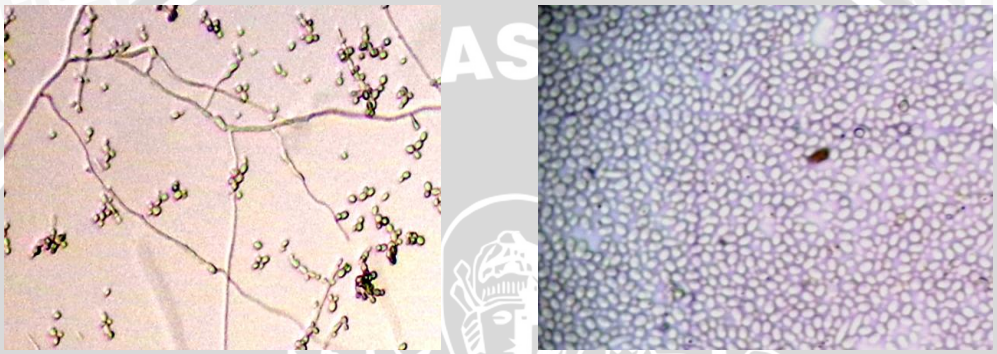
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Morfologi *B. bassiana*

Hasil pengamatan mikroskopis jamur *B. bassiana* pada gambar 2. Konidiofor tumbuh berselang seling berbentuk zig-zag diatas hifa yang tumbuh memanjang (Gambar 2 a). Spora dari jamur *B. bassiana* berbentuk agak bulat sampai bulat telur (Gambar 2 b).



a. Hifa *B. bassiana* b. Spora *B. bassiana*

Gambar 1. Mikroskopis *B. bassiana* (Perbesaran 40x)

Hasil pengamatan ciri mikroskopis *B. bassiana* yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan ciri-ciri mikroskopis *B. bassiana* menurut Brady (1979); Barron (2005) konidia dihasilkan dalam bentuk simpodial dari sel-sel induk yang terhenti pada ujungnya. Pertumbuhan konidia diinisiasi oleh sekumpulan konidia, setelah itu spora tumbuh dengan ukuran yang lebih panjang karena akan berfungsi sebagai titik tumbuh. Pertumbuhan selanjutnya dimulai di bawah konidia berikutnya, setiap saat konidia dihasilkan pada ujung hifa dan dipakai terus, selanjutnya ujungnya akan terus tumbuh. Melalui cara seperti ini, rangkaian konidia dihasilkan oleh konidia-konidia muda (rangkaian akropetal), dengan kepala konidia menjadi lebih panjang. Ketika seluruh konidia dihasilkan, ujung konidia penghubung dari sel-sel konidiogenus mempunyai pertumbuhan zig-zag dan mengikuti pertumbuhan asal. Pada konidia *B. bassiana* akan tumbuh suatu tabung yang makin lama makin panjang mirip seuntai benang dan pada suatu waktu benang itu mulai bercabang dan tumbuh menjauhi hifa. Konidia

jamur bersel satu, berbentuk oval agak bulat sampai dengan bulat telur, berwarna hialin dengan diameter 2 hingga 3 µm (Barnett, 1960).

4.2 Mortalitas *Gryllus* sp. Akibat Infeksi Jamur *B. bassiana* pada Perlakuan Kerapatan Konidia yang Berbeda

Pengamatan persentase mortalitas *Gryllus* sp. pada uji patogenisitas jamur *B. bassiana* dilakukan setiap 24 jam selama 7 hari setelah aplikasi. Hasil analisis ragam terhadap persentase mortalitas *Gryllus* sp. menunjukkan bahwa kerapatan konidia *B. bassiana* pada metode umpan dan metode kontak langsung berpengaruh nyata terhadap mortalitas *Gryllus* sp. (Tabel 1). Konidia *B. bassiana* mulai menyebabkan kematian mulai dari 24 jam atau 1 hari setelah aplikasi pada semua konsentrasi hingga pada pengamatan ke 7 HSA. Namun pada pengamatan hari pertama dan kedua setelah aplikasi belum menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan, sedangkan pada hari ke 3 sampai hari ke 7 setelah aplikasi telah menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Rerata mortalitas *Gryllus* sp. akibat infeksi *B. bassiana* pada perlakuan kerapatan konidia yang berbeda disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Mortalitas *Gryllus* sp. akibat infeksi *B. bassiana* pada Perlakuan Kerapatan Konidia yang Berbeda

Kerapatan (konidia/ml akuades)	Pengamatan pada… HSA (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
Metode Umpan Pakan							
10^4	10,0	31,7	43,3 a	53,3 a	60,0 a	70,0 a	75,0 a
10^6	11,7	33,3	46,7 ab	58,3 ab	68,3 a	76,7 a	83,3 ab
10^8	13,3	33,3	50,0 ab	60,0 ab	70,0 ab	81,7 ab	90,0 b
10^{10}	20,0	48,3	60,0 b	73,3 b	83,3 b	91,7 b	100 c
Metode Kontak Langsung							
10^4	5,00	11,7	13,3 a	23,3 a	33,3 a	41,7 a	53,3 a
10^6	8,30	23,3	35,0 b	45,0 b	53,3 b	58,3 ab	68,3 ab
10^8	10,0	26,7	36,7 b	48,3 b	55,0 b	65,0 ab	80,0 b
10^{10}	11,7	26,7	40,0 b	50,0 b	56,7 b	70,0 b	83,3 b

Keterangan: - HSA: Hari Setelah Aplikasi
- Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey (α=5%).
- Data ditransformasi dengan Arcsin $\sqrt{X+0,5}$ untuk keperluan analisis statistik

Pada Tabel 1 mortalitas *Gryllus* sp. metode umpan pakan terlihat semakin tinggi kerapatan *B. bassiana* yang diaplikasikan pada *Gryllus* sp. maka semakin tinggi persentase mortalitas. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan kerapatan konida *B. bassiana* memberikan perbedaan yang nyata terhadap mortalitas *Gryllus* sp. Dari hasil pengamatan selama 7 hari mortalitas tertinggi didapatkan pada kerapatan *B. bassiana* 10^{10} konidia/ml sebesar 100%. Artinya bahwa pada kerapatan *B. bassiana* 10^{10} konidia/ml dapat mematikan seluruh serangga yang diamati.

Semakin tinggi kerapatan konidia *B. bassiana,* maka jumlah konidia yang menempel pada permukaan serangga semakin banyak. Hal tersebut menyebabkan jumlah konidia yang berkecambah di permukaan tubuh serangga juga semakin banyak, sehingga kemungkinan terjadinya kontak antara jamur dengan inang semakin besar dan dapat mempercepat proses kematian inang. Jauharlina (1999) menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat kerapatan spora jamur *B. bassiana* semakin banyak pula konidia yang terkandung dalam setiap ml, sehingga konidia dapat menyebar lebih merata pada permukaan tubuh serangga. Semakin banyak spora yang menempel pada tubuh serangga, semakin besar pula peluang jamur untuk tumbuh dan berkembang pada tubuh serangga, selanjutnya mematikan serangga (Sudarmadji dan Gunawan, 1994).

Hasil analisis ragam pada metode kontak langsung (Tabel 1) menunjukkan bahwa perlakuan kerapatan konida *B. bassiana* memberikan perbedaan yang nyata terhadap mortalitas *Gryllus* sp. Dari hasil pengamatan selama 7 hari mortalitas *Gryllus* sp. pada kerapatan *B. bassiana* 10^4 konidia/ml (53,3%) berbeda nyata dengan mortalitas *Gryllus* sp. pada kerapatan *B. bassiana* 10^8 konidia/ml (80%) dan 10^{10} konidia/ml (83,3%). Mortalitas *Gryllus* sp. pada metode kontak langsung dari Tabel 1 juga menunjukkan semakin tinggi kerapatan kerapatan *B. bassiana* yang diaplikasikan pada *Gryllus* sp. maka semakin tinggi persentase mortalitas.

Kerapatan konidia *B. bassiana* pada metode umpan pakan sebesar 10^{10} konidia/ml menyebabkan mortalitas tertinggi pada *Gryllus* sp. yaitu sebesar 100% dan pada metode kontak langsung kerapatan konidia *B. bassiana* sebesar 10^{10}

konidia/ml menyebabkan mortalitas tertinggi pada *Gryllus* sp. yaitu sebesar 83,3%. Dari kedua metode ini pada tingkat kerapatan tertinggi yang sama menyebabkan tingkat mortalitas yang berbeda. Hal ini diduga karena proses menginfeksi yang terjadi pada kedua metode berbeda, pada metode umpan pakan yaitu pakan yang telah direndam dengan jamur *B. bassiana* kemudian diberikan pada *Gryllus* sp. sehingga jamur *B. bassiana* langsung masuk ke dalam lambung serangga dan penetrasi jamur ke dalam tubuh lebih cepat terjadi, sedangkan metode kontak langsung dengan cara konidia disemprotkan pada tubuh serangga sehingga konidia jamur hanya menempel pada kutikula inang dan proses penetrasi ke dalam tubuh membutuhkan keadaan lingkungan yang mendukung. Suhu optimum untuk pertumbuhan *B. bassiana* berkisar antara 25^0C hingga 30^0C. Perkecambahan dan pertumbuhan *B. bassiana* paling baik pada kelembaban relatif 85% hingga 100% (Saleh *et al.*, 2000).

Persentase mortalitas *Gryllus* sp. akibat jamur *B. bassiana* pada kedua metode perlakuan metode umpan sebesar 100% dan metode kontak langsung sebesar 83,3%, menurut Thungrabeab *et al.* (2006) tergolong dalam patogenisitas tinggi dengan persentase kematian lebih dari 64,49%. Thungrabeab *et al.* (2006) mengklasifikasikan tingkat patogenisitas menjadi tiga yaitu: patogenisitas tinggi dengan persentase kematian lebih dari 64,49%, patogenisitas sedang dengan persentase kematian 64,49 hingga 30,99%, dan patogenisitas rendah dengan persentase kematian kurang dari 30,99%.

Perubahan morfologi *Gryllus* sp. setelah aplikasi *B. bassiana* pada metode umpan dan metode kontak langsung disajikan pada Gambar 3. Nimfa *Gryllus* sp. pada kondisi normal atau sebelum terinfeksi jamur *B.* bassiana, tubuhnya berwarna kuning kecoklatan dan masih bergerak sangat aktif (Gambar 3 a). *Gryllus* sp. yang terinfeksi jamur entomopatogen *B. bassiana* menunjukkan penurunan aktivitas pergerakan dan makan. Nimfa yang terinfeksi cenderung menjauhi pakannya (Gambar 3 b). Barson (1977) menyatakan bahwa serangga yang terinfeksi jamur *B. bassiana* ditandai dengan gejala fisiknya lemah, kurang aktif, dan pada kutikula ditemui bercak hitam yang menunjukkan tempat penetrasi jamur.

Tubuh serangga selanjutnya mengalami perubahan warna menjadi coklat kehitaman dan mengeras seperti mumi (Gambar 3 c). Hal ini sesuai dengan pernyataan Prayogo *et al.*, (2005) bahwa setelah serangga mati, tubuh serangga akan mengeras seperti mumi, selanjutnya fase perkembangan saprofit jamur dimulai dengan penyerangan jaringan dan berakhir dengan pembentukan organ reproduksi. Melina (2007) menegaskan, bahwa serangga yang terinfeksi *B. bassiana* akan mengalami kematian dan tubuhnya ditumbuhi miselium jamur, hal tersebut karena cairan tubuh serangga habis digunakan oleh jamur, menyebabkan serangga mati dengan tubuh yang mengeras seperti mumi dan tertutup oleh benang-benang hifa berwarna putih. Pujiastuti *et al.* (2006) menyatakan bahwa hifa cendawan *B. bassiana* yang berwarna putih akan tumbuh pada tubuh serangga jika kondisi suhu dan kelembaban lingkungan sesuai.

a. Tubuh *Gryllus* sp. normal

b. Tubuh *Gryllus* sp. lemas

c. Tubuh *Gryllus* sp. berubah warna menjadi coklat kehitaman dan kaku

d. Tubuh *Gryllus* sp. ditumbuhi miselia putih

Gambar 2. Perubahan morfologi *Gryllus* sp. akibat infeksi jamur *B. bassiana*.

Konidia jamur *B. bassiana* yang diaplikasikan pada pakan atau tanaman mampu meracuni serangga uji. Apabila serangga memakan bagian tanaman yang telah diperlakukan dengan biopestisida, maka akan mengalami keracunan yang menyebabkan kematian (Sugiyanto, 2000). Mekanisme infeksi oleh jamur entomopatogen pada serangga, diawali dengan menempelnya propagul jamur

pada tubuh serangga, lalu propagul berkecambah pada integumen, selanjutnya tabung kecambah melakukan penetrasi masuk ke tubuh serangga (Kanga *et al.*, 2003). Mekanisme penetrasi dimulai dengan pertumbuhan spora pada kutikula dan selanjutnya hifa mengeluarkan enzim kitinase, lipase, dan protenase untuk menguraikan kutikula serangga (Suntoro, 1991).

Setelah melakukan penetrasi, hifa berkembang memasuki pembuluh darah dan menghasilkan toksin seperti beauvericin, beauverolit, isoralit, dan asam aksalat yang dapat menaikkan pH dan penggumpalan darah serta terhentinya peredaran darah. *B. bassiana* juga merusak haemocoel secara mekanis, seperti saluran pencernaan, otot sistem saraf, dan sistem pernafasan. Semua proses tersebut menyebabkan mandul, lumpuh dan kematian serangga yang terinfeksi (Robert dan Yendol, 1982).

4.3 Pengaruh Kerapatan konidia *B. bassiana* terhadap Konsentrasi Mematikan (LC_{50}) dan Waktu Mematikan (LT_{50}) *Gryllus* sp.

Perhitungan LC_{50} dan LT_{50} dilakukan dengan menggunakan Analisa Probit menurut Hsin Chi 1997. Faktor konsentrasi yang efektif dan waktu yang efektif tercapai, maka mortalitas sangat berkaitan dengan efektifitas pengendalian.

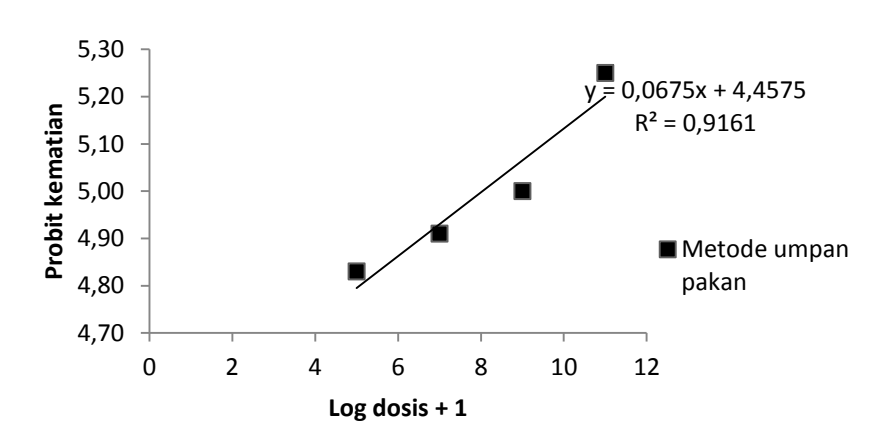
Tabel 2. Patogenisitas *B. bassiana* terhadap *Gryllus* sp. pada metode umpan pakan dan metode kontak langsung

Metode	LC_{50} (konidia/ml)	Persamaan LC_{50}	LT_{50} (Hari)	Persamaan LT_{50}
Umpan Pakan	$7{,}1 \times 10^6$	y = 0,067x + 4,457	3,1	y = 1,883x + 3,802
Kontak Langsung	$6{,}2 \times 10^8$	y = 0,114x + 3,863	4,3	y = 2.276x + 3,875

Berdasarkan hasil pengujian patogenisitas jamur *B. bassiana* terhadap *Gryllus* sp. menunjukkan nilai LC_{50} pada perlakuan metode umpan pakan kerapatan konidia jamur *B. bassiana* untuk dapat menyebabkan mortalitas 50% *Gryllus* sp. tercapai pada konsentrasi $7{,}1 \times 10^6$ konidia/ml dengan waktu yang dibutuhkan jamur *B. bassiana* untuk dapat menyebabkan mortalitas 50% *Gryllus* sp. tercapai pada 3,1 hari (74 jam 24 menit) (Tabel 2).

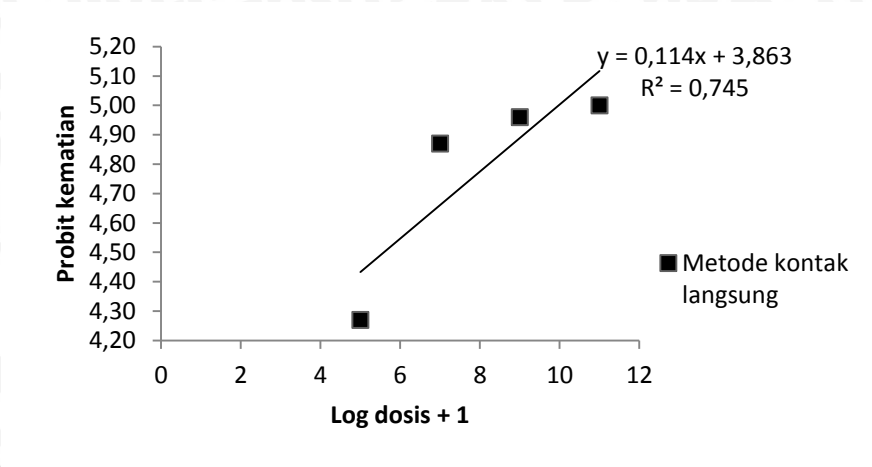
Pada media kontak langsung konsentrasi yang diperlukan (LC_{50}) adalah 6,2 x 10^8 konidia/ml dengan waktu yang dibutuhkan jamur *B. bassiana* untuk dapat menyebabkan mortalitas 50% *Gryllus* sp pada 4,3 hari (103 jam 12 menit) (Tabel 2). Mohammadbeigi (2013) melaporkan nilai LT_{50} untuk *B. bassiana* mampu mematikan 50% dari belalang pedang *U. zebra* selama 7,82 hari dengan konsentrasi tertinggi 3,59 x 10^6. Konsentrasi yang lebih tinggi akan mampu mematikan serangga uji dengan waktu yang lebih singkat.

Berdasarkan grafik (Gambar 4) menunjukkan bahwa setiap penambahan konsentrasi, maka kematian yang terjadi juga tinggi, artinya bahwa setiap peningkatan konsentrasi kerapatan sebesar 10^1 konidia/ml yang akan menyebabkan kematian *Gryllus* sp. (y) dengan tingkat kematian sebesar 0,067. Koefisien regresi variabel konsentrasi (x) sebesar 0,067% berarti tingkat kematian mempunyai hubungan positif atau searah dengan garis regresi tersebut, karena koefisien regeresi bernilai positif.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi mematikan (LC_{50}) terhadap kematian *Gryllus* sp. pada metode umpan pakan

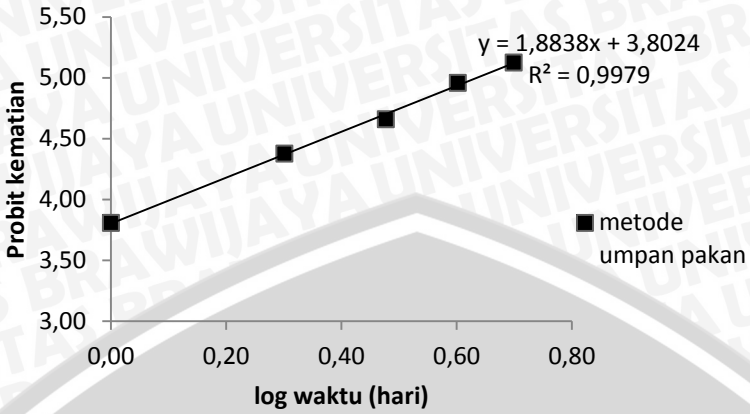
Pada grafik (Gambar 4) nilai koefisien determinasi (R^2) adalah 0,916 yang berarti bahwa tingkat kematian *Gryllus* sp. dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi kerapatan *B. bassiana* hubungan keduanya saling mempengaruhi sebesar 91,6%, sedangkan 8,4% lainnya dipengaruhi oleh faktor lain. Faktor lain yang mempengaruhi yaitu suhu laboratorium. Suhu ruang laboratorium yang digunakan pada saat penelitian uji patogenisitas adalah 23^{o}C.



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi mematikan (LC_{50}) terhadap kematian *Gryllus* sp. pada metode kontak langsung

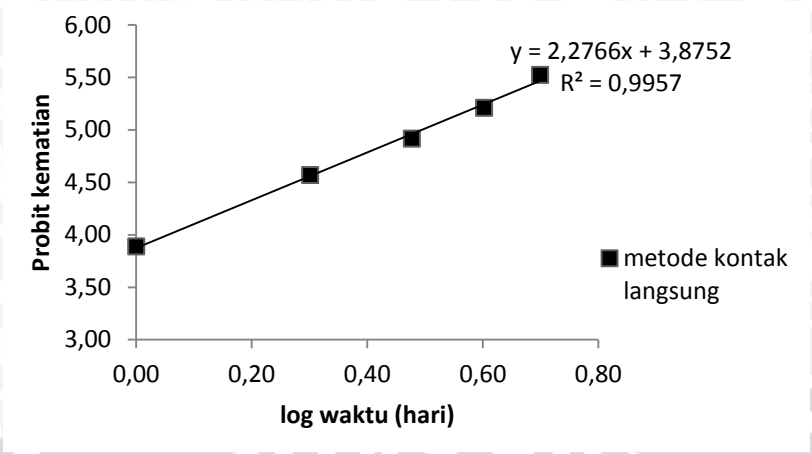
Pada grafik probit harapan LC_{50} (Gambar 5) infeksi jamur entomopatogen *B. bassiana* terhadap *Gryllus* sp. diperoleh persamaan y=3,863+0,114x. Setiap peningkatan konsentrasi *B. bassiana* 10^1 konidia/ml maka akan berpengaruh pada peningkatan kematian *Gryllus* sp. (y) sebesar 0,114 %. Koefisien regeresi bernilai positif karena kematian mempunyai hubungan positif atau searah dengan garis regresi tersebut. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,745 (Gambar 5). Hal ini menunjukkan kemampuan variabel konsentrasi kerapatan konidia *B. bassiana* dalam mempengaruhi variabel tingkat kematian *Gryllus* sp. sebesar 74,5 %, sedangkan sisanya sebesar 25,5% dipengaruhi oleh faktor lain. Faktor lain yang mempengaruhi yaitu suhu di laboratorium, suhu ruang laboratorium yang digunakan pada saat penelitian uji patogenisitas adalah 23^{o}C.

Variasi patogenisitas jamur entomopatogen disebabkan oleh beberapa faktor, baik faktor dalam yaitu isolat maupun faktor luar yaitu macam media biakan untuk perbanyakan, lama penyimpanan serta dipengaruhi oleh kepadatan konidia dan perkecambahan konodia *B. bassiana* yang kontak dengan tubuh serangga inang (Ferron, 1997). Suhu optimum untuk pertumbuhan *B. bassiana* berkisar antara 25^{0}C hingga 30^{0}C. Perkecambahan dan pertumbuhan *B. bassiana* paling baik pada kelembababan relatif 85% hingga 100% (Saleh *et al.*, 2000).



Gambar 5. Pengaruh waktu mematikan (LT_{50}) terhadap kematian *Gryllus* sp. pada metode umpan pakan

Pada metode umpan Gambar 6, dapat diketahui nilai koefisien regresi variabel rentang waktu setelah inokulasi (x) sebesar 1,883 artinya jika ada penambahan rentang waktu 1 hari setelah *B. bassiana* diinokulasikan, maka mortalitas *Gryllus* sp. (y) akan mengalami peningkatan sebesar 3,802 %. Koefisien bernilai positif artinya terjadi hubungan positif antara rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana* dengan tingkat mortalitas *Gryllus* sp., semakin banyak rentang waktu setelah inokulasi maka semakin meningkatkan mortalitas *Gryllus* sp. Nilai koefisien determinasi (R^2) adalah 0,997; artinya 99,7% tingkat mortalitas *Gryllus* sp. pada penelitian ini dipengaruhi rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana* dan hanya 0,3% yang dipengaruhi faktor lainnya. Sedangkan nilai koefisien korelasinya (R) 0,991 yang berarti hubungan antara rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana* dengan tingkat mortalitas *Gryllus* sp. sangat kuat.



Gambar 6. Pengaruh waktu mematikan terhadap kematian *Gryllus* sp. pada metode kontak langsung

Grafik probit harapan LT_{50} pada metode kontak langsung (Gambar 7) diperoleh persamaan y=2,276x +3,875. Diketahui nilai koefisien regresi variabel rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana* terhadap *Gryllus* sp. (x) sebesar 2,3091. Hal tersebut menunjukkan bahwa jika terjadi penambahan rentang waktu 1 hari setelah aplikasi jamur *M. anisopliae*, maka mortalitas uret *L. stigma* mengalami peningkatan sebesar 2,3091 %. Nilai koefisien determinasi (R^2) adalah 0,995; artinya 99,5% tingkat mortalitas *Gryllus* sp. pada penelitian ini dipengaruhi rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana*. Nilai koefisien korelasinya (R) 0,995 yang berarti hubungan antara rentang waktu setelah inokulasi *B. bassiana* dengan tingkat mortalitas *Gryllus* sp. sangat kuat.