PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN IN VITRO JAMUR Beauveria bassiana MUTAN SERTA VIRULENSINYA TERHADAP HAMA PENGISAP POLONG KEDELAI (Riptortus linearis) DI LABORATORIUM

Lita Aprianda Sari 1, F.X. Susilo 2, Yuyun Fitriana 2, Lestari Wibowo 2

¹⁾Mahasiswa dan ²⁾ Dosen Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung 35145

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pertumbuhan dan perkembangan *in vitro* jamur *Beauveria bassiana* mutan serta virulensinya terhadap hama pengisap polong kedelai, *R. linearis*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan dilaksanakan bulan Januari - Juni 2017. Uji pertumbuhan *B. bassiana* secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Uji virulensi jamur *B. bassiana* terhadap *R. linearis* menggunakan analisis probit. Virulensi diindikasikan dengan LT₅₀ atau *lethal time* 50, yaitu waktu yang dibutuhkan jamur ini untuk mematikan 50% larva uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat Bbyf22 dan Bbyf24 (mutan) mampu tumbuh dan berkembang dengan normal seperti isolat Bbyf (*wildtype*). Jamur *B. bassiana* terbukti virulen terhadap hama *R. linearis* dengan LT₅₀ =3,7 hari (isolat Bbyf22, mutan); 4,9 hari (isolat Bbyf24, mutan); dan 3,5 hari (isolat Bbyf, *wildtype*).

Kata kunci: Beauveria bassiana, pengisap polong kedelai, Riptortus linearis, virulensi.

PENDAHULUAN

Tanaman kedelai tidak luput dari serangan hama pengisap polong kedelai. Hama *R. linearis* penyebarannya cukup luas di Indonesia (Asadi, 2009). *R. linearis* dapat menyebabkan kegagalan panen hingga 80%. Sebagian besar kerusakan yang terjadi dapat ditemukan pada bagian polong. Polong yang telah dihisap terlihat kempis, mengering, dan gugur. Apabila tidak dikendalikan maka populasi hama tersebut akan meningkat (Atman, 2012).

Pengendalian terhadap hama *R. linearis* selama ini lebih mengandalkan insektisida kimia. Penggunaan insektisida kimia secara terus-menerus menimbulkan berbagai dampak negatif. Dampak yang ditimbulkan pada pertanaman kedelai diantaranya ledakan populasi (resurgensi) *R. linearis*. Selain itu terjadinya resistensi *R. linearis* terhadap insektisida kimia tersebut dan terjadinya pencemaran lingkungan (Hasibuan, 2003).

Untuk menghindari efek negatif dari

penggunaan pestisida kimia, perlu kiranya dicari alternatif pengendalian lainnya, misalnya menggunakan jamur entomopatogen. *Beauveria bassiana* dilaporkan sebagai jamur entomopatogen yang sangat efektif terhadap beberapa spesies serangga hama termasuk rayap, kutu putih, dan beberapa jenis kumbang (Soetopo & Indrayani, 2007). Jamur entomopatogen ini diduga memiliki virulensi terhadap kepik.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Avanti *et al.* (2014) menunjukkan jamur *B. bassiana* dapat dimutankan. Salah satu cara pemutanan adalah melalui proses *moist heat* dengan diinkubasi pada suhu 27°C selama 15-17 hari. *B. bassiana* juga dapat dimutankan melalui proses penyinaran UV dibawah 254 nm pada media agar dan diinkubasi selama 8 hari. Teknologi mutasi menggunakan ion beam juga telah diterapkan pada *B. bassiana* (Fitriana *et al.*, 2014).

Mutasi umumnya fatal namun ada mutan yang sintas. *B. bassiana* mutan misalnya, dapat bertahan hidup dan mampu beradaptasi dengan lingkungannya. Berdasarkan penelitian (Fitriana *et al.*, 2014), jamur mutan *B. bassiana* lebih virulen terhadap hama. Namun sampai saat ini, isolat Bbyf hasil mutasi (Fitriana *et al.*, 2014) belum diketahui kemampuannya terhadap kepik *R. linearis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian terdiri atas dua kegiatan. Kegiatan pertama ialah uji pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana* secara *in vitro*. Kegiatan ini mencakup pembiakkan jamur mutan *B. bassiana*, penumbuhan

koloni *B. bassiana*, pengukuran kerapatan spora *B. bassiana*, dan uji viabilitas *B. bassiana*. Kegiatan kedua ialah uji virulensi *B. bassiana* terhadap *R. linearis*.

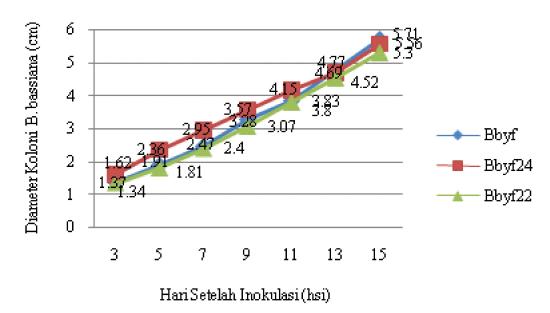
Pada penelitian ini dilakukan uji pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana* secara *in vitro* dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Uji pertumbuhan dan perkembangan dilakukan dengan menumbuhkan jamur mutan *B. bassiana* pada media PDA. Pengukuran diameter jamur dilakukan setiap hari setelah inokulasi. Setelah 15 hsi, dihitung jumlah spora jamur mutan *B. bassiana*. Kemudian dilakukan uji viabilitas spora setelah diinkubasi selama 16 jam.

Uji virulensi menggunakan analisis probit. Ukuran probit yang digunakan yaitu LT_{50} . LT_{50} adalah waktu yang dibutuhkan untuk mematikan 50% larva uji. Pada penelitian ini, LT_{50} dihitung menggunakan program SPSS versi 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut di bawah ini diameter koloni jamur *B. bassiana* mulai 3 hingga 15 hsi (Gambar 2). Isolat jamur *B. bassiana* Bbyf22 dan isolat jamur *B. bassiana* Bbyf24 (mutan) mampu tumbuh normal. Pada hari ke-3 sampai 11 hsi, diameter koloni isolat jamur *B. bassiana* Bbyf24 (mutan) bahkan nampak lebih besar daripada isolat jamur *B. bassiana* Bbyf (*wildtype*).

Diameter koloni isolat jamur *B. bassiana* Bbyf22 (mutan) dan Bbyf (*wildtype*) pada hari ke-3 sampai 11 hsi nampak tidak berbeda. Begitu juga pengamatan pada hari ke-13 sampai 15 tidak terlihat perbedaan yang signifikan. Ini membuktikkan bahwa isolat jamur *B. bassiana* mutan mampu *survive* seperti



Gambar 2. Diameter koloni *B. bassiana* yang ditumbuhkan pada media PDA. (Bbyf22 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf24 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari larva kumbang Shizuoka; hsi = hari setelah inokulasi).

Tabel 2. Kerapatan spora jamur B. bassiana

Perlakuan	Kerapatan Spora B. bassiana (x 10 ⁶ /ml)	
Bbyf22 (mutan)	8,32 b	
Bbyf24 (mutan)	7,16 b	
Bbyf(wildtype)	16,08 a	
BNT 5%	4,49	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (BNT 5%). (Bbyf22 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf24 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari larva kumbang Shizuoka).

isolat jamur *B. bassiana wildtype*. Berdasarkan hasil BNT 5%, pada hari ke-13 dan 15 hsi isolat jamur *B. bassiana* Bbyf22 dan Bbyf24 (mutan) tidak berbeda nyata dengan isolat jamur *B. bassiana* Bbyf (*wildtype*) $(F_{hit} = 0.80^{tn})$.

Hasil perhitungan terlampir pada tabel 2, kerapatan spora jamur *B. bassiana* mutan dan *wildtype*.. Isolat jamur Bbyf22 dan Bbyf24 (mutan) menghasilkan spora yang relatif sama banyak. Isolat

Bbyf (*wildtype*) menghasilkan spora lebih banyak dari isolat Bbyf22 atau Bbyf24 (mutan).

Tabel 3 menunjukkan bahwa spora-spora jamur mutan mampu berkecambah dengan baik. Daya berkecambah spora isolat jamur mutan (Bbyf22 dan Bby24) tidak berbeda dengan daya berkecambah spora isolat jamur *wildtype* (Bbyf). Itu menunjukkan bahwa isolat jamur mutan (Bbyf22 dan Bbyf24) dapat sintas sebagaimana isolat jamur *wildtype* (Bbyf).

Tabel 3. Daya berkecambah (viabilitas) spora jamur *B. bassiana* yang telah diinkubasi selama 16 jam pada media PDA

Perlakuan	Spora B. bassiana berkecambah (%)	
Bbyf22 (mutan)	78,20 a	
Bbyf24 (mutan)	72,40 a	
Bbyf (wildtype)	73,40 a	
F hitung	0,09	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Uji F 5%). (Bbyf22 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf24 = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari iradiasi ion beam; Bbyf = Isolat *B. bassiana* yang berasal dari larva kumbang Shizuoka).

Tabel 4. LT₅₀ tiga isolat jamur *B. bassiana* terhadap *R. linearis*

Isolat	LT ₅₀ (hari)		
	Rata-rata	Minimal	Maksimal
Bbyf24 (mutan)	4,9 a	4,1	6,2
Bbyf22 (mutan)	3,7 ab	3,1	4,4
Bbyf (wildtype)	3,5 b	3,1	3,9

Keterangan: LT₅₀ nyata pada taraf 5%. Bbyf22 diinokulasikan pada kerapatan 8,32 x 10⁶/ml (tidak berbeda nyata antar-isolat Bbyf), Bbyf24 diinokulasikan pada kerapatan 7,16 x 10⁶/ml (tidak berbeda nyata antar-isolat Bbyf22), dan Bbyf diinokulasikan pada kerapatan 16,08 x 10⁶/ml (tidak berbeda nyata antar-isolat Bbyf22).

Tabel 4 menyajikan LT₅₀ isolat jamur mutan dan wildtype terhadap R. linearis. LT₅₀ Bbyf (wildtype) tidak berbeda nyata dengan LT₅₀ Bbyf22 (mutan). LT₅₀ Bbyf22 (mutan) tidak berbeda nyata dengan LT₅₀ Bbyf 24 (mutan). LT₅₀ Bbyf lebih kecil dibandingkan LT₅₀ Bbyf24 (wildtype). Itu menunjukkan menunjukkan bahwa isolat Bbyf (mutan) dan Bbyf22 (wildtype) mampu mematikan R. linearis 50% dalam waktu yang relatif sama.

PEMBAHASAN

Pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana* Bbyf22 dan Bbyf24 (mutan) tidak berbeda jauh dengan pertumbuhan dan perkembangan Bbyf (*wildtype*).

Dilihat dari data pengamatan pertumbuhan diameter (Gambar 2) dan perkecambahan sporanya (Tabel 3), isolat mutan mampu tumbuh dan berkembang dengan normal seperti isolat *wildtype*. Sebagaimana hasil penelitian Dwayne & Khachatourians (1994), jamur *B. bassiana* dari hasil pemutanan sinar ultraviolet dapat menghasilkan konidia dengan daya berkecambah yang baik pada suhu 22-25°C. Penelitian ini dilaksanakan pada suhu 20-25°C.

Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat jamur mutan menghasilkan kerapatan spora yang lebih sedikit daripada isolat jamur *wildtype*. Dengan demikian isolat jamur mutan ini memiliki peluang yang lebih rendah

dalam menginfeksi inangnya dibandingkan dengan isolat jamur *wildtype*. Menurut Prayogo (2013), semakin tinggi kerapatan spora, maka semakin tinggi pula peluang kontak antara patogen dengan inang. Apakah peluang kontak ini mempengaruhi virulensi? Atau, dengan kerapatan spora yang sama (peluang kontak sama), betulkah isolat jamur mutan *B. bassiana* akan sama virulensinya dengan isolat jamur *wildtype B. bassiana*?

Tabel 4 menunjukkan virulensi isolat mutan dan wildtype jamur B. bassiana setelah diinokulasikan pada hama R. linearis. Kerapatan spora yang diinokulasikan tidak berbeda nyata antar isolat. Isolat jamur Bbyf22 (mutan) dan isolat jamur Bbyf24 (mutan) membutuhkan 3,7 hari dan 4,9 hari untuk menimbulkan kematian pada R. linearis. Isolat jamur Bbyf (wildtype) membutuhkan waktu 3,5 hari untuk menimbulkan kematian pada R. linearis (Tabel 4). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa virulensi jamur B. bassiana mutan terhadap R. linearis tidak berbeda (Bbyf22) atau lebih rendah (Bbyf24) daripada virulensi jamur B. bassiana wildtype (Bbyf).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: 1) Isolat Bbyf22 dan Bbyf24 (mutan) mampu tumbuh dan berkembang dengan normal seperti isolat Bbyf (*wildtype*). Pertumbuhan diameter dan daya berkecambah (viabilitas) isolat Bbyf22 dan isolat Bbyf24 (mutan) relatif sama dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan isolat Bbyf (*wildtype*) tetapi kerapatan spora isolat jamur mutan (Bbyf24 dan Bbyf22) lebih rendah daripada kerapatan spora isolat

jamur wildtype (Bbyf), 2) Jamur B. bassiana terbukti virulen terhadap hama R. linearis dengan $LT_{50} = 3.7$ hari (isolat Bbyf22, mutan); 4,9 hari (isolat Bbyf24, mutan); dan 3,5 hari (isolat Bbyf, wildtype).

DAFTAR PUSTAKA

- Asadi. 2009. Identifikasi ketahanan sumber daya genetik kedelai terhadap hama pengisap polong. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. *Buletin Plasma Nutfah*. 15(1): 17-23.
- Atman, R. 2012. Rancang bangun program aplikasi sistem pakar untuk diagnosis hama utama kedelai. *Informatika Pertanian*. 21(1): 11-26.
- Avanti, B., K. Balaraman & R. Gopinath. 2014. Development of higher temperature tolerant mutant of *Beauveria bassiana* and *Verticillum lecanii*. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. 3(3): 109-112.
- Dwayne, D.H. & G.G. Khachatourians. 1994. Isolation and characterization lethal mutants of *Beauveria bassiana*. *Journal Microbiology*. 40: 766-776.
- Fitriana, Y., S. Shinohara, K. Satoh, I. Narumi & T. Saito. 2014. Benomyl-resistant *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) mutants induced by ion beams. *The Japanese Society of Applied Entomology and Zoology*. 50: 123-129.
- Hasibuan, R. 2003. *Pengendalian Hama Terpadu*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 109 hlm.

- Prayogo, Y. 2013. Patogenisitas cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) pada berbagai stadia kepik hijau (*Nezara viridula L.*). *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*. 13(1): 75-86.
- Soetopo, D. & I.G.A.A. Indrayani. 2007. Status teknologi dan prospek *Beauveria bassiana* untuk pengendalian serangga hama tanaman perkebunan yang ramah lingkungan. *Perspektif.* 6(1): 29-46.