

repository.ub.ac.id

**EFIKASI *Beauveria bassiana* Balsamo ENDOFITIK PADA
TANAMAN BUNCIS TERHADAP *Spodoptera litura* Fabricius**

Oleh:
AYU APRI LELI EMI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2017**



**EFIKASI *Beauveria bassiana* Balsamo ENDOFITIK PADA
TANAMAN BUNCIS TERHADAP *Spodoptera litura* Fabricius**

Oleh:
AYU APRI LELI EMI
125040201111123

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



Skripsi

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2017**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Efikasi *Beauveria bassiana* Balsamo Endofitik pada
Tanaman Buncis terhadap *Spodoptera litura* Fabricius
Nama : Ayu Apri Leli Emi
NIM : 125040201111123
Program Studi : Agroekoteknologi
Minat : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Disetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1001

Tita Widiyanti, SP., MSi.
NIP. 20130487 0819 2001

Diketahui,
Ketua jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS
NIP. 19551018 198601 2001

Tanggal Persetujuan:

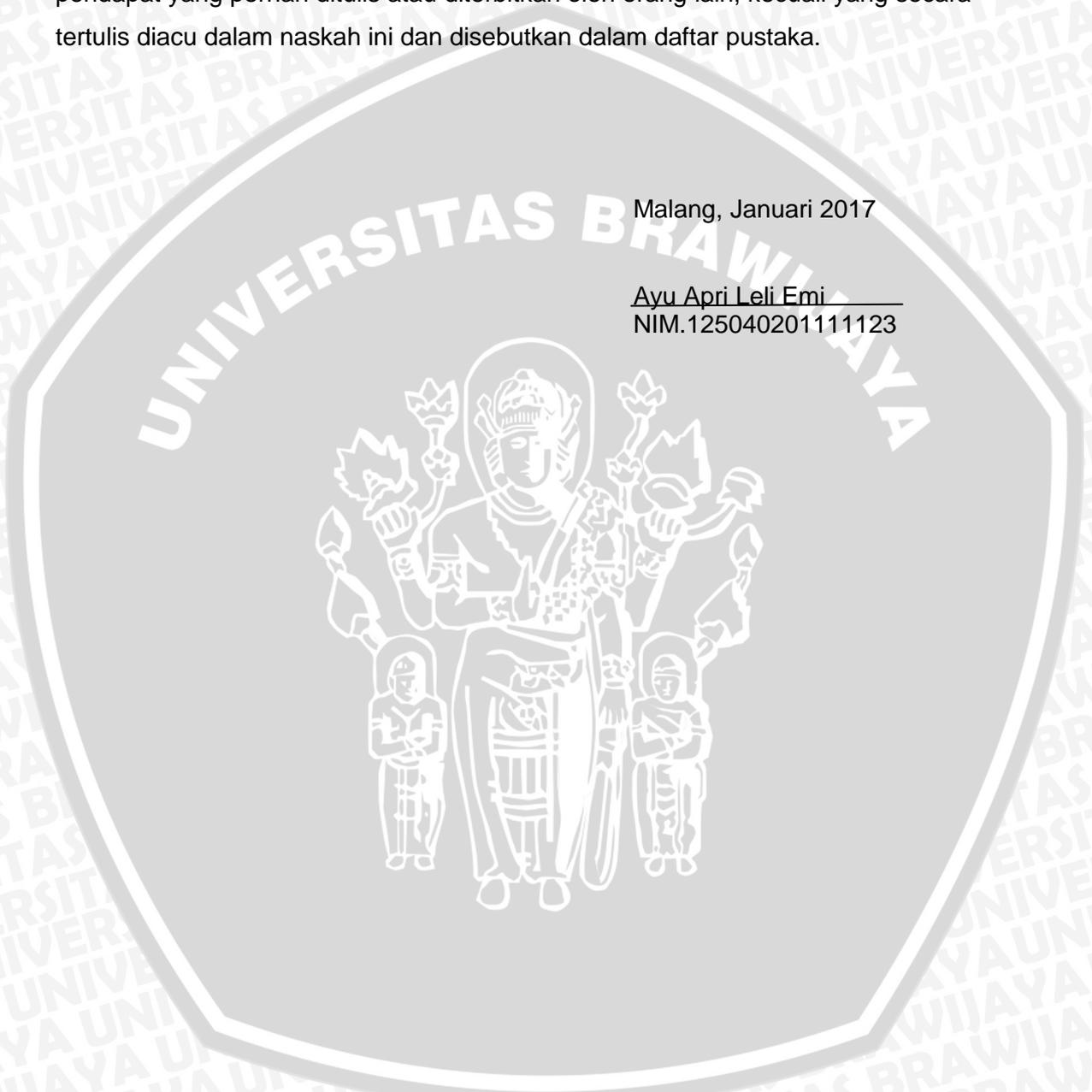


PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Januari 2017

Ayu Apri Leli Emi
NIM.12504020111123





***Skripsi ini kupersembahkan untuk
Kedua orang tuaku tersayang Sukemi dan Emi
Serta Adikku tercinta Elina Dwi Vanti***

RINGKASAN

Ayu Apri Leli Emi. 125040201111123. Efikasi *Beauveria bassiana* Balsamo Endofitik pada Tanaman Buncis terhadap *Spodoptera litura* Fabricius. Dibawah bimbingan Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS., dan Tita Widjayanti, SP., M.Si.

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang berkolonisasi di daun, batang dan akar tanpa menyebabkan penyakit pada tanaman. Jamur patogen serangga yang mampu berasosiasi dengan tanaman salah satunya *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Jamur *B. bassiana* terbukti berhasil sebagai endofit secara buatan pada tanaman tomat, sorgum manis, pinus, kedelai dan buncis. *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) sebagai salah satu hama penting perusak daun pada budidaya tanaman buncis. Tujuan penelitian ini yaitu mempelajari kemampuan endofitik *B. bassiana* pada tanaman buncis, mengevaluasi perbedaan kemampuan endofitik *B. bassiana* pada tiga teknik yaitu perendaman biji, penyemprotan daun, dan penyiraman tanah dan mengevaluasi perbedaan efikasi *B. bassiana* yang diaplikasikan pada larva *S. litura* dengan tiga teknik yang berbeda.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium hama, Sub Laboratorium Pengendalian Hayati, Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas pertanian, Universitas Brawijaya dan *Green House* di Jl. Supit urang, Ds. Tegal weru, Kec. Dau, Kota Batu, Malang. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei sampai dengan September 2016. Metode pelaksanaan yaitu inokulasi suspensi *B. bassiana* 1×10^8 konidia/ml, kemampuan kolonisasi endofitik *B. bassiana*, efikasi endofit *B. bassiana* terhadap *S. litura*. Rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Penanaman buncis dilakukan tiga kali secara bersamaan. Total tanaman yang digunakan 72 tanaman dengan jumlah 24 tanaman untuk mengetahui kolonisasi 10 hsi dan 24 tanaman untuk mengetahui kolonisasi 20 hsi, sedangkan 24 tanaman berikutnya untuk efikasi. Perlakuan dari penelitian ini yaitu perendaman biji (kontrol), penyemprotan daun (kontrol), penyiraman tanah (kontrol), perendaman biji, penyemprotan daun, dan penyiraman tanah dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml. Viabilitas yang digunakan 89,24%. Serangga uji yang digunakan berjumlah 10 larva per perlakuan.

Hasil dari penelitian ini jamur *B. bassiana* endofit pada tanaman buncis. Tiga teknik inokulasi memiliki hasil yang berbeda pada tingkat kolonisasi *B. bassiana* dan mortalitas. Tingkat kolonisasi *B. bassiana* tertinggi dari penyiraman tanah sebesar 47,26%. Tingkat mortalitas larva *S. litura* tertinggi pada 7 hari setelah inokulasi dari penyemprotan daun sebesar 50%.

SUMMARY

Ayu Apri Leli Emi. 125040201111123. Efficacy of Endophytic *Beauveria bassiana* Balsamo in the Mung Bean to *Spodoptera litura* Fabricius. Supervised by Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS and Tita Widjayanti, SP., M.Si.

Endophytic fungus are a microorganism that colonizes in the leave, stem and root without causing disease in plants. One of entomopathogenic fungi that is capable of associating with the plants is *Beauveria bassiana* (Balsamo) VUILLEMIN. *B. bassiana* fungus proved to be successful as an endophyte on tomatoes, sugar beets, pine, soybean and mung beans. *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) is one of the main pests that destroy leaves on mung beans cultivation. The aim of the research is to study the ability of endophytic *B. bassiana* on mung bean plants; the differences of ability of endophytic *B. bassiana* on three inoculation techniques seed soaking, leaves spraying, and soil watering; and evaluation of the efficacy *B. bassiana* application to the *S. litura* with three different techniques.

This research was conducted at the Laboratory of pests, Sub Laboratory of Biological Control, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya and Green House in Batu City, Malang. The research was conducted from May to September 2016. The methods consisted of the inoculation of *B. bassiana* suspense 1×10^8 conidia/ml, the ability analysis of endophytic *B. bassiana* colonization, and the efficacy of endophytic *B. bassiana* to *S. litura*. The design was Randomized Complete Block Design (RCBD) with 6 treatments and 4 blocs. Mung beans were planted the three times in a row. Total plants used were 72 plants with number 24 plants to determine colonization in 10 dai and 24 plants to determine the colonization in 20 dai, while 24 of the next crop were for efficacy. Test treatment of this research were seed soaking (control), leaves spraying (control), soil watering (control), seed soaking, leaves spraying, and soil watering with suspense *B. bassiana* 1×10^8 conidia/ ml. Viability was used were 89,24%. Insects test used were 10 larvae per treatment.

The results of this research showed that fungus *B. bassiana* was able to be endophyte in mung bean plants. Three inoculation techniques had different results on colonization of *B. bassiana* and mortality of *S. litura*. The highest mortality at 7 day after inoculation of *B. bassiana* colonization were from soil watering 47,26%. The highest of *S. litura* were from leaves spraying 50%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat, taufiq, hidayah, serta inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efikasi *Beauveria bassiana* Balsamo Endofitik pada Tanaman Buncis terhadap *Spodoptera litura* Fabricius)”. Skripsi ini sebagai salah satu syarat mahasiswa S-1 Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya dalam rangka menyelesaikan tugas akhir pendidikan program sarjana (S-1).

Penulis dalam menyelesaikan skripsi ini telah banyak menerima bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada 1) kedua orang tua dan adik atas kasih sayang, doa dan dukungan yang selalu diberikan; 2) Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS selaku pembimbing utama yang telah memberikan saran dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi; 3) Tita Widjayanti, SP., M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama penyusunan skripsi; 4) seluruh dosen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan; 5) Seluruh teman-teman HPT 2012 dan seluruh pengurus GKM 2013 yang telah memberikan bantuan, saran dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap semoga penelitian ini nantinya akan bermanfaat bagi banyak pihak, serta dapat memberikan sumbangan pengetahuan dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

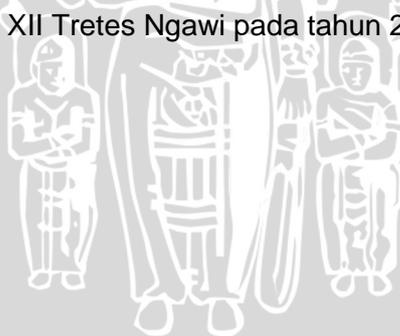
Malang, Januari 2017

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ngawi pada tanggal 30 April 1994 sebagai putri pertama dari Bapak Sukemi dan Ibu Emi. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Jambangan 1, Ngawi pada tahun 2000 sampai 2006, kemudian penulis melanjutkan di MTsN 1 Paron, Ngawi pada tahun 2006 sampai 2009. Pada tahun 2009 sampai 2012 penulis melanjutkan pendidikannya di SMAN 1 Kendal, Ngawi. Pada tahun 2012 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, melalui jalur SNMPTN.

Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis menerima beasiswa BIDIK MISI. Penulis aktif dalam organisasi Gerakan Kendal Mengabdikan (GKM) Ngawi sebagai Bendahara Umum Tahun 2013 sampai 2015. Penulis pernah menjadi asisten praktikum Manajemen Agroekosistem tahun 2014/2015 dan staf pengajar les privat di Rumah Ilmu bulan Agustus sampai Oktober 2016. Serta aktif dalam Eksplorasi Potensi dan Kreatifitas (EKSPEDISI) sebagai koordinator divisi konsumsi pada tahun 2015 dan Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian (PROTEKSI) sebagai divisi traskoper tahun 2015 serta divisi kesehatan 2016. Penulis juga pernah melakukan kegiatan magang kerja di PT. Perkebunan Nusantara XII Tretes Ngawi pada tahun 2015.

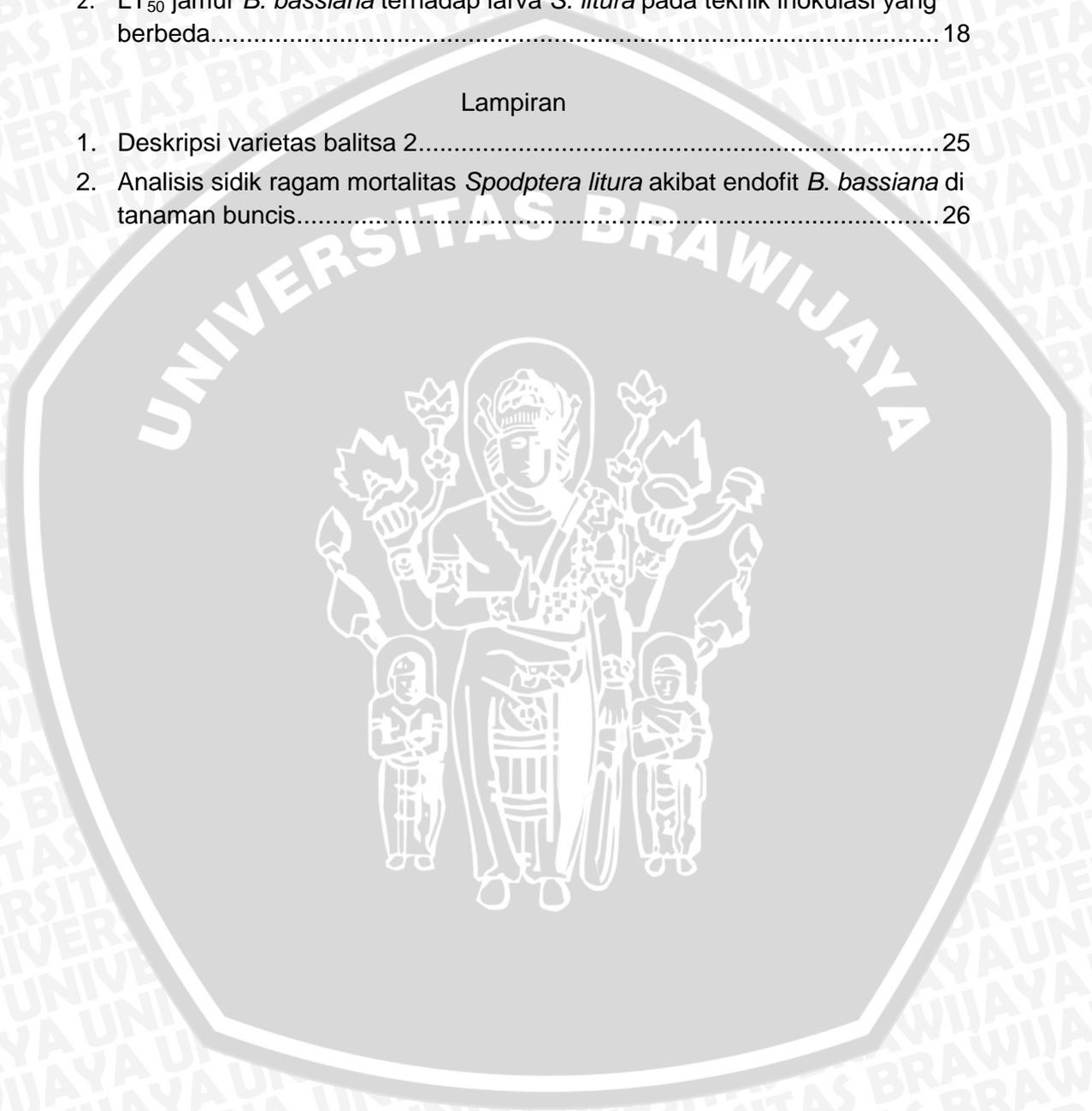


DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tujuan	3
Hipotesis	3
Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
Kemampuan Endofitik <i>B. bassiana</i> Berkolonisasi pada Jaringan Tanaman.....	4
Kemampuan Endofitik <i>B. bassiana</i> Mengendalikan Serangga.....	5
Mekanisme Endofitik <i>B. bassiana</i>	6
Mekanisme Endofit <i>B. bassiana</i> dalam Mengendalikan Serangga.....	7
III. METODOLOGI	8
Tempat dan Waktu	8
Alat dan Bahan.....	8
Metode Penelitian.....	8
Persiapan Penelitian	9
Penyediaan Larva <i>S. litura</i> Instar 2	9
Perbanyakkan Jamur <i>B. bassiana</i>	9
Penanaman Tanaman Buncis	10
Pelaksanaan Penelitian	11
Inokulasi <i>B. bassiana</i> pada Tanaman Buncis	11
Kemampuan kolonisasi endofitik <i>B. bassiana</i> pada Tanaman Buncis	11
Efikasi Endofit <i>B. bassiana</i> terhadap <i>S. litura</i>	12
Variabel Pengamatan	13
Analisis Data	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
Kemampuan Endofitik <i>B. bassiana</i> pada Tanaman Buncis.....	15
Efikasi Jamur <i>B. bassiana</i> yang Diaplikasi pada <i>S. litura</i>	17
V. KESIMPULAN DAN SARAN	20
Kesimpulan	20
Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	24

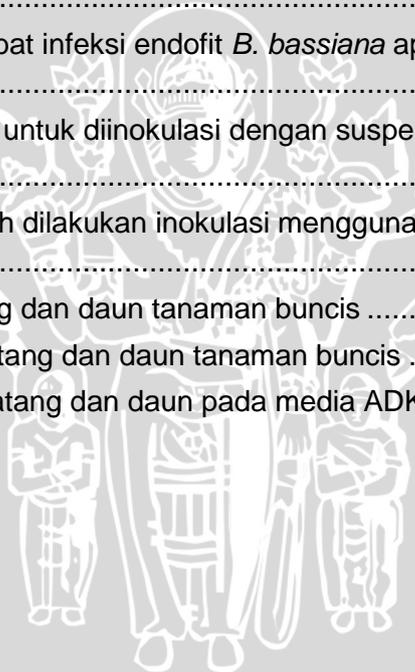
DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Rata-rata koloni <i>B. bassiana</i> di dalam tanaman buncis pada akar, batang dan daun pada 10 hsi.....	15
2.	LT ₅₀ jamur <i>B. bassiana</i> terhadap larva <i>S. litura</i> pada teknik inokulasi yang berbeda.....	18
Lampiran		
1.	Deskripsi varietas balitsa 2.....	25
2.	Analisis sidik ragam mortalitas <i>Spodoptera litura</i> akibat endofit <i>B. bassiana</i> di tanaman buncis.....	26



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil isolasi jamur <i>B. bassiana</i> , A. Daun tanaman buncis, B. Akar dan batang tanaman buncis.....	15
2.	Morfologi jamur <i>B. bassiana</i> dari tanaman buncis.....	16
3.	Kematian larva <i>S. litura</i> oleh infeksi <i>B. bassiana</i> pada instar 4.....	17
4.	Rata-rata mortalitas <i>S. litura</i> akibat endofit <i>B. bassiana</i>	17
Lampiran		
1.	Peta pengacakan RAK pada penanaman buncis.	25
2.	LT ₅₀ <i>S. litura</i> oleh infeksi endofit <i>B. bassiana</i> aplikasi dari perendaman biji	26
3.	LT ₅₀ <i>S. litura</i> akibat infeksi endofit <i>B. bassiana</i> aplikasi dari penyemprotan daun.....	26
4.	LT ₅₀ larva <i>S. litura</i> akibat infeksi endofit <i>B. bassiana</i> aplikasi dari penyiraman tanah.....	26
5.	Tanaman buncis siap untuk diinokulasi dengan suspensi <i>B. bassiana</i>	27
6.	Teknik inokulasi	27
7.	Penyungkupan setelah dilakukan inokulasi menggunakan penyemprotan daun.....	27
8.	Sterilisasi akar, batang dan daun tanaman buncis	27
9.	Pemotongan akar, batang dan daun tanaman buncis	28
10.	Penanaman akar, batang dan daun pada media ADK.....	28



I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Jamur *Beauveria bassiana* sebagai endofit pada tanaman serta menyebabkan mortalitas terhadap berbagai hama (Lopez dan Swod, 2015). Jamur endofit merupakan jamur yang berada di dalam tanaman sedangkan endofitik adalah kemampuan mikroorganisme berada di dalam tanaman. Jamur endofit berkolonisasi pada salah satu atau diseluruh jaringan tanaman. Jamur endofit yang berasosiasi dengan tanaman tidak hanya berperan sebagai jamur penyakit dan antagonis, tetapi juga patogen serangga yang ditemukan pada padi dan bayam (Ariyanto *et al.*, 2013). Menurut Vidal dan Jaber (2015) menyatakan bahwa jamur patogen serangga yang mampu berasosiasi dengan tanaman *vicia faba* salah satunya *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin.

Kemampuan jamur endofitik *B. bassiana* mempunyai peran yang luas untuk tanaman salah satunya sebagai patogen serangga. Reddy *et al.* (2009) menyatakan bahwa endofit *B. bassiana* tanaman sorgum dan patogenisitas terhadap *Chilo partellus* Swinhoe. Endofit *B. bassiana* pada tanaman tomat menyebabkan mortalitas dan penurunan populasi *Helicoverpa armigera* (Qayyum *et al.*, 2015). Endofit *B. bassiana* mampu menekan serangan *Helicoverpa zea* dan membantu transfer unsur hara dari tanah masuk ke akar, sehingga mampu merangsang pertumbuhan tanaman kapas (Lopez dan Sword, 2015). Selain kemampuan endofitik *B. bassiana* menekan serangan hama dan merangsang pertumbuhan tanaman, endofit *B. bassiana* juga mampu menekan pertumbuhan patogen penyakit. Jamur *B. bassiana* menekan pertumbuhan patogen *Pythium myriotylum*, *Rhizoctonia solani*, dan *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* dengan antibiosis di tanaman tomat dan kapas (Ownley *et al.*, 2008).

Kolonisasi jamur endofit dalam bagian tanaman berbeda pada setiap tanaman. Pada tanaman kopi (*Coffea arabica* L.) jamur *B. bassiana* secara alami masuk dalam tanaman melalui biji (Posada dan Vega, 2006). Secara alami konidia jamur mampu menyebar melalui udara, kemudian tumbuh pada daun atau batang tanaman inang. Daun tanaman kakao (*Theobroma cacao*) secara alami salah satu inang untuk jamur *B. bassiana* (Posada dan Vega, 2005). Jamur endofit mampu berkolonisasi dalam bagian tanaman dengan cara inokulasi dihasilkan dari perendaman biji, penyemprotan daun dan penyiraman tanah dengan suspensi *B. bassiana*. Jamur *B. bassiana* terbukti berhasil endofit dengan inokulasi pada tanaman tomat (Qayyum *et al.*, 2015), sorgum manis

(Mantzoukas *et al.*, 2015), pinus (Brownbidge *et al.*, 2012), kedelai (Kusuma, 2015) *Vicia faba* dan buncis (Akutse *et al.*, 2013).

Budidaya tanaman buncis tidak lepas dari gangguan hama utama perusak daun salah satunya *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). Hama *S. litura* bersifat polifag dengan serangan pada semua fase pertumbuhan tanaman buncis (Hendrival *et al.*, 2013). Upaya pengendalian hama *S. litura* ditingkat petani menggunakan pestisida sintetis. Penggunaan pestisida sintetis dalam jangka panjang akan menyebabkan ketidakseimbangan agroekosistem dan merusak lingkungan. Alternatif untuk pengendalian hama *S. litura* dengan menggunakan jamur endofit *B. bassiana*.

Teknik inokulasi yang digunakan untuk *B. bassiana* menjadi endofit yaitu perendaman biji, penyemprotan daun dan penyiraman tanah. Teknik perendaman biji dapat digunakan untuk membuat *B. bassiana* menjadi endofit pada tanaman buncis (Behie *et al.*, 2015). Selain teknik perendaman biji, penyemprotan daun juga dapat digunakan untuk menjadikan *B. bassiana* sebagai endofit pada tanaman *Brassica napus* (Batta, 2012) dan tanaman buncis (Parsa *et al.*, 2013). Serta teknik penyiraman tanah juga dapat digunakan untuk membuat *B. bassiana* sebagai endofit pada tanaman buncis (Parsa *et al.*, 2013). Dari teknik perendaman biji menghasilkan tingkat kolonisasi *B. bassiana* yang lebih tinggi dibandingkan teknik penyiraman tanah pada tanaman kubis (Fatahuddin *et al.*, 2003). Sedangkan pada tanaman kedelai penyiraman tanah menghasilkan tingkat kolonisasi *B. bassiana* lebih tinggi dibandingkan perendaman biji dan penyemprotan daun (Kusuma, 2015). Pada tanaman tomat, teknik perendaman akar dengan suspensi *B. bassiana* menghasilkan tingkat kolonisasi dan mortalitas *H. armigera* lebih tinggi dibandingkan penyemprotan daun, injeksi batang, dan pencampuran dengan pupuk (Qayyum, 2015).

Tujuan

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mempelajari kemampuan endofitik *B. bassiana* pada tanaman buncis.
2. Mengevaluasi perbedaan efikasi jamur *B. bassiana* yang diaplikasikan pada larva *S. litura* dengan tiga teknik yang berbeda yaitu perendaman biji, penyemprotan daun dan penyiraman tanah.

Hipotesis

Hipotesis penelitian ini yaitu mortalitas *S. litura* oleh infeksi endofit *B. bassiana* menggunakan teknik penyemprotan daun lebih tinggi dibandingkan dengan perendaman biji dan penyemprotan daun.

Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan memperoleh teknik inokulasi konidia entomopatogen *B. bassiana* yang terbaik digunakan sebagai endofit pada tanaman buncis.



II. TINJAUAN PUSTAKA

Kemampuan Endofitik *B. bassiana* Berkolonisasi pada Jaringan Tanaman

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman dan hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan tanaman inang (Johnston *et al.*, 2006). Adaptasi dari endofit terhadap mikroekologi dan kondisi fisiologis dari tumbuhan inang, sehingga dalam satu jaringan tanaman bisa ditemukan lebih dari satu jamur endofit. Endofit *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordicipitaceae) pada tanaman tomat, kapas (Lopez dan Sword, 2015), Jagung (Arnold dan Lewis, 2005), dan sorgum (Reddy *et al.*, 2009).

Keberadaan jamur endofit di dalam bagian tanaman, yaitu akar, daun, batang, kulit batang, dan tangkai daun. Keberadaan jamur endofit berhubungan dengan banyaknya paparan sinar matahari yang diterima bagian tanaman (Faeth dan Fagan, 2002). Paparan sinar matahari mengandung UV yang dapat membuat *B. bassiana* rusak (Behie *et al.*, 2015). Sinar UV dapat menyebabkan mutasi kromosom hingga merusak DNA (Rai *et al.*, 2014). Beberapa jamur endofit hanya membentuk koloni di salah satu bagian tanaman, sehingga tidak semua bagian tanaman secara acak terjadi pertumbuhan jamur (Johnston *et al.*, 2006). Asosiasi jamur endofit dengan tumbuhan inang, digolongkan dalam dua kelompok, yaitu mutualisme konstitutif dan induktif. Mutualisme konstitutif merupakan asosiasi antara jamur dengan tumbuhan terutama rumput-rumputan, dengan menginfeksi ovula (biji) inang, dan penyebarannya melalui biji serta organ penyerbukan. Mutualisme induktif asosiasi antara jamur dengan tumbuhan, dengan penyebaran air dan udara, dan menginfeksi bagian batang dan daun dalam keadaan metabolisme inaktif (Haniah, 2008).

Kemampuan jamur *B. bassiana* berasosiasi dengan tanaman dihasilkan dari inokulasi. Inokulasi merupakan menempelnya mikroorganisme pada dinding sel. Metode inokulasi yang kerap digunakan untuk jamur *B. bassiana* sebagai endofit, yaitu perendaman biji, penyemprotan daun, penyiraman tanah. Metode inokulasi berpengaruh terhadap persentase kolonisasi jamur endofit pada bagian tanaman. Perendaman biji memiliki kolonisasi tertinggi berada pada akar (Behie *et al.*, 2015; Akutse *et al.*, 2015), penyemprotan daun pada daun dan penyiraman tanah pada akar tanaman buncis (Parsa *et al.*, 2013). Tingkat kolonisasi dari tiga metode inokulasi diperoleh hasil penyemprotan daun dan penyiraman tanah lebih tinggi dibandingkan perendaman biji pada kedelai (Kusuma, 2015). Penilaian

efektifitas metode inokulasi berdasarkan tingginya persentase kolonisasi yang tumbuh pada daun, batang dan akar tanaman. Tanaman kedelai memiliki famili yang sama dengan buncis yaitu Fabaceae. Berdasarkan laporan Akutse *et al.* (2013) menyatakan bahwa tanaman Fabaceae memiliki potensi endofit yang sama, tetapi belum terdapat konfirmasi lebih lanjut mengenai potensi endofit dari kesamaan famili.

Kemampuan Endofitik *B. bassiana* Mengendalikan Serangga

Jamur endofit *B. bassiana* dalam tanaman mengendalikan populasi hama. Endofit *B. bassiana* mengendalikan *Helicoverpa armigera* dengan meningkatkan mortalitas dan menurunkan populasi pada tanaman tomat (Qayyum *et al.*, 2015). Endofit *B. bassiana* mampu meningkatkan ketahanan terhadap *Helicoverpa zea* sampai generasi kedua pada kapas (Lopez dan Sword, 2015). Pengaruh sampai generasi kedua tidak hanya pada tanaman kapas melainkan juga *Vicia faba* terhadap *H. armigera* (Jaber dan Vidal, 2010). Endofit *B. bassiana* selain menyebabkan mortalitas juga berpengaruh terhadap kelangsungan hidup dan lama hidup *Liriomiza huidobrensis* pada *Vicia faba* (Akutse *et al.*, 2013). Jamur endofit *B. bassiana* meningkatkan mortalitas, menekan populasi dan merubah perilaku serangga sampai generasi kedua. Semakin tinggi persentasi kolonisasi *B. bassiana* dalam jaringan tanaman maka semakin tinggi mortalitas yang dihasilkan (Qayyum *et al.*, 2015).

Jamur endofit *B. bassiana* berperan menekan pertumbuhan *Aphis Gossypii* Glover pada tanaman kapas (Quesada-Morag *et al.*, 2014) dan *Helicoverpa armigera* pada tanaman tomat (Qayyum *et al.*, 2015). Jamur endofit tidak hanya berperan sebagai pengendalian hama melainkan juga penyakit. Endofit *B. bassiana* mampu menghambat pertumbuhan *Pythium myriotylum*, *Rhizoctonia solani*, dan *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* pada tanaman tomat dan kapas (Ownley *et al.*, 2008). Endofit *B. bassiana* disamping sebagai agen biokontrol untuk hama dan penyakit juga merangsang pertumbuhan. Jamur *B. bassiana* berasosiasi dengan tanaman kapas merangsang pertumbuhan dan mengendalikan *Helicoverpa zea* sampai generasi kedua (Lopez dan Sword, 2015). Jamur *B. bassiana* membantu transfer unsur hara dari tanah masuk tanaman, sehingga nutrisi tanaman terpenuhi dan merangsang pertumbuhan tanaman (Lopez dan Sword, 2015).

Mekanisme Endofitik *B. bassiana*

Jamur endofit berasosiasi dengan tanaman dibagi dua yaitu, *Clavicipitaceus* dan *Non-Clavicipitaceus*. *Clavicipitaceus* berasosiasi dengan tanaman dengan transmisi vertikal dari biji dan reproduksi spora, sedangkan *Non-Clavicipitaceus* dengan transmisi horizontal (Rodriguez *et al.*, 2009). Khusus jamur endofit yang mampu berasosiasi dengan tanaman di bawah atau di atas permukaan tanah dari divisi Zygomycota dan Ascomycota (Vidal dan Jaber, 2015). Jamur patogen serangga termasuk *Non-Clavicipitaceus* meliputi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, dan *Isaria (Paecilomyces) spp.*, jamur tersebut mampu mengendalikan serangga hama, patogen tanaman dan pemacu pertumbuhan tanaman (Owenley *et al.*, 2008; Vega *et al.*, 2009).

Jamur *B. bassiana* dapat menjadi endofit ke dalam tanaman dengan menggunakan teknik inokulasi yaitu perendaman biji (Fatahuddin *et al.*, 2003), penyemprotan daun dan penyiraman tanah (Parsa *et al.*, 2013). Perendaman biji menggunakan suspensi *B. bassiana*, terjadi proses imbibisi secara difusi, air masuk ke dalam biji mengakibatkan perubahan fisik kulit biji menjadi lunak, sehingga biji merekah dan konidia *B. bassiana* yang menempel akan masuk ke dalam jaringan biji (Fatahuddin *et al.*, 2003). Konidia jamur endofit dapat berada dalam jaringan tanaman dengan cara menembus kulit biji (Rodriguez *et al.* 2008). Menurut Daud (2013) jamur endofit dapat berada dalam jaringan tanaman melalui biji, karena biji mengandung karbohidrat yang merupakan sumber nutrisi bagi perkembangan jamur.

Jamur *B. bassiana* dapat menjadi endofit dengan penyemprotan daun diduga masuk melalui stomata daun. Suspensi konidia *B. bassiana* yang disemprotkan ke daun kopi akan menempel dipermukaan daun, selanjutnya akan masuk ke jaringan daun melalui stomata (Posada *et al.*, 2007; Jaber, 2015). Jamur *B. bassiana* melakukan penetrasi di epidermis daun dan berpindah melalui jaringan vaskuler yaitu xilem, pada tanaman bayam (Landa *et al.*, 2013). Konidia *B. bassiana* dapat tumbuh dan berpindah tempat melalui jaringan vaskuler pada tanaman jagung (Wagner dan Lewis, 2000). Hifa *B. bassiana* yang diamati melalui mikroskop elektrok pada tanaman kopi tumbuh di xilem (Posada *et al.*, 2007).

Pada saat suspensi *B. bassiana* disiram ke tanah, konidia dapat melekat pada permukaan akar, masuk melalui bulu akar bersama dengan air menuju pembuluh xilem menyebar ke batang dan daun (Fatahuddin *et al.*, 2003).

Mekanisme Endofit *B. bassiana* dalam Mengendalikan Serangga

Jamur *B. bassiana* yang diaplikasikan secara kontak berbeda dengan endofit. Mekanisme *B. bassiana* secara kontak menginfeksi serangga dengan menembus permukaan tubuh serangga, sedangkan endofit masuk melalui saluran pencernaan. Mekanisme kontak dimulai dari menempelnya propagul di permukaan tubuh serangga. Selanjutnya konidia *B. bassiana* akan menempel dan berkecambah pada integumen serangga. Infeksi jamur *B. bassiana* berawal dari penetrasi miselium pada kutikula lalu berkecambah dan membentuk apesorium, kemudian menyerang epidermis dan hipodermis. Hifa kemudian menyerang jaringan dan hifa berkembang biak di dalam *haemolymph* (Brady, 1979). Ketika hifa atau konidia *B. bassiana* menempel pada kulit luar serangga. Pertumbuhan hifa akan mengeluarkan enzim seperti protease, lipolitik, amilase, dan kitinase (Brady, 1979). Enzim-enzim tersebut mampu menghidrolisis kompleks protein di dalam *integument* yang menyerang dan menghancurkan kutikula, sehingga hifa mampu masuk dan berkembang di dalam tubuh serangga.

Mekanisme infeksi *B. bassiana* sebagai endofit dengan cara masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan. Jamur *B. bassiana* akan masuk ke dalam tubuh serangga bersamaan dengan serangga memakan tanaman. Jamur *B. bassiana* akan membentuk hifa dan konidia di dalam tubuh serangga. Pada pencernaan hifa *B. bassiana* akan tumbuh dan berkembang, selanjutnya akan mengeluarkan racun yang disebut *beauvericin* yang menyebabkan terjadinya paralisis pada anggota tubuh serangga (Brady, 1979). Paralisis menyebabkan kehilangan koordinasi sistem gerak, sehingga gerakan serangga tidak teratur dan lama kelamaan melemah, kemudian berhenti sama sekali. Setelah lebih-kurang lima hari terjadi kelumpuhan total dan kematian. Toksin juga menyebabkan kerusakan jaringan, terutama pada saluran pencernaan, otot, sistem syaraf, dan system pernafasan. Serangga kemudian mati dan jamur *B. bassiana* akan terus melanjutkan pertumbuhan siklusnya dalam fase saprofitik. Setelah serangga inang mati, *B. bassiana* akan mengeluarkan antibiotik, yaitu *Oosporein* yang menekan populasi bakteri dalam perut serangga inang (Brady, 1979). Dengan demikian, pada akhirnya seluruh tubuh serangga inang akan penuh oleh propagul *B. bassiana*. Pada bagian lunak dari tubuh serangga inang, jamur akan menembus keluar dan menampakkan pertumbuhan hifa di bagian luar tubuh serangga inang yang biasa disebut "*white muscardine*" (Brady, 1979).

III. METODOLOGI

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium hama, Sub Laboratorium Pengendalian Hayati, Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman (HPT), Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan *Green House* di Jl. Supit Urang, Ds. Tegal Weru, Kec. Dau, Kota Batu, Malang. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei sampai dengan September 2016.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian, yaitu sekop kecil, penggaris 30 cm, polibag (d = 15), *autoclave*, panci, kompor, timbangan, gelas ukur, *erlenmeyer* 250 ml, *aluminium foil*, *Laminar air flow cabinet* (L AFC), pinset, *hand spayer*, cawan Petri (d = 9 cm), *cork boarer*, *plastic wrapping*, botol Schott, jarum ose, kaca preparat, pipet, tabung Falcon 15 ml, *shaker*, *haemocytometer*, *handcounter*, mikroskop binokuler, plastik penyungkup, gunting, pisau pemotong, kertas label, kertas saring, kapas, *tissue*, micropipet, tabung reaksi, stik L, tabung vaselin (d = 5 cm dan t = 6 cm) dan kamera digital.

Bahan yang digunakan, yaitu biji buncis varietas balitsa 2 diperoleh dari Unit Pengelolaan Biji Sumber Balai Penelitian Tanaman Sayuran (UPBS BALITSA) Bandung, isolat *B. bassiana* yang digunakan dari wereng koleksi dari Laboratorium HPT, larva *S. litura* instar 2 diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Serat dan Pemanis (BALITTAS) Karangploso, Malang, tanah steril, pasir steril, NPK (16:16:16), alkohol 70 % dan natrium hipoklorit (NaOCl) 0,5 %, akuades, Media Agar Dekstrosa Kentang (ADK): kentang 250 g, dekstrose 20 g, Agar 20 % gr, air 1 liter dan khloramfenikol 1 gr, dan Media Ekstrak Kentang Dekstrosa (EKD): Kentang 125 gr, dekstrosa 10 gr, khloramfenikol 1 gr.

Metode Penelitian

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari enam perlakuan dengan empat kali ulangan sehingga diperoleh 24 tanaman. Penanaman buncis dilakukan dua kali secara bersamaan. Total tanaman yang digunakan 48 tanaman dengan jumlah 24 tanaman untuk mengetahui kolonisasi 10 hari setelah inokulasi (hsi) dan 24 tanaman berikutnya untuk efikasi. Faktor perlakuan yang diuji yaitu:

1. Perendaman biji dengan akuades steril (Kontrol)

2. Penyemprotan daun dengan akuades steril (Kontrol)
3. Penyiraman tanah dengan akuades steril (kontrol)
4. Perendaman biji dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml
5. Penyemprotan daun dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml
6. Penyiraman tanah dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml

Persiapan Penelitian

Penyediaan Larva *S. litura* Instar 2

Larva *S. litura* ditempatkan dalam toples ($p = 25$ cm, $l = 25$ cm, $t = 20$ cm) diberi makan daun buncis. kotoran *S. litura* dibersihkan setiap hari menggunakan kuas. Pupa yang sudah terbentuk dipindah ke toples ($p = 50$ cm, $l = 50$ cm, $t = 50$ cm). Imago yang sudah terbentuk diberi makan larutan madu (1 ml madu ditambah 10 ml akuades steril). Setelah telur terbentuk dipindah ke toples ($p = 25$ cm, $l = 25$ cm, $t = 20$ cm). Larva *S. litura* instar 2 yang digunakan sebagai serangga uji dengan ciri berwarna hijau kekuningan dengan kepala berwarna kuning dengan panjang 4-5 mm, tubuhnya terdapat garis-garis putih memanjang, dan dekat kepala terdapat garis coklat melintang dengan dua titik hitam pada kedua sisi (Aeny, 1985).

Perbanyakkan Jamur *B. bassiana*

Persiapan jamur *B. bassiana* meliputi peremajaan dan perbanyakkan jamur *B. bassiana*. Jamur *B. bassiana* yang diremajakan pada media ADK diambil koloni konidia menggunakan jarum ose ke dalam media ADK dan diinkubasi selama 7-10 hari pada tempat yang diberi *tissue* basah untuk mendapatkan kondisi lingkungan lembab dan baik bagi pertumbuhan jamur. Miselium yang sudah memenuhi permukaan petri, dilakukan identifikasi makroskopis dan mikroskopis sebagai bahan evaluasi keberadaan jamur *B. bassiana* pada bagian tanaman. Perbanyakkan jamur *B. bassiana* pada media EKG selanjutnya digojog dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 x 24 jam, kemudian diinkubasi selama 7 hari. Persiapan jamur *B. bassiana* yang sudah siap aplikasi dilakukan perhitungan kerapatan dan perhitungan viabilitas. Jamur *B. bassiana* yang digunakan dengan kerapatan 1×10^8 konidia/ml dan viabilitas 80 %.

Perhitungan Kerapatan isolat di *B. bassiana* dipindah ke dalam suspensi EKG untuk perhitungan kerapatan konidia yang dilakukan dengan mengambil 1 ml suspensi konidia dan dilarutkan dengan 10 ml akuades steril. Larutan suspensi konidia jamur *B. bassiana* diambil 0,01 ml menggunakan mikropipet

dan dihitung kerapatan menggunakan *haemocytometer* dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 x pada 5 kotak terbesar. Kerapatan konidia dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$J = (t \times d) / (n \times 0,25) \times 10^6$$

Dimana J adalah jumlah konidia dalam satu ml media (konidia/ml), t adalah jumlah konidia dalam semua kotak bujur sangkar, d adalah faktor pengenceran bila harus diencerkan (d = 1 berarti tidak diencerkan; d = 10 berarti diencerkan 1:10), 0,25 = konstanta, dan n adalah jumlah kotak yang dihitung (5 kotak besar x 16 kotak kecil).

Perhitungan viabilitas konidia *B. bassiana* yang diaplikasikan sebesar minimal 80 %, dan dari perhitungan diperoleh 89,7%. Konidia di ambil dari EKG sebanyak 0,01 ml menggunakan mikropipet, diletakkan pada kaca preparat dan ditutup dengan *cover glass* diinkubasi selama 24 jam pada tempat yang diberi *tissue* basah. Setelah itu amati di mikroskop hitung persentasi perkecambahan konidia dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V = g / (g + u) \times 100\%$$

Dimana V adalah presentase konidia yang berkecambah, g adalah jumlah konidia yang berkecambah, dan u adalah jumlah konidia yang tidak berkecambah.

Penanaman Tanaman Buncis

Biji yang ditanam merupakan biji yang belum mendapatkan *seed treatment*. Biji disterilkan dengan cara direndam NaOCl 0,5 % selama 2 menit dan alkohol 70 % selama 2 menit, kemudian dibilas menggunakan akuades steril sebanyak 3 kali. Untuk memastikan proses sterilisasi telah berhasil, akuades steril bilasan terakhir ditanam ke media ADK, kemudian diinkubasi selama 10 hari. Proses sterilisasi dilakukan pengulangan jika terdapat mikroorganisme yang tumbuh di dalam media.

Penanaman biji dilakukan pada polibag dengan bahan tanam tanah dan pasir dengan perbandingan 2 : 1 yang telah disterilkan menggunakan autoklaf (suhu 121°C tekanan 1 atm) selama 45 menit. Pemeliharaan yang dilakukan, yaitu penyiraman, penyulaman, pembersihan gulma dan pemupukan. Penyiraman dilakukan 1 hari sekali menggunakan akuades pH 6,6 (Kusuma, 2015). Pupuk yang digunakan NPK (16:16:16). Pemberian pupuk dengan konsentrasi 2,5 gram/ 250 ml untuk per tanaman. Pupuk diberikan dengan cara

dilarutkan menggunakan akuades steril. Semua tanaman ditanam dalam *green house* dengan penyinaran alami selama percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Inokulasi *B. bassiana* pada Tanaman Buncis

Perendaman biji dilakukan sebelum ditanam dengan cara merendam biji buncis dalam 10 ml suspensi konidia *B. bassiana* dengan kerapatan 1×10^8 konidia/ml selama 30 menit pada cawan petri di dalam LAFC (Lopez dan Sword, 2015). Pada perlakuan kontrol, biji direndam menggunakan akuades steril. Waktu aplikasi sebelum biji ditanam (Parsa *et al.*, 2013).

Penyemprotan daun dilaksanakan dengan cara menyemprotkan 10 ml/tanaman suspensi konidia *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml dan akuades steril untuk perlakuan kontrol. Bagian permukaan polibag ditutup menggunakan *aluminium foil* untuk mencegah konidia turun ke tanah pada waktu aplikasi (Parsa *et al.*, 2013). Setelah aplikasi penyemprotan daun selesai, *aluminium foil* diambil. Tanaman buncis disungkup dengan plastik bening selama 24 jam untuk mendapatkan kondisi lingkungan yang lembab dan baik bagi pertumbuhan jamur. Pada perlakuan kontrol, daun disemprot menggunakan akuades steril. Waktu aplikasi 14 hari setelah tanam (hst) pada waktu sudah muncul daun sejati (Parsa *et al.*, 2013). Pelaksanaan pagi atau sore hari untuk menjaga virulensi jamur *B. bassiana*.

Penyiraman tanah dilaksanakan dengan cara menyirami tanah menggunakan 10 ml suspensi konidia *B. bassiana* dengan kerapatan 1×10^8 konidia/ml pada permukaan tanah. Aplikasi penyiraman tanah dilakukan dengan cara menyiram suspensi jamur *B. bassiana* disekitar perakaran tanaman buncis (Parsa *et al.*, 2013). Perlakuan kontrol penyiraman tanah menggunakan akuades steril. Waktu aplikasi 14 hst pada waktu sudah muncul daun sejati (Parsa *et al.*, 2013). Pelaksanaan pagi atau sore hari untuk menjaga virulensi jamur *B. bassiana*.

Kemampuan kolonisasi endofitik *B. bassiana* pada Tanaman Buncis

Tanaman berumur 10 (Kusuma, 2015). Semua kontrol dan perlakuan dicabut secara hati-hati, dicuci dengan air mengalir. Kontrol digunakan sebagai pembanding dan memastikan bahwa jamur yang ditemukan endofit pada tanaman. Tanaman dipotong menjadi tiga bagian, yaitu daun, batang dan akar (Parsa *et al.*, 2013). Setiap sampel bagian tanaman disterilkan dalam LAFC

dalam NaOCl 0,5 %, alkohol 70 %, dan dibilas 3 kali menggunakan akuades steril masing-masing selama 2 menit, dan dikeringkan diatas kertas saring. Selanjutnya dilakukan penanaman akuades bilasan terakhir di media ADK, jika terdapat jamur yang tumbuh maka dilakukan pengulangan karena jamur yang tumbuh merupakan jamur permukaan. Kemudian, tepi luar sampel dipotong dan dibuang, untuk menghilangkan kontak dengan disinfektan. Setiap sampel bagian tanaman di isolasi ke media ADK ditambahkan antibiotik tetrasiklin, streptomisin dan kloramfenikol pada 2 mg/L masing-masing untuk mencegah kontaminasi bakteri (Parsa *et al.*, 2013).

Dari setiap tanaman diambil sampel 2 buah daun, 2 buah batang dan 2 helai akar. Daun yang digunakan adalah 2 daun sejati, dipotong 1 x 1 cm sebanyak 3 buah/daun. Batang dan akar yang digunakan berukuran 3 cm sebanyak 2 buah untuk kemudian diisolasi dan diidentifikasi endofitnya secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7-10 hari. Apabila telah muncul koloni *B. bassiana* dengan ciri miselia padat menjadi krem kuning pucat ditepi, dilakukan purifikasi untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Kemudian dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada hari ke-14 setelah purifikasi. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati bentuk koloni dan warna isolat pada media ADK. Mikroskopis berciri konidia berbentuk oval berwarna putih dan tumbuh zig-zag pada konidiofor, konidia berbentuk oval agak bulat berwarna bening, dan miselia bersekat (Barnett dan Hunter, 1998). Identifikasi yang dilakukan menurut buku *illustrated genera of imperfect fungi* pengarang Barnett dan Hunter (1998).

Identifikasi dilakukan sebanyak dua kali, yaitu sebelum dan sesudah inokulasi pada tanaman. Pertama identifikasi sebelum dilakukan inokulasi bertujuan sebagai acuan ciri makroskopis dan mikroskopis jamur *B. bassiana*. Kedua identifikasi dilakukan setelah inokulasi untuk evaluasi keberadaan jamur endofit *B. bassiana*. Jamur endofit *B. bassiana* mempunyai ciri makroskopis dan mikroskopis yang sama dengan *B. bassiana* dari koleksi lab. HPT maka dinyatakan berhasil endofit.

Efikasi Endofit *B. bassiana* terhadap *S. litura*

Tanaman hasil dari perlakuan tiga teknik inokulasi endofit *B. bassiana* dan tanaman kontrol berjumlah 24 tanaman dipetik daun sejati diletakkan di tabung vaselin. Tanaman buncis dengan tiga teknik inokulasi endofit *B. bassiana* untuk mengetahui perbedaan efikasi endofit *B. bassiana* pada tiga teknik inokulasi

yang diaplikasikan pada *S. litura*. Tanaman buncis umur 28 hst digunakan untuk aplikasi disebabkan intensitas serangan *S. litura* tertinggi (Hendriani *et al.*, 2013). Larva *S. litura* instar 2 sebanyak 10 ekor diletakkan bersama daun buncis di tabung vaselin. Jumlah 10 ekor serangga uji dimodifikasi dari (Fatahuddin *et al.*, 2003). Larva *S. litura* instar 2 digunakan sebagai serangga uji disebabkan larva aktif makan dan hidup berpencar dipermukaan daun (Aeny, 1985). Sebelum sebagai serangga uji dilakukan *stop feed* selama satu malam.

Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan penelitian ini yaitu:

1. Kolonisasi *B. bassiana*

Pengamatan kolonisasi endofit *B. bassiana* pada tiga teknik yaitu perendaman biji, penyemprotan daun dan penyiraman tanah dilakukan pada 10 hsi. Sampel yang digunakan dua potong akar, dua potong batang dan enam potong daun ditanam di media ADK. Pengamatan jamur *B. bassiana* yang tumbuh dari akar, batang dan daun di purifikasi dan identifikasi. Penghitungan persentase jamur yang tumbuh di daun, batang dan akar tanaman buncis yang di tanam pada ADK. Perhitung persentase kolonisasi dilakukan 5 hari setelah koloni tumbuh menggunakan rumus:

$$\text{Kolonisasi} = \frac{\text{Jumlah jamur yang tumbuh}}{\text{Jumlah sampel tanaman}} \times 100\%$$

2. Mortalitas *S. litura*

Sampel yang diamati yaitu dan larva *S. litura* yang masih hidup dan mati disebabkan memakan daun yang terdapat konidia *B. bassiana* di dalamnya. Inokulasi *B. bassiana* ke dalam daun dengan menggunakan tiga teknik yaitu perendaman biji, penyemprotan daun dan penyiraman tanah. Mortalitas larva *S. litura* diamati sampai 7 hari (Fatahudin *et al.*, 2003) kematian dengan rumus:

$$P = \frac{a}{a+b} \times 100\%$$

P adalah persentase mortalitas *S. litura*, a adalah serangga *S. litura* yang mati, dan b adalah serangga *S. litura* yang hidup.

3. Waktu kematian larva *S. litura*

Pengamatan waktu kematian dilakukan dengan melihat larva *S. litura* yang mati setiap hari (24 jam). Analisa waktu kematian menggunakan Probit untuk mengetahui *Median Letal Time* (LT₅₀). *Median Letal Time*

(LT₅₀) merupakan waktu yang dibutuhkan untuk mematikan larva *S. litura* mencapai 50 % kematian.

Analisis Data

Data persentase kematian *S. litura* akibat infeksi *B. bassiana* dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf 5 %. Jika respon dari perlakuan berpengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple range test* (DMRT) dengan taraf 5 %. Analisis Normalitas menurut kolmogrovo-smirnov menggunakan SPSS 16.0, ANOVA dan DMRT menggunakan DSAASTAT dan Microsoft Excel 2007. Waktu kematian *S. litura* dianalisis dengan *Median Lethal Time* (LT₅₀) menggunakan Hsin chi (1997).



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan Endofitik *B. bassiana* pada Tanaman Buncis

Endofitik adalah kemampuan mikroorganisme berada pada jaringan tanaman. Hasil penelitian, menunjukkan bahwa jamur *B. bassiana* berada pada jaringan tanaman buncis dibuktikan dari koloni *B. bassiana* yang tumbuh di dalam akar, batang dan daun. Kolonisasi *B. bassiana* tertinggi berada pada bagian akar (Tabel 1).

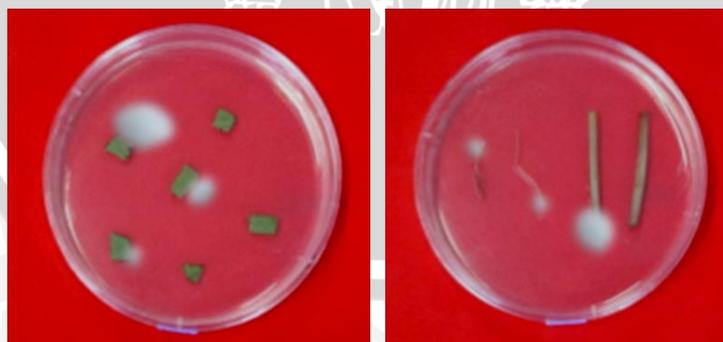
Tabel 1. Rata-rata koloni *B. bassiana* di dalam tanaman buncis pada akar, batang dan daun pada 10 hsi

Bagian tanaman	Kolonisasi <i>B. bassiana</i> (%)
Akar	44,44
Batang	35,52
Daun	35,50
Kontrol	00,00

Keterangan: Jumlah sampel yang digunakan 2 per akar, batang dan daun; data dari kumulatif perlakuan

Tingkat kolonisasi *B. bassiana* di akar lebih tinggi disebabkan suhu dan kelembapan di daerah perakaran mendukung jamur untuk tumbuh secara optimal. Selain itu kerusakan oleh paparan sinar matahari dapat dihindari karena terlindung oleh permukaan tanah. Keberadaan jamur endofit berhubungan dengan banyaknya paparan sinar matahari yang diterima bagian tanaman (Faeth dan Fagan, 2002). Sehingga, semakin sedikit paparan sinar matahari yang diterima bagian tanaman maka akan semakin tinggi koloni jamur *B. bassiana*.

Koloni *B. bassiana* yang tumbuh di tepi akar, batang dan daun pada media ADK. Ciri-ciri jamur *B. bassiana* yang tumbuh berwarna putih, berbentuk bulat dan tekstur tepi halus (Gambar 1). Pertumbuhan koloni menyebar secara beraturan.

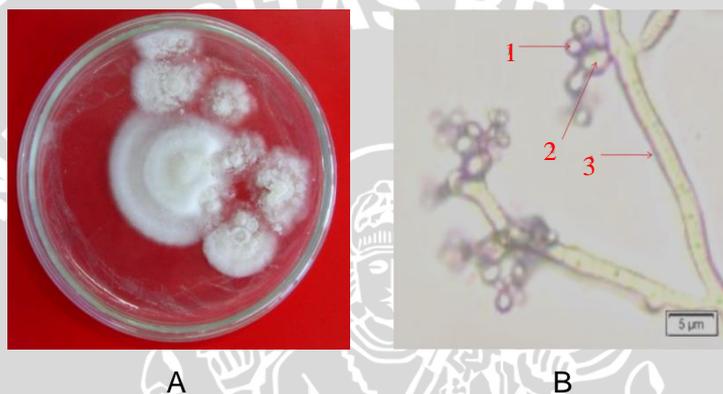


A

B

Gambar 1. Hasil isolasi jamur *B. bassiana*, A. Daun tanaman buncis, B. Akar dan batang tanaman buncis

Jamur endofit *B. bassiana* secara makroskopis memiliki ciri berwarna putih, tekstur tepi halus, tersebar tidak beraturan, dan sebaran tidak memusat. Tekstur permukaan koloni agak kasar dan koloni tumbuh agak rapat (Gambar 3). Sedangkan secara mikroskopis jamur endofit *B. bassiana* memiliki ciri hifa bersekat, berwarna hialin dengan lebar 1,10 μm , konidia berwarna hialin berbentuk bulat hingga oval dengan diameter 1,47 μm dan kumpulan konidia bergerombol pada konidiofor (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan Barnett (1998) Jamur *B. bassiana* dikenal sebagai *white muscardine* karena miselium dan konidium (konidia) berwarna putih, miselia bersekat, konidia bersel satu berbentuk oval agak bulat seperti telur, konidiofor tumbuh zig zag.



Gambar 2. Morfologi jamur *B. bassiana* dari tanaman buncis, A. Makroskopis (14 hari setelah tumbuh), B. Mikroskopis (perbesaran mikroskop 400 x) (1) Konidia, (2) Konidiofor, (3) Hifa

Jamur *B. bassiana* selain sebagai patogen serangga, dari hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. bassiana* dapat berada di dalam akar, batang dan daun tanaman buncis. Menurut Vega *et al.* (2008) jamur *B. bassiana* pernah ditemukan di dalam biji, daun dan pucuk tanaman kopi. Jamur *B. bassiana* tidak hanya menginfeksi serangga melainkan juga dapat bersimbiosis dengan tanaman. Sehingga, pada saat konidia *B. bassiana* diinokulasikan ke tanaman dapat bersifat endofitik pada tanaman buncis.

Pembuktian endofit *B. bassiana* selain dari tingkat kolonisasi, juga dari mortalitas terhadap serangga uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konidia *B. bassiana* yang berada di dalam daun buncis dapat menyebabkan mortalitas larva *S. litura* dengan rata-rata sebesar 47,33 % dan kontrol 0,00 %. Hal sesuai dengan Fatahuddin *et al.* (2003) dan Akutse *et al.* (2013) menyatakan bahwa pembuktian endofit *B. bassiana* dapat dilihat dari mortalitas serangga uji.

Larva *S. litura* yang mati memiliki ciri tubuh kering, mengeras, berwarna coklat kehitaman dan setelah di inkubasi tumbuh hifa berwarna putih pada

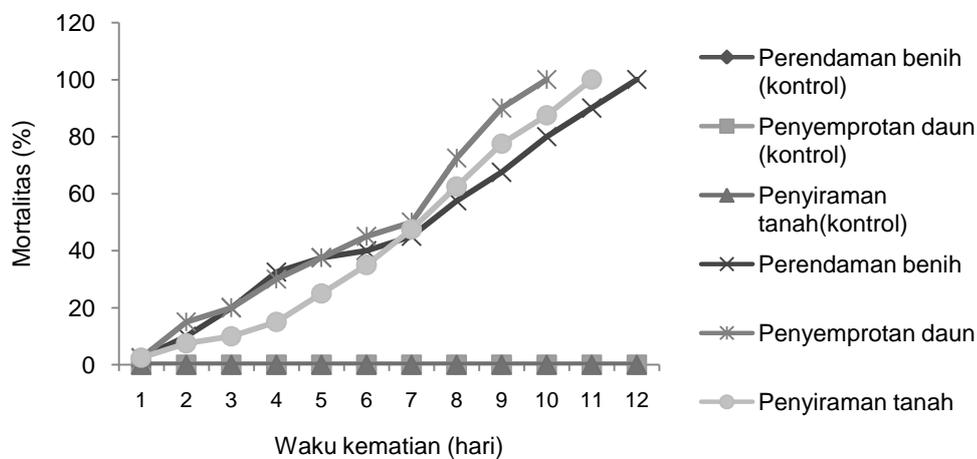
permukaan tubuh larva (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan Budi *et al.* (2013) menyatakan bahwa kutikula larva berubah warna menjadi cokelat kehitaman, kering, kaku dan setelah diinokubasi akan muncul hifa berwarna putih. Ciri-ciri jamur *B. bassiana* secara makroskopis dan mikroskopis dari *S. litura* mempunyai kesamaan dengan *B. bassiana* yang di inokulasikan pada tanaman.



Gambar 3. Kematian larva *S. litura* oleh infeksi *B. bassiana* pada instar 4 (perbesaran mikroskop 1 x), A. Posisi tubuh serangga yang dibalik, B. Posisi tubuh serangga yang tidak dibalik.

Efikasi Jamur *B. bassiana* yang Diaplikasi pada *S. litura*

Hasil mortalitas *S. litura* akibat *B. bassiana* menggunakan teknik penyemprotan daun lebih tinggi dibandingkan dengan perendaman biji dan penyiraman tanah (Gambar 5). Hal ini sesuai dengan hipotesis yang menyatakan bahwa persentase mortalitas *S. litura* oleh infeksi endofit *B. bassiana* tertinggi diperoleh dari penyemprotan daun.



Gambar 4. Rata-rata mortalitas *S. litura* akibat endofit *B. bassiana*

Teknik penyemprotan daun menghasilkan mortalitas larva *S. litura* tertinggi karena dipengaruhi jumlah kolonisasi. Selain, menghasilkan mortalitas larva *S. litura* tertinggi teknik penyemprotan daun juga memiliki tingkat persentase

kolonisasi *B. bassiana* tertinggi pada daun. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi persentase kolonisasi *B. bassiana* pada daun maka akan semakin tinggi pula mortalitas *S. litura*. Kolonisasi tertinggi didaun dari penyemprotan daun sehingga mortalitas tertinggi juga diperoleh dari daun. Qayyum *et al.*, (2015) juga menyatakan bahwa semakin tinggi persentasi kolonisasi *B. bassiana* dalam jaringan tanaman maka semakin tinggi mortalitas yang dihasilkan.

Pada pengamatan pertumbuhan *S. litura* mengalami penghambatan perubahan instar, perubahan instar menuju ke instar selanjutnya selama 4 hari. Sedangkan, pada kondisi *S. litura* yang sehat tanpa infeksi *B. bassiana* mengalami perubahan instar ke instar selanjutnya selama 3 hari. Hal ini menandakan bahwa adanya mekanisme antibiosis yang dihasilkan oleh *B. bassiana*. Mekanisme antibiosis merupakan mekanisme dengan cara jamur mengeluarkan toksin yang mampu menghambat pertumbuhan serangga.

Pada pengamatan kematian *S. litura* untuk mencapai 100% kematian terjadi pada setiap teknik inokulasi berbeda. Hama *S. litura* yang mati mencapai 100% dengan aplikasi dari perendaman benih mencapai 12 hari, penyemprotan daun mencapai 10 hari, dan penyiraman tanah mencapai 11 hari. Untuk perlakuan kontrol tidak terdapat *S. litura* yang mati. Kematian *S. litura* yang mati disebabkan toksin yang dihasilkan oleh *B. bassiana* yaitu beauvericin.

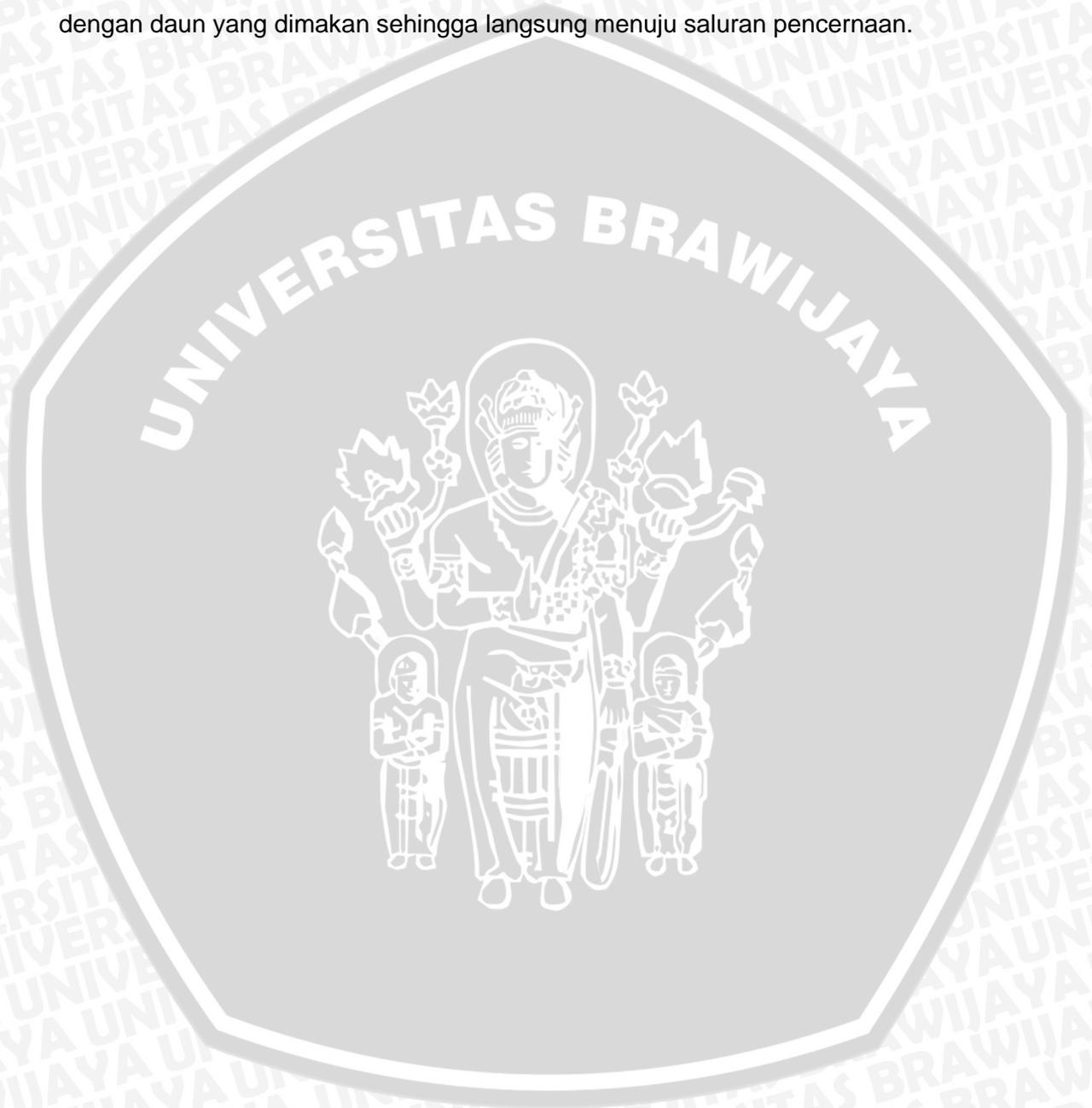
Waktu yang dibutuhkan untuk mematikan larva *S. litura* berbeda dari tiga teknik inokulasi. Pada jamur endofit *B. bassiana* dapat menyebabkan mortalitas 50%, LT₅₀ tercapai pada teknik penyemprotan daun membutuhkan waktu 7,30 hari (175 jam 29 menit) (Tabel 2). Hal ini menunjukkan semakin tinggi kolonisasi *B. bassiana* pada daun buncis maka semakin tinggi mortalitas larva *S. litura* dan semakin rendah waktu yang dibutuhkan untuk mematikan *S. litura*.

Tabel 2. LT₅₀ jamur *B. bassiana* terhadap larva *S. litura* pada teknik inokulasi yang berbeda

Teknik Inokulasi	Persamaan Regresi	SB	Batas Acuan LT ₅₀		LT ₅₀ (Hari)
			Bawah	Atas	
Perendaman biji	$y = 2,38 + 2,19 x$	0,56	158,62	245,36	7,77
Penyemprotan daun	$y = 0,15 + 2,16 x$	0,54	160,45	196,49	7,30
penyeraman tanah	$y = 0,25 + 2,21 x$	0,55	173,09	194,71	7,61

Nilai LT₅₀ sebesar 44,19 hari yang dibutuhkan jamur *B. bassiana* dengan kerapatan $1,47 \times 10^8$ konidia/ml terhadap mortalitas larva *S. litura* dengan aplikasi tidak endofit (Budi *et al.*, 2013). Nilai LT₅₀ jamur *B. bassiana* sebagai endofit lebih cepat dibandingkan tidak endofit untuk menyebabkan kematian

larva *S. litura*. Hal ini disebabkan dari perbedaan cara menginfeksi. Jamur *B. bassiana* bukan endofit membutuhkan waktu untuk menginfeksi larva *S. litura*, dengan membentuk apresorium untuk menembus dinding sel. Sedangkan, jamur *B. bassiana* bersifat endofitik pada tanaman buncis tidak membutuhkan waktu untuk menginfeksi larva *S. litura*, karena konidia *B. bassiana* masuk bersamaan dengan daun yang dimakan sehingga langsung menuju saluran pencernaan.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Jamur *B. bassiana* berhasil berada di dalam akar, batang dan daun tanaman buncis. Sedangkan, teknik inokulasi konidia *B. bassiana* yang efektif menyebabkan kematian *S. litura* yaitu penyemprotan daun dengan waktu mematikan (LT_{50}) *S. litura* mencapai 50 % pada 7,3 hari.

Saran

Saran pada penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai teknologi endofitik *B. bassiana* dengan uji endofit menggunakan pewarnaan jaringan tanaman, perhitungan kerapatan *B. bassiana* yang berada di dalam jaringan tanaman dan penambahan jumlah sampel pengamatan kolonisasi *B. bassiana*.



DAFTAR PUSTAKA

- Aeny T.N. 1985. Biologi *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) Pada Umbi Jalar dan Kangkung. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Akutse K.S, Maniania N.K. Fiaboe K.K.M, Berg J.V.D, dan Ekesi S. 2013. Endophytic Colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by Fungal Pathogens and their Effects on the Life-history Parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Journal Fungal Ecology 6: 293-301.
- Ariyanto E.F, Abadi A.L, dan Djauhari S. 2013. Keaneragaman Jamur Endofit pada Daun Tanaman Padi (*Oriza sativa* L.) dengan Sistem Pengelolaan Hama Terpadu (PHT) dan Konvensional Desa Bayem Kecamatan Kasembon, Kabupaten Malang. Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman 1 (2): 37-51.
- Arnold A.E, dan Lewis L.C. 2005. Ecology and Evolution of Fungal Endophytes, and their Roles Against Insects, In: Vega, FE and Blackwell, M eds. Insect Fungal Associations: Ecology and Evolution. Oxford University Press. New York. Hal 74-96.
- Barnett H.L dan Hunter B.B. 1998. Illustrated Marga of Imperfect Fungi. 4th ed. Prentice-Hall, Inc. USA. Hal 90-95.
- Batta Y.A. 2012. Efficacy of Endophytic and Applied *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) Against Larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) Infesting *Brassica napus* Plants. Journal Crop Protection 44: 128-134.
- Behie S.W, Jones S.J, dan Bidochka M.J. 2015. Plant Tissue Localization of the Endophytic Insect Pathogenic Fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. Journal Fungal Ecology 13: 112-119.
- Brady B.L.K. 1979. Pathogenic Fungi and Bacteria. Common wealth Agricultural Bureaux. England.
- Brownbridge M, Reay S.D, Nelson T.L, dan Glare T.R. 2012. Presistence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an Endophyte Following Inoculation of Radiate Pine Seed and Seedings. Journal Biological Control 61: 194-200.
- Daud I.D. 2003. Kajian Endofitisme: Studi Kasus *Beauveria bassiana* Vull. Pada Tanaman Jagung dan Pengaruhnya terhadap *Ostrinia furnacalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae). Program Pascasarjana Universitas Hasanudin Makasar (Disertas). Hal 121.
- Faeth S.H, dan Fagan W.F. 2002. Fungal endophytes : Common Host Plant Symbionts but Uncommon Mutualists. Journl AIntegrative and Comparative Biology. 42: 360-368.
- Fatahuddin, Amin N, Daud I.D, dan Chandra Y. 2003. Uji Kemampuan *Beauveria bassiana* Vuilemin (Hypomycetes: Monoliales) sebagai Endofit pada Tanaman Kubis dan Penyaruh Terhadap Larva *Plutella Xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). Jurnal Fitomedika 5 (1): 16-19.
- Hendrival, Latifah, dan Hayu R. 2013. Perkembangan *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) pada Kedelai. Jurnal Floratek 8: 88-100.

- Jaber L, dan Vidal S. 2010. Fungal Endophyte Negative Effects on Herbivory are Enhanced on Intact Plants and Maintained in a Subsequent Generation. *Journal Ecological Entomology* 35: 25-36.
- Jaber L.R. 2015. Grapevine Leaf Tissue Colonization by the Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its Effect Against Downy Mildew. *Journal Biological Control* 60: 103–112.
- Johnston P.R, Sutherland P.W, dan Joshee S. 2006. Visualising endophytic fungi within leaves by detection of (1/3)- β -D-glucans in fungal cell walls. *Journal Mycologist* 20: 159-162.
- Kusuma R.M. 2015. Potensi Jamur *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) sebagai Jamur Endofit dan Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan pada Tanaman Kedelai *Glycine max* (L.) Merrill. Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Malang. Hal 15-35
- Landa B.B, Lopez D.C, Jimenez F.D, Montes B.M, Munoz L.F.J, Ortiz U.A, dan Quesada M.E. 2013. In planta Detection and Monitorization of Endophytic Colonization by a *Beauveria bassiana* Strain Using a new-developed Nested and Quantitative PCR-based Assay and Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Invertebrate Pathology* 114: 128–138.
- Lopez D.C, dan Sword G.A. 2015. The Endophytic Fungal Entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* Enhance the Growth of Cultivated Cotton (*Gossypium hirsutum*) and Negatively Affect Survival of the Cotton Bollworm (*Helicoverpa zea*). *Journal Biological Control* 89: 53–60.
- Mantzoukas S, Chondrogiannis C, dan Grammatikopoulos G. 2015. Effects of three Endophytic Entomopathogens on Sweet Sorghum and on the Larvae of the Stalk Borer *Sesamia nonagrioides*. *Journal Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata* 154: 78–87.
- Ownley B.H, Griffin M.R, Klingeman W.E, Gwinn K.D, Moulton J.K, dan Pereira R.M. 2008. *Beauveria bassiana*: Endophytic Colonization and Plant Disease Control. *Journal Invertebrate Pathology* 98: 267–270.
- Parsa S, Ortiz V, dan Vega F.E. 2013. Establishing Fungal Entomopathogens as Endophytes: Towards Endophytic Biological Control. *Journal of Visualized Experiments* 74: 1-5.
- Posada F, dan Vega F.E. 2005. Establishment of the Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an Endophyte in Cocoa Seedlings (*Theobroma cocoa*). *Journal Mycologia* 97: 1195-1200.
- Posada F, dan Vega F.E. 2006. Inoculation and Colonization of Coffee Seedlings (*Coffea arabica* L) with the Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Journal Mycological Society* 47: 284-289.
- Posada F, Aime M.C, Peterson S.W, Rehner S.A, dan Vega F.E. 2007. Inoculation of Coffee Plants with the Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Journal Mycological Research* 111: 748–757.
- Qayyum M.A, Wakil W, Arif M.J, Sahi S.T, Dunlap C.A. 2015. Infection of *Helicoverpa armigera* by Endophytic *Beauveria bassiana* Colonizing Tomato Plants. *Journal Biological Control* 90: 200–207.

- Quesada M.E, Lopez D.C, dan Landa B.B. 2014. The Hidden Habit of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: First Demonstration of Vertical Plant Transmission. *Journal Oplose One* 9 (2): 1-6.
- Rai D, Updhyay, Mehra P, Rana M, dan Pandey A.K. 2014. Potential of Entomopathogenic Fungi as Biopesticides. *Journal Science and Technology* 2 (5): 7-13.
- Reddy N.P , Khan A.P.A, Devi U.K.S, Harma H.C, dan Reineke A. 2009. Treatment of Millet Crop Plant *Sorghum bicolor* with the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* to Combat Infestation by the Stem Borer, *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 12: 221–226.
- Rodriguez R.J, White J.J.F, Arnold A.E, dan Redman R.S. 2009. Fungal Endophytes: Diversity and Functional Roles. *Journal New Pathology*. 182: 314–330.
- Soetopo D, dan Indrayani I.G.A.A. 2007. Status Teknologi dan Prospek *Beauveria bassiana* untuk Pengendalian Serangga Hama Tanaman Perkebunan yang Ramah Lingkungan. *Jurnal Perspektif* 6 (1): 29–46.
- Vega, F.E. 2008. Insect Pathology and Fungal Endophytes. *Journal of Invertebrate Pathology* 98: 277-279.
- Vega F.E, Mark S, Goettel M.S, Blackwell M, dan Chandler D. 2009. Fungal Entomopathogens: New Insights in their Ecology. *Journal Fungal Ecology* 2: 149–159.
- Vidal S, dan Jaber L.R. 2015. Entomopathogenic Fungi as Endophytes: Plant-Endophyte-Herbivore Interaction and Prospects for Use in Biological Control. *Journal Current Science* 109 (1): 46-54.
- Wagner B.L, dan Lewis L.C. 2000. Colonization of Corn, *Zea mays*, by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 66: 3468-3473.
- Waluyo N. dan Djuariah D., 2013. Varietas-varietas Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) yang Telah Dilepas oleh Balai Penelitian Tanaman Sayur. *Iptek Tanaman Sayur* 2: 1-9

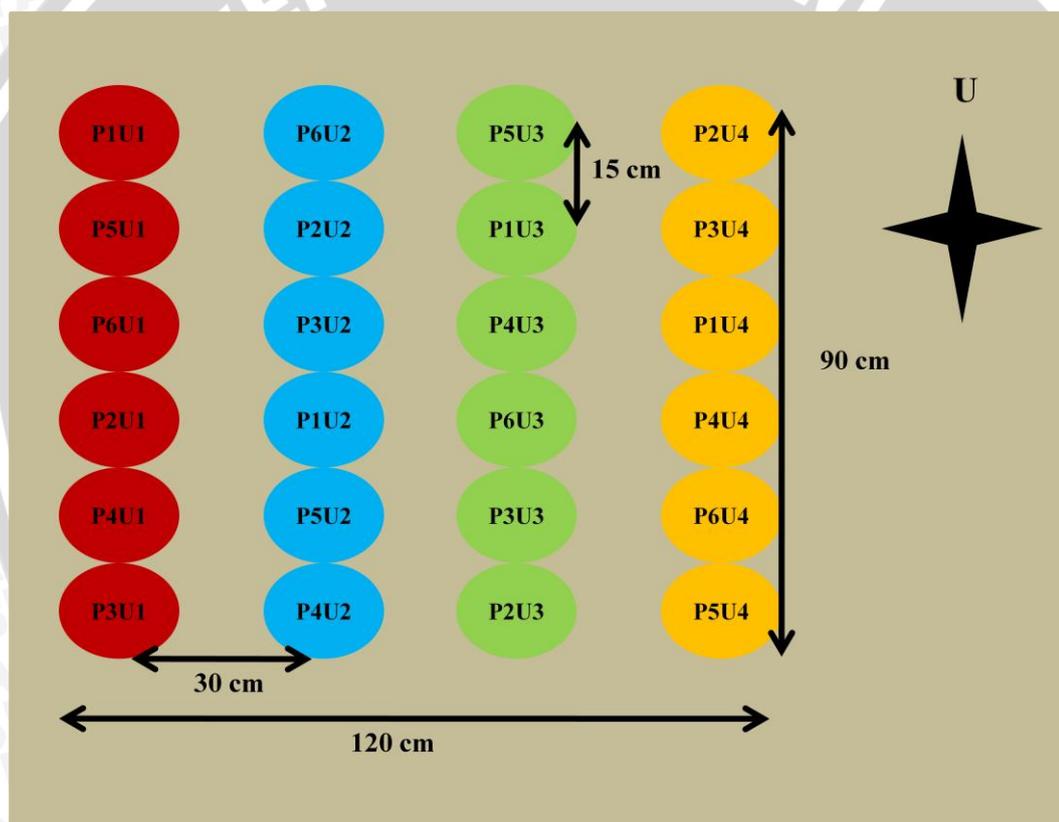


LAMPIRAN



Tabel lampiran 1. Deskripsi varietas balitsa 2 (Waluyo dan Djuariah, 2013)

Variabel diskripsi	Keterangan
Introduksi	Prancis
Waktu bunga	32-33 hari hst
Waktu panen	47-48 hst
Warna polong muda	Hijau muda
Bentuk polong	lurus
Rasa polong	Agak manis
Panjang polong	16-17 cm
Lebar polong	0,6-0-7 cm
Tekstur polong	halus
Bobot per polong	8-10 gram
Jumlah polong per tanaman	50-60 buah
Bobot polong per tanaman	300-400 gram
Daya hasil	20,0-23,8 ton/ha
Pemulia	Diny Djuariah



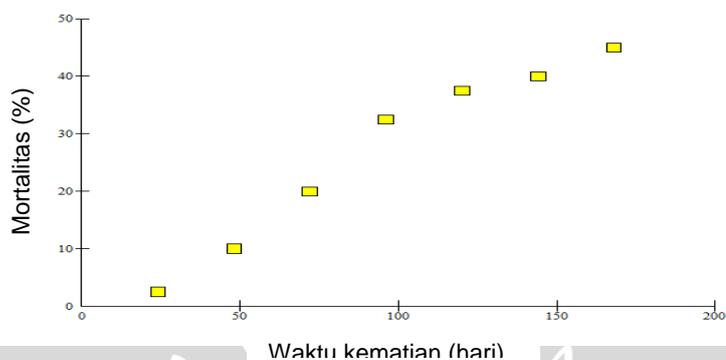
- Keterangan:
- P1: P erendaman biji dengan akuades steril (Kontrol)
 - P2: Penyemprotan daun dengan akuades steril (Kontrol)
 - P3: Penyiraman tanah dengan akuades steril (kontrol)
 - P4: Perendaman biji dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml
 - P5: Penyemprotan daun dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml
 - P6: Penyiraman tanah dengan suspensi *B. bassiana* kerapatan 1×10^8 konidia/ml

Gambar lampiran 1. Peta pengacakan RAK pada penanaman buncis.

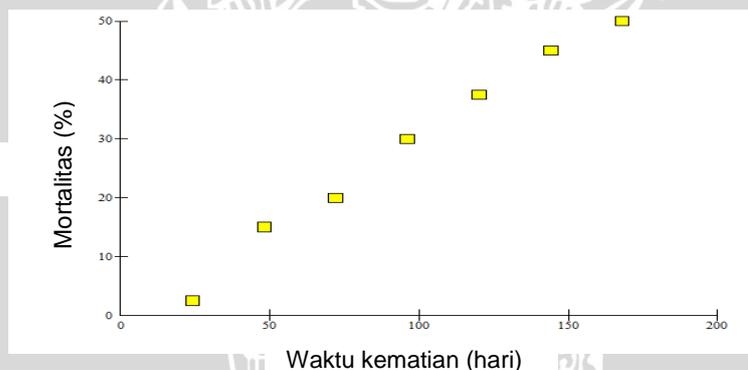
Tabel lampiran 2. Analisis sidik ragam mortalitas *Spodoptera litura* akibat endofit *B. bassiana* di tanaman buncis

SK	db	JK	KT	F.hit	Notasi	F.tab 5%	F. tab 1%
Perlakuan	5	230,48	46,1	222,46	n	2,90	4,56
Ulangan	3	1,13	0,38	1,82	tn	3,29	5,52
Galat	15	3,11	0,21				
Total	23	234,72	10,2				

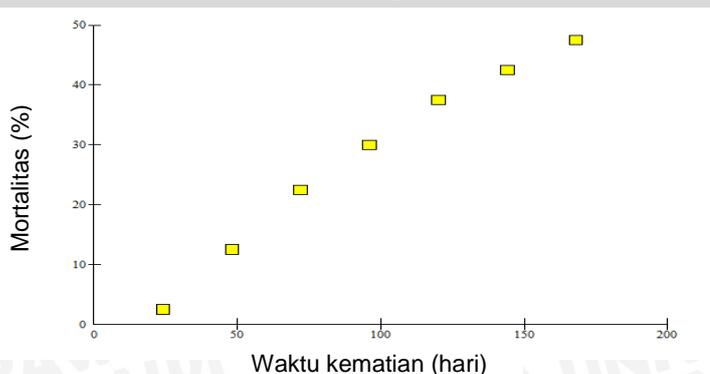
Keterangan: Data dilakukan transformasi menggunakan Arc Sin ($\sqrt{x + 0,5}$).



Gambar lampiran 2. LT_{50} *S. litura* oleh infeksi endofit *B. bassiana* aplikasi dari perendaman biji



Gambar lampiran 3. LT_{50} *S. litura* akibat infeksi endofit *B. bassiana* aplikasi dari penyemprotan daun



Gambar lampiran 4. LT_{50} larva *S. litura* akibat infeksi endofit *B. bassiana* aplikasi dari penyiraman tanah



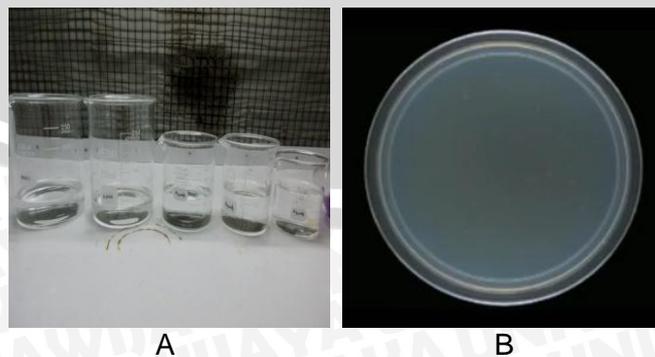
Gambar lampiran 5. Tanaman buncis siap untuk diinokulasi dengan suspensi *B. bassiana*



Gambar lampiran 6. Teknik inokulasi, A. Perendaman biji, B. Penyemprotan daun, C. suspensi *B. bassiana* untuk penyiraman tanah



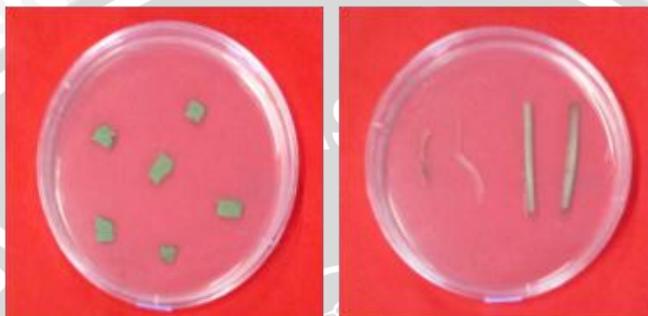
Gambar lampiran 7. Penyungkupan setelah dilakukan inokulasi menggunakan penyemprotan daun



Gambar lampiran 8. Sterilisasi akar, batang dan daun tanaman buncis, A. suspensi untuk sterilisasi, B. hasil penanaman bilasan akuades terakhir di media ADK



Gambar lampiran 9. Pemotongan akar, batang dan daun tanaman buncis



Gambar lampiran 10. Penanaman akar, batang dan daun pada media ADK

