

Karakterisasi Fisiologi Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* sebagai Calon Bahan Aktif Bioinsektisida untuk Pengendalian Telur Kepik Coklat (*Riptortus linearis*) pada Kedelai

Yusmani Prayogo

Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Jl. Raya Kendalpayak KM 08, PO. BOX 66 Malang, 65101
Telp. (0341) 801468, 801075; Faks. (0341) 801496, E-mail: manik_galek@yahoo.com

Diajukan: 23 Februari 2013; Diterima: 31 Mei 2013

ABSTRACT

Physiological Characterization of Entomopathogenic Fungi *Lecanicillium lecanii* as Potencial Active Ingredients of Bioinsecticides for Controlling Eggs of Brown Ladybug (*Riptortus linearis*) on Soybean. Yusmani Prayogo. The aim of the research was to determine the physiological characters of various *L. lecanii* isolates as active materials of bioinsecticide to control pod sucking bug *Riptortus linearis* egg on soybean. Thirty seven (37) of *L. lecanii* isolates were collected from four locations of soybean plantation in Indonesia. This study obtained four virulent isolates that were potential as active ingredient of bioinsecticide i.e. LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, and LI-TB2. Virulent isolates were obtained from insect cadaver isolation in the field, while less virulent isolates were gained from soil. Physiological characters of potential isolates were fast colonization rate of the egg, thick and wholly, high sporulation with large conidial size, high germination rate after 12 hours incubated in the water, up to 95% germ tubes were formed. Clustering of isolates based on the physiology character can determine the fungus virulence, while the grouping based on the source or host location can not select fungal virulence. The virulent isolates had similarity in physiological characters equal to 98%. Therefore, four potential isolates could be used as biological agents in integrated pest mangement program (IPM), especially pod sucking bug *R. linearis* on soybean.

Keywords: Soybean, physiological character, *L. lecanii*, egg, *R. linearis*, biocontrol.

ABSTRAK

Lecanicillium lecanii merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang mempunyai kisaran inang yang cukup luas. Penelitian ini bertujuan mempelajari karakter fisiologi beberapa isolat cendawan *L. lecanii* sebagai calon bahan aktif bioinsektisida untuk mengendalikan telur hama kepik coklat (*Riptortus linearis*) pada kedelai. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap, perlakuan terdiri atas 37 isolat *L. lecanii* yang diperoleh dari lahan pertanian kedelai di empat sentra produksi di Indonesia. Dari penelitian ini diperoleh empat isolat yang virulen sebagai calon bahan aktif

bioinsektisida, yaitu LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2. Isolat yang virulen diperoleh dari isolasi bangkai serangga di lapang, sedangkan isolat yang kurang virulen diperoleh dari tanah. Isolat yang virulen mempunyai karakter tumbuh lebih cepat dalam mengkolonisasi telur, koloni lebih tebal, sporulasi lebih cepat dan ukuran konidianya lebih besar, perkecambahan konidia lebih cepat berkisar 12 jam setelah diinkubasi di dalam air, dan tabung kecambah terbentuk hingga mencapai di atas 95%. Pengelompokan isolat berdasarkan karakter fisiologi dapat menentukan virulensi cendawan, sedangkan pengelompokan berdasarkan sumber inang atau lokasi tidak dapat menyeleksi tingkat virulensi cendawan. Empat isolat yang virulen memiliki kemiripan karakter fisiologi hingga mencapai 98%. Oleh karena itu, empat isolat tersebut sangat potensial digunakan sebagai salah satu calon bahan aktif bioinsektisida dalam program pengelolaan hama terpadu (PHT), khususnya hama kepik coklat *R. linearis* pada kedelai.

Kata kunci: Kedelai, karakter fisiologi, *L. lecanii*, telur, *R. linearis*, biokontrol.

PENDAHULUAN

Lecanicillium lecanii (= *Verticillium lecanii*) (Zare & Gams) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang bersifat ovisidal, sehingga mampu menggagalkan penetasan telur serangga hama (Wang *et al.*, 2007; Shinya *et al.*, 2008a). Hasil penelitian Prayogo (2004) menunjukkan bahwa *L. lecanii* mampu menggagalkan penetasan telur hama kepik coklat *Riptortus linearis* F. (Hemiptera: Alydidae) pada kedelai. Persentase telur kepik coklat yang tidak menetas setelah terinfeksi *L. lecanii* mencapai 80%. Telur yang menetas membentuk nimfa I akhirnya mati tidak dapat berkembang menjadi nimfa II karena gagal berganti kulit (*moulting*). Efikasi *L. lecanii* tidak hanya terbatas pada telur karena cendawan tersebut juga mampu menginfeksi stadia nimfa maupun imago kepik coklat. Oleh ka-

rena itu, cendawan *L. lecanii* berpeluang besar dapat digunakan sebagai agen hayati untuk pengendalian hama kepik coklat.

Cendawan *L. lecanii* ditemukan pertama kali pada tahun 1898 menginfeksi serangga hama kutu sisik (*scale insect*) di perkebunan kopi di Jawa Timur oleh Zimmermann (Kouvelis *et al.*, 1999). Pada waktu itu Zimmermann memberi nama *Cephalosporium lecanii*, tetapi pada tahun 1939 diganti dengan nama *Verticillium lecanii* oleh Viegas (Kouvelis *et al.*, 1999). Perubahan nama terus dilakukan hingga akhirnya berubah menjadi *L. lecanii* yang didasarkan pada karakter fisiologi maupun analisis molekulernya (Zare dan Gams, 2001; Cortez-Madrigal *et al.*, 2003; Roy *et al.*, 2006; Zare dan Gams, 2008). Berdasarkan karakter fisiologi dan molekulernya, cendawan *L. lecanii* dapat dibedakan dengan spesies *L. muscarium*, *L. longsporum*, *L. nodulosum*, maupun *L. psalliotae* yang umumnya ditemukan di daerah subtropik (Marshall *et al.*, 2003; Koike *et al.*, 2007; Kouvelis *et al.*, 2008). Spesies *Lecanicillium* yang ditemukan di Indonesia dapat dipastikan ialah *L. lecanii* (Kouvelis *et al.*, 2008).

Menurut Alavo *et al.* (2004), *L. lecanii* bersifat kosmopolit, sehingga banyak ditemukan berbagai isolat di daerah tropis maupun subtropis yang merupakan keragaman genetik dengan tingkat virulensi cendawan yang sangat bervariasi. Sementara itu, virulensi isolat *L. lecanii* sangat dipengaruhi oleh karakter fisiologi cendawan (Fatiha *et al.*, 2007). Hasil penelitian Varela dan Morales (1996) mengindikasikan bahwa karakter fisiologi cendawan berkaitan dengan tingkat pertumbuhan koloni, ukuran dan produksi konidia, daya kecambah konidia, sensitivitas konidia terhadap suhu, dan mortalitas serangga inang. Sedangkan tingkat mortalitas serangga inang dipengaruhi oleh sumber isolat cendawan, kerapatan suspensi konidia yang diaplikasikan, dan umur stadia inang (del-Prado *et al.*, 2008; Mahmoud, 2009). Isolat yang diperoleh dari satu lokasi dan inang yang berbeda akan berbeda pula karakter fisiologi maupun virulensi dari masing-masing isolat. Begitu juga isolat yang diperoleh dari lokasi yang berbeda dari sumber inang yang sama juga memiliki karakter fisiologi dan virulensi yang berbeda pula. Varela dan Morales (1996) melaporkan bahwa karakter fisiologi cenda-

wan dapat digunakan sebagai tolok ukur untuk mengidentifikasi isolat yang virulen dari lapang. Oleh karena itu, kegiatan karakterisasi perlu dilakukan agar diperoleh isolat yang memiliki tingkat virulensi tinggi sebagai calon bioinsektisida untuk pengendalian kepik coklat pada kedelai. Penelitian ini bertujuan mempelajari karakter fisiologi beberapa isolat cendawan entomopatogen *L. lecanii* sebagai calon bioinsektisida untuk mengendalikan telur kepik coklat (*R. linearis*) pada kedelai.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi, Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang dan Laboratorium Patologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB). Penelitian dimulai dari Maret 2007 sampai dengan Desember 2008.

Rancangan percobaan yang digunakan ialah acak lengkap dengan empat ulangan dengan perlakuan 37 isolat cendawan entomopatogen *L. lecanii*.

Bahan yang digunakan ialah telur *R. linearis* yang diperoleh dari imago. Imago *R. linearis* diperoleh dengan cara mengumpulkan dari lahan per-tanaman kedelai dengan menggunakan jaring serangga (*sweep net*), setelah itu dipelihara di laboratorium menggunakan sangkar yang disungkup dengan kain kasa. Setiap hari serangga diberi pakan kacang panjang yang sudah membentuk biji. Pada setiap sangkar diselipkan kumpulan benang-benang yang berfungsi sebagai tempat peletakan telur untuk imago betina. Pemeliharaan serangga dilakukan terus menerus hingga diperoleh generasi imago betina (F₂) dengan kapasitas produksi telur tiap hari mencapai 2.000 butir sebagai bahan uji virulensi isolat cendawan.

Uji Virulensi berbagai Isolat *L. lecanii*

Isolat cendawan *L. lecanii* diperoleh melalui cara (1) isolasi dari bangkai serangga (*cadaver*) hama yang terinfeksi cendawan, (2) sistem pengumpanan (*insect baiting*) yang menggunakan serangga ulat grayak (*Spodoptera litura*), kepik coklat (*R. linearis*), kutu kebul (*Trialeurodes* sp.), dan (3) dari contoh tanah. Eksplorasi cendawan diperoleh dari berbagai sentra produksi kedelai di Lampung, Sumatera Selatan, Jawa Timur, dan Nusa Tenggara

Barat. Cendawan diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi (Humber, 1997; 1998; Zimmermann, 1998).

Masing-masing isolat *L. lecanii* ditumbuhkan pada media *potato dextrose agar* (PDA) di dalam cawan petri yang berdiameter 9 cm. Pada umur 21 hari, koloni setiap isolat cendawan diambil konidianya dan dihitung menggunakan *haemocytometer* hingga diperoleh kerapatan 10^7 /ml. Masing-masing suspensi konidia isolat cendawan dengan dosis 2 ml diaplikasikan pada telur kepik coklat 100 butir per ulangan. Variabel yang diamati ialah

1. Jumlah telur kepik coklat yang tidak menetas akibat infeksi dan terkolonisasi cendawan yang dihitung mulai waktu aplikasi sampai dengan 10 hari setelah aplikasi untuk menghitung virulensi isolat;
2. Jumlah nimfa II kepik coklat yang hidup setelah enam hari terbentuk dari nimfa I;
3. Jumlah konidia cendawan yang terbentuk pada tiap telur yang tidak menetas dan terkolonisasi miselium cendawan pada hari ke sebelas setelah aplikasi. Tiap telur yang tidak menetas dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air 10 ml kemudian dikocok selama 30 detik menggunakan *vortex*. Suspensi konidia yang sudah homogen dihitung menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop.
4. Daya kecambah konidia cendawan dihitung setelah diinkubasi di dalam air selama 10 jam. Suspensi konidia yang sudah diinkubasi diambil menggunakan mikro pipet kemudian diteteskan ke atas gelas obyek dan ditutup dengan kaca penutup (*cover glass*). Penghitungan dengan cara mengamati di bawah mikroskop optik merk Zeiss tipe 47.30159901 (German) pada satu bidang pandang. Daya kecambah dinilai dari jumlah total konidia yang berkecambah dibagi jumlah total konidia yang diamati dikalikan 100%;
5. Periode waktu yang dibutuhkan konidia berkecambah mencapai 95%. Peubah ini diperlukan untuk menilai efikasi konidia sebagai calon bahan aktif bioinsektisida. Semakin cepat konidia berkecambah, semakin efektif untuk digunakan sebagai calon bioinsektisida karena di lapang konidia semakin cepat menginfeksi inang sehingga terhindar dari faktor lingkungan yang mendera.

Toleransi Berbagai Isolat *L. lecanii* terhadap Suhu

Semua isolat yang diuji ditumbuhkan pada media PDA di dalam cawan petri berdiameter 9 cm kemudian disimpan pada suhu yang berbeda (20, 25, 27, 30, dan 32°C). Variabel yang diamati ialah

1. Diameter koloni cendawan diamati setiap hari setelah diinokulasi dengan cara mengukur diameter koloni yang tumbuh.
2. Jumlah konidia yang diproduksi setelah biakan cendawan berumur 21 hari setelah inokulasi. Produksi konidia dihitung dengan cara menimbang 1 g biakan koloni cendawan bersama media tumbuhnya kemudian dimasukkan ke dalam air 1.000 ml, selanjutnya dikocok menggunakan *vortex* selama 30 detik dan dihitung menggunakan *haemocytometer*.

Karakter Koloni Cendawan

Semua isolat cendawan yang sudah terisolasi ditumbuhkan pada media PDA di dalam cawan petri yang berdiameter 9 cm. Pada umur 14 hari, pertumbuhan koloni cendawan dikarakterisasi dengan membandingkan pola pertumbuhan koloni cendawan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Rayner dan Boddy (1988) meliputi bentuk/pola koloni, bentuk hifa, ketebalan koloni, dan kecepatan pertumbuhan koloni.

Analisis Data

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

Analisis Pengelompokan Isolat Cendawan

Pengelompokan dari masing-masing isolat *L. lecanii* didasarkan dari kemiripan karakter fisiologi cendawan meliputi (1) virulensi tiap isolat, diperoleh dari jumlah telur yang tidak menetas; (2) jumlah konidia, diproduksi pada tiap telur yang tidak menetas; (3) ukuran konidia, diamati menggunakan mikrometer pada mikroskop Zeiss tipe 47.30159901; (4) daya kecambah konidia; (5) pe-

riode waktu kecambah; (6) toleransi terhadap suhu; dan (7) karakter koloni menggunakan analisis program MINITAB 14. Hasil analisis pengelompokan isolat adalah berupa dendogram hubungan kemiripan karakter fisiologi cendawan antarisolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Virulensi Beberapa Isolat *L. lecanii*

Virulensi isolat diukur dari persentase telur kepik coklat yang tidak menetas hingga enam hari setelah aplikasi. Virulensi tertinggi dicapai oleh isolat LI-JTM11 (75%), virulensi terendah 12%, yaitu isolat LI-NTB4 (Tabel 1). Diperoleh empat isolat yang virulen, yaitu LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2 dengan jumlah telur yang tidak menetas masing-masing 75, 72, 69, dan 73%. Isolat LI-JTM11, LI-JTM12, LI-TB2 diperoleh dari bangkai *S. litura*, sedangkan LI-JTM15 dari bangkai kepik coklat. Virulensi isolat *L. lecanii* yang diperoleh dari serangga mati (*cadaver*) jauh lebih tinggi apabila dibandingkan dengan isolat yang diperoleh dari metode pengumpanan di dalam tanah, yaitu hanya di bawah 45%. Rendahnya virulensi isolat *L. lecanii* yang diperoleh dari kedua sumber tersebut diduga karena isolat-isolat ini dalam keadaan fase saprob dan cendawan mengalami banyak cekaman, seperti aktivitas pestisida kimia maupun senyawa metabolit bekas tanaman yang ada di permukaan tanah. Oleh karena itu, isolat tersebut perlu diinfeksi ke serangga inang terlebih dahulu sebelum diuji untuk mengembalikan fase parasit, sehingga totalitas fase patogenesis isolat dapat diekspresikan.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa virulensi antarisolat sangat beragam tergantung dari asal isolat. Ropek dan Para (2002) melaporkan bahwa pertumbuhan *V. lecanii* yang diperoleh dari tanah dipengaruhi oleh berbagai logam berat. Menurut Klingen *et al.* (2002), senyawa metabolit sekunder tanaman juga dapat menghambat pertumbuhan cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae*. Menurut Sudirman *et al.* (2008) senyawa dari berbagai serasah tanaman, khususnya dari kelompok Brassicaceae menghambat pertumbuhan dan perkembangan cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* meskipun sudah dikulturkan beberapa kali, sehingga berpengaruh langsung ter-

hadap tingkat virulensi cendawan. Sedangkan Alavo *et al.* (2004) menambahkan bahwa kisaran inang dan kondisi ekologi setempat dapat mempengaruhi keragaman genetik dan tingkat virulensi cendawan. Sementara itu, keragaman genetik dapat terjadi karena mutasi, rekombinasi gen, reproduksi seksual dan paraseksual, seleksi, heterokariosis, dan migrasi gen dari suatu tempat ke tempat lain (McDonald, 1997).

Jumlah Konidia pada Tiap Telur Kepik Coklat yang Tidak Menetas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang virulen mampu memproduksi konidia lebih banyak pada tiap telur kepik coklat yang tidak menetas dibandingkan dengan isolat yang avirulen. Jumlah konidia yang terbanyak terbentuk pada isolat LI-TB2, LI-JTM15, LI-JTM12, dan LI-JTM11 masing-masing di atas 7×10^6 per telur (Tabel 1). Sedangkan produksi konidia pada isolat yang avirulen hanya $1-5 \times 10^6$ per telur. Isolat yang virulen ditandai dengan kolonisasi lebih cepat, miselium lebih tebal (Gambar 1) dan konidia yang diproduksi lebih banyak sehingga lebih cepat terjadi epizooti (Atkinson dan Durshner-Pelz, 1995; Ganga-Visalakshy *et al.*, 2004).

Jumlah Nimfa II Kepik Coklat yang Hidup setelah Terinfeksi *L. lecanii* pada Stadia Telur

Jumlah nimfa II kepik coklat yang mampu bertahan hidup berkaitan dengan jumlah telur yang menetas. Semakin banyak jumlah telur yang tidak menetas, semakin sedikit jumlah nimfa II yang hidup. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa nimfa kepik coklat yang berhasil berganti kulit membentuk nimfa II akan mempunyai peluang besar untuk dapat melangsungkan hidupnya menjadi imago jika selama periode perkembangan stadia menuju imago tidak terinfeksi *L. lecanii* (Prayogo *et al.*, 2004). Isolat cendawan LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2 mampu menekan perkembangan nimfa I yang akan berkembang menjadi nimfa II hingga di bawah 22% (Tabel 1). Empat isolat tersebut dinilai cukup efektif dalam menekan perkembangan populasi kepik coklat dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya, sehingga diharapkan populasi hama yang berkembang akan berada di bawah ambang ekonomi.



Gambar 1. Kolonisasi isolat *L. lecanii* yang virulen (LI-JTM11). A = dan isolat yang avirulen (LI-NTB4), B = pada telur kepik coklat.

Tabel 1. Jumlah telur kepik coklat yang tidak menetas setelah terinfeksi *L. lecanii*, jumlah konidia tiap telur tidak menetas, jumlah nimfa II yang hidup, ukuran konidia, tingkat perkecambahan konidia setelah 10 jam diinkubasi, dan periode kecambah.

Isolat	Asal isolat	Lokasi	Telur tidak menetas (%)	Jumlah konidia/telur ($\times 10^6$)	Jumlah nimfa II yang hidup (%)	Ukuran konidia (μm)	Konidia berkecambah 10 JSI (%)	Periode waktu kecambah 95% JSI
VI-JTM1	Tanah	Jatim	25 efghi	2.675 hijk	53 defgh	3,5x1,3	82,30 tn	19,30 abc
VI-JTM2	Tanah	Jatim	23 fgghi	3.125 ghijk	61 cdef	3,5x1,3	83,55 tn	19,30 abc
VI-JTM3	Tanah	Jatim	20 hi	1.775 lmn	71 bc	3,5x1,3	80,12 tn	15,30 l
VI-JTM4	Tanah	Jatim	21 hi	2.050 jklmn	63 bcdef	3,5x1,3	83,31 tn	16,30 ijk
VI-JTM5	Tanah	Jatim	35 def	1.500 n	46 gh	5,3x2,0	80,50 tn	18,00 efg
VI-JTM6	Tanah	Jatim	32 defg	2.800 hijklm	58 cdefg	5,3x2,0	84,80 tn	19,00 bcd
VI-JTM7	Tanah	Jatim	27 efgh	4.225 cdefg	60 cdefg	3,5x1,3	83,76 tn	19,30 ab
VI-JTM8	<i>S. litura</i>	Jatim	37 cd	3.925 cdefgh	59 cdefg	5,3x2,0	80,11 tn	17,30 ghi
VI-JTM9	<i>S. litura</i>	Jatim	24 efghi	2.250 jklmn	57 cdefgh	5,3x2,0	80,32 tn	19,00 bcd
VI-JTM10	<i>N. viridula</i>	Jatim	26 efgh	2.150 jklmn	52 efgh	5,3x2,0	80,67 tn	19,00 bcd
VI-JTM11	<i>S. litura</i>	Jatim	75 a	7.150 ab	18 i	6,5x2,5	85,98 tn	12,30 m
VI-JTM12	<i>S. litura</i>	Jatim	72 a	7.250 ab	21 i	6,5x2,5	85,50 tn	12,30 m
VI-JTM13	Tanah	Jatim	44 c	6.450 b	53 defgh	6,5x2,5	80,55 tn	13,30 m
VI-JTM14	Tanah	Jatim	44 c	4.950 cd	50 fgh	6,5x2,5	81,09 tn	13,30 m
VI-JTM15	<i>R. linearis</i>	Jatim	69 a	7.375 ab	21 i	6,5x2,5	84,76 tn	13,00 m
VI-JTM16	<i>S. litura</i>	Jatim	32 defg	4.425 cdef	62 bcdef	6,5x2,5	81,90 tn	18,00 efg
VI-JTM17	<i>Trialeurodes</i> sp.	Jatim	30 efgh	1.625 mn	53 defgh	5,3x2,0	81,87 tn	18,00 efg
VI-ME1	<i>S. litura</i>	SumSel	49 b	3.000 ghijkl	43 h	5,3x2,0	80,90 tn	13,30 m
VI-ME2	<i>N. viridula</i>	SumSel	44 c	4.550 cdef	43 h	6,5x2,5	81,26 tn	17,00 hij
VI-ME3	<i>P. hybneri</i>	SumSel	37 cd	1.775 lmn	53 efgh	5,3x2,0	81,36 tn	17,30 fgh
VI-OK1	Tanah	SumSel	35 def	2.700 hijklm	46 gh	5,3x2,0	82,67 tn	18,00 efg
VI-OK2	Tanah	SumSel	30 efgh	4.550 cdef	57 cdefgh	5,3x2,0	81,95 tn	19,00 bcd
VI-LT1	Tanah	Lampung	22 ghi	4.400 cdef	69 bc	3,5x1,2	80,90 tn	18,30 def
VI-LT2	Tanah	Lampung	21 hi	3.600 efghi	66 bcde	3,5x1,3	81,10 tn	19,30 abc
VI-LT3	Tanah	Lampung	26 efgh	2.550 ijklmn	66 bcde	3,5x1,3	80,80 tn	19,00 bcd
VI-TB1	<i>S. litura</i>	Lampung	19 hi	2.025 klmn	71 bc	5,3x2,0	82,34 tn	20,00 a
VI-TB2	<i>S. litura</i>	Lampung	73 a	7.825 a	22 i	6,5x2,5	84,58 tn	12,30 m
VI-TB3	Tanah	Lampung	27 efgh	3.775 defghi	61 cdef	3,5x1,3	81,80 tn	19,00 bcd
VI-TB4	Tanah	Lampung	28 efgh	3.025 ghijkl	65 bcde	3,5x1,3	81,38 tn	18,30 cde
VI-TB5	Tanah	Lampung	36 cde	5.100 c	50 fgh	3,5x1,3	80,25 tn	17,30 fgh
VI-TB6	<i>S. litura</i>	Lampung	32 defg	4.575 cde	63 bcdef	3,5x1,3	81,75 tn	18,00 efg
VI-NTB1	Tanah	NTB	26 efgh	1.900 klmn	57 cdefgh	3,5x1,2	80,89 tn	19,00 bcd
VI-NTB2	Tanah	NTB	29 efgh	2.600 ijklmn	57 cdefgh	3,5x1,2	83,52 tn	19,00 bcd
VI-NTB3	Tanah	NTB	25 efghi	3.300 fghij	60 cdefg	3,5x1,2	81,30 tn	19,00 bcd
VI-NTB4	Tanah	NTB	12 j	1.400 cdef	76 b	3,5x1,3	82,19 tn	20,00 a
VI-NTB5	Tanah	NTB	23 fgghi	2.525 ijklmn	67 bcd	3,5x1,3	82,25 tn	18,30 cde
VI-NTB6	Tanah	NTB	17 i	2.175 jklmn	59 cdefg	3,5x1,2	81,75 tn	20,00 a

Angka dalam satu lajur yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan. Data ditransformasi ke arc sin \sqrt{x} sebelum uji sidik ragam. JSI = jam setelah inkubasi, tn = tidak nyata antar perlakuan.

Penekanan perkembangan populasi kepek coklat oleh cendawan *L. lecanii* di lapang akan berlangsung terus menerus apabila kondisi lingkungan mendukung bagi perkembangan cendawan. Hal ini terjadi karena semua stadia kepek coklat, baik stadia nimfa maupun imago berpeluang besar dapat terinfeksi *L. lecanii* oleh inokulum cendawan yang ada (Prayogo *et al.*, 2004). Sumber inokulum pada penelitian ini merupakan kumpulan dari konidia yang terbentuk pada telur kepek coklat yang tidak menetas maupun konidia yang diproduksi oleh bangkai serangga yang mati. Konidia yang terbentuk dari inang yang sudah mati merupakan sumber inokulum sekunder yang potensial bagi transmisi patogen ke inang yang sehat (Purlong dan Pell, 2001; Klinger *et al.* 2006; Marcelino *et al.* 2009). Dengan berlangsungnya proses epidemiologi secara normal maka proses kolonisasi cendawan berjalan optimal, sehingga epizooti mudah terjadi dan peledakan hama (*outbreak*) dapat dihindari.

Ukuran Konidia, Daya Kecambah, dan Periode Waktu Kecambah Konidia

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran konidia berkaitan dengan daya kecambah, periode waktu kecambah, dan virulensi isolat. Konidia yang berukuran lebih besar memiliki daya kecambah lebih tinggi dalam waktu yang lebih singkat. Hal ini terjadi pada isolat LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2 yang memiliki ukuran konidia hingga mencapai $6,5 \times 2,5 \mu\text{m}$ (Tabel 1). Sementara itu, ukuran konidia pada isolat yang avirulen (LI-TB4 dan LI-NTB6) hanya $3,5 \times 1,2-1,3 \mu\text{m}$ dengan daya kecambah lebih rendah dalam waktu lebih lambat hingga mencapai 20 jam. Ukuran konidia yang lebih besar mengandung banyak enzim. Sementara itu enzim sangat dibutuhkan untuk proses perombakan dan proliferasi konidia dalam pembentukan tabung kecambah. Enzim pada genus cendawan entomopatogen *Lecanicillium* yang sangat dominan adalah kitinase, protease, dan kolagenase (Tikhonov *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2007). Dalam penelitian ini, enzim protease dan kitinase sangat dibutuhkan dalam proses perombakan dinding korion telur maupun isi telur kepek coklat. Hasil perombakan dari nutrisi tersebut akan digunakan sebagai proses fisiologi cendawan.

Berbagai enzim yang dimiliki oleh cendawan ini berkaitan erat dengan daya kecambah maupun periode waktu kecambah konidia. Makin tinggi daya kecambah konidia dan makin cepat waktu yang dibutuhkan konidia untuk berkecambah akan sangat menentukan tingkat keberhasilan proses infeksi pada inang. Sementara itu, kedua karakter cendawan tersebut di lapang sangat menentukan keberhasilan proses penetrasi ke organ inang. Makin tinggi daya kecambah akan makin banyak peluang konidia yang mampu menginfeksi inang. Sedangkan makin cepat konidia berkecambah, makin besar keberhasilan konidia dalam menginfeksi inang. Diduga hal ini ada kaitannya dengan kandungan enzim di dalam konidia yang cukup berlimpah, sehingga aktivitas enzim juga makin cepat. Menurut Jackson *et al.* (1989) daya kecambah yang tinggi dan waktu kecambah yang lebih cepat ditentukan oleh aktivitas enzim protease dan kitinase yang tinggi. Sedangkan Meyer dan Wergin (1998), Tikhonov *et al.* (2002), dan Lu *et al.* (2005) melaporkan bahwa kolagenase merupakan salah satu enzim yang penting selain protease dan kitinase. Enzim tersebut biasanya berperan dalam mendegradasi komposisi struktur kulit telur maupun integumen inang (Shinya *et al.*, 2008a; 2008b).

Diameter Koloni dan Produksi Konidia *L. lecanii* pada Berbagai Perbedaan Suhu

Kisaran toleransi fase vegetatif tiap isolat cendawan *L. lecanii* terhadap suhu lebih luas dibandingkan dengan fase generatif. Semua isolat tumbuh baik pada suhu $20-27^{\circ}\text{C}$ tetapi pada suhu yang lebih tinggi dari kisaran tersebut, pertumbuhan semua isolat cendawan mengalami penghambatan. Isolat yang virulen (LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2) tumbuh lebih cepat. Hal ini ditandai dengan diameter koloni lebih lebar dibandingkan dengan isolat yang avirulen (Tabel 2).

Pada kisaran suhu di atas 30°C , pertumbuhan semua isolat *L. lecanii* yang diuji mengalami penghambatan hampir 50% dibandingkan dengan pertumbuhan cendawan pada kondisi suhu di bawahnya. Bahkan pada suhu 32°C , pertumbuhan semua isolat berkurang hingga 70%. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa semua isolat *L. lecanii* yang diuji kurang toleran terhadap suhu di atas

Tabel 2. Diameter koloni berbagai isolat *L. lecanii* pada berbagai tingkat suhu.

Isolat	Diameter koloni (mm)				
	20°C	25°C	27°C	30°C	32°C
LI-JTM1	56,67 abcde	58,00 abcdef	58,67 abcdefgh	19,33 defghi	12,00 bcde
LI-JTM2	55,00 abcdefg	55,67 bcdefgh	56,00 cdefghij	18,00 fghi	11,67 cde
LI-JTM3	53,33 cdefgh	54,67bcdefghij	54,67 fghijkl	17,33 ghi	12,67 abcd
LI-JTM4	59,00 abcd	59,33 abcd	60,00 abcde	19,67 cdefgh	13,33 ab
LI-JTM5	55,67 abcdefg	56,67abcdefgh	57,33 bcdefghi	18,00 fghi	13,33 ab
LI-JTM6	50,00 fghi	50,67 hij	52,00 jklm	17,00 hi	12,67 abcd
LI-JTM7	53,67 bcdefgh	54,33 cdefghij	54,67 fghijkl	17,33 ghi	11,33 de
LI-JTM8	56,33 abcdef	56,67abcdefgh	58,00 abcdefghi	20,33 bcdef	12,67 abcd
LI-JTM9	51,67 efghi	52,33 efghij	53,67 hijkl	16,67 i	12,00 bcde
LI-JTM10	51,67 efghi	52,00 fghij	53,33 ijkl	21,00 bcde	12,00 bcde
LI-JTM11	61,33 a	62,67 a	63,00 a	22,00 bcd	13,00 abc
LI-JTM12	57,33 abcde	60,33 abc	63,67 a	21,33 bcd	13,00 abc
LI-JTM13	47,00 ij	49,00 jk	50,67 klmn	19,33 defghi	11,67 cde
LI-JTM14	52,67 defghi	54,00 defghij	54,50 ghijkl	21,33 bcd	11,33 de
LI-JTM15	54,33 bcdefgh	59,67 abcd	61,33 ab	21,33 bcd	12,00 bcde
LI-JTM16	53,67 bcdefgh	54,67 cdefghi	55,67 defghijk	20,00 bcdefg	11,33 de
LI-JTM17	60,00 ab	60,00 abc	63,67 a	21,00 bcde	11,33 de
LI-ME1	54,67 bcdefgh	55,33 bcdefghi	56,00 cdefghij	22,67 ab	11,33 de
LI-ME2	53,67 bcdefgh	54,33 cdefghij	56,33 bcdefghij	20,33 bcdef	12,67 abcd
LI-ME3	60,00 ab	60,00 abc	61,00 abc	20,33 bcdef	11,33 de
LI-OK1	57,00 abcde	57,33 abcdef	59,00 abcdefg	21,67 bcd	12,33 abcde
LI-OK2	58,33 abcd	59,00 abcd	59,33 abcdef	22,00 bcd	11,33 de
LI-LT1	54,33 bcdefgh	55,00bcdefghij	57,67 bcdefghi	21,67 bcd	11,33 de
LI-LT2	56,00 abcdefg	56,67abcdefgh	56,00 cdefghij	21,67 bcd	11,00 e
LI-LT3	56,67 abcde	57,00 abcdefg	56,67 bcdefghij	21,00 bcde	11,00 e
LI-TB1	54,67 bcdefgh	55,33 bcdefghi	55,67 defghijk	20,67 bcdef	11,00 e
LI-TB2	57,67 abcde	59,33 abcd	64,33 a	22,33 abc	12,67 abcd
LI-TB3	55,33 abcdefg	55,67 bcdefgh	56,67 bcdefghij	21,67 bcd	12,00 bcde
LI-TB4	42,00 j	45,00 k	45,00 n	24,67 a	11,00 e
LI-TB5	60,00 ab	60,00 abc	55,33 efghijkl	19,33 defghi	13,67 a
LI-TB6	57,67 abcde	58,67 abcd	50,33 klm	20,00 bcdefg	13,00 abc
LI-NTB1	48,33 hi	49,33 ijk	50,00 klm	18,33 efghi	11,67 cde
LI-NTB2	59,67 abc	51,00 ghij	50,67 klm	20,67 bcdef	12,00 bcde
LI-NTB3	54,00 bcdefgh	54,33 cdefghij	55,00 efghijkl	20,67 bcdef	12,33 abcde
LI-NTB4	55,00 abcdefg	56,33 bcdefgh	57,00 bcdefghij	20,33 bcdef	12,00 bcde
LI-NTB5	53,67 bcdefgh	54,33 cdefghij	55,33 defghijk	20,33 bcdef	11,33 de
LI-NTB6	55,00 abcdefg	56,67 abcdefgh	58,00 abcdefghi	21,33 bcd	13,00 abc

Angka dalam satu lajur yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan. Data ditransformasi ke arc sin \sqrt{x} sebelum uji sidik ragam.

32°C. Meskipun Vu *et al.* (2007) pernah melaporkan bahwa di lapang sudah ditemukan beberapa isolat *L. lecanii* yang toleran pada suhu 35°C. Namun, kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan cendawan *L. lecanii* antara 15-30°C (Kope *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2008; Fatiha *et al.*, 2009). Pada penelitian ini kondisi suhu berlangsung sesuai dengan perlakuan masing-masing selama 21 hari. Sementara itu, kondisi suhu di lapang secara alami selalu berubah-ubah (siang dan malam) dan tidak selamanya pada suhu tinggi. Keadaan suhu tinggi hanya berlangsung selama beberapa jam kemudian berubah menjadi rendah karena perubahan waktu.

Produksi konidia optimal semua isolat terjadi pada suhu 27°C. Empat isolat yang virulen mem-

produksi konidia berkisar dari 192-256 x 10⁶ tiap g koloni cendawan, sedangkan isolat yang avirulen hanya berkisar 9,33-64 x 10⁶ konidia (Tabel 3). Tidak diperoleh isolat yang toleran di atas suhu 32°C. Hasil penelitian ini mendukung penelitian Aiuchi *et al.* (2008) bahwa isolat *L. lecanii* yang toleran pada suhu di atas 32°C sulit diperoleh. Oleh karena itu, untuk aplikasi di lahan kering yang memiliki suhu harian cukup tinggi maka dianjurkan mengatur waktu aplikasi dan menggunakan bahan pelindung untuk mempertahankan kelembaban sehingga viabilitas konidia tetap tinggi (Verhaar *et al.*, 1997; 2004; Williams *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2006).

Tabel 3. Jumlah konidia yang diproduksi dari berbagai isolat *L. lecanii*.

Isolat	Jumlah konidia tiap g biakan isolat <i>L. lecanii</i> (x 10 ⁶ /ml)*				
	20°C	25°C	27°C	30°C	32°C
LI-JTM1	3,97 k	5,39 m	42,67 cd	2,21 i	0,00134 e
LI-JTM2	12,50 def	13,17 ef	33,33 cd	6,92 efghi	0,00267 de
LI-JTM3	8,68 fghij	10,43 fghijkl	31,33 cd	5,76 fghi	0,00534 cde
LI-JTM4	8,85 fghij	10,26 fghijkl	20,67 cd	6,44 efghi	0,01070 bcde
LI-JTM5	9,51 efghij	10,78 fghijkl	33,33 cd	7,06 efghi	0,01600 bc
LI-JTM6	6,78 ghijk	7,76 jklm	21,33 cd	4,79 ghi	0,02000 bc
LI-JTM7	8,08 fghijk	9,60 fghijkl	14,00 cd	7,24 defghi	0,00134 e
LI-JTM8	10,39 efgh	10,67 fghijkl	37,33 cd	7,55 cdefgh	0,03400 a
LI-JTM9	10,86 efgh	11,72 efghijk	42,67 cd	6,83 efghi	0,00540 cde
LI-JTM10	6,36 hijk	8,13 ijklm	21,33 cd	7,37 cdefgh	0,00400 de
LI-JTM11	26,99 a	28,87 a	192,20 b	14,11 b	0,01600 bc
LI-JTM12	24,68 a	28,52 a	213,30 ab	10,65 bcdef	0,04400 a
LI-JTM13	9,24 fghij	10,98 fghijkl	64,00 c	8,79 cdefgh	0,00200 de
LI-JTM14	15,96 bed	17,02 cd	42,67 cd	9,17 bcdefg	0,00670 cde
LI-JTM15	17,19 bc	22,47 b	256,10 a	12,26 bcd	0,01600 bc
LI-JTM16	10,63 efgh	11,96 efghijk	33,33 cd	9,93 bcdef	0,00670 cde
LI-JTM17	12,54 def	13,96 def	42,67 cd	12,44 bc	0,00130 e
LI-ME1	19,22 b	19,93 bc	42,67 cd	11,52 bcde	0,00400 de
LI-ME2	5,09 jk	6,70 lm	17,33 cd	6,20 fghi	0,00400 de
LI-ME3	10,69 efgh	11,77 efghijk	13,33 cd	4,39 ghi	0,00400 de
LI-OK1	10,88 efg	12,28 efghi	17,33 cd	7,44 cdefgh	0,00267 de
LI-OK2	6,95 ghijk	10,38 fghijkl	14,67 cd	5,79 fghi	0,00670 de
LI-LT1	13,85 cde	15,38 de	21,33 cd	8,57 cdefgh	0,00267 de
LI-LT2	10,50 efgh	13,02 ef	9,33 cd	8,46 cdefgh	0,00267 de
LI-LT3	7,06 ghijk	9,67 fghijkl	14,10 cd	5,58 fghi	0,00134 e
LI-TB1	10,73 efgh	12,57 efgh	21,33 cd	8,11 cdefgh	0,00200 e
LI-TB2	25,64 a	27,67 a	234,70 ab	19,25 a	0,04400 a
LI-TB3	9,62 efghi	11,51 efghijk	21,33 cd	8,43 cdefgh	0,00267 de
LI-TB4	10,69 efgh	12,07 efghij	21,33 cd	10,03 bcdef	0,03730 a
LI-TB5	9,02 fghij	10,14 fghijkl	50,67 cd	6,51 efghi	0,04133 a
LI-TB6	11,20 efg	12,99 efg	21,33 cd	10,14 bcdef	0,00400 de
LI-NTB1	7,12 ghijk	8,61 hijklm	14,67 cd	5,90 fghi	0,00400 de
LI-NTB2	5,50 ijk	7,67 klm	12,10 cd	4,22 ghi	0,00400 de
LI-NTB3	10,52 efgh	11,17 efghijk	29,33 cd	6,35 fghi	0,00134 e
LI-NTB4	7,23 ghijk	8,64 ghijklm	21,33 cd	6,12 fghi	0,00400 de
LI-NTB5	7,64 ghijk	8,29 hijklm	14,10 d	3,73 hi	0,01600 bc
LI-NTB6	9,64 efghi	11,26 efghijk	25,33 cd	7,30 defgh	0,01070 bcde

Angka dalam satu lajur yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan. Data ditransformasi ke arc sin \sqrt{x} sebelum uji sidik ragam.

Karakter Koloni Cendawan

Dari 37 isolat *L. lecanii* yang diuji, diperoleh enam macam karakter koloni (Tabel 4), yaitu (1) *cottony* (hifa agak panjang, menyebar ke segala arah) yang terdiri dari LI-JTM1, LI-JTM2, LI-JTM3, LI-JTM4, LI-JTM5, LI-JTM8 (Gambar 2a); (2) *velvety* (hifa pendek, lurus, tebal) terdiri atas isolat LI-JTM6, LI-JTM7, LI-JTM9, LI-JTM10, LI-JTM14, LI-LT3, LI-TB1, LI-NTB1, LI-NTB2, LI-NTB5, LI-NTB6 (Gambar 2b); (3) *wholly* (hifa agak panjang, menebal, seperti wol) terdiri atas LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM13, LI-JTM15, LI-JTM16, LI-JTM17, LI-ME1, LI-LT1, LI-TB2, LI-TB3, LI-TB4, LI-TB5, LI-TB6 (Gambar 2c); (4) *plumose* (hifa agak panjang, berbentuk kipas) terdiri

atas LI-ME2 dan LI-ME3 (Gambar 2d); (5) *farinaceous* (koloni berbentuk tepung) terdiri atas LI-OK1 dan LI-OK2 (Gambar 2e); dan (6) *pellicular* (koloni tipis, saling berhubungan dengan garis konsentris) terdiri atas LI-NTB3 dan LI-NTB4 (Gambar 2f).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa karakter isolat *L. lecanii* yang virulen berbentuk *wholly*, tetapi tidak semua karakter *wholly* bersifat virulen. Isolat-isolat yang memiliki karakter *wholly* tetapi tidak virulen disebabkan periode waktu kecambah konidia lebih lambat hingga 18 jam. Keterlambatan periode kecambah konidia mengindikasikan bahwa isolat tersebut kurang dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungan setempat. Pada kondisi di lapang, isolat yang memiliki periode waktu

Tabel 4. Karakteristik tekstur koloni dari 37 isolat *L. lecanii*.

Isolat	Karakteristik koloni	Diskripsi
LI-JTM1	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM2	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM3	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM4	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM5	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM6	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-JTM7	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-JTM8	<i>Cottony</i>	Hifa agak panjang dan menyebar ke segala arah
LI-JTM9	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-JTM10	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-JTM11	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-JTM12	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-JTM13	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-JTM14	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-JTM15	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-JTM16	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-JTM17	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-ME1	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-ME2	<i>Plumose</i>	Tumpukan miselium dengan hifa yang panjang, kelompok hifa muncul dari tengah berbentuk kipas
LI-ME3	<i>Plumose</i>	Tumpukan miselium dengan hifa yang panjang, kelompok hifa muncul dari tengah berbentuk kipas
LI-OK1	<i>Farinaceous</i>	Koloni seperti tepung
LI-OK2	<i>Farinaceous</i>	Koloni seperti tepung
LI-LT1	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-LT2	<i>Farinaceous</i>	Koloni seperti tepung
LI-LT3	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-TB1	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-TB2	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-TB3	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-TB4	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-TB5	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-TB6	<i>Wholly</i>	Hifa atau kelompok hifa agak panjang, menebal, berbentuk seperti wol
LI-NTB1	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-NTB2	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-NTB3	<i>Pellicular</i>	Koloni tipis, hifa saling berhubungan dengan garis konsentris
LI-NTB4	<i>Pellicular</i>	Koloni tipis, hifa saling berhubungan dengan garis konsentris
LI-NTB5	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal
LI-NTB6	<i>Velvety</i>	Hifa pendek, lurus, dan tebal

kecambah yang lebih lambat akan lebih banyak mengalami deraan faktor lingkungan yang akan mengganggu kelangsungan hidupnya sebelum isolat tersebut mampu menemukan inang.

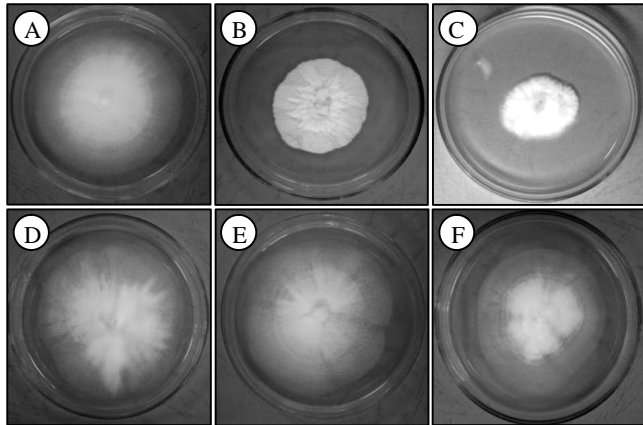
Isolat cendawan *L. lecanii* memiliki koloni berbentuk *farinaceous*, *cottony*, *velvety*, *plumose*, dan *pellicular* yang mengindikasikan tingkat virulensinya lebih rendah. Isolat-isolat ini ditandai dengan jumlah konidia lebih rendah dan periode waktu berkecambah lebih lambat hingga mencapai 20 jam setelah diinkubasi. Menurut Feng *et al.* (2002), isolat *V. lecanii* yang memiliki tekstur koloni tebal, padat, dan membentuk wol, akan memproduksi konidia lebih banyak. Hal ini disebabkan karakter cendawan tersebut lebih mampu bersaing dengan mikroorganisme lain, sehingga isolat tersebut lebih cepat dalam proses transmisi ke serangga inang untuk menimbulkan epizooti (Ganga-Visalakshy *et al.*, 2004).

Pengelompokan Isolat

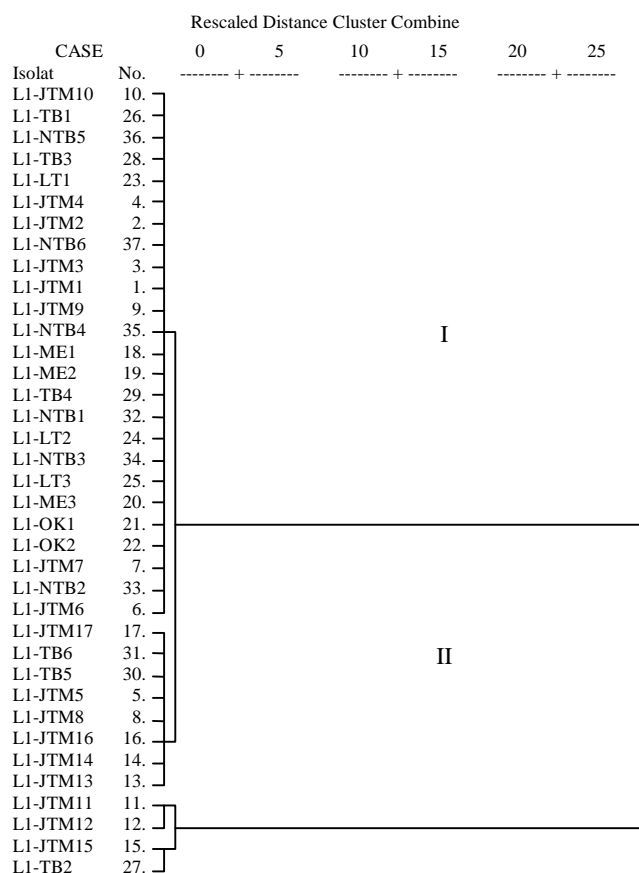
Berdasarkan hasil pengelompokan karakter fisiologi 37 isolat *L. lecanii* diperoleh dua kelompok pada jarak ketidaksamaan 25% (Gambar 3). Kelompok 1, pada jarak ketidaksamaan 2% membentuk 2 subkelompok yang terdiri atas 33 isolat *L. lecanii* yang bersifat avirulen. Sedangkan pada kelompok 2, terdiri atas empat isolat yang virulen, yaitu LI-JTM11, LI-JTM12, LI-JTM15, dan LI-TB2 dengan karakter fisiologi yang sangat dekat dengan kemiripan 98%.

Tiga isolat *L. lecanii* yang virulen dari hasil penelitian ini diperoleh dari Jawa Timur, meskipun ketiga isolat tersebut diperoleh dari sumber serangga yang berbeda. Dua isolat diisolasi dari serangga *S. litura* dan satu isolat diperoleh dari isolasi serangga kepik coklat. Sedangkan satu isolat yang virulen diperoleh dari serangga *S. litura* akan tetapi

dari lokasi yang berbeda. Pengelompokan virulensi tidak dibedakan berdasarkan sumber dan lokasi isolat, tetapi perbedaan virulensi isolat dapat dilakukan dengan membedakan karakter fisiologi



Gambar 2. Karakter koloni isolat *L. lecanii* yang berbentuk cottony (A), velvety (B), wholly (C), plumose (D), farinaceous (E), pellicular (F).



Gambar 3. Dendrogram pengelompokan 37 isolat *L. lecanii* berdasarkan karakter fisiologi cendawan.

dari masing-masing isolat (Diaz *et al.*, 2009). Fatiha *et al.* (2007) melaporkan bahwa karakter fisiologi berkaitan erat dengan virulensi cendawan sehingga isolat yang memiliki kemiripan karakter fisiologi dalam satu kelompok mempunyai peluang yang sama besarnya untuk digunakan sebagai agens hayati yang potensial. Oleh karena itu, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa karakter fisiologi cendawan *L. lecanii* yang meliputi bentuk koloni, jumlah konidia, daya kecambah, periode daya kecambah, toleransi terhadap suhu, dan virulensi dapat digunakan sebagai tolok ukur dalam menyeleksi cendawan entomopatogen untuk memperoleh isolat yang potensial dari lapang.

KESIMPULAN

Karakter fisiologi cendawan entomopatogen yang terdiri atas virulensi, jumlah konidia yang diproduksi, ukuran konidia, daya kecambah konidia, periode waktu kecambah konidia, toleransi terhadap suhu, dan karakter koloni dapat digunakan sebagai tolok ukur untuk menyeleksi cendawan yang potensial sebagai calon bioinsektisida dalam membunuh telur kepik coklat.

Pengelompokan isolat cendawan *L. lecanii* yang potensial tidak berkaitan dengan sumber inang maupun lokasi, tetapi berkaitan dengan kemiripan karakter fisiologi cendawan.

Dari penelitian ini diperoleh empat isolat *L. lecanii* yang potensial sebagai calon bioinsektisida untuk pengendalian telur kepik coklat, yaitu L1-JTM11, L1-JTM12, L1-JTM15, dan L1-TB2 yang membentuk satu kelompok dengan kemiripan mencapai 98%. Empat isolat yang potensial mempunyai peluang yang sama besarnya untuk digunakan sebagai calon bioinsektisida dalam pengelolaan hama terpadu (PHT) khususnya kepik coklat pada tanaman kedelai.

Isolat *L. lecanii* yang baru dieksplorasi dari tanah memiliki virulensi lebih rendah sehingga perlu diinfeksi pada serangga inang terlebih dahulu sebelum diseleksi untuk mengeliminir tekanan seleksi dari lapang dan menghilangkan fase saprob. Semua isolat *L. lecanii* yang sudah teridentifikasi perlu diuji lebih lanjut terhadap beberapa hama kedelai yang lainnya, mengingat jumlah hama penting kedelai cukup banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Alavo, T.B.C., H. Sermann, and H. Bochow. 2004. Virulence of strains of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* to Aphids: Strain improvement. *J. Arch. Phytopathol. Plant Protec.* 34(6):379-398.
- Aiuchi, D., Y. Baba, K. Inami, R. Shinya, M. Tani, and M. Koike. 2008. Variation in growth at different temperatures and production and size of conidia in hybrid strains of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Appl. Entomol.* 43(3):427-436.
- Atkinson, H.J. and U. Durshner-Pelz. 1995. Spore transmission and epidemiology of *Verticillium chlamydosporium*, an endozoic fungal parasite of nematodes in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 65:237-242.
- Chen, A., Z. Shi, and L. Zhang. 2008. The effects of some storage conditions on viability of *Lecanicillium lecanii* conidia to whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Biocontr. Sci. Technol.* 18(3):267-278.
- Cortez-Madrigal, H., R. Alatorre-Rosas, G. Mora-Aguilera, H. Bravo-Mojica, C.F. Ortiz-Garcia, and L.A. Aceves-Navarro. 2003. Characterization of multi-spore and monospore isolates of *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* for the management of *Toxoptera aurantii* in cocoa. *Biocontr.* 48:321-334.
- del-Prado, E.N., J. Lannacone, and H. Gomez. 2008. Effect of two entomopathogenic fungi in controlling *Aleurodicus cocois* (CURTIS, 1846) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Chilean J. Agricultural Res.* 68(1):21-30.
- Diaz, B.M., M. Oggerin, C.C. Lopez-lastra, V. Rubio, and A. Fereres. 2009. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphid species. *Biocontr.* 54(6):825-835.
- Fatiha, L., S. Ali, S. Ren, and M. Afzal. 2007. Biological characteristics and pathogenicity of *Verticillium lecanii* against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on eggplant. *Pak. Entomol.* 29(2):63-72.
- Fatiha, L., Z. Huang, A. Shaukat, and R. Shunxiang. 2009. effect of *Lecanicillium muscarium* on *Erectmocerus* nr. *Furuhashii* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *J. Pest Sci.* 82(1):27-32.
- 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. Biotechnol.* 18(3):217-224.
- Ganga-Visalakshy, P.N., A.M. Kumar, and A. Krishnamoorthy. 2004. Epizootics of fungal pathogen *Verticillium lecanii* Zimmerman on *Thrips palmi* Karny. *Insect. Environ.* 10(3):134-135.
- Humber, R.A. 1997. Fungi: Identification. p. 153-185. *In*, L.A. Lacey (ed.) *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, London.
- Humber, R.A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA Workshop. APS/ESA Joint Annual Meeting, 8-12 November 1998, Las Vegas, NV.
- Jackson, C.W., J.B. Heale, and R.A. Hall. 1989. Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphoniella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. *Ann. Appl. Biol.* 106:39-48.
- Koike, M., S. Sugimoto, D. Aiuchi, H. Nagao, R. Shinya, M. Tani, and K. Kuramochi. 2007. Reclassification of Japanese isolates of *Verticillium lecanii* to *Lecanicillium lecanii*. *Japan J. Appl. Entomol. Zool* 51(3):234-237.
- Kope, H.H., R.I. Alfaro, and R. Lavallee. 2008. Effects of temperature and water activity on *Lecanicillium* spp. conidia germination and growth, and mycosis of *Pisodes strobi*. *Biocontr.* 53(3):489-500.
- 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.
- Klingen, I., A. Hajek, R. Meadow, and J.A.A. Renwick. 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. *Biol. Contr.* 47:411-425.
- Klinger, E., E. Groden, and F. Drummond. 2006. *Beauveria bassiana* horizontal infection between cadavers and adults of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Environ. Entomol.* 35:992-1000.
- Lu, Z.X., A. Laroche, and H.C. Huang. 2005. Isolation and characterization of chitinases from *Verticillium lecanii*. *Canada J. Microbiol.* 51:1045-1055.
- Mahmoud, M.F. 2009. Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Lecanicillium lecanii* against adults of olive fly (*Bactrocera oleae*) (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. *Plant Protect. Sci.* 45(3):98-102.
- Marcelino, J.A.P., S. Gouli, R. Giardino, V.V. Gouli, B.L. Parker, and M. Skimer. 2009. Fungi associated with a natural epizootic in *Fiorinia externa* Ferris (Hemiptera: Diaspididae) populations. *J. Appl. Entomol.* 133(2):82-89.
- 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 Horticul. Sci.* 31:1-7.

- McDonald, B.A. 1997. The population genetics of fungi: Tools and techniques. *Phytopathol.* 87:448-453.
- Meyer, S.L.F. and W.P. Wergin. 1998. Colonization of soybean cyst nematode females, cysts and gelatinous matrices by the fungus *Verticillium lecanii*. *J. Nematol.* 30:436-450.
- Prayogo, Y. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera: Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell (Araneida: Oxyopidae). Tesis Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap telur hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (F.) (Hemiptera: Alydidae). hlm. 471-479. *Dalam* A.K. Makarim, Marwoto, M.M. Adie, A.A. Rahmiana, Heriyanto, dan I.K. Tastra (eds.) Seminar Nasional Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang, 5 Oktober 2004. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang.
- Purlong, M.J. and J.K. Pell. 2001. Horizontal transmission of entomopathogenic fungi by the diamondback moth. *Biol. Contr.* 22:288-299.
- Rayner, A.D.M. and L. Boddy. 1988. Fungal Decomposition of Wood. John Wiley & Sons, New York.
- 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, E.A. Hajek, and J.K. Pell. 2006. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Ann. Rev. Entomol.* 51:331-357.
- Shinya, R., D. Aiuchi, A. Kushida, M. Tani, K. Kuramochi, and M. Koike. 2008a. Effect of fungal culture filtrates of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) hybrid strain on *Heterodera glycines* eggs and juveniles. *Biol. Contr.* 16(5):245-251.
- Shinya, R., D. Aiuchi, A. Kushida, M. Tani, K. Kuramochi, and M. Koike. 2008b. Pathogenicity and its mode of action in different sedentary stages of *Heterodera glycines* (Tylenchida: Heteroderidae) by *Verticillium* (= *Lecanicillium*) *lecanii* hybrid strains. *J. Appl. Entomol. Zool.* 43(2):227-233.
- Silva, R.Z.D., P.M.O.J. Neves, P.H. Santoro, and E.S.A. Cavaguchi. 2006. Effect of agrochemicals based on vegetable and mineral oil on the viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, and *Paecilomyces* sp. Bainer. *Bioassay* 1(1):667-674.
- Sudirman, L.I., Y. Prayogo, Yunimar, and S. Ginting. 2008. Effect of leaf litters and soils on viability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Hayati J. Biosci.* 15(3):93-98.
- Tikhonov, V.E., L.V. Lopez-Llorca, J. Salinas, and H.B. Jansson. 2002. Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. *Fungal Genetic. Biol.* 35:67-78.
- Varela, A. and E. Morales. 1996. Characterization of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry *Hypothenemus hampei*. *J. Invertebr. Pathol.* 67:147-152.
- Verhaar, M.A., K.K. Ostergaard, T. Hijwegen, and J.C. Zadocks. 1997. Preventative and curative applications of *Verticillium lecanii* for biological control of cucumber powdery mildew. *Biol. Contr. Sci. Technol.* 7(4):543-552.
- Verhaar, M.A., T. Hijwegen, and J.C. Zadocks. 2004. Improvement of the efficacy of *Verticillium lecanii* used in biocontrol of *Sphaerotheca fuliginea* by addition of oil formulation. *Biol. Contr.* 44(1):73-87.
- Vu, V.H., S.I.I. Hang, and K. Kim. 2007. Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *J. Biosci. Bioengin.* 104(6):498-505.
- Wang, L., J. Huang, M. You, X. Guan, and B. Liu. 2007. Toxicity and feeding deterrence of crude toxin extracts of *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (Hyphomycetes) against sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 63(4):381-387.
- Williams, M.D.C., R.N. Edmondson, and Gill. 2000. The potential of some adjuvants in promoting infection with *Verticillium lecanii*: Laboratory bioassays with *Myzus persicae*. *Ann. Appl. Biol.* 137(3):337-344.
- Yang, J.K., X.W. Huang, B.Y. Tian, H. Sun, J.X. Duan, W.P. Wu, and K.Q. Zhang. 2005. Characterization of an extracellular serine protease gene from the nematophagous fungus *Lecanicillium psalliotae*. *Biotechnol. Letter* 27:1329-1334.
- Yang, J.K., B.Y. Tian, L.M. Liang, and K.Q. Zhang. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75:21-31.
- 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.
- Zimmermann. 1998. Suggestion for a standardized methode for reisolation of entomopathogenic fungi from soil using the bait method. *Insect pathogen and insect parasitic nematodes. IOBC Bull.* 21(4):289-298.