

## **Pengaruh Penambahan Pupuk Kandang dan Aplikasi Insektisida Kimia Terhadap Efektivitas Jamur *Metarhizium anisopliae* pada Uret Tebu, *Lepidiota stigma***

**IGAA Indrayani, Heri Prabowo, dan Kristiana Sri Wijayanti**

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat  
Jln. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang, Indonesia  
E-mail: igaaindrayani19@gmail.com

Diterima: 30 Juli 2019; direvisi: 2 Agustus 2019; disetujui: 30 Agustus 2019

### **ABSTRAK**

Uret tebu *Lepidiota stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae) adalah salah satu hama penting pada tanaman tebu yang pada tingkat serangan parah menyebabkan penurunan produksi tebu. Pengendalian hama uret ini dengan menggunakan jamur *M. anisopliae* menawarkan suatu teknik pengendalian yang biologis, efektif, dan aman bagi lingkungan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Serangga dan di rumah kasa Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) Malang dengan tujuan untuk mengevaluasi efektifitas jamur *M. anisopliae* terhadap uret tebu, *L. stigma* dengan penambahan pupuk kandang dan aplikasi insektisida kimia. Penelitian terdiri atas pengujian di laboratorium dan di rumah kasa. Perlakuan yang diuji di laboratorium adalah: (1) *M. anisopliae*, (2) *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (1 mg/vial), (3) *M. anisopliae* + pupuk kandang, (4) *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial), (5) Metastigma (produk bioinsektisida berbasis jamur *M. anisopliae* sebagai pembanding), dan (6) Kontrol (tanpa perlakuan). Perlakuan yang sama juga diujikan di rumah kasa. Perlakuan di laboratorium disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan empat ulangan dan perlakuan di rumah kasa disusun dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK), diulang empat kali. Parameter yang diamati di laboratorium dan di rumah kasa adalah mortalitas uret *L. stigma*. Hasil penelitian di laboratorium menunjukkan bahwa penambahan pupuk kandang pada jamur *M. anisopliae* efektif meningkatkan mortalitas uret sebesar 12,9%, sedangkan di rumah kasa penambahan pupuk kandang maupun insektisida kimia imidakloprid 5% pada jamur *M. anisopliae* tidak efektif meningkatkan mortalitas uret *L. stigma*.

Kata kunci: *Lepidiota stigma*, *Metarhizium anisopliae*, mortalitas

### ***Influence of Animal Manure Addition and Chemical Insecticide Application on Effectivity of Metarhizium anisopliae against Sugarcane White grub, Lepidiota stigma***

### **ABSTRACT**

White grub *Lepidiota stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae) is one of important insect pest on sugar cane which is on highest level of attack causes decline production of sugar cane. Control this pest by using entomopathogenic fungi *M. anisopliae* offer a biological control technique that is effective and environmentally friendly. This study conducted in laboratory and in screen house with aimed to evaluate the influence of animal manure and chemical insecticide imidacloprid on the effectivity of *M. anisopliae* against sugarcane white grub, *L. stigma*. In the laboratory study, treatments tested were (1) *M. anisopliae*, (2) *M. anisopliae* + imidacloprid 5% (1 mg/vial), (3) *M. anisopliae* + manure, (4) *M. anisopliae* + imidacloprid 5% (2 mg/vial), (5) Metastigma (comparison treatment), and (6) Untreated control. The equal treatments were also tested in screen house study. Treatments in the laboratory study were arranged in Completely Randomized Design (CRD) with four

replications, while the treatments in screen house were arranged in Randomized Block Design (RBD) with four replicates. Parameters observed in both laboratory and screen house studies were mortality of whitegrub, *L. stigma*. Results showed that in the laboratory, addition of animal manure on *M. anisopliae* application increased 12.9% of white grub mortality, however, at screen house study on addition of animal manure or imidacloprid 5% on *M. anisopliae* application was less effective in order to enhance the mortality of white grub.

Keywords: *Lepidiota stigma*, *Metarhizium anisopliae*, mortality

## PENDAHULUAN

Infestasi uret *L. stigma* sangat potensial mengakibatkan kerusakan pada tanaman tebu yang ditanam di lahan-lahan berpasir. Kehilangan hasil tebu dapat mencapai lebih dari 50% atau bahkan gagal panen apabila pengendalian hama ini tidak dilakukan sejak dini. Infestasi uret biasanya dimulai sejak mulai tanam hingga tanaman tebu berumur 60 hari dan dampak dari serangan akan berlanjut hingga menjelang waktu panen. Sebagian besar uret yang merusak tanaman tebu berasal dari famili Scarabaeidae, yaitu famili terbesar kedua dari ordo Coleoptera (Khanal et al., 2012; Theurkar et al., 2013). Uret *L. stigma* merusak dengan cara memakan akar tanaman tebu muda, sehingga mengakibatkan daunnya layu, mengering, kemudian mati. Beberapa cara pengendalian hama uret tebu telah diuji tingkat keefektifannya, seperti penggunaan insektisida kimia, pengendalian secara mekanis, dan penggunaan mulsa plastik (Sunarto & Subiyakto, 2018), namun belum ada satupun cara pengendalian hama uret tebu yang telah diterapkan secara konsisten dan berkelanjutan disebabkan berbagai kendala. Hal ini menjadi salah satu pertimbangan untuk terus melakukan upaya untuk memperoleh cara pengendalian hama uret *L. stigma* yang efektif dan juga efisien, dengan harapan cara pengendalian tersebut akan diterapkan secara konsisten dan berkelanjutan untuk menekan kehilangan hasil tebu. Salah satu cara pengendalian yang ditawarkan adalah pemanfaatan jamur patogen serangga *Metarhizium anisopliae* yang dikenal efektif terhadap berbagai spesies

serangga hama (Shahid et al., 2012; Vinayaka et al., 2014).

Jamur *M. anisopliae* dikenal memiliki kisaran inang yang sangat luas, hal ini disebabkan jumlah strainnya yang sangat banyak dan setiap strain cenderung spesifik terhadap spesies serangga tertentu (Khan et al., 2012). Tanah merupakan habitat jamur *M. anisopliae* sehingga jamur ini berpotensi untuk mengendalikan berbagai spesies serangga hama tanah, termasuk uret. Jamur *M. anisopliae* telah dimanfaatkan dalam pengendalian berbagai hama uret, termasuk uret yang merusak tanaman tebu di beberapa negara, seperti Nepal, Australia, dan India (Yubak, 2009; Samson et al., 2010; Chelvi et al., 2011; De & Ganeshan, 2016).

Isolat jamur *M. anisopliae* yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat JTMa-2 yang merupakan isolat lokal hasil eksplorasi melalui teknik isolasi sampel tanah. Isolat unggulan ini telah dievaluasi patogenisitasnya melalui uji skrining di laboratorium terhadap uret *L. stigma* dengan hasil 91,7% menyebabkan mortalitas pada uret (Indrayani et al., 2014).

Virulensi adalah salah satu faktor penentu keberhasilan infeksi jamur terhadap serangga inang dan virulensi erat kaitannya dengan jumlah konidia efektif yang mampu menginfeksi inang. Jumlah konidia efektif dipengaruhi oleh kondisi lingkungan habitat jamur di dalam tanah, terutama kandungan bahan-bahan organik. Salah satu sumber bahan organik yang erat kaitannya dengan perkembangan epizootic jamur-jamur entomopatogen di dalam tanah adalah pupuk kandang. Selain meningkatkan kesuburan tanah,

pupuk kandang juga dapat memacu peningkatan kesehatan populasi organisme berguna di dalam tanah, termasuk jamur-jamur entomopatogen (Fuchsleger et al., 2014; Ojo et al., 2015). Pupuk kandang berperan sebagai sumber nutrisi bagi biota di dalam tanah, termasuk biota yang menjadikan jamur-jamur entomopatogen sebagai sumber nutrisi alternatif, terutama pada saat ketersediaan bahan organik di dalam tanah semakin menipis (Namasivayam et al., 2015). Selain meningkatkan kesuburan tanah sebagai akibat dari meningkatnya populasi maupun aktivitas bakteri pengurai, pemberian pupuk kandang efektif mengurangi aktivitas pemangsaan terhadap jamur-jamur entomopatogen yang dilakukan oleh spesies bakteri tertentu dalam kondisi keterbatasan nutrisi di dalam tanah (Edesi et al., 2013), sehingga peran jamur entomopatogen sebagai faktor mortalitas serangga hama menjadi lebih optimal.

Insektisida kimia sudah sejak lama digunakan sebagai *stressor* untuk meningkatkan efektifitas jamur-jamur entomopatogen (Quintela & McCoy, 1998). Menurut Akbar et al. (2012), insektisida kimia sistemik imidakloprid

termasuk racun kimia yang kompatibel dengan jamur *M. anisopliae* ketika dilakukan pengujian kompatibilitas dengan berbagai insektisida kimia dan fungisida. Hasil penelitian lainnya juga membuktikan bahwa penggunaan imidakloprid dapat mempertinggi kepekaan rayap *Reticulitermes flavipes* (Kollar) yang memiliki kesamaan habitat dengan uret, terhadap infeksi jamur *M. anisopliae* (Ramakrishnan et al., 2014). Penambahan insektisida kimia sistemik, seperti imidakloprid pada aplikasi jamur *M. anisopliae* berperan sebagai *stressor* untuk menurunkan daya tahan tubuh inang agar lebih mudah terinfeksi jamur (Vinayaka et al., 2014; Farooq & Freed, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan pupuk kandang dan insektisida kimia imidakloprid terhadap efektivitas jamur *M. anisopliae* pada uret tebu, *L. stigma*.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Serangga dan Kebun Percobaan Karangploso, Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) mulai Januari sampai dengan Desember 2016.



Gambar 1. Pembiakan jamur *M. anisopliae* menggunakan media cair dan padat (jagung) dengan metode *diphasic fermentation*

## Pembibakan jamur *M. anisopliae*

Jamur *M. anisopliae* strain unggul JTMA-2 dibiakkan dengan metode *diphasic-fermentation* melalui dua tahap. Tahap 1 membiakkan miselium dalam media cair, dan tahap 2 menginokulasikan miselium dalam media cair pada media padat jagung (Gambar 1). Komposisi media cair untuk pembibakan miselium terdiri atas dekstrose, pepton, dan yeast (Carolina et al., 2010). Penyiapan media cair dilakukan dengan mencampur ketiga bahan tersebut, kemudian disterilkan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin, sebanyak 5 ml suspensi jamur *M. anisopliae* dengan konsentrasi  $10^7$  konidia/ml diinokulasikan pada setiap 100 ml media cair, kemudian ditutup rapat dengan kapas dan kasa. Selanjutnya media digojog menggunakan *incubator shaker* selama 96 jam hingga tumbuh miselium dengan ciri-ciri media mengental dan berwarna kekuningan.

Penyiapan media jagung dimulai dengan mencuci bersih beras jagung yang berukuran agak kasar dan membuang butiran jagung yang mengambang. Setelah ditiriskan kemudian dibungkus dengan kantong plastik tahan panas masing-masing  $\pm 25$  g/kantong. Selanjutnya media jagung disterilisasi menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin, media diinokulasi

dengan 4 ml media cair per kantong, kemudian diinkubasikan pada suhu 26°C selama 30 hari.

Panen jamur dilakukan apabila konidia jamur sudah menutup seluruh permukaan media jagung. Selanjutnya dilakukan penghitungan konsentrasi konidia dengan menggunakan alat hemocytometer dan mikroskop. Masing-masing perlakuan disiapkan dengan menggunakan media tanah yang sudah disterilkan.

Penelitian ini menggunakan perlakuan perbandingan Metastigma, yaitu produk bioinsektisida komersial berbasis jamur *M. anisopliae* yang diproduksi Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) Pasuruan, Jawa Timur dengan dosis 100 kg/ha.

## Penyiapan serangga uji, uret *L. stigma*

Uret *L. stigma* dikumpulkan dari lahan pertanaman tebu endemik uret di Asembagus, Situbondo, Jawa Timur, yang kemudian dipelihara di laboratorium selama 1-2 minggu untuk digunakan dalam pengujian. Uret dipelihara di dalam bak-bak plastik berukuran dimensi 30 cm x 40 cm x 15 cm yang telah diisi media tanah bercampur pasir dengan perbandingan 1 bagian tanah dan 1 bagian pasir (Gambar 2). Di dalam setiap bak dipelihara 20–30 ekor uret instar 3 dan diisi potongan wortel segar sebagai pakan.



Gambar 2. Pemeliharaan uret *L. stigma* di laboratorium

### **Uji patogenisitas jamur *M. anisopliae* di laboratorium**

Perlakuan yang diuji dalam penelitian ini adalah (1) *M. anisopliae*, (2) Ma + imidakloprid 5% (1 mg/vial), (3) *M. anisopliae* + pupuk kandang, (4) *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial), (5) Metastigma (pembanding), dan (6) Kontrol. Setiap perlakuan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kali ulangan. Pada setiap perlakuan jamur *M. anisopliae* digunakan dosis 0,5 g atau  $5 \times 10^8$  conidia form unit (cfu)/vial yang berdiameter 5 cm dan tinggi 7 cm. Sebelum diperlakukan dengan uret, setiap perlakuan dipersiapkan terlebih dahulu komponen-komponen bahananya, seperti konidia jamur *M. anisopliae*, kompos pupuk kandang, dan insektisida kimia imidakloprid, kemudian bahan-bahan tersebut dicampur satu sama lain sesuai perlakuan yang akan digunakan. Perlakuan yang menggunakan pupuk kandang terdiri atas 30 g pupuk kandang sapi berupa kompos kering yang dicampur dengan 30 g tanah yang telah disterilisasi sebelumnya. Sebagai perlakuan pembanding digunakan Metastigma, dengan dosis rekomendasi 0,1 g/vial/60 g media tanah.

Setiap vial diisi 60 gram masing-masing media perlakuan, kemudian diinfekti dengan 1 ekor uret instar 3 dan ditambahkan sepotong ( $\pm 2 \text{ cm}^2$ ) wortel. Setiap perlakuan terdiri atas 20 ekor uret, kemudian uret diinkubasikan pada suhu ruangan (28-29°C) hingga stadia pupa ( $\pm 100$  hari) dengan mengganti atau menambahkan wortel segar setiap minggu. Parameter yang diamati adalah mortalitas uret *L. stigma*, yang dilakukan mulai 7 hari setelah perlakuan selama  $\pm 100$  hari dengan interval pengamatan 7 hari.

### **Uji patogenisitas jamur *M. anisopliae* di rumah kasa**

Perlakuan yang diuji dalam penelitian ini adalah (1) *M. anisopliae*, (2) *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (15 mg/pot), (3) *M. anisopliae* + pupuk kandang, (4) *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (30 mg/pot), (5) Metastigma (pembanding, 50 g/pot), dan (6) Kontrol.

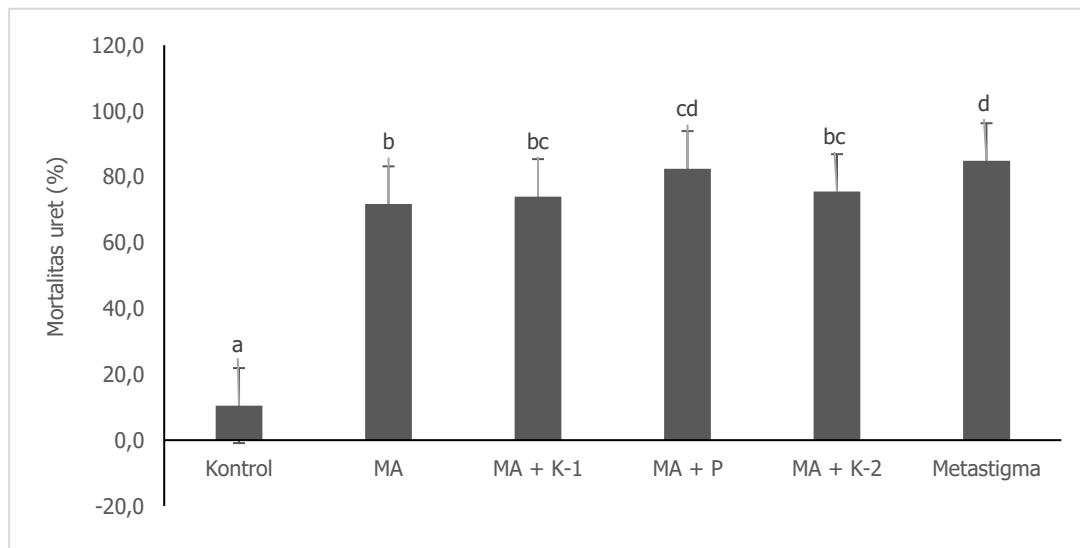
Perlakuan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan empat kali ulangan. Pada penelitian di rumah kasa ini digunakan konidia jamur *M. anisopliae* beserta medianya (jagung) dengan dosis 200 g/pot, setara dengan  $2,0 \times 10^{11}$  cfu/pot, sedangkan dosis pupuk kandang 800 g/pot. Pot yang digunakan dalam penelitian ini adalah pot plastik dengan ukuran diameter 30 cm, diisi dengan campuran media + perlakuan total menjadi 8 kg. Sebanyak 4 ekor uret *L. stigma* instar 3 diinfekti ke dalam setiap pot dan ditambahkan potongan wortel segar untuk pakan uret. Total pot yang digunakan pada setiap perlakuan sebanyak 16 pot untuk empat ulangan. Dalam penelitian di rumah kasa ini, media tanah yang digunakan telah disterilisasi sebelumnya dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 24 jam, kemudian didinginkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang (28-29°C).

Parameter yang diamati adalah jumlah uret (hidup atau mati) yang pengamatannya dilakukan setiap 10 hari selama  $\pm 100$  hari atau hingga stadia pre-pupa/pupa. Pengamatan uret dilakukan dengan cara membongkar tanah di dalam pot untuk mengetahui jumlah uret yang hidup atau mati. Uret mati langsung dibawa ke laboratorium untuk dikonfirmasi secara visual maupun mikroskopis penyebab kematiannya, sedangkan uret yang masih hidup dikembalikan ke dalam pot beserta media tanahnya.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Mortalitas uret *L. stigma* di laboratorium**

Persentase mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan jamur *M. anisopliae* tunggal maupun yang dikombinasikan dengan pupuk kandang atau insektisida kimia imidakloprid, serta pembandingnya Metastigma menunjukkan perbedaan sangat nyata dengan persentase mortalitas uret pada kontrol (Gambar 3). Dibandingkan dengan Metastigma, hanya perlakuan *M. anisopliae* + pupuk kandang yang



Gambar 3. Mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan jamur *M. anisopliae* di laboratorium {(Ket. MA = *M. anisopliae*; MA + K-1 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (1 mg/vial); MA + P = *M. anisopliae* + pupuk kandang; MA + K-2 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial)}

tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap persentase mortalitas hama uret. Hal ini menunjukkan bahwa keefektifan perlakuan *M. anisopliae* + pupuk kandang setara dengan keefektifan pembandingnya, Metastigma. Gambar 3 juga menunjukkan bahwa ketiga perlakuan, yaitu jamur *M. anisopliae* secara tunggal, *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (1 mg/vial), dan *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial) tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap persentase mortalitas uret *L. stigma*. Selain itu, antar perlakuan *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (1 mg/vial), *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial), dan *M. anisopliae* + pupuk kandang tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap mortalitas uret *L. stigma*. Mortalitas uret pada perlakuan Metastigma menunjukkan perbedaan nyata dengan mortalitas uret pada perlakuan jamur lainnya, kecuali perlakuan *M. anisopliae* + pupuk kandang yang tidak berbeda nyata. Persentase mortalitas hama uret yang lebih tinggi pada Metastigma mungkin ada kaitannya dengan penambahan bahan-bahan tertentu ke dalam produk komersial tersebut untuk meningkatkan efektivitasnya, seperti: pelindung ultraviolet, bahan pembawa, dan aditif-aditif lainnya.

Berkaitan dengan penggunaan pupuk kandang pada jamur *M. anisopliae*, hasil penelitian terdahulu membuktikan bahwa pupuk kandang mengandung bahan organik yang telah terdekomposisi dengan baik yang bermanfaat bagi perkembangan epizootik jamur-jamur entomopatogen (Ojo et al., 2015). Dengan asumsi tidak ada perlakuan insektisida kimia, pupuk kandang sangat baik untuk meningkatkan laju perkembangan mikroba di dalam tanah dan efektif mengurangi kompetisi terhadap sumber nutrisi antar mikroorganisme (Lazcano et al., 2012; Tayyab et al., 2018). Penambahan bahan-bahan organik yang bersumber dari pupuk kandang umumnya berpengaruh tidak langsung terhadap perkembangan jamur-jamur entomopatogen, karena dengan meningkatnya ketersediaan nutrisi di dalam tanah melalui pemberian pupuk kandang menyebabkan berkurangnya aktivitas pemangsaan yang dilakukan oleh spesies bakteri tertentu terhadap jamur-jamur entomopatogen, seperti *M. anisopliae*, dan juga terhadap jamur-jamur tular tanah lainnya, seperti *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. (Zaccardelli et al., 2013).

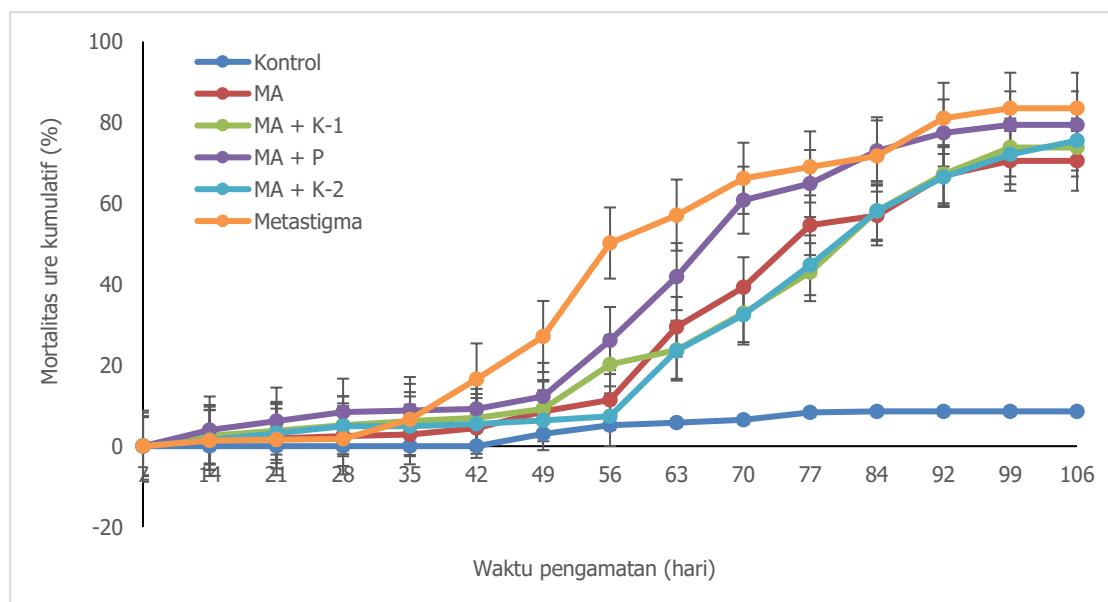
Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis insektisida kimia

imidakloprid 5% dari 1 mg/vial menjadi 2 mg/vial belum efektif meningkatkan mortalitas uret *L. stigma* dibandingkan dengan mortalitas uret pada perlakuan jamur *M. anisopliae* tanpa penggunaan imidakloprid 5% karena tidak menunjukkan perbedaan nyata. Kemungkinan hal ini disebabkan peningkatan dosis imidakloprid tersebut kurang optimal untuk meningkatkan mortalitas uret secara signifikan, meskipun menurut Faraji et al. (2016) jamur *M. anisopliae* kompatibel dengan beberapa insektisida kimia, termasuk imidakloprid. Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa daya racun insektisida kimia terhadap jamur-jamur entomopatogen di dalam tanah cukup rendah, sehingga aplikasi keduanya secara kombinasi selain aman juga berpotensi meningkatkan efektivitas pengendalian (Mochi et al., 2005). Berkaitan dengan hal tersebut, Rashki et al. (2015) menyatakan bahwa jamur-jamur entomopatogen bersifat sinergis dengan insektisida kimia untuk meningkatkan efektivitas pada hama sasaran tertentu, seperti pada hama pengisap *Myzus persicae* yang siklus hidupnya diperpendek setelah diperlakukan dengan kombinasi jamur entomopatogen

dan insektisida kimia imidakloprid. Informasi tentang pengendalian hama uret tebu menggunakan kombinasi jamur *M. anisopliae* dan insektisida kimia tidak banyak tersedia karena beberapa penelitian pengendalian hama uret tebu menerapkan pengendalian tunggal baik yang menggunakan jamur *M. anisopliae* maupun insektisida kimia (Manisegaran et al., 2011; Visalakshi et al., 2015).

Perkembangan mortalitas kumulatif mingguan hama uret *L. stigma* di laboratorium menunjukkan bahwa mortalitas uret baru dimulai setelah 7 HSP, namun hingga 42 HSP mortalitas uret belum menunjukkan peningkatan yang signifikan, karena masih sekitar 10% pada semua perlakuan, kecuali perlakuan pembandingnya, Metastigma dengan mortalitas mencapai 15–20% (Gambar 4). Peningkatan mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan selain Metastigma baru terlihat lebih nyata mulai 56 HSP dan berlanjut hingga 99 HSP.

Kelambatan jamur *M. anisopliae* membunuh hama uret *L. stigma* pada awal inokulasi kemungkinan berkaitan dengan morfologi dan perilaku uret. Berbeda dengan spesies serangga lain, misalnya dari ordo Lepidoptera,



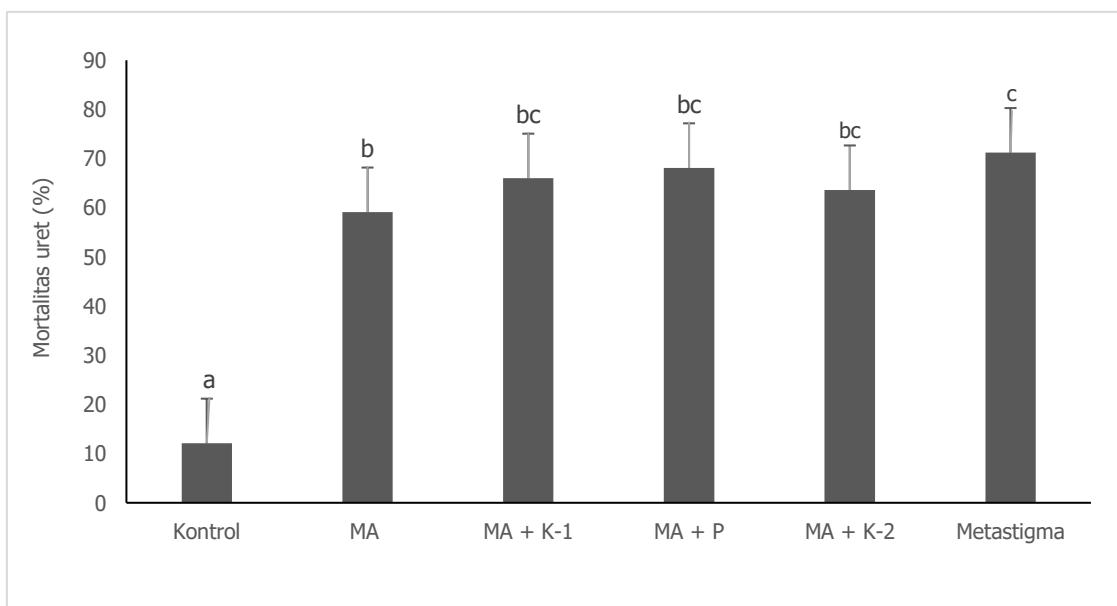
Gambar 4. Perkembangan mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan jamur *M. anisopliae* di laboratorium {(Ket. MA = *M. anisopliae*; MA + K-1 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (1 mg/vial); MA + P = *M. anisopliae* + pupuk kandang; MA + K-2 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (2 mg/vial)}

yang secara umum tingkat kepekaannya sangat tinggi terhadap infeksi entomopatogen, uret tergolong serangga terrestrial (hama tanah) dengan morfologi kutikula yang tebal dan relatif sulit ditembus oleh tabung kecambah (apresorium) jamur, sehingga berpotensi memperlambat proses infeksi pada uret (Ortiz-urquiza & Keyhani, 2013). Menurut Alejandra et al. (2017), waktu normal yang dibutuhkan konidia jamur untuk melakukan kontak dengan tubuh inang melalui integument adalah 24-48 jam. Demikian pula waktu untuk menyelesaikan proses infeksi mulai dari kontak, berkecambah, membentuk tabung kecambah, penetrasi, menginfeksi hemolimfa, dan sporulasi pada organ-organ internal inangnya dalam kondisi tanpa hambatan adalah sekitar 5–7 hari (San Aw & Hue, 2017). Namun demikian, proses infeksi jamur dapat tidak berjalan lancar disebabkan oleh faktor perilaku serangga inang. Salah satu perilaku uret yang erat kaitannya dengan mekanisme pertahanan diri dari infeksi patogen dan parasit adalah bersih-bersih tubuh atau *grooming* (Zhukovskaya et al., 2013). *Grooming*

menyebabkan konidia jamur *M. anisopliae* yang menempel pada tubuh inang terlepas sehingga mengurangi jumlah atau bahkan menghilangkan seluruh konidia yang berpotensi menginfeksi secara efektif. Tetapi dengan penambahan insektisida kimia imidakloprid sebagai racun syaraf menyebabkan inang menjadi lemah dan tidak mampu melakukan *grooming* sehingga konidia jamur dapat berkecambah, berpenetrasi, dan meng-infeksi (Superior et al., 2000).

#### **Mortalitas uret *L. stigma* di rumah kasa**

Persentase mortalitas uret *L. stigma* di rumah kasa sangat berbeda nyata antara perlakuan dan kontrol (Gambar 5). Persentase mortalitas uret antar perlakuan tidak berbeda nyata, kecuali antara perlakuan jamur *M. anisopliae* dan pembanding Metastigma. Mortalitas uret pada perlakuan-perlakuan *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (15 mg/pot), *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (30 mg/pot), dan *M. anisopliae* + pupuk kandang tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan jamur *M. anisopliae* tunggal. Hal tersebut



Gambar 5. Mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan jamur *M. anisopliae* di rumah kasa {(Ket. MA = *M. anisopliae*; MA + K-1 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (15 mg/pot); MA + P = *M. anisopliae* + pupuk kandang; MA + K-2 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (30 mg/pot)}.

menunjukkan bahwa tingkat keefektifan jamur *M. anisopliae* baik tunggal maupun kombinasi dengan pupuk kandang atau insektisida kimia imidakloprid pada kondisi yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan, terutama suhu dan kelembaban di dalam rumah kasa menyebabkan penurunan yang signifikan sehingga kurang efektif membunuh uret. Kemungkinan hal ini berkaitan dengan kondisi jamur *M. anisopliae* yang digunakan masih murni dan belum diformulasi sebagaimana Metastigma. Hasil penelitian di rumah kasa ini menunjukkan bahwa pada kondisi lingkungan yang kurang sesuai bagi jamur *M. anisopliae* menyebabkan keefektifannya menurun, sehingga penambahan pupuk kandang atau insektisida kimia sekalipun tidak menyebabkan peningkatan efektivitas.

Dibandingkan dengan mortalitas murni hama uret *L. stigma* di laboratorium, di rumah kasa terjadi penurunan mortalitas sekitar 10%. Penurunan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor, terutama suhu dan kelembaban lingkungan rumah kasa. Tidak tersedianya fasilitas pengatur suhu dan kelembaban menyebabkan rata-rata suhu di dalam rumah kasa selama penelitian dilakukan cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan suhu di luar rumah kasa. Hal ini tentu mempengaruhi efektifitas jamur *M. anisopliae* terhadap hama uret. Menurut Dimbi et al. (2004) dan Rodrigues et al. (2016), suhu lingkungan yang melebihi 30°C menyebabkan kerusakan pada konidia jamur entomopatogen sehingga patogenisitasnya terhadap hama sasaran menurun. Lebih jauh Rodrigues et al. (2016) menyatakan bahwa radiasi sinar ultraviolet mengakibatkan kerusakan pada konidia murni (belum diformulasi) jamur *M. anisopliae* setelah terekspos selama 5 menit dengan penurunan daya kecambah dari 96% menjadi 54%.

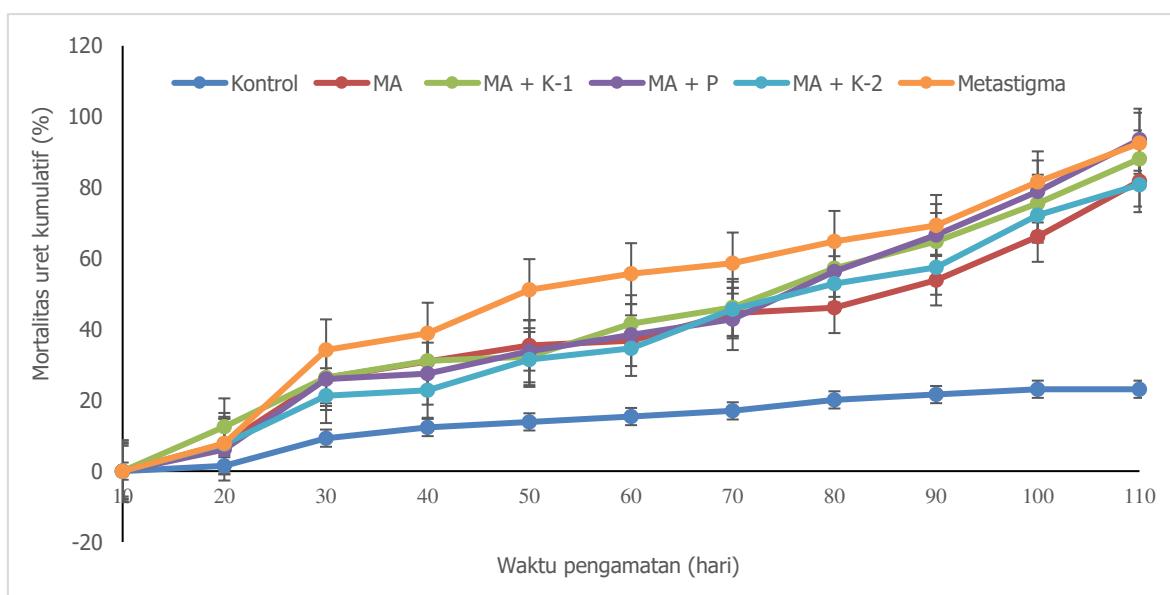
Meskipun tidak menunjukkan perbedaan sangat nyata, penambahan pupuk kandang pada aplikasi jamur *M. anisopliae* berpotensi meningkatkan mortalitas uret dibandingkan

tanpa pupuk kandang, demikian pula dengan penambahan imidakloprid pada jamur *M. anisopliae* (Gambar 5). Menurut Parham et al., (2003) dan San Aw & Hue (2017), pemberian bahan organik baik yang bersumber dari pupuk kandang maupun bahan organik lainnya memberi pengaruh positif terhadap perkembangan mikroba di dalam tanah, termasuk meningkatkan biomassa dan aktivitas mikroba yang berkontribusi terhadap kesuburan tanah. Menurut Mohammadi et al. (2011), mikroba yang paling dominan memanfaatkan nutrisi yang bersumber dari pupuk kandang adalah bakteri dari golongan Actinomycetes yang sebagian besar merupakan bakteri pengurai (dekomposer). Hasil penelitian terdahulu juga membuktikan bahwa penggunaan pupuk kandang dapat mempertahankan dan meningkatkan aktifitas mikroba serta kelimpahan populasinya di dalam tanah (Edesi et al., 2013). Dalam kaitannya dengan jamur-jamur entomopatogen, pemberian pupuk kandang tidak secara langsung dan spesifik mempertinggi kelimpahan populasi jamur tersebut, melainkan berdampak pada penurunan aktifitas pemangsaan terhadap jamur-jamur entomopatogen yang dilakukan oleh bakteri saprofit (pengurai) ketika dalam kondisi keterbatasan nutrisi yang bersumber dari bahan-bahan organik (Ojo et al., 2015; Uzman et al., 2019).

Untuk mengetahui ada tidaknya infeksi jamur *M. anisopliae*, maka uret-uret yang mati di rumah kasa dibawa ke laboratorium untuk dikonfirmasi secara mikroskopis penyebab kematiannya. Hasil konfirmasi menunjukkan adanya konidia jamur *M. anisopliae* dengan kisaran konsentrasi sangat rendah ( $10^2$ – $10^5$  cfu/ml) pada setiap uret yang terinfeksi. Rendahnya konsentrasi konidia tersebut juga menjadi salah satu petunjuk bahwa perkembangan jamur di dalam tubuh uret setelah uret mati menunjukkan kurang maksimal untuk dapat menyebabkan gejala mikosis (adanya jamur) pada tubuh inangnya. Sehubungan dengan hal tersebut, hasil penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa faktor-faktor biotik di

dalam tanah, seperti mikroorganisme tanah selain entomopatogen, arthropoda tanah, dan bahkan eksudat dari tanaman dapat menghambat interaksi antara jamur-jamur entomopatogen (*Beauveria bassiana* dan *M. Anisopliae*) dan serangga inang (Zaccardelli et al., 2013). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa jamur saprofit (actinomycetes) seringkali menjadi penghambat utama perkembangan jamur-jamur entomopatogen pada inang terinfeksi, karena sebelum terjadi mikosis jamur saprofit telah terlebih dahulu memanfaatkan sumber nutrisi dari inang yang sudah mati tersebut (Carmen et al., 2008). Pernyataan tersebut didukung oleh salah satu hasil penelitian yang membuktikan adanya hambatan pertumbuhan konidia pada kutikula serangga inang pada tanah yang tidak steril. Hambatan tersebut biasanya bersifat fungistasis (antibiosis) di dalam tanah yang dilakukan oleh sejumlah mikroorganisme tanah, seperti bakteri, protozoa, kelompok jamur actinomycetes dan jamur tanah (Wepking et al., 2017).

Jika diamati perkembangan mortalitas kumulatif hama uret di rumah kasa, pada semua perlakuan jamur *M. anisopliae* terjadi peningkatan mortalitas uret mulai 20 hingga 110 hari setelah perlakuan (Gambar 6). Pada semua perlakuan jamur *M. anisopliae* mortalitas uret terus mengalami peningkatan hingga 110 hari setelah perlakuan, dan bahkan masih berlanjut pada uret hidup yang dibawa ke laboratorium beserta media tanah secukupnya setelah 110 hari untuk dilanjutkan pengamatan mortalitasnya. Hal ini menunjukkan bahwa jamur *M. anisopliae* persisten di dalam tanah dan efektif menyebabkan mortalitas pada inangnya hingga lebih dari 110 hari setelah aplikasi. Hasil penelitian ini didukung hasil penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa jamur *M. anisopliae* di dalam tanah dengan kandungan bahan-bahan organik yang berkelanjutan mampu persisten hingga 8 bulan setelah aplikasi (Guerrero-Guerra et al., 2013).



Gambar 6. Perkembangan mortalitas uret *L. stigma* pada perlakuan jamur *M. Anisopliae* di rumah kasa {Ket. MA = *M. anisopliae*; MA + K-1 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (15 mg/pot); MA + P = *M. anisopliae* + pupuk kandang; MA + K-2 = *M. anisopliae* + imidakloprid 5% (30 mg/pot)}

## KESIMPULAN

Di laboratorium, penambahan pupuk kandang pada aplikasi jamur *M. anisopliae* efektif meningkatkan mortalitas uret sebesar 12,9%, sedangkan di rumah kasa penambahan pupuk kandang maupun insektisida kimia imidakloprid pada aplikasi jamur *M. anisopliae* tidak efektif meningkatkan mortalitas uret *L. stigma*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada saudari Herlin Ari, tenaga teknis di Laboratorium Patologi Serangga yang telah membantu pelaksanaan kegiatan penelitian ini hingga selesai, dan juga ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kepala Kebun Percobaan Karangploso, bapak Suhadi yang telah menyediakan fasilitas rumah kasa sehingga kegiatan ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar. Sumber dana penelitian ini adalah dari DIPA Balittas Tahun Anggaran 2016.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S., Freed, S., Hameed, A., Gul, H.T., Akmal, M., 2012. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* with different insecticides and fungicides. African J. Microbiol. Res. 6, 3956–3962. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.417>.
- Alejandra, M., Mora, E., Marcelo, A., Castilho, C., Fraga, M.E., 2017. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. Arq. Inst. Biol. 84, 1–10. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000552015>.
- Carmen, M., García, V., Suárez, F., M, E., López, J., Moreno, J., 2008. Influence of compost amendment on soil biological properties and plants. Dyn. Soil, Dyn. Plant 2, 1–9.
- Carolina, A., Machado, R., Monteiro, AC., Maria, A., Almeida, B.D., Inez, M. and, Geraldo, E., 2010. Production technology for entomopathogenic fungus using a biphasic culture system. Pesq. Agropec. Bras., Brasília 45, 1157–1163.
- Chelvi, C.T., Thilagaraj, W.R., Nalini, R., 2011. Field efficacy of formulations of microbial insecticide *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) for the control of sugarcane white grub *Holotrichia serrata* F (Coleoptera: Scarabidae). J. Biopestic. 4, 186–189.
- De, C., Ganeshan, S., 2016. Sugarcane white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in Africa and Indian Ocean Islands: Their pest status and the potential for fungal entomopathogenic control entomopathogenic control. Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass. 89, 116–124.
- Dimbi, S., Maniania, N.K., Lux, S.A., 2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African Tephritid fruit flies. BioControl 49 49, 83–94.
- Edesi, L., Järvan, M., Laurington, E., Akk, E., Tamm, K., 2013. The effect of solid cattle manure on soil microbial activity and on plate count microorganisms in organic and conventional farming systems. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci 2, 476–488.
- Faraji, S., Shadmehri, A.D., Mehrvar, A., 2016. Compatibility of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with some pesticides. J. Entomol. 36, 137–146.
- Farooq, M., Freed, S., 2016. Lethal and sublethal effects of mixtures of entomopathogenic fungi and synthetic insecticides on biological aspects of *Musca domestica* L. Turkiye Entomoloji Derg. 40, 211–225. <https://doi.org/10.16970/ted.20601>.
- Fuchsleger, L., Gentsch, N., Gittel, A., Guggenberger, G., Hofer, A., Kienzl, S., Knoltsch, A., Lashchinskiy, N., Mikutta, R., Hana, S., 2014. Effects of soil organic matter properties and microbial community composition on enzyme activities in cryoturbated arctic soils 9, Plos One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094076>.
- Guerrero-Guerra, C., Reyes-Montes, M.D.R., Toriello, C., Hernández-Velázquez, V., Santiago-López, I., Mora-Palomino, L., Calderón-Segura, M.E., Fernández, S.D., Calderón-Ezquerro, C., 2013. Study of the persistence and viability of *Metarhizium acridum* in Mexico's agricultural area. Aerobiologia (Bologna). 29, 249–261. <https://doi.org/10.1007/s10453-012-9277-8>.

- Indrayani, IGAA., Winarno, D., Amir, A.M., 2014. Patogenisitas dua isolat lokal jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap hama uret tebu, *Lepidiota stigma* (Coleoptera: Scarabaeidae). Laporan Teknis Hasil Penelitian Balittas, 11 hlm.
- Khan, S., Guo, L., Maimaiti, Y., Mijit, M., Qiu, D., 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. Mol. Plant Breed. 3, 63–79. <https://doi.org/10.5376/mpb.2012.03.0007>.
- Khanal, D., Dhoj, G.C.Y., Sporleder, M., Thapa, R.B., 2012. Distribution of white grubs in three ecological domains of Nepal. Agric. Environ. 13, 40–46.
- Lazcano, C., Gómez-brandón, M., Revilla, P., Dominguez, J., 2012. Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. Biol Fertil. Soils 49, 723–733. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0761-7>.
- Manisegaran, S., Lakshmi, S.M., Srimohanapriya, V., 2011. Field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against *Holotrichia serrata* (Blanch) in sugarcane. J. Biopestic. 4, 190–193.
- Mochi, D.A., A.C. Monteiro, J.C. Barbosa, 2005. Action of pesticides to *Metarhizium anisopliae* in Soil. Neotrop. Entomol. 6, 961–971.
- Mohammadi, K., Heidari, G., Khalesro, S., Sohrabi, Y., 2011. Soil management, microorganisms and organic matter interactions: A review. African J. Biotechnol. 10, 19840–19849. <https://doi.org/10.5897/AJBX11.006>.
- Namasivayam, S.K.R., Aarthi, R., Anbazhahan, P., 2015. Studies on factors influencing the viability of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* in soil adapting culture dependent method. J. Biopestic. 8, 23–27.
- Ojo, O.I., Olajire-Ajayi, B.L., Dada, O.V., Wahab, O.M, 2015. Effects of fertilizers on soil's microbial growth and populations: a review. Am. J. Eng. Res. 4, 52–61.
- Ortiz-urquiza, A., Keyhani, N.O., 2013. Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. Insects 4, 357–374. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>.
- Parham, J.A., Deng, S.P., Da, H.N., Sun, H.Y., Raun, W.R., 2003. Long-term cattle manure application in soil . II . Effect on soil microbial populations and community structure. Biol. Fertil. Soils 38, 209–215. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0657-7>.
- Quintela, E.D., Mccoy, C.W., 1998. Conidial attachment of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the larval cuticle of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) treated with imidacloprid. J. Invertebr. Pathol. 230, 220–230.
- Ramakrishnan, R., Suiter, D., Nakatsu, C.H., Humber, R.A., Bennett, G.W., 2014. Imidacloprid-enhanced *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) susceptibility to the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. J. Econ. Entomol 92, 1125–1132. <https://doi.org/10.1093/jee/92.5.1125>.
- Rashki, M., Talepour, F., Shirvani, A., 2015. Sub-lethal effect of combination of *Metarhizium anisopliae* and imidacloprid on life table of *Myzus persicae* (Hem: Aphididae). J. Crop Prot. 4, 577–587.
- Rodrigues, I.M.W., Forim, M.R., Silva, M.F.G.F., Fernandes, J.B., 2016. Effect of ultraviolet radiation on fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, pure and encapsulated, and bio-insecticide action on *Diatraea saccharalis*. Advances in Entomology 4, 151–162.
- Samson, P.R., Bade, G.S., Harris, W.J., 2010. Efficacy of BIOCANE™ against southern one-year canegrub, *Antitrogus consanguineus*. 32nd Annu. Conf. Aust. Soc. Sugar Cane Technol. 2010, ASSCT 2010 32, 50–61.
- San Aw, K.M., Hue, S., 2017. Mode of infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. J. Fungi 3, 1–20. <https://doi.org/10.3390/jof3020030>.
- Shahid, A.A., Rao, A.Q., Bakhsh, A., Husnain, T., 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: New insights into their virulence and pathogenicity. Arch. Biol. Sci. 64, 21–42. <https://doi.org/10.2298/ABS1201021S>.
- Sunarto, D.A., Subiyakto, S., 2018. Efisiensi Penggunaan mulsa plastik dalam pengendalian uret (*Lepidiota stigma* Fabricius) pada tanaman tebu. Bul. Tanam. Tembakau, Serat Miny. Ind. 10, 55–63.
- Superior, E., Entomopatog, F., Resumo, I., 2000. Grooming capacity inhibition in *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) inoculated with entomopathogenic fungi and

- treated with imidacloprid. An. Soc. Entomol. Bras. 29, 537–546.
- Tayyab, M., Id, W.I., Arafat, Y., Pang, Z., Zhang, C., 2018. Effect of sugarcane straw and goat manure on soil nutrient transformation and bacterial communities. Sustainability 10, 1–21. <https://doi.org/10.3390/su10072361>.
- Theurkar, S.V., Ghadage, M.K., Patil, S.B., 2013. New laboratory culture method for white grub national pest, India. Int. Res. J. Biol. Sci. 2, 83–85.
- Uzman, D., Pliester, J., Leyer, I., Entling, M.H., Reineke, A., 2019. Drivers of entomopathogenic fungi presence in organic and conventional vineyard soils. Appl. Soil Ecol. 133, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.004>.
- Vinayaka, J., Patil, R.R., Prabhu, S.T., 2014. Field evaluation of EC formulations of *Metarrhizium anisopliae* (Meschinihoff) Sorokin and few insecticides against arecanut white grub, *Leucopholis lepidophora*, Blanchard. J. Entomol. Zool. Stud. 6, 1034–1037.
- Visalakshi, M., B. Bhavani, Rao, S.G., 2015. Field evaluation of entomopathogenic fungi against white grub, *Holotrichia consanguinea* Blanch in sugarcane. J. Biol. Control 29, 103–106.
- Wepking, C., Avera, B., Badgley, B., Barrett, J.E., Franklin, J., Knowlton, K.F., Ray, P.P., Smitherman, C., Strickland, M.S., 2017. Exposure to dairy manure leads to greater antibiotic resistance and increased mass-specific respiration in soil microbial communities. Proc. R. Soc. B 284 1–9.
- Yubak, D.G.C., 2009. Microbial Ccontrol of white grubs in Nepal: The way forward. J. Agric. Environ. 10, 134–142.
- Zaccardelli, M., Nicola, F.D., Villecco, D., Scotti, R., 2013. The development and suppressive activity of soil microbial communities under compost amendment. J. Soil Sci. Plant Nutr. 13, 730–742.
- Zhukovskaya, M., Yanagawa, A., Forschler, B.T., 2013. Grooming behavior as a mechanism of insect disease defense. Insects 2013, 4, 609–630. <https://doi.org/10.3390/insects4040609>.