

Uji efektifitas agen biokontrol *Beauveria bassiana* sebagai pengendali ulat grayak (*Spodoptera litura*)

Fahmiati^{1*}, Wisnu Adhi Susila², Nosa Septiana Anindita¹, Ika Afifah Nugraheni¹

¹Program Studi Bioteknologi/Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

²Periset di PT. Biotek Cipta Kreasi

*Email: fahmiati378@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* sebagai agen pengendali hayati terhadap hama ulat grayak (*Spodoptera litura*) pada tanaman. PT Biotek Cipta Kreasi, sebuah perusahaan yang berfokus pada penelitian dan pengembangan bioteknologi, menyediakan fasilitas dan kolaborasi penelitian bagi mahasiswa Program Studi Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Ulat grayak merupakan hama polifag yang merusak banyak jenis tanaman dan penggunaan insektisida kimia belum efektif. Oleh karena itu, penelitian ini fokus pada pemanfaatan jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* sebagai alternatif pengendalian hayati. Metode penelitian melibatkan kegiatan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di PT Biotek Cipta Kreasi, dengan menggunakan alat dan bahan seperti cawan petri, timbangan digital, laminar air flow, dan lainnya. Media yang digunakan untuk produksi spora jamur *Beauveria bassiana* meliputi Potato Dextrose Agar (PDA), International Streptomyces Project-2 (ISP-2), dan Czapek's Agar (CZA). Kerapatan spora dihitung menggunakan haemocytometer. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Beauveria bassiana* memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati terhadap ulat grayak. Jamur ini bersifat endofit, dapat hidup di dalam jaringan tanaman, dan menginfeksi ulat grayak melalui pelekatan konidia pada permukaan inang. Proses infeksi melibatkan tahap adhesi, perkecambahan, diferensiasi, dan penetrasi. Faktor lingkungan seperti kelembaban dan suhu juga mempengaruhi patogenisitas jamur ini. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam pengembangan metode pengendalian hama yang ramah lingkungan melalui pemanfaatan jamur entomopatogen.

Kata kunci: *Beauveria bassiana*; ulat grayak; jamur entomopatogen; pengendalian hayati; patogenisitas

1. Pendahuluan

PT Biotek Cipta Kreasi merupakan perusahaan yang berdiri sejak tahun 2018 telah melakukan penelitian dan pengembangan bioteknologi untuk menghasilkan informasi, jasa, dan produk berkualitas tinggi yang bermanfaat dan perusahaan ini dipandang sebagai tempat kerja praktek yang relevan bagi mahasiswa Program Studi Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta karena di PT Biotek Cipta Kreasi menyediakan fasilitas pembelajaran, pendampingan dan kolaborasi penelitian di bidang pertanian, perkebunan, *agroforestry* dan *aquaculture*. Kegiatan di PT Biotek Cipta Kreasi tidak hanya melaksanakan kegiatan harian perusahaan tetapi mahasiswa Praktek Kerja Lapangan (PKL) dapat melakukan mini riset di bidang bioteknologi pertanian. Pada bidang pertanian PT. Biotek Cipta Kreasi membudidayakan beberapa tanaman. Saat membudidayakan tanaman tentunya terdapat halangan yang dihadapi salah satunya banyaknya hama penyakit (Anonim, 2018).

Hama penyakit yang banyak ditemui di tanaman adalah ulat grayak. Ulat grayak, *Spodoptera litura* merupakan jenis hama yang bersifat polifag yaitu dapat menyerang berbagai jenis tanaman. Ulat grayak (*Spodoptera litura*) merupakan hama penting pemakan daun dibanding hama lainnya seperti ulat jengkal (*Chrysodeixis chalcites*), ulat helioverpa (*Heliothis armigera*), ulat penggulung daun (*Lamprosema indica*) (Rosmiati dkk., 2018). Hama ini tersebar di 22 provinsi di Indonesia. *Spodoptera litura* dapat hidup pada berbagai jenis tanaman dan memiliki inang lebih dari 100 spesies tanaman, beberapa diantaranya yaitu bunga kol, tembakau, kacang tanah, kacang kedelai, ubi jalar, cabai, bawang merah, kacang hijau, dan jagung. *Spodoptera litura* merusak daun sehingga tampak lubang-lubang bekas gigitan, kehilangan hasil akibat serangan *Spodoptera litura* dapat mencapai 80% (Marwoto & Suharsono, 2008). *Spodoptera litura* dikendalikan oleh petani menggunakan insektisida kimia sintetik namun kurang efektif (Marwoto & Suharsono, 2008). Penggunaan insektisida sintetik yang kurang bijaksana dapat menyebabkan resistensi, resurgensi, dan musnahnya musuh alami yang bermanfaat untuk pengendalian hama di lapangan (Prayogo dkk., 2005).

Jamur entomopatogen merupakan salah satu agen pengendali hayati yang potensial untuk

mengendalikan hama tanaman (Sumartini dkk., 2001 dalam Rosmiati dkk., 2018). Kelebihan pemanfaatan jamur entomopatogen dalam pengendalian hama yaitu mempunyai kapasitas reproduksi yang tinggi, siklus hidupnya pendek, dapat membentuk spora yang tahan lama di alam walaupun dalam kondisi yang tidak menguntungkan, relatif aman, selektif, relatif mudah diproduksi, dan sangat kecil kemungkinan menyebabkan resistensi hama (Prayogo dkk., 2005).

Beauveria bassiana merupakan jamur entomopatogen yang memiliki potensi sebagai biokontrol hama penyakit dalam bidang pertanian. *Beauveria bassiana* banyak ditemukan di dalam tanah. *Beauveria bassiana* diketahui efektif mengendalikan hama penting pada tanaman. *Beauveria bassiana* bersifat endofit yaitu dapat tinggal di dalam jaringan tanaman dan sewaktu-waktu dapat menyerang hama serangga yang menempati tanaman tersebut. *Beauveria bassiana* merupakan jamur filamen yang potensial sebagai agen pengendali hayati selain karena memiliki kisaran inang yang luas, juga karena konidianya relatif mudah dan tidak mahal untuk diproduksi secara massal serta diketahui tidak memiliki efek toksik pada organisme nontarget termasuk hewan dan manusia (Liu *et al.*, 2015).

Beauveria bassiana menginfeksi serangga target melalui pelekatan sel yaitu konidia ke permukaan inang. Konidia diproduksi secara aseksual yang berperan penting dalam proses dispersal dan infeksi. Konidia *Beauveria bassiana* bersifat hidrofobik sehingga memungkinkan untuk berikatan dengan epikutikula serangga yang bersifat hidrofobik juga. Mekanisme jamur entomopatogen dalam menginfeksi inang target melibatkan empat tahap: adhesi, perkecambahan, diferensiasi dan penetrasi. Proses infeksi yang berhasil ditandai dengan pelekatan atau adhesi konidia ke inang. Jamur entomopatogen mensekresikan beberapa enzim yang berperan penting dalam proses penetrasi antara lain lipase, protease dan kitinase. Enzim tersebut digunakan untuk pemecahan dan penetrasi kutikula serangga (Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2016).

Pada setiap tahap tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal yang akan menentukan patogenisitasnya. Patogenisitas *Beauveria bassiana* dipengaruhi oleh faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik meliputi kelembaban dan temperatur suatu lingkungan. *Beauveria bassiana* memiliki kemampuan patogenisitas yang optimal pada lingkungan dengan kelembaban tinggi yakni RH >75% dengan temperatur maksimal 30°C. Sedangkan faktor biotik meliputi, viabilitas konidia yang mempengaruhi keberhasilan proses penetrasi pada epikutikula dari inang, kemampuan patogenisitas *Beauveria bassiana* juga dipengaruhi oleh jenis hama, *Beauveria bassiana* memiliki kemampuan patogenisitas yang rendah terhadap inang nontarget (Mishra *et al.*, 2015).

2. Metode Penelitian

Kegiatan PKL ini dilaksanakan pada Divisi Research & Development di PT Biotek Cipta Kreasi yang beralamat di Jalan Kyai Samiyoredjo, Jetis Donolayan, Donoharjo, Kec. Ngaglik, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55581. Kegiatan PKL ini dilakukan pada tanggal 03 Oktober 2022 hingga 23 Januari 2023. Alat yang digunakan yaitu cawan petri, timbangan digital, *laminar air flow* (F), *hot plate*, jarum ose, autoklaf, *erlenmeyer*, bunsen, *mikro pipet*, *tip*, kertas saring, gunting, pinset, botol semprot, botol kaca, kertas saring, plastik wrap dan alat tulis serta alat lain yang mendukung penelitian ini. Bahan yang digunakan adalah isolat jamur *Beauveria bassiana*, media PDA (Potato Dextrose Agar), media ISP-2 (International Streptomyces Project-2), media CPA (Czapek's Agar), *Tween 80*, air RO (*reverse osmosis*) steril, ulat grayak (*Spodoptera litura*) dan daun bunga kol. Rancangan penelitian ini termasuk rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari kontrol: 5 ulangan Ulat grayak, perlakuan: 5 ulangan Ulat grayak. Untuk kontrol ulat dibiarkan saja tidak disemprot dengan apapun, dan untuk perlakuan disemprot kultur *Beauveria bassiana* seminggu 2 kali. Pada kontrol maupun perlakuan ulat grayak diberi makanan daun bunga kol setiap harinya.

2.1. Persiapan Alat dan Bahan

Pembuatan media Potato dextrose agar (PDA) untuk persiapan refresh kultur *Beauveria bassiana*, dasar pemilihan PDA untuk refresh kultur dikarenakan media ini sering digunakan dalam budidaya dan pemeliharaan jamur. Media ini dipilih karena kandungan pati dan glukosa dalam kentang serta gula dalam dextrose dapat memberikan nutrisi yang diperlukan oleh jamur untuk tumbuh dengan baik. Selain itu, PDA juga memiliki kelembapan yang cukup dan konsistensi yang baik, sehingga membantu menjaga kestabilan pH dan mencegah pertumbuhan bakteri yang dapat bersaing dengan jamur. PDA juga mudah disiapkan dan relatif murah, sehingga banyak digunakan dalam laboratorium

dan industri jamur. Setelah menyiapkan media yang akan digunakan kemudian dimasukan kedalam autoklaf bersama dengan cawan petri, elrenmayer beserta alat-alat lainnya. Di sterilisasi menggunakan autoklaf listrik pada suhu 121°C selama 15 menit (Andriani, 2016).

2.2. Refresh Kultur

Isolat jamur *Beauveria bassiana* yang didapatkan dari kultur stock PT. Biotek Cipta Kreasi direfresh atau dilakukan peremajaan terlebih dahulu agar mendapatkan jamur yang lebih fresh dan baik, dengan cara menginokulasi jamur *Beauveria bassiana* ke PDA yang sudah dituangkan ke cawan petri steril dan diinkubasi selama 7-14 hari (Rosmiati, 2018).

2.3. Optimalisasi Media Produksi Spora

Untuk mengetahui media yang tepat untuk produksi spora produksi jamur *Beauveria bassiana* yaitu PDA (*Potato Dextrose Agar*) 24g/liter, ISP-2 (*International Streptomyces Project*) dengan komposisi *Yeast* 4g/liter, *Malt* 10g/liter, *Dextrose* 4g/liter, *Agar* 15g/liter, media CZA (*Czapek's Agar*) dengan komposisi *Glucose* 20g/liter, *NaNO₃* 2g/liter, *K₂HPO₄* 1g/liter, *MgSO₄* 0,5g/liter, *KCL* 0,5g/liter, *FeSO₄* 0,01g/liter, *Agar* 15g/liter. Cara menginokulasi jamur ke media agar dengan mengambil *inokulum* jamur *Beauveria bassiana* menggunakan jarum ose setelah itu ditempelkan ke media agar yang sudah disediakan lalu tunggu dan amati 7-14 hari untuk jamur tumbuh (Rosmiati, 2018).

2.4. Hitung Spora

Kerapatan spora dihitung menggunakan *haemocytometer*. Kerapatan spora yang baik untuk jamur *Beauveria bassiana* adalah 1×10^6 spora/g (Direktorat Perlindungan Perkebunan Kementerian Pertanian, 2014). Memanen spora pada setiap media yang sudah ditumbuhi jamur *Beauveria bassiana* dengan RO 10ml dan *tween 80* dan dihitung kerapatan sporanya. Hasil panen spora kemudian ditetaskan pada *haemocytometer* dan dihitung kerapatan sporanya dengan *mikroskop binokuler* perbesaran 10 kali. Perhitungan kerapatan spora menggunakan rumus (Gabriel & Riyatno, 1989 dalam Nurani *et al.*, 2018) sebagai berikut :

$$C = \frac{t}{(nx0,25)} \times 10^6$$

C = kerapatan spora per ml larutan

t = jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati

n = jumlah kotak sampel (5 kotak besar x 16 kotak kecil)

0,25 = faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada haemocytometer.

10^6 = Standar kerapatan spora yang baik

2.5. Uji Patogenisitas *Beauveria Bassiana* pada Hama Penyakit tanaman

Menyiapkan 2 botol kaca untuk tempat hidup kontrol dan perlakuan untuk ulat grayak masing-masing botol berisi 5 ulat grayak sebagai ulangan. Menyemprotkan kultur *Beauveria bassiana* dengan spora tertinggi yang sudah dipanen setelah 2 minggu ditumbuhkan sampai basah pada botol kaca perlakuan berisi 5 ulat grayak sedangkan untuk botol kaca kontrol berisi 5 ulat grayak tidak diberikan perlakuan semprot. Masing-masing botol kaca diberi kertas saring sebagai landasan dan ditutup dengan plastik wrap dan diberi ventilasi udara (Rosmiati, 2018).

2.6. Menghitung Presentase Kematian Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)

Menghitung presentase kematian ulat grayak yang disebabkan oleh jamur *Beauveria bassiana* yang menjadi parameter pengamatan dalam penelitian ini adalah presentase kematian ulat grayak (*Spodoptera litura*). Waktu pengamatan berakhir dengan menghitung keseluruhan ulat yang mati selama 7 hari setelah aplikasi *Beauveria bassiana*, untuk mengetahui presentase kematian dilakukan perhitungan menggunakan rumus berikut (Gabriel & Riyatno, 1989 dalam Rosmiati, 2018) :

$$Mo = \frac{k}{Kn} \times 100\%$$

Mo = Presentase mortalitas (%)

k = Jumlah ulat yang mati (individu)

Kn = Jumlah seluruh ulat yang diuji (individu)

3. Hasil dan Pembahasan

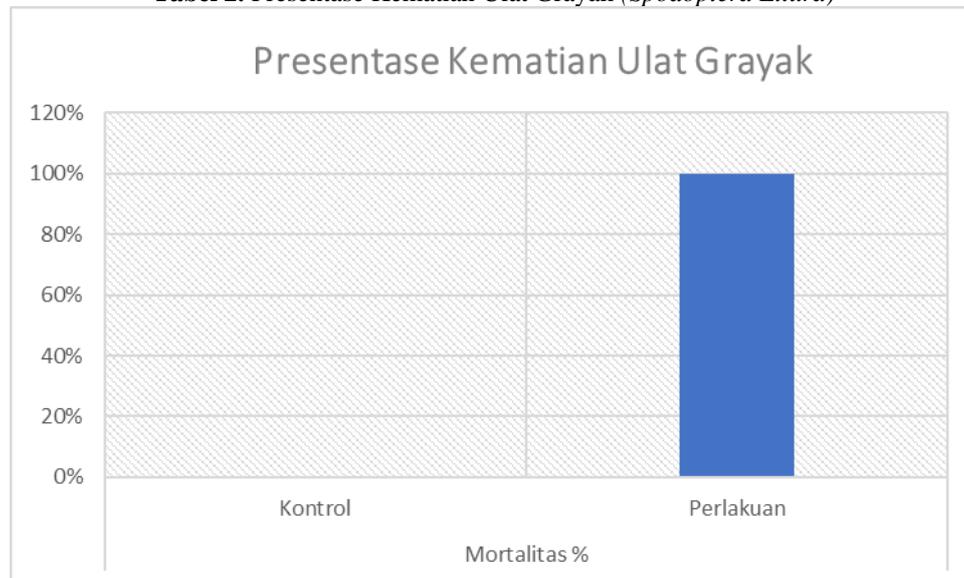
Penelitian ini dilakukan guna mengetahui tingkat pathogenesis jamur *Beauveria Bassiana* pada ulat grayak (*Spodoptera Litura*).

Tabel 1. Kerapatan Spora Media-media produksi

Media Produksi	Kerapatan Spora
Media CZA	5,95X10 ⁶ spora/ml
Media PDA	2X10 ⁶ spora/ml
Media ISP2	1,15X10 ⁶ spora/ml

Berdasarkan kerapatan spora yang telah dihitung didapati kerapatan spora media CZA lah yang paling tinggi dari dua media lainnya. Media Czapek terdiri dari sukrosa, natrium nitrat, kalium fosfat, magnesium sulfat, dan zat tambahan lainnya. Media ini dikembangkan secara khusus untuk pertumbuhan jamur. Media Czapek memiliki sifat selektif yang lebih baik untuk pertumbuhan jamur. Beberapa formulasi media Czapek dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme non-jamur, seperti bakteri (Luo *et al.*, 2015).

Tabel 2. Presentase Kematian Ulat Grayak (*Spodoptera Litura*)



Berdasarkan presentase kematian ulat grayak pada perlakuan yaitu 100% dan presentase kematian pada kontrol adalah 0% setelah 7 hari uji patogenesis, yang mengartikan bahwasanya jamur *Beauveria bassiana* ini dapat menjadi agen biokontrol ulat grayak. Dan karena *Beauveria Bassiana* memiliki patogenesis untuk menghambat pertumbuhan serangga target (Lee dkk., 2014).

Mekanisme infeksi dimulai dengan penempelan langsung hifa atau konidia *Beauveria bassiana* ke dalam *kutikula* melalui kulit luar hama target. Pertumbuhan hifa akan mengeluarkan *enzim* seperti *protease*, *lipolitik*, *amilase*, dan *kitinase*. Enzim-enzim tersebut mampu menghidrolisis kompleks protein di dalam integumen, yang menyerang dan menghancurkan *kutikula*, sehingga hifa tersebut mampu menembus dan masuk serta berkembang di dalam tubuh serangga. Mekanisme infeksi secara fisik adalah infeksi melalui tekanan yang disebabkan oleh konidium *Beauveria bassiana* yang tumbuh. Secara fisik infeksi jamur *Beauveria Bassiana* berawal dari penetrasi *miselium* pada *kutikula* lalu berkecambah dan membentuk apresorium, kemudian menyerang *epidermis* dan *hipodermis*. Hifa kemudian menyerang jaringan dan hifa berkembang biak di dalam *haemolymph* (Clarkson & Charnley, 1996).

Menurut penelitian Siahaan *et al.*, 2021, Mekanisme infeksi *Beauveria bassiana* terhadap serangga, seperti ulat grayak, dimulai dengan penempelan spora jamur pada *kutikula* serangga hidup. Spora tersebut kemudian berkecambah di permukaan *kutikula* yang lembab, membentuk inisiasi hifa.

Dengan bantuan *enzim kitinase* dan *amilase*, inisiasi hifa menembus lapisan kutikula serangga dan mencapai *epidermis*. Melalui produksi *enzim lipase* dan *protease*, hifa mampu menembus lapisan epidermis dan masuk ke dalam hemocoel serangga. Di dalam tubuh serangga, hifa tumbuh dan membentuk miselium yang menyebar ke seluruh tubuh serangga dengan cepat. *Miselium* ini menghasilkan senyawa toksik, termasuk enzim destruktif dan mikotoksin, yang merusak jaringan dan organ serangga, mengganggu fungsi fisiologisnya, dan menyebabkan kehilangan kendali atas tubuhnya. Serangga yang terinfeksi mengalami gangguan motorik, seperti kejang-kejang, gerakan yang lambat, dan akhirnya tidak dapat bergerak. Gangguan ini berujung pada kematian serangga. Melalui mekanisme ini, *Beauveria bassiana* dapat efektif mengendalikan populasi ulat grayak dan serangga hama lainnya (Zhu *et al.*, 2008).

Pengamatan selama 7 hari ini didapatkan perbedaan pada botol kontrol dan botol perlakuan. Ulat pada kontrol hidup berkembang biak dengan normal tetapi tidak untuk ulat yang berada di botol perlakuan, ulat tersebut terhambat dalam berkembang biak. Pada hari pertama, belum ada perbedaan pada ulat tersebut. Pada hari ke dua terdapat perbedaan konsentrasi kotorannya pada ulat perlakuan memiliki tekstur lebih lembek dari ulat kontrol. Pada hari ke tiga ulat perlakuan masih mengalami hal yang sama memiliki kotoran yang lebih lembek dan encer. Pada hari ke empat dan lima masih terjadi hal yang sama pada ulat perlakuan dan beberapa ulat mulai lemas dan mati tetapi beberapa ulat juga masih ada yang tetap aktif, sedangkan pada ulat kontrol mulai berubah menjadi pupa. Pada hari ke enam semua ulat pada botol perlakuan mati, dan pada ulat kontrol masih menjadi pupa. Dan terakhir pada hari ke tujuh semua ulat pada perlakuan mati dan terlihat berwarna hitam kecoklatan dan kering, sedangkan ulat pada kontrol berubah menjadi imago sesuai dengan siklus hidupnya.

4. Kesimpulan

Beauveria bassiana berpotensi sebagai pengendali hama tanaman tetapi akan lebih efektif apabila dapat meningkatkan kerapatan sporanya lebih dari 10^6 .

5. Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada PT. Biotek Cipta Kreasi yang sudah mendukung penelitian ini dari awal sampai akhir.

Daftar Pustaka

- Andriani, R. (2016). Pengenalan Alat-Alat Laboratorium Mikrobiologi Untuk Mengatasi Keselamatan Kerja dan Keberhasilan Praktikum. *Jurnal Mikrobiologi*, 1 (1).
- Anonim. (2 Jul. 2018). Tentang Kami PT. Biotek Cipta Kreasi. Diakses pada 10 Januari 2023, dari <https://biotek.co.id/tentang-kami>.
- Clarkson, J.M and A.K. Charnley . (1996). New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends Microbiology* 4: 197-203.
- Direktorat Perlindungan Perkebunan Kementerian Pertanian. (2014). Pedoman Uji Mutu dan Uji Efikasi Lapangan Agens Pengendali Hayati (APH). Jakarta.
- Lee, S.J., Kim, S.H., Nai, Y.S., Je, Y.H., Parker, B.L. and Kim, J.S., (2014). Management of entomopathogenic jamur in cultures of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Entomological Research*, 44: 236-243.
- Luo, X., Keyhani, N. O., Yu, X., He, Z., Luo, Z., Pei, Y., & Zhang, Y. (2012). The MAP kinase Bbslt2 controls growth, conidiation, cell wall integrity, and virulence in the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Fungal Genetics and Biology*, 49 (7): 544–555.
- Liu, H., Zhao, X., Guo, M., Liu, H., & Zheng, Z. (2015). Growth and metabolism of *Beauveria bassiana* spores and mycelia. *BMC microbiology*, 15 (1): 1-12.
- Marwoto, dan Suharsono. (2008). Strategi dan komponen teknologi pengendalian ulat grayak (*Spodoptera litura*) pada tanaman kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian*, 27 (4): 131-136.
- Mishra, S., Kumar, P., & Malik, A. (2015). Effect of temperature and humidity on pathogenicity of native *Beauveria bassiana* isolate against *Musca domestica* L. *Journal of parasitic diseases*, 39: 697-704.
- Nurani, A. R., Sudiarta, I. P., & Darmiati, N. N. (2018). Uji efektifitas jamur *Beauveria bassiana* Bals. terhadap ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) pada tanaman tembakau. *Jurnal Agroekoteknologi*

- Tropika, 7 (1): 11-23.
- Ortiz, U. A., & Keyhani, N. O. (2016). Molecular genetics of *Beauveria bassiana* infection of insects. *Advances in Genetics*, 94: 165-249.
- Prayogo, Y. W., Tengkan, dan Marwoto. (2005). Prospek cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk mengendalikan ulat grayak *Spodoptera litura* pada kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian*, 24 (1): 19-26.
- Rosmiati, A., Hidayat, C., Firmansyah, E., & Setiati, Y. (2018). Potensi *Beauveria bassiana* sebagai agens hayati *Spodoptera litura* Fabr. pada tanaman kedelai. *Agrikultura*, 29 (1): 43-47.
- Siahaan, P., Wongkar, J., Wowiling, S., & Mangais, R. (2021). Patogenisitas *Beauveria bassiana* (Bals.) viull. yang diisolasi dari beberapa jenis inang terhadap kepik hijau, *Nezara viridula* L.(Hemiptera: Pentatomidae). *Jurnal Ilmiah Sains*, 26-33.
- Zhu, Y., Pan, J., Qiu, J. & Guan, X. (2008). Isolation and characterization of a chitinase gene from entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Brazilian Journal of Microbiology*, (39) 2: 314-320.