisopliae* isolat Kendalpayak. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*. Fakultas Biologi, Univ. Jenderal Soedirman 19(3): 70–76.
- Prayogo, Y. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell (Araneida: Oxyopidae). [Tesis]. Departemen Proteksi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap telur hama pengisap polong *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae) Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2005. hlm 471–479 dalam: Makarim, A.K., Marwoto, M.M. Adie, A.A. Rahmiana, Heriyanto, dan IK. Tastra (Editor). Seminar Nasional Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang, 5 Oktober 2004.
- Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2005. Kerentanan stadia nimfa hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera; Alydidae) terhadap jamur entomopatogen *Verticillium lecanii*. *J Agrikultura*, Fakultas Pertanian Univ Padjadjaran Bandung 16 (2):125–132.
- Prayogo, Y., T. Santoso, U. Kartosuwondo, L.I. Sudirman, dan Marwoto. 2009. Uji konsentrasi konidia

- cendawan entomopatogen *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas (Deuteromycotina: Hyphomycetes) pada berbagai umur telur *Riptortus linearis* F. (Hemiptera: Alydidae). Jurnal Agritek, Institut Pertanian Malang 16(6):1039–1052.
- Prayogo, Y. 2009. Kajian cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) (Viegas) Zare & Gams untuk menekan perkembangan telur hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* F. (Hemiptera: Alydidae). [Disertasi]. Departemen Proteksi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Quesada-Moraga, E., J.A. Carrasco-Diaz, and C. Santiago-Alvarez. 2006. Insecticidal and antifeedant activities of proteinase secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). J Appl Entomol 130(8): 442–452.
- Ramaegowda, G.K., M. Vidya, R.K. Patil, M.S. Puttanavar, and S. Lingappa. 2007. Laboratory and field evaluation of some entomopathogenic fungi against sugarcane woolly aphid *Ceratovacuna lonigera* Zehntner (Homoptera: Aphididae). J of Biol Contr 21: 173–176.
- Rauf, A., Triwidodo, dan Widodo. 1994. Penggunaan pestisida oleh petani di tingkat Kabupaten di Jawa Barat. Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas dan Kualitas Kedelai Melalui Penerapan PHT Kedelai. Kerjasama Bappenas dengan Fakultas Pertanian, Univ Brawijaya Malang. hlm: 1–13.
- Roberts, D.W. 1981. Toxins of entomopathogenic fungi. Di dalam: Burgers HD, editor. Microbial control of pest and plant diseases. Acad Press. London, New York, Toronto, Sydney, San Fransisco.
- Romero, A., M.F. Potter, D.A. Potter, and K.F. Haynes. 2007. Insecticide resistance in the bedbug: a factor in the pest's sudden resurgence? J of Medical Entomol 44: 175–178.
- Ropek, D and A. Para. 2002. The effect of heavy metal ions and their complexons upon the growth, sporulation, and pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. J Invertebr Pathol 79:123–125.
- Roy, H.E , D.C. Steinkraus, J. Eilenberg, A.E Hajek, and J.K. Pell. 2006. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Ann Rev Entomol 51: 331–357.
- Sahayaraj, K and S.K.R. Namasivayam. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. African J Biotechnol 7(12): 1907–1910.
- Sahlen, G. 2000. Eggshell ultrastructure in *Onychogomphus forcipatus* (Odonata: Gomphidae). International J Insect Morphol and Embryol 24(3): 281–286.
- Santoso, T. 1993. Dasar-Dasar Patologi Serangga. hlm.1–15 dalam E.Martono, E.Mahrub, N.S.Putra, Y. Trisetyawati (peny.). Simposium Patologi Serangga I. Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993.
- Shinya, R., D. Aiuchi, A. Kushida, M. Tani, K. Kuramochi, and M. Koike. 2008. Pathogenicity and its mode of action in different sedentary stages of *Heterodera glycines* (Tylenchida: Heteroderidae) by *Verticillium lecanii* hybrid strains. J Appl Entomol Zool 43(2): 227–233.
- Soesanto, L. dan Darsam. 1993. Mikroba entomopatogenik: patogenitasnya terhadap telur *Nezara viridula* (L.) dalam Martono, E., E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (editor). Simposium Patologi Serangga I. Yogyakarta 12–13 Oktober 1993.
- Soman, A.G., J.B. Gloer, R.F. Angawi, D.T. Wicklow, and P.F. Dowd. 2001. Vertilecanins: A new phenicolinic acid analogues from *Verticillium lecanii*. J of Nat Prod 64(2): 189–192.
- Sopp, P.I., A.T. Gillespie, and A. Palmer. 2006. Application of *Verticillium lecanii* for the control of *Aphis gossypii* by a low-volume electrostatic rotary atomiser and a high-volume hydraulic sprayer. BioControl 34(3): 417–428.
- Sugimoto, M., M. Koike, N. Hiyana, and H. Nagao. 2003. Genetic, morphological and virulence characterization of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. J Invertebr Pathol 82: 176–187.
- Tengkano, W., Harnoto, M. Taufiq, dan M. Iman. 1992. Dampak negatif insektisida terhadap musuh alami pengisap polong. Seminar Hasil Penelitian Pendukung Pengendalian Hama Terpadu. Cisarua, 7–8 September 1992. hlm: 2.601–2.629.
- Tengkano, W dan Bedjo. 2002. Potensi *Oxyopes javanus* Thorell (Oxyopidae: Araneae) memangsa hama utama kedelai. Seminar Nasional Perkembangan Terkini Pengendalian Hayati di Bidang Pertanian dan Kesehatan. Bogor. Institut Pertanian Bogor. 5 September 2002.
- Tengkano, W., Sri Hardaningsih, Sumartini, Y. Prayogo, Bedjo, dan Purwantoro. 2006. Evaluasi status hama penyakit kedelai dan musuh alami sebagai agens hayati untuk pengendalian OPT pada kedelai. Laporan Hasil Penelitian Tahun 2006 C-1. Balikpapan Malang.
- Thomas, M.B., S. Blanford, and C.J. Lamor. 1997. Reduction of feeding by the variegated grasshopper *Zonocerus variagatus* following infection by the fungal pathogen *Metarhizium flavoviride*. BioContr Sci Technol 3: 327–334.
- Ugine, T.A., S.P. Wraight, and J.P. Sanderson. 2007. Effect of manipulating spray application parameters on efficacy of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against western flower thrips *Frankliniella*

- occidentalis* infesting greenhouse impatiens crops. *Biocontr Sci and Technol* 17: 193–219.
- Uziel, A and R. A. Sikora. 1992. Use of non-target isolates of the entomopathogen *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas to control the potato cyst nematode *Globodera pallida* (Stone). *Nematol* 38: 123–130.
- Wang, L., J. Huang, M. You, X. Guan, and B. Liu. 2005. Effects of toxins from strains of *Verticillium lecanii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on bioattributes of a predatory ladybeetle *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae). *J Appl Entomol* 129(1): 32–38.
- 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.
- Watts, P. 2006. Invitro screening for biopesticides. <http://72.14.235.104/search?q=cache=Hq9MkerGy4J=unesco.biotech.or.th/file%25209.docttoxin+from+verticillium+lecanii&hl=en&gl=idct=clnk&cd=6> [15 Agustus 2008].
- Widayat, W. dan D.J. Rayati. 1993. Pengaruh frekuensi penyemprotan jamur entomopatogenik terhadap ulat jengkal (*Ectropis bhurmitra*) di perkebunan teh. Hlm: 91–103. Dalam E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (editor). *Simposium Patologi Serangga I*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta 12–13 Oktober 1993.
- Wilson, K., S.C. Cotter, A.F. Reeson, and J.K. Pell. 2008. Melanism and disease resistance in insects. *Ecol Letters* 4(6): 637–649.
- Yeo, H., H.K. Pell, P.G. Alderson, S.J. Clark, and B.J. Pye. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and their pathogenicity to two aphid species. *Pest Manag Sci* 59(2): 156–165.
- Zare, R and W. Gams. 2001. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. IV The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. Nova Hedwigia 73: 1–50.
- Zare, R and W. Gams. 2008. A revision of the *Verticillium* spp. complex and its affinity with the genus *Lecanicillium*. *Mycol Res* 112(7): 811–824.