

**KOMBINASI BIO-INSEKTISIDA *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)
DAN EKSTRAK DAUN PAITAN (*Tithonia diversifolia*)
UNTUK MENGENDALIKAN HAMA PENGISAP POLONG
Riptortus linearis (Hemiptera: Alydidae)**

Oleh:

ISTIGHFARRINDANG FAJRIN



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2019**

**KOMBINASI BIO-INSEKTISIDA *Lecanicillium lecanii* (Zimm.)
DAN EKSTRAK DAUN PAITAN (*Tithonia diversifolia*)
UNTUK MENGENDALIKAN HAMA PENGISAP POLONG
Riptortus linearis (Hemiptera: Alydidae)**

OLEH :

**ISTIGHFARRINDANG FAJRIN
155040200111059**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2019**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2019

Istighfarrindang Fajrin



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Kombinasi Bio-Insektisida *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Dan Ekstrak Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) Untuk Mengendalikan Hama Pengisap Polong *Riptortus linearis* (Hemiptera: Alydidae)

Nama : Istighfarrindang Fajrin

NIM : 155040200111059

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Dr. Ir. Toto Himawan, SU.
NIP. 19551119 198303 1 002

Diketahui,

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal persetujuan: 25 JUL 2019

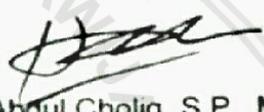
LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

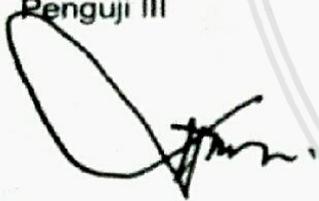
Penguji II

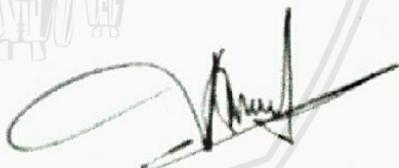

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU
NIP. 19550403 198303 1 003


Fery Abdul Choliq, S.P., M.Sc.
NIK. 201503 860523 1 001

Penguji III

Penguji IV


Dr. Ir. Toto Himawan, SU
NIP. 19551119 198303 1 002


Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 19590705 198601 1 003

Tanggal Lulus: 01 AUG 2019





*Sketsi ini kupersembahkan untuk Semua orang yang
kusayangi*

*Terutama Ibuku Siti Nurhayati
Ayahku Kusni dan
Adikku Jintrim Bariklana Layli*

*Terima kasih atas semua pengorbanan, dukungan dan doa yang
telah diberikan*

RINGKASAN

Istifarrindang Fajrin. 155040200111059. Kombinasi Bio-insektisida *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) dan Ekstrak Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) untuk Mengendalikan Hama Pengisap Polong *Riptortus linearis*. Dibawah bimbingan Dr.Ir. Toto Himawan, SU. sebagai pembimbing.

Hama penting yang menyerang pada tanaman kedelai diantaranya adalah *Riptortus linearis*. Pengendalian hama *R. linearis* yang dilakukan oleh petani masih menggunakan pestisida sintesis, sehingga banyak menimbulkan dampak negatif. Oleh karena itu, diperlukan pengelolaan untuk menekan penggunaan pestisida sintesis dengan menerapkan pengendalian hama terpadu (PHT). Salah satu komponen PHT adalah menggunakan agens hayati (jamur entomopatogen) sebagai bagian dari tindakan pengendalian. Salah satu jamur entomopatogen *Lecanicillium lecanii* dilaporkan mampu menggagalkan penetasan telur dan menginfeksi stadia nimfa maupun imago *R.linearis*. Namun, penggunaan jamur *L.lecanii* didapatkan hasil yang kurang optimal ketika nimfa *R.linearis* instar III. Solusi yang dapat dilakukan yakni mengkombinasikan dengan tindakan pengendalian yang lain. Salah satu pilihan adalah mengkombinasikan antara agens hayati dan pestisida nabati. Tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan pestisida nabati adalah tumbuhan paitan.

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan, pertama adalah uji tunggal bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP dengan variabel pengamatan yakni mortalitas. Kedua adalah uji campuran bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP. Uji campuran terdiri dari dua tahap yakni uji kompatibilitas dan uji daya racun. Variabel yang diamati dalam uji kompatibilitas meliputi pertumbuhan diameter koloni, persentase viabilitas dan kerapatan jamur *L. lecanii* setelah dilakukan aplikasi dengan EDP. Data uji kompatibilitas dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Uji daya racun secara campuran dilakukan untuk mengetahui LC₅₀ dari kombinasi campuran. Konsentrasi yang digunakan yaitu 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, 4000 ppm, 5000 ppm. Variabel yang diamati dalam uji daya racun secara campuran meliputi mortalitas dan nilai nisbah sinergistik. Data uji daya racun campuran dianalisis menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK).

Hasil pengujian secara campuran menunjukkan bahwa penambahan EDP kompatibel terhadap bio-insektisida *L. lecanii* dengan nilai kompatibilitas optimal pada perlakuan AB3 (1720 ppm bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP). Hasil yang kompatibel diduga karena kandungan senyawa alkaloid yang terdapat pada EDP bekerja dengan cara mendukung pertumbuhan dan perkembangan jamur *L. lecanii*. Perhitungan nilai nisbah sinergistik didapatkan hasil bahwa penambahan EDP memberikan efek sinergis terhadap *L. lecanii*, dengan nilai nisbah sinergistik lebih besar dari satu (1,46). Dari hal tersebut diketahui bahwa formulasi campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP mampu meningkatkan mortalitas nimfa *R. linearis* instar III dibandingkan aplikasi secara tunggal. Senyawa alkaloid pada EDP diduga bersifat sinergis dengan zat toksin (*dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid* dan *cyclosporin*) yang dihasilkan oleh *L. lecanii* dalam mematikan inang/serangga.

SUMMARY

Istigfarrindang Fajrin. 155040200111059. Combination of Bio-insecticide *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) and Paitan Leaf Extract (*Tithonia diversifolia*) to Control Pod Sucking Pests *Riptortus linearis* (Hemiptera: Alydidae). Supervised by Dr.Ir. Toto Himawan, SU.

Riptortus linearis, one of the pests, which attack soybean plants. The pest control of *R. linearis* is carried out by farmers using synthetic pesticides, which has many negative impacts. Therefore, management is needed to reduce the use of synthetic pesticides by Integrated Pest Management (IPM). One component of IPM is using biological agents (entomopathogenic fungi) as part of control measures. One of the entomopathogenic fungi *Lecanicillium lecanii* has been reported that can thwart egg hatching and infecting the nymphs and *R.linearis* adults. However, the use of *L. lecanii* is less optimal when *R. linearis* nymph in the 3rd stadium. The solution that can be done is to combine with other control measures. One of the options is combining the biological agents and botanical pesticides. Plants that can be used as a source of botanical pesticides are Paitan plants.

This research consisted of two experiments, the first was a single bio-insecticide test of *L. lecanii* and EDP with observational variables namely mortality. The second was a test of the bio-insecticide mixture *L. lecanii* and EDP. The mixed test consisted of two stages, namely compatibility test and toxicity test. Variables observed in the compatibility assay included the growth of colony, the percentage of viability and spore density of *L. lecanii* fungi after applying with EDP. Compatibility assay data were using analysis of variance with a completely randomized design. Mixed toxicity tests are carried out to find out LC₅₀ from a mixed combination. Then, the concentration used 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, 4000 ppm, 5000 ppm. The variables observed in mixed toxicity tests included the mortality and synergistic ratio values. Mixed toxicity test data were analysed using a randomized block design.

The mixed tests result showed that the addition of EDP was compatible with the bio-insecticide of *L. lecanii* with optimal compatibility values in the treatment of AB3 (1720 ppm bio-insecticide *L. lecanii* + 2239 ppm EDP). The compatible results were suspected because the content of alkaloid compounds found in EDP works by supporting the growth and the development of the fungus *L. lecanii*. The calculation of the synergistic ratio found that the addition of EDP had a synergistic effect on *L. lecanii*, with a synergistic ratio greater than 1 (1.46). The conclusion, it was known that the formulation of a mixture of *L.lecanii* bio-insecticide with EDP was able to increase the mortality of *R. linearis* nymph in the 3rd stadium compared to a single application. The alkaloid of EDP compounds was alleged to be synergistic with toxins (dipicolinic acid, hydroxycarboxylic acid, and cyclosporin) produced by *L. lecanii* in killing hosts/insects.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan SKRIPSI dengan judul “Kombinasi Bio-Insektisida *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Dan Ekstrak Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) Untuk Mengendalikan Hama Pengisap Polong *Riptortus linearis* (Hemiptera: Alydidae)”.

Seiring penyelesaian proposal ini, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Toto Himawan, SU. Selaku selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dengan penuh kesabaran.
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan.
3. Kedua orang tua Bapak dan Ibu, keluarga serta saudari yang tidak henti-hentinya memberikan doa dan dukungannya.
4. Seluruh teman-teman yang telah banyak membantu dan memberikan semangat.

Penulis menyadari menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Semoga penulisan skripsi ini dapat memberikan informasi mengenai kombinasi bio-insektisida *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) dan ekstrak daun paitan (*Tithonia diversifolia*) dalam mengendalikan hama kepik coklat *Riptortus linearis* (Hemiptera: Alydidae) bagi pembaca, petani, masyarakat, dan kegiatan penelitian di bidang pertanian.

Malang, Agustus 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ngawi pada tanggal 21 Juli 1997 sebagai anak pertama dari dua bersaudara dai Bapak Kusni dan Ibu Siti Nurhayati. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Gerih 5 Ngawi pada tahun 2003 hingga 2009, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Geneng pada tahun 2009 dan lulus pada tahun 2012. Pada tahun 2012 sampai 2015 penulis melanjutkan studi di MAN Nglawak Kertosono Nganjuk, dengan mengambil jurusan IPA. Pada tahun 2015 penulis terdaftar sebagai mahasiswi Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur SBMPTN. Selama menjadi mahasiswa, penulis menerima beasiswa pendidikan Bidikmisi dari Kemenristekdikti. Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Minat Hama dan Penyakit Tumbuhan Laboratorium Toksikologi Pestisida.

Selama menjadi mahasiswa di fakultas pertanian, penulis pernah melaksanakan kegiatan magang kerja di Balai Karantina Tumbuhan Surabaya selama 3 bulan. Penulis pernah mengikuti kepanitiaan di acara PROTEKSI (Pendidikan Dasar dan Orientasi Terpadu Keprofesian) tahun 2018.

DAFTAR ISI

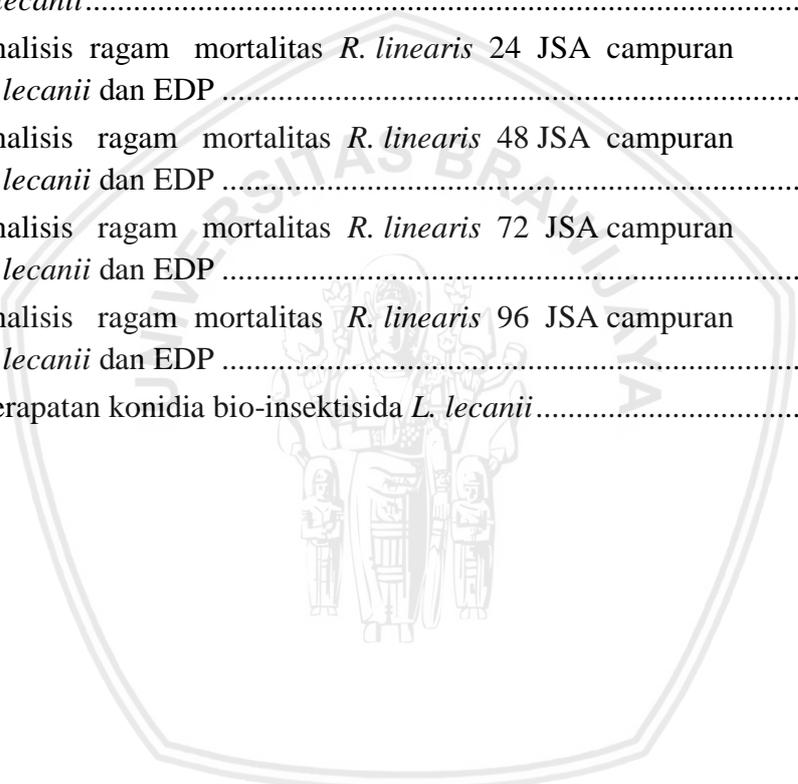
	Halaman
RINGKASAN.....	i
SUMMARY.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Manfaat.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Riptortus linearis</i>	5
2.2 Jamur <i>Lecanicillium lecanii</i>	6
2.3 Pestisida.....	8
2.4 Paitan (<i>Tithonia diversifolia</i>)	11
III. METODOLOGI.....	14
3.1 Tempat dan Waktu	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Persiapan penelitian.....	14
3.4 Pelaksanaan penelitian	15
3.5 Analisis Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Pengaruh Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> dan Pestisida Nabati Ekstrak Daun Paitan secara Tunggal terhadap <i>Riptortus linearis</i>	23
4.2 Toksisitas Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> dan Ekstrak Daun Paitan terhadap <i>Riptortus linearis</i>	27
4.3 Uji Kompatibilitas Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> dengan EDP (Ekstrak Daun Paitan)	31
4.4 Pengaruh Jamur <i>L.lecanii</i> dan Pestisida Nabati Ekstrak Daun Paitan secara Campuran	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

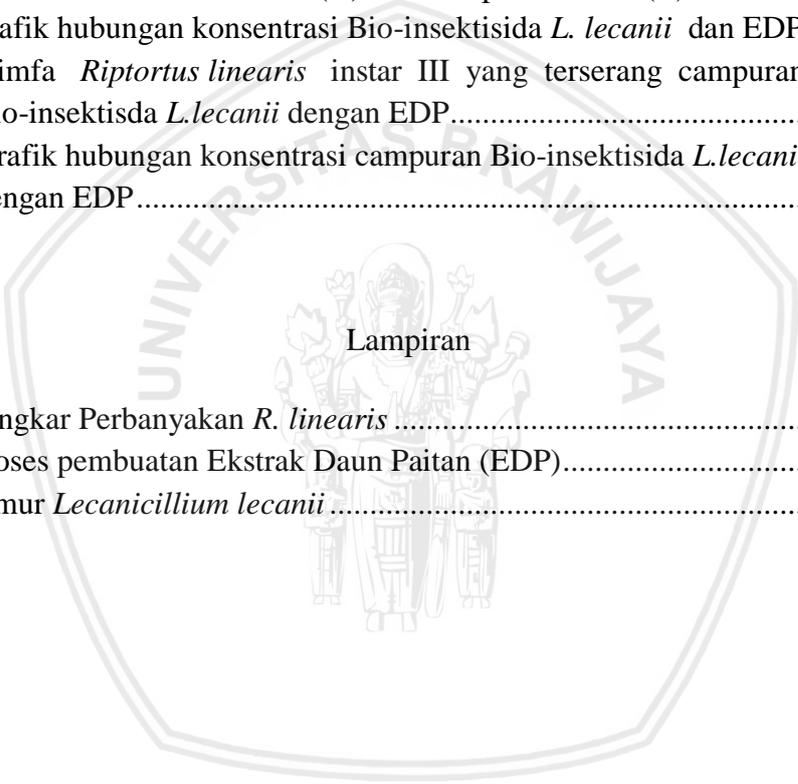
Nomor	Teks	Halaman
1.	Konsentrasi Bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	16
2.	Konsentrasi Ekstrak Daun Paitan	17
3.	Kombinasi Bioinsektisida jamur <i>L. lecanii</i> dan EDP.....	18
4.	Kategori nilai T	20
5.	Rata-rata Persentase Mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III setelah Aplikasi Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i>	23
6.	Rata-rata Persentase Mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III setelah aplikasi Ekstrak Daun Paitan (EDP)	25
7.	Estimasi nilai LC ₅₀ dan LC ₉₀ <i>L. lecanii</i> dan EDP terhadap nimfa <i>R.linearis</i> instar III	27
8.	Estimasi nilai LT ₅₀ Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> dan EDP terhadap nimfa <i>R.linearis</i> instar III	29
9.	Rerata diameter, sporulasi dan viabilitas koloni <i>L.lecanii</i> dengan EDP	31
10.	Hasil Uji Kompatibilitas Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> dengan EDP	34
11.	Rata-rata Persentase Mortalitas Hama <i>R. linearis</i> setelah campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP.....	35
12.	Estimasi nilai LC ₅₀ dan LC ₉₀ formulasi <i>L. lecanii</i> dan EDP ...	37
13.	Estimasi nilai LT ₅₀ Formulasi <i>L. lecanii</i> dan EDP terhadap <i>R. linearis</i> nimfa instar III	38
14.	Nilai Nisbah Sinergetik	39
Lampiran		
1.	Daftar nilai <i>sublethal</i> Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> dan EDP	49
2.	Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 24 JSA Bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	49
3.	Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 48 JSA Bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	49
4.	Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 72 JSA Bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	49
5.	Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 96 JSA Bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	50
6.	Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 24 JSA EDP	50



7. Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 48 JSA EDP	50
8. Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 72 JSA EDP	50
9. Analisis ragam mortalitas nimfa <i>R. linearis</i> instar III 96 JSA EDP	51
10. Analisis ragam pengaruh EDP terhadap diameter koloni <i>L. lecanii</i>	51
11. Analisis ragam pengaruh EDP terhadap sporulasi <i>L.lecanii</i>	51
12. Analisis ragam pengaruh EDP terhadap viabilitas spora <i>L.lecanii</i>	51
13. Analisis ragam mortalitas <i>R. linearis</i> 24 JSA campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	51
14. Analisis ragam mortalitas <i>R. linearis</i> 48 JSA campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	52
15. Analisis ragam mortalitas <i>R. linearis</i> 72 JSA campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	52
16. Analisis ragam mortalitas <i>R. linearis</i> 96 JSA campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	52
17. Kerapatan konidia bio-insektisida <i>L. lecanii</i>	52



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hama Penghisap Polong Kedelai <i>Riptortus linearis</i>	5
2.	Biologi Jamur <i>Lecanicillium lecanii</i>	7
3.	Tumbuhan Paitan	11
4.	Sangkar Perbanyakkan <i>R. linearis</i>	14
5.	Pengukuran Pertumbuhan Diameter <i>L.lecanii</i>	19
6.	Nimfa <i>R. linearis</i> instar III yang terserang <i>L. lecanii</i>	24
7.	Nimfa <i>R. linearis</i> instar III (A) setelah aplikasi EDP (B) Normal..	26
8.	Grafik hubungan konsentrasi Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> dan EDP.	28
9.	Nimfa <i>Riptortus linearis</i> instar III yang terserang campuran Bio-insektisida <i>L.lecanii</i> dengan EDP.....	36
10.	Grafik hubungan konsentrasi campuran Bio-insektisida <i>L.lecanii</i> dengan EDP.....	38
		
Lampiran		
1.	Sangkar Perbanyakkan <i>R. linearis</i>	53
2.	Proses pembuatan Ekstrak Daun Paitan (EDP).....	53
3.	Jamur <i>Lecanicillium lecanii</i>	53





I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hama penting yang menyerang tanaman kedelai salah satunya yakni hama pengisap polong *Riptortus linearis*. Hama penghisap polong *R. linearis* menyerang dengan cara menusukkan stilet ke kulit polong hingga mencapai biji, kemudian menghisap cairan pada biji (Sari dan Suharsono, 2011). *R. linearis* mulai menyerang pada fase pembentukan dan pertumbuhan polong sampai dengan fase pengisian biji. Serangan *R. linearis* menyebabkan polong menjadi kempis dan gugur, sedangkan biji menjadi keriput, hitam, membusuk, dan berlubang (Prayogo, 2009). Hama pengisap polong *R. linearis* memiliki tingkat serangan lebih tinggi dibandingkan dengan serangan pengisap polong lainnya. Persentase serangan *R. linearis* pada tanaman kedelai mencapai 81,36%, lebih besar dibandingkan serangan *Nezara viridula* yang mencapai 51,66% (Manurung *et al.*, 2016).

Pengendalian yang dilakukan oleh petani untuk mencegah kehilangan hasil akibat hama pengisap polong *R. linearis* yaitu dengan menggunakan pestisida sintesis. Lebih dari 90% petani masih menggunakan pestisida sintesis untuk pengendalian *R. linearis* dengan alasan, praktis dan hasilnya cepat diketahui (Marwoto, 2008). Namun penggunaan pestisida sintesis banyak menimbulkan masalah seperti resistensi hama, resurgensi hama, terbunuhnya serangga bukan sasaran, dan pencemaran lingkungan khususnya terhadap kesehatan manusia (Prayogo dan Suharsono, 2005). Oleh karena itu, diperlukan pengelolaan untuk menekan penggunaan pestisida sintesis dengan menerapkan pengendalian hama terpadu (PHT). Beberapa contoh komponen PHT yang dapat diterapkan yakni menggunakan agens hayati dan pestisida nabati sebagai bagian dari tindakan pengendalian (Sunarno, 2011).

Agens hayati merupakan mikroorganisme alami seperti bakteri, jamur, virus dan protozoa, maupun hasil rekayasa genetik (*genetically modified microorganism*) yang digunakan untuk mengendalikan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) (Amaria *et al.*, 2013). Salah satu pengendalian menggunakan agens hayati adalah jamur entomopatogen. Jamur entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) merupakan salah satu jenis agens hayati yang sudah diketahui

potensinya untuk mengendalikan berbagai jenis hama (Gindin *et al.*, 2000; Indriati *et al.*, 2015; Angelo *et al.*, 2010; Kurniawan, 2010; Indriati *et al.*, 2015). Penelitian mengenai penggunaan jamur entomopatogen *L.lecanii* dilaporkan mampu menggagalkan penetasan telur dan menginfeksi stadia nimfa maupun imago hama pengisap polong *R. linearis* (Prayogo *et al.*, 2005; Prayogo, 2009). Namun, ternyata penggunaan jamur *L. lecanii* didapatkan hasil yang kurang optimal ketika nimfa *R. linearis* mulai instar III. Aplikasi jamur *L. lecanii* secara tunggal terhadap nimfa instar III *R. linearis* hanya didapatkan nilai mortalitas sebesar 28% (Prayogo *et al.*, 2005).

Pestisida nabati merupakan pestisida yang berbahan dasar dari tumbuhan yang mudah ditemukan, mudah diaplikasikan, tidak menimbulkan residu kimia yang berbahaya (Fitriana *et al.*, 2012). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan nabati adalah tanaman paitan (*Titonia difersivolia*). Tanaman paitan mudah didapatkan karena tersebar luas di Indonesia dan merupakan tanaman semak yang mudah tumbuh. Kemampuan ekstrak daun paitan sebagai pestisida nabati sudah diketahui potensinya untuk mengendalikan berbagai jenis hama (Rohman, 2007; Osipitan dan Oseyemi, 2012; Juliani dan Yuliani, 2017; Widyastuti *et al.*, 2018). Ekstrak dari daun paitan mengandung beberapa senyawa toksik (tannin, flavonoid dan alkaloid) yang dapat mengakibatkan mortalitas suatu hama (Taofik *et al.*, 2010). Kandungan senyawa tersebut dapat mengganggu sistem pencernaan serta menghambat daya makan atau *antifeedant* serangga (Wardhana dan Diana, 2014). Senyawa daun paitan juga mampu menghambat sistem saraf yang dapat mengganggu aktivitas gerak dan sirkulasi tubuh serangga (Rohman, 2007). Namun, penggunaan pestisida nabati memiliki kekurangan yakni sifatnya mudah terurai dan bekerja lambat. Pestisida nabati memiliki daya kerja yang relatif lambat, sehingga aplikasinya harus lebih sering dilakukan. Dan umumnya pestisida nabati mempunyai tingkat toksisitas yang rendah sehingga tidak langsung mematikan hama sasaran (Wiratno *et al.*, 2013).

Solusi alternatif yang dipilih untuk meningkatkan efikasi pengendalian, yaitu mengkombinasikan dengan beberapa tindakan pengendalian dengan harapan terjadi efek sinergisme. Kombinasi beberapa pengendalian dengan tujuan untuk

memperoleh sinergisme agar efikasi pengendalian lebih meningkat sangat dianjurkan (Purwar dan Sachan, 2006). Sehingga, salah satu pilihan adalah mengkombinasikan antara agens hayati dan pestisida nabati. Dengan harapan, kombinasi keduanya dapat kompatibel dan sinergis sehingga meningkatkan efektivitas dalam pengendalian organisme pengganggu tanaman. Sebaliknya, apabila kombinasi keduanya menurunkan efektivitas, maka kombinasi tersebut dikategorikan bersifat antagonis (Cloyd, 2011). Efektivitas dari kombinasi antar jamur entomopatogen dengan pestisida nabati sudah banyak dibuktikan (Depieri *et al.*, 2005; Prayogo, 2011; Trizelia dan Rusdi, 2012; Astoni *et al.*, 2015 Indriyati *et al.*, 2016).

Penelitian Prayogo (2009) menunjukkan bahwa kombinasi antara jamur *L. lecanii* dengan insektisida nabati serbuk biji srikaya (*Annona squamosa*) SBS, serbuk biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) SBJ, dan daun pacar cina (*Aglaia odorata*) SDA bersifat sinergis karena mampu meningkatkan pertumbuhan diameter koloni *L. lecanii* secara *in vitro* dibandingkan dengan kombinasi beberapa jenis insektisida lain. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, perlu juga dilakukan penelitian mengenai pengaruh bio-insektisida *L. lecanii* dan pestisida nabati ekstrak daun paitan secara campuran (kombinasi) terhadap mortalitas *R. linearis*. Diharapkan pengkombinasian kedua bahan tersebut saat aplikasi dapat bersifat kompatibel dan sinergis sehingga meningkatkan efikasi pengendalian hama *R. linearis* dibandingkan aplikasi bio-insektisida *L. lecanii* dan ekstrak daun paitan (EDP) secara tunggal.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji:

1. Kompatibilitas campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan ekstrak daun paitan
2. Sinergisme campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan ekstrak daun paitan terhadap mortalitas *R. linearis*

1.3 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan ekstrak daun paitan dapat bersifat kompatibel dan sinergis

sehingga meningkatkan efikasi pengendalian hama *R.linearis* dibandingkan aplikasi bio-insektisida *L. lecanii* dan ekstrak daun paitan (EDP) secara tunggal.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu mendapatkan informasi kompatibilitas dan sinergisme EDP dengan bio-insektisida *L. lecanii* dan konsentrasi yang paling toksik terhadap *R. linearis*. Adanya informasi tersebut diharapkan dapat mengurangi ketergantungan dengan pestisida sintetis, sehingga dapat sebagai rekomendasi dalam pengendalian *R. linearis* yang ramah lingkungan.



II. TINJAUAN PUSTAKA

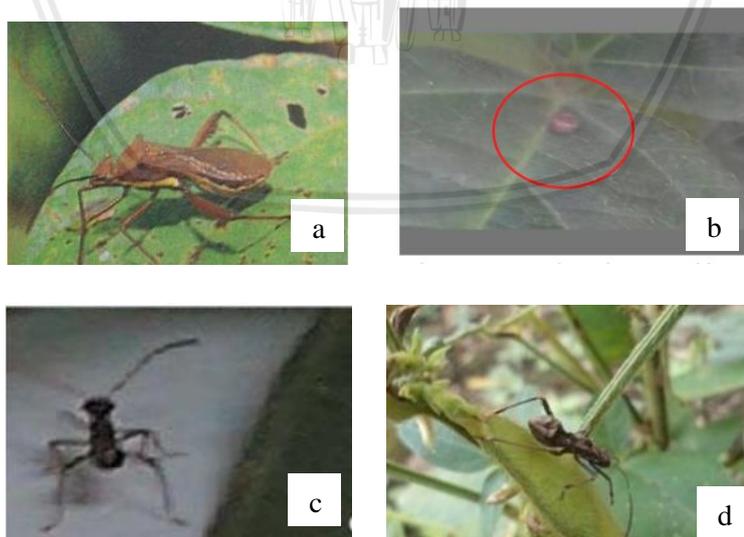
2.1 *R. linearis*

2.1.1 Klasifikasi *R. linearis*

Hama ini sering dikenal dengan sebutan kepik pengisap polong kedelai karena hama ini menyerang polong kedelai. Klasifikasi kepik pengisap polong kedelai yakni termasuk ke dalam Kingdom: Animalia, Phylum: Arthropoda, Kelas: Insekta, Ordo: Hemiptera, Famili: Alydidae, Genus: *Riptortus*, Spesies: *Riptortus linearis* (GBIF, 2014).

2.1.2 Biologi *R. linearis*

Siklus hidup *R. linearis* meliputi stadium telur, nimfa yang terdiri atas lima instar, dan stadium imago. Imago (Gambar 1a) memiliki badan yang panjang dan berwarna kuning kecoklatan dengan garis putih kekuningan di sepanjang sisi badannya. Imago datang pertama kali di pertanaman kedelai saat tanaman mulai berbunga dengan meletakkan telur satu per satu pada permukaan atas dan bawah daun. Seekor imago betina mampu bertelur hingga 70 butir selama 4-47 hari. Imago jantan dan betina dapat dibedakan dari bentuk perutnya, yaitu imago jantan ramping dengan panjang 11-13 mm dan betina agak gemuk dengan panjang 13-14 mm (Prayogo dan Suharsono, 2005).



Gambar 1. Hama Penghisap Polong Kedelai *R. linearis*; (a) imago, (b) telur (Ramadhanti *et al.*, 2016); (c) nimfa instar I, dan (d) nimfa instar V (Prayogo dan Suharsono, 2005).

Telur *R. linearis* berbentuk bulat dengan bagian tengah agak cekung, rata-rata berdiameter 1,20 mm. Telur berwarna biru keabuan kemudian berubah menjadi coklat (Gambar 1b). Setelah 6-7 hari telur menetas dan membentuk nimfa instar I selama 3 hari (Gambar 1c). Pada stadium nimfa *R. linearis* berganti kulit (*moulting*) lima kali. Setiap berganti kulit terlihat perbedaan bentuk, warna, ukuran, dan umur. Rata-rata panjang tubuh nimfa instar I adalah 2,60 mm, instar II 4,20 mm, instar III 6 mm, instar IV 7 mm, dan instar V 9,90 mm (Tengkano dan Dunuyaali 1976 dalam Prayogo dan Suharsono, 2005). Nimfa instar I memiliki umur 1-3 hari, umur instar II 2-4 hari, umur instar III 2-6 hari, umur instar IV 3-6 hari, umur instar V 5-8 hari. Nimfa maupun imago mampu menyebabkan kerusakan pada polong kedelai dengan cara menghisap cairan biji dalam polong dengan menusukkan stiletnya. Tingkat kerusakan akibat *R. linearis* bervariasi, tergantung pada tahap perkembangan polong dan biji. Tingkat kerusakan biji dipengaruhi oleh letak dan jumlah tusukan pada biji (Prayogo dan Suharsono, 2005).

Tingkat serangan masing-masing stadia dapat diamati berdasarkan tanda serangan. Serangan *R. linearis* pada fase pembentukan polong menyebabkan polong kering dan gugur. Serangan pada fase pertumbuhan polong dan perkembangan biji menyebabkan polong dan biji kempes kemudian polong mengering dan akhirnya gugur. Serangan pada fase pengisian biji menyebabkan biji berwarna hitam dan busuk, sedangkan pada fase pematangan polong mengakibatkan biji keriput. Serangan pada polong tua menjelang panen menyebabkan biji berlubang (Prayogo dan Suharsono, 2005). Tanda kerusakan akibat serangan pengisap polong adalah adanya bintik hitam pada biji atau kulit polong bagian dalam (Bayu dan Tengkano, 2014).

2.2 Jamur *L. lecanii*

2.2.1 Klasifikasi *L. lecanii*

Jamur *L. lecanii* pertama kali ditemukan pada tahun 1898 oleh Zimmermann dengan nama *Cephalosporium lecanii*. Berdasarkan studi kisaran inang tahun 1939, berubah nama menjadi *Verticillium lecanii*. Berdasarkan pengamatan morfologi dan analisis molekuler jamur tersebut hingga saat ini diberi nama *L. lecanii* (Indriati dan Kaherati, 2015). Klasifikasi menurut (Zare

dan Gams, 2001) adalah sebagai berikut: Kingdom : Fungi, Phylum : Ascomycota, Subphylum : Pezizomycotina, Kelas : Sordariomycetes, Ordo : Hypocreales, Famili : Clavicipitaceae, Genus : *Lecanicillium*, Spesies : *Lecanicillium lecanii*.

2.2.2 Biologi *L. lecanii*

Karakteristik *L. lecanii* adalah koloni jamur berwarna putih pucat dengan diameter 4,0-7,3 cm setelah 20 hari inokulasi pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Prayogo, 2009). Menurut Shinde *et al.* (2010), koloni jamur *L. lecanii* berwarna putih (Gambar 2a), berukuran 3,3 x 2,8 cm, tumbuh pada suhu 23 °C. Konidiofor berbentuk seperti fialid (*whorls*) seperti huruf V (Gambar 2b), setiap konidiofor memproduksi 5-10 konidia. Bentuk konidia berupa silinder hingga elips, terdiri dari satu sel, tidak berwarna (hialin), berukuran 1,9-2,2 x 5,0-6,1 µm. Hifa tidak berwarna (hialin) dengan diameter 2,8 µm (Feng *et al.*, 2002).



Gambar 2. Biologi Jamur *L. lecanii* ; koloni (a) (Shinde *et al.*, 2010), mikroskopis (b) (Sukarno *et al.*, 2009).

2.2.3 Mekanisme *L. lecanii*

Jamur *L. lecanii* menginfeksi inangnya dengan dua cara yaitu secara mekanik dan enzim hidrolitik untuk dapat menembus integumen serangga dan dinding sel jamur patogen (Goettel *et al.*, 2008). Umumnya jamur entomopatogen *L. lecanii* menginfeksi inang dengan konidia membentuk tabung kecambah untuk menembus kutikula, atau berkecambah di atas permukaan kutikula. Tabung kecambah yang terbentuk akan berkembang membentuk apresorium yang berfungsi untuk menempelkan organ infeksi pada permukaan inang. Tabung kecambah yang terbentuk dengan cepat dan memiliki ukuran yang besar diduga akan semakin besar pula peluang inang dapat dipenetrasi oleh jamur karena permukaan inang lebih cepat dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur (Prayogo, 2009). Enzim ekstraselular yang dihasilkan jamur *L. lecanii* adalah

protease, lipase, amilase, dan kitinase yang berfungsi sebagai perombak struktur dinding sel yang tersusun dari protein, lemak, karbohidrat, dan kitin (Wang *et al.*, 2005).

Jamur entomopatogen *L. lecanii* mematikan inang/serangga dengan cara mencerna jaringan sebagai sumber nutrisi menghasilkan zat beracun/toksin yang berperan dalam mematikan inang/serangga (Khaerati dan Gusti, 2015). Serangga juga mengembangkan sistem pertahanan diri dengan cara fagositosis atau enkapsulasi dengan membentuk granuloma (Shinde *et al.*, 2010). Pada waktu serangga mati, fase perkembangan saprofit jamur dimulai dengan cara menyerang jaringan dan berakhir dengan pembentukan organ reproduksi baru kemudian menyebar ke seluruh tubuh serangga (Prayogo dan Suharsono, 2005).

Aktivitas serangga yang terinfeksi jamur entomopatogen mengalami penurunan bahkan nafsu makan juga berhenti karena sistem saraf serangga terganggu (Gindin *et al.*, 2000). Saraf serangga memegang peranan sangat penting dalam mengatur semua proses aktivitas, serangga yang mengalami gangguan sistem sarafnya akan mengacaukan semua perilaku termasuk dalam memenuhi kebutuhan makan. Umumnya semua jaringan dalam tubuh serangga dan cairan tubuh habis digunakan oleh jamur, sehingga serangga mati dengan tubuh yang mengeras. Pertumbuhan jamur diikuti dengan pengeluaran pigmen atau toksin yang dapat melindungi serangga dari serangan mikroorganisme lain, terutama bakteri. Aplikasi jamur entomopatogen *L. lecanii* pada serangga ada yang tidak dapat menunjukkan gejala mumifikasi, namun ada juga yang muncul miselia atau konidia berwarna putih mulai menembus kutikula keluar tubuh serangga, kemudian berkembang dan akhirnya menutupi seluruh tubuh serangga (Khaerati dan Gusti, 2015). Serangga yang mati tidak selalu disertai gejala pertumbuhan spora. Apabila keadaan kurang mendukung perkembangan saprofit maka pertumbuhan hanya berlangsung di dalam tubuh serangga. Oleh karena itu, jamur membentuk struktur khusus yang dapat bertahan yaitu arthrospora (Santoso, 1993 dalam Ladjaja *et al.*, 2011).

2.3 Pestisida

Peraturan Pemerintah N0.7 tahun 1973 menyatakan, yang dimaksud dengan pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang

digunakan untuk mengendalikan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) serta serangga, tikus, fungi dan gulma, memberantas rerumputan, mencegah hama-hama, binatang-binatang yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Pestisida adalah semua bahan yang dapat mempengaruhi kehidupan organisme kehidupan mikroorganisme, atau pestisida adalah semua bahan-bahan racun yang digunakan untuk membunuh jasad hidup yang mengganggu tumbuhan, ternak dan sebagainya yang diusahakan manusia untuk kesejahteraan hidupnya (Dadang 2006).

2.3.1 Mekanisme Kerja Pestisida

Mekanisme kerja pestisida dibagi menjadi 2 yakni sebagai berikut:

a. Cara Kerja (*Mode of Action*) Pestisida

Cara kerja atau *Mode of Action* adalah kemampuan pestisida dalam mematikan hama atau penyakit sasaran menurut cara masuknya bahan beracun ke jasad hama atau penyakit sasaran dan menurut sifat bahan kimia tersebut (Hudayya dan Hadis, 2012). Berdasarkan cara kerja, pestisida dikelompokkan menjadi (Dadang, 2006):

- Kelompok IGR, mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan
- Racun saraf, biasanya mengganggu fungsi saraf sehingga kematian cepat terjadi.
- Mempengaruhi fungsi enzim
- Mempengaruhi tingkah laku

b. Cara Masuk (*Mode of Entry*) Pestisida

Berdasarkan cara masuk, pestisida dikelompokkan menjadi (Dadang, 2006):

- Racun kontak, yaitu senyawa/bahan aktif yang masuk kedalam tubuh serangga melalui dinding sel atau kutikula
- Racun perut, artinya senyawa/bahan aktif yang masuk kedalam bagian tubuh serangga melalui proses makan dan masuk ketubuh melalui pencernaan.
- Racun sistemik, yaitu senyawa/bahan aktif terserap oleh tanaman lalu ditransportasikan ke seluruh jaringan tanaman, kemudian bagian tanaman yang di makan oleh serangga

- Fumigan, yaitu senyawa/bahan aktif masuk kedalam tubuh sasaran melalui sistem pernapasan.

2.3.2 Toksisitas Pestisida

Toksisitas adalah suatu kemampuan yang digunakan untuk melekatkan suatu bahan kimia sehingga dapat mengakibatkan “keracunan/kerusakan” pada makhluk hidup. Toksisitas suatu zat biasanya dinyatakan dalam suatu nilai yang dikenal sebagai dosis atau konsentrasi mematikan pada hama yang biasa disebut dengan *lethal dose* (LD) dan *lethal concentration* (LC) (Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2012).

LD₅₀ merupakan dosis yang diperlukan suatu zat untuk mematikan 50% hama uji yang dinyatakan dalam mg suatu insektisida per kg berat badan hama (mg/kg bb) (Mfarrej dan Fatimetou, 2019). LC₅₀ adalah konsentrasi suatu insektisida (biasanya dalam makanan, udara atau air) untuk mematikan 50% hewan coba) (Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2012). Ada dua macam LD₅₀ yaitu LD_{50 oral} dan LD_{50 dermal}. LD_{50 oral} adalah kematian suatu serangga uji sebab racun makan dan LD_{50 dermal} adalah kematian serangga uji sebab keracunan melalui kontak kulit (Taofik *et al.*, 2010). Apabila dalam suatu uji nilai LC₅₀ yang diperoleh terlalu tinggi maka dapat menimbulkan fitotoksik pada tumbuhan sehingga dapat dianggap tidak efektif. Sebaliknya, apabila nilai LC₅₀ yang diperoleh rendah maka dianggap efektif. Semakin rendah nilai LC₅₀ maka semakin tinggi toksisitas insektisida tersebut (Rusli *et al.*, 2010).

2.3.3 Pestisida Nabati

Pestisida nabati merupakan pestisida yang berbahan dasar dari tumbuhan yang mudah ditemukan, mudah diaplikasikan, tidak menimbulkan residu kimia yang berbahaya (Fitriana *et al.*, 2012). Lebih dari 1500 jenis tumbuhan di dunia diketahui dapat digunakan sebagai pestisida nabati. Indonesia memiliki banyak jenis tumbuhan penghasil pestisida nabati. Bahan dasar pestisida alami ini bisa ditemui di beberapa jenis tanaman, dimana zat yang terkandung di masing-masing tanaman memiliki fungsi berbeda ketika berperan sebagai pestisida. Pestisida nabati dapat berfungsi sebagai penghambat nafsu makan (*anti feedant*), penolak (*repellent*), penarik (*antractant*), menghambat perkembangan, menurunkan kepiridian, mortalitas, dan mencegah peletakan telur (Setiawati *et al.*, 2008).

Pestisida nabati memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dari pestisida nabati adalah: (1) Degradasi atau penguraian yang cepat oleh sinar matahari (2) Memiliki pengaruh yang cepat, yaitu menghentikan nafsu makan serangga walaupun jarang menyebabkan kematian (3) Toksisitasnya umumnya rendah terhadap binatang dan relatif lebih aman pada manusia dan lingkungan (4) Memiliki spektrum pengendalian yang luas (racun lambung dan saraf) (5) Fitotoksisitas rendah, yaitu tidak meracuni dan merusak tanaman dan (6) Murah dan mudah dibuat oleh petani. Sedangkan kekurangan dari pestisida nabati adalah: (1) Cepat terurai dan kerjanya relatif lambat sehingga aplikasinya harus lebih sering (2) Daya racunnya rendah (tidak langsung mematikan serangga) (3) Produksinya belum dapat dilakukan dalam jumlah besar karena keterbatasan bahan baku (4) Kurang praktis dan (5) Tidak tahan disimpan (Sinaga, 2009).

2.4 Paitan (*T. diversifolia*)

2.4.1 Klasifikasi Tumbuhan Paitan

Tumbuhan paitan diklasifikasikan dalam Filum: Spermatophyta, Sub Filum: Angiospermae, Kelas: Dicotyledonae, Ordo: Asterales, Famili: Asteracea, Genus: *Tithonia*, spesies: *Tithonia diversifolia* (Hemsley) (Tjitrosoepomo, 1988).

2.4.2 Morfologi Tumbuhan Paitan



Gambar 3. Tumbuhan Paitan (Kandungu *et al.*, 2013)

Tumbuhan paitan (*T. diversifolia*) merupakan tumbuhan perdu yang tegak dengan tinggi lebih kurang ± 5 m. Tumbuhan paitan mulai berbunga pada akhir musim hujan. Banyak ditemukan pada lahan terbuka, lahan kosong yang tidak dipergunakan, tumbuh di sekitar lahan pertanian, disekitar rumah dan disepanjang tepi jalan. Batang tegak, bulat, berkayu hijau. Daunnya tunggal, berseling, panjang 26-32 cm, lebar 15-25 cm, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, hijau. Bunga merupakan bunga majemuk, di ujung ranting, tangkai

bulat, kelopak bentuk tabung, berbulu halus, hijau, mahkota lepas, bentuk pita, halus, kuning, benang sari bulat, kuning, putik melengkung, kuning. Buahnya bulat, jika masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat. Bijinya bulat, keras, dan berwarna coklat. Akarnya berupa akar tunggang berwarna putih kotor (Kandungu *et al.*, 2013).

2.4.3 Kandungan Senyawa

Paitan termasuk salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa beracun bagi serangga. Kandungan senyawa pada daun paitan yaitu alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan terpenoid (Odeyemi, 2014). Kandungan senyawa tersebut dapat mengganggu sistem pencernaan serta menghambat daya makan atau *antifeedant* bagi serangga (Wardhana dan Diana, 2014). Selain menghambat sistem pencernaan kandungan senyawa pada paitan juga mampu menghambat sistem saraf. Hal ini dapat mengganggu aktifitas gerak dan sirkulasi tubuh juga akan terganggu, akibatnya serangga yang terkena akan mati (Rohman, 2007).

Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan paitan dari golongan terpenoid yakni *sesquiterpene lactone* yang bersifat racun bagi serangga. Senyawa ini termasuk monoterpen yang berperan penting dalam pertahanan tumbuhan terhadap serangga atau patogen lainnya. Kandungan senyawa *sesquiterpene lactone* bersifat *antifeedant*, *repellent* dan dapat menghambat perkembangan serangga (Afifa *et al.* 2015). Senyawa yang terkandung dalam paitan berfungsi sebagai penolak serangga untuk makan sehingga menyebabkan serangga akan mati kelaparan. Cara masuk ke dalam tubuh serangga dari pestisida nabati paitan yakni dapat secara kontak maupun racun perut (oral). Senyawa flavonoid dalam filtrat daun paitan dapat menghambat pertumbuhan serangga, seperti mencegah pergerakan serangga dan menghambat metamorfosis yang diakibatkan tidak berkembangnya hormon otak, hormon edikson dan hormon pertumbuhan (Afifa *et al.* 2015). Ekstrak air daun paitan memiliki tingkat toksisitas terhadap hama tungau Eriophyidae, yang ditunjukkan dengan nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm. Nilai LC_{50} masing-masing perlakuan adalah 3,9163 ppm, 3,1784 ppm dan 2,2922 ppm, sehingga yang memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap hama tungau Eriophyidae adalah 2,2922 ppm, yaitu pada perlakuan selama 72 jam (Taofik *et al.*, 2010). Ekstrak air daun paitan pada konsentrasi 4 mg/l bersifat toksik terhadap

kutu putih sebagai racun kontak dengan nilai LC_{50} 3,192 mg/l dan LT_{50} 4,169 hari (Widyastuti *et al.*, 2018). Dalam ekstrak daun paitan terdapat 3 senyawa utama, yakni: Asam Heksadekanoat, Asam Linoleat dan Phytol yang ketiganya memiliki efek insektisida (Arneti, 2006).



III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Toksikologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan bulan Januari sampai bulan April 2019.

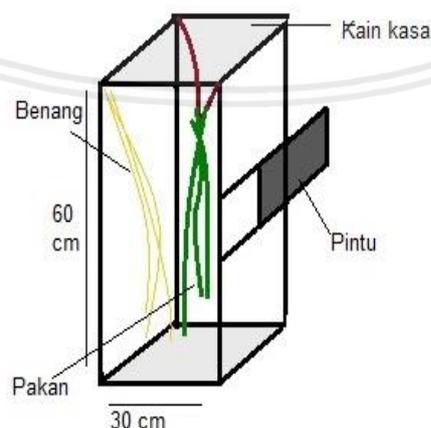
3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri kaca ($d = 8\text{cm}$), Bunsen, autoklaf, mikroskop stereo, mikroskop kompon, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *haemocytometer*, gelas ukur ($V = 100\text{ml}$), pipet tetes, mikropipet, jarum Ose, stik L, sentrifuge, tabung reaksi, *object glass*, *cover glass*, penggaris, alat tulis, kuas, *orbital shaker*, *roraty evaporator*, kertas saring, kain kasa, timbangan analitik, gelas ukur, gunting, gelas erlenmeyer ($V=250\text{ ml}$), corong, *handsprayer*, pinset, gunting, botol kaca, mikropipet, blender, kertas label, tisu, dan kamera digital.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu bio-insektisida *L. lecanii*, daun paitan, methanol 70%, aquades, minyak tween 80, alkohol 96%, spirtus, media *Sabroust Dekstrose Agar Yeast* (SDAY) yang meliputi pepton, gula dekstrose, agar, *yeast*, kloramfenikol dan serangga uji *R. linearis*.

3.3 Persiapan penelitian

3.3.1 Perbanyak R. linearis



Gambar 1. Sangkar Perbanyak *R. linearis*

Imago *R. linearis* didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI) Kec. Pakisaji, Kota Malang, Jawa

Timur. Imago *R. linearis* dari lapang selanjutnya dikembangbiakkan dengan cara dimasukkan dalam sangkar yang terbuat dari kertas karton dengan ukuran panjang dan lebar 30 cm serta tinggi 60 cm. *R. linearis* diberi pakan kacang panjang dan setiap dua hari pakan diganti dengan pakan yang baru. Pada bagian dinding didalam sangkar diselipkan benang halus yang berfungsi sebagai tempat peletakkan telur oleh imago betina.

3.3.2 Bio-insektisida *L. lecanii*

Bio-insektisida *L.lecanii* diperoleh dari Laboratorium Kasembon, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Dengan kerapatan jamur 10^8 cfu/ml.

3.3.3 Pembuatan Media SDAY

Pembuatan media *Sabouraud Deksrosa Agar Yeast* (SDAY) sebanyak 1 liter dibutuhkan bahan yaitu 1 liter akuades, 40 gram dektrose, 10 gram pepton, 20 gram agar, 2,5 gram ragi/*yeast*, dan 0,6 gram kloramfenikol. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter akuades dengan suhu lebih kurang 80°C kecuali kloramfenikol, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C , 1 atm, selama 60 menit (Trizelia dan Rusli, 2012). Kemudian setelah proses autoklaf selesai ditambahkan 0,6 gram kloramfenikol.

3.3.4 Pembuatan Ekstrak Daun Paitan

Daun paitan yang digunakan pada penelitian berasal dari kota Malang, Jawa Timur. Daun dicuci bersih dan dikering anginkan selama 10 hari. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak, kemudian serbuk dimasukkan dalam botol Erlenmeyer dan dimaserasi dengan pelarut metanol dengan perbandingan berat bahan dan pelarut 1:4 (Tohir, 2010). Simplisia yang telah direndam, dikocok dengan alat *orbital shaker* selama 24 jam. Ekstrak hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring, selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu $60-70^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam (Wardhana dan Diana, 2014).

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Uji Daya Racun Bio-Insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan secara Tunggal

Pengujian daya racun Bio-Insektisida *L.lecanii* dan ekstrak daun paitan secara tunggal pada *R.linearis* dimaksudkan untuk mengetahui nilai LC_{50} masing-

masing sebelum dilakukan uji campuran. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK).

a. Pengujian Daya Racun Bio-Insektisida *L. lecanii*

Pengujian dilakukan pada nimfa *R. linearis* instar III dengan menggunakan metode semprot. Sebanyak 20 nimfa instar III *R. linearis* disemprot dengan suspensi *L. lecanii* pada sangkar perlakuan. Sebelum pengaplikasian, terlebih dahulu dilakukan metode kalibrasi untuk mengetahui volume semprot. Kerapatan bio-insektisida *L. lecanii* yang digunakan yakni 10^8 dengan 6 perlakuan yang terdiri dari 5 konsentrasi Bio-insektisida *L. lecanii*, 1 kontrol, 4 ulangan dan ditambahkan perekat agristik sebanyak 0,5 ml/L. Untuk perlakuan kontrol digunakan akuades yang ditambahkan dengan perekat sebanyak 0,5 ml/L. Perlakuan dalam pengujian mengacu pada konsentrasi rekomendasi yang tertera pada label kemasan (5000 ppm), yang kemudian dari konsentrasi tersebut ditentukan kelipatannya agar memperoleh perbedaan yang signifikan.

Tabel 1. Konsentrasi bio-insektisida *L. lecanii*

Kode Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Perlakuan
A0	0	Kontrol (akuades+perekat)
A1	1000	Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> +perekat
A2	2000	Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> +perekat
A3	3000	Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> +perekat
A4	4000	Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> +perekat
A5	5000	Bio-insektisida <i>L. lecanii</i> +perekat

b. Pengujian Daya Racun Ekstrak Daun Paitan (EDP)

Pengujian daya racun EDP dilakukan sama dengan metode pengujian daya racun untuk jamur *L. lecanii*. Pengujian dilakukan pada nimfa *R. linearis* instar III dengan menggunakan metode semprot. Sebanyak 20 nimfa instar III *R. linearis* disemprot dengan suspensi EDP pada sangkar perlakuan. Sebelum pengaplikasian, terlebih dahulu dilakukan metode kalibrasi untuk mengetahui volume semprot. Terdapat 6 perlakuan yang digunakan yakni, 5 konsentrasi EDP, 1 kontrol dan 4 kali ulangan, serta ditambahkan perekat sebanyak 0,5 ml/L. Perlakuan kontrol dilakukan dengan penyemprotan akuades dan ditambahkan perekat. Penentuan konsentrasi EDP mengacu pada hasil penelitian sebelumnya,

yakni penelitian Taofik *et al.* (2010), penelitian Hendra *et al.* (2013), penelitian Widyastuti *et al.* (2018).

Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak Daun Paitan

Kode Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Perlakuan
B0	0	Kontrol (akuades+perekat)
B1	1000	Ekstrak Daun Paitan+perekat
B2	2000	Ekstrak Daun Paitan+perekat
B3	3000	Ekstrak Daun Paitan+perekat
B4	4000	Ekstrak Daun Paitan+perekat
B5	5000	Ekstrak Daun Paitan+perekat

Pada uji daya racun, variabel pengamatan yakni Mortalitas *R.linearis*.

Mortalitas *R. Linearis*. Pengamatan mortalitas dilakukan setiap 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Presentase kematian serangga dihitung dengan rumus Rustama *et al.* (2008) sebagai berikut:

$$M = \frac{n}{N} \times 100\%$$

yang M adalah mortalitas serangga (%), n adalah serangga yang mati (ekor) dan N adalah jumlah serangga yang diuji .

Apabila terdapat kematian pada kontrol (dengan syarat kematian tidak lebih dari 20%) maka perhitungan persen koreksi kematian menggunakan rumus Abbott (1987):

$$MT = \frac{x - y}{x} \times 100\%$$

yang MT adalah mortalitas koreksi dalam persen (%), x adalah persentase serangga hidup pada kontrol, sedangkan y persentase serangga hidup pada perlakuan.

3.4.2 Uji Campuran Bio-Insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan

a. Uji Kompatibilitas Campuran Bio-Insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan

Pengujian kompatibilitas dilakukan dengan mengkombinasikan bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP. Konsentrasi masing-masing campuran yang diuji adalah konsentrasi *sublethal* atau nilai dibawah LC₅₀ dari ekstrak daun

paitan dan bio-insektisida *L. lecanii* yang diperoleh dari pengujian daya racun secara tunggal.

Tabel 3. Kombinasi bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP

Kode Perlakuan	Kombinasi Perlakuan
AB0	Kontrol (akuades+perekat)
AB1	LC ₂₅ Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> + LC ₁₀ EDP (+perekat)
AB2	LC ₂₅ Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> + LC ₂₀ EDP (+perekat)
AB3	LC ₂₅ Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> + LC ₃₀ EDP (+perekat)
AB4	LC ₂₅ Bio-Insektisida <i>L. lecanii</i> + LC ₄₀ EDP (+perekat)

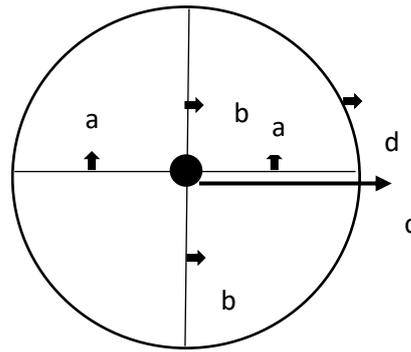
Uji kompatibilitas jamur *L.lecanii* dan EDP dilakukan secara *in vitro* dengan teknik peracunan media. Media SDAY dicampur dengan EDP sesuai konsentrasi perlakuan dengan perbandingan volume 3:1 kemudian diaduk rata. Kemudian suspensi bio-Insektisida *L. lecanii* dengan konsentrasi LC₂₅ diinokulasikan pada media tersebut dengan cara mencelupkan kertas saring ke dalam bio-insektisida *L.lecanii*. Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 ulangan.

Pada uji kompatibilitas ini terdapat beberapa variabel pengamatan, yaitu pertumbuhan vegetatif, jumlah konidia yang dihasilkan dan jumlah konidia yang berkecambah dari *L. lecanii* yang dijelaskan dibawah ini.

Pertumbuhan Diameter Koloni Jamur *L. lecanii*. Pengamatan pertumbuhan vegetatif jamur dilakukan dengan menghitung diameter pertumbuhan koloni pada hari ke 6 setelah perlakuan menggunakan penggaris. Perhitungan diameter koloni jamur dilakukan dengan membuat garis vertikal dan horizontal pada cawan Petri menggunakan spidol permanen. Pada kedua garis tersebut dibuat titik potong tepat di tengah cawan Petri (Gambar 9). Pengukuran diameter jamur pada cawan Petri menggunakan rumus Indriyati (2009), sebagai berikut:

$$D = \frac{d1 + d2}{2}$$

yang D adalah diameter jamur *L.lecanii*, d1 adalah diameter vertikal jamur *L.lecanii*, sedangkan d2 adalah diameter horizontal jamur *L.lecanii*.



Gambar 2. Pengukuran Pertumbuhan Diameter *L.lecanii*. a: Diameter Horizontal, b: Diameter Vertikal, c: Titik Tengah, d: Cawan Petri

Jumlah Konidia atau Sporulasi. Pengamatan jumlah konidia dilakukan dengan menghitung jumlah konidia setelah perlakuan. Penghitungan konidia dilakukan dengan cara memanen spora pada cawan Petri dengan menambahkan 2% minyak tween 80 sebanyak 2 tetes yang diratakan pada seluruh permukaan cawan Petri dengan menggunakan stik L. Suspensi yang berisi konidia pada cawan petri diambil menggunakan mikropipet yang selanjutnya dihitung menggunakan *haemocytometer* pada mikroskop binokuler dengan nilai perbesaran 400 kali. Konidia yang dihitung yakni pada 5 kotak contoh sampel. Setiap satu kotak sampel terdapat 16 kotak kecil, sehingga terdapat 80 kotak yang diamati (Herlinda *et al.*, 2006; Astoni *et al.*, 2015). Hasil dari pengamatan jumlah konidia dijumlahkan dan dihitung berdasarkan metode perhitungan dari Herlinda *et al.* (2006), sebagai berikut:

$$C = \frac{t}{(n \times 0,25)} \times 10^6$$

yang C adalah kerapatan konidia per ml larutan, t adalah jumlah total konidia dalam kotak sampel yang diamati, n adalah jumlah kotak sampel (5 kotak besar dikalikan 16 kotak kecil), dan 0,25 adalah faktor koreksi kotak sampel skala kecil pada *haemocytometer*

Jumlah Konidia Berkecambah atau Viabilitas. Pengamatan jumlah konidia yang berkecambah dilakukan dengan menghitung jumlah konidia yang berkecambah setelah perlakuan. Penghitungan jumlah konida yang berkecambah dilakukan dengan cara penginkubasian jamur *L. lecanii* sesuai perlakuan yang diletakkan diatas kaca preparat dan ditutup dengan kaca penutup objek. Menurut

Trizelia dan Rusli (2012), menyatakan bahwa spora yang dinyatakan berkecambah apabila panjang tabung kecambah telah melebihi diameter spora. Pengamatan jumlah konidia dilakukan menggunakan mikroskop binokuler dengan nilai perbesaran 400 kali kemudian presentase perkecambahan konidia dihitung menggunakan rumus Gabriel dan Riyanto (1989), sebagai berikut:

$$V = \frac{G}{(G + U)} \times 100\%$$

yang V adalah presentase konidia yang berkecambah, G adalah jumlah konidia yang berkecambah dan U adalah jumlah konidia yang tidak berkecambah.

Perhitungan Nilai Kompatibilitas. Perhitungan nilai kompatibilitas dilakukan berdasarkan pertumbuhan vegetatif jamur *L. lecanii* dengan cara mengukur lebarnya diameter koloni (cm) dan menghitung banyaknya jumlah konidia jamur *L. lecanii*. Nilai pertumbuhan koloni dan jumlah konidia jamur *L. lecanii* kemudian dimasukkan ke dalam rumus T dari Depieri *et al.* (2005), sebagai berikut:

$$T = \frac{20(PV) + 80(PS)}{100}$$

yang T adalah nilai kompatibilitas, PV adalah nilai relatif pertumbuhan vegetatif (koloni jamur) perlakuan dibandingkan dengan kontrol dan PS adalah nilai relatif sporulasi perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Nilai T dibagi kedalam kategori berikut (Tabel 4).

Tabel 4. Kategori nilai T

Nilai T	Kategori
0-30	Sangat toksik
31-45	Toksik
46-50	Sedang
>60	Kompatibel

b. Uji Daya Racun Bio-Insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan secara campuran

Pada uji daya racun campuran ini digunakan hasil uji kompatibilitas yang menunjukkan kategori kompatibel, kemudian dibuat kombinasi *L. lecanii* dan EDP. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui nilai LC₅₀ dari kombinasi

campuran. Konsentrasi yang diuji untuk mencari LC₅₀ yaitu 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, 4000 ppm, 5000 ppm. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprot larutan menggunakan *hand sprayer* terhadap serangga uji (*R. linearis* instar III) dengan campuran Bio-Insektisida *L.lecanii* dan EDP sesuai perlakuan pada sangkar pelakuan. Sebelum pengaplikasian, terlebih dahulu dilakukan metode kalibrasi untuk mengetahui volume semprot yang digunakan.

Pada pengujian ini variabel pengamatan yakni :

Mortalitas *R. Linearis*. Pengamatan mortalitas dilakukan setiap 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Presentase kematian serangga dihitung dengan rumus Rustama *et al.* (2008), sebagai berikut:

$$M = \frac{n}{N} \times 100\%$$

yang M adalah mortalitas serangga (%), n adalah serangga yang mati (ekor) dan N adalah jumlah serangga yang diuji .

Apabila terdapat kematian pada kontrol (dengan syarat kematian tidak lebih dari 20%) maka perhitungan persen koreksi kematian menggunakan rumus Abbott (1987):

$$MT = \frac{x - y}{x} \times 100\%$$

yang MT adalah mortalitas koreksi dalam persen (%), x adalah persentase serangga hidup pada kontrol, sedangkan y persentase serangga hidup pada perlakuan

Nisbah Sinergistik. Data hasil LC₅₀ dari insektisida tunggal maupun campuran dapat dilakukan perhitungan Nisbah Sinergistik (NS) untuk mengetahui hubungan sinergisme dari kedua campuran insektisida tersebut. Berikut perhitungan Nisbah Sinergistik (NS) dihitung dengan menggunakan rumus Hamilton dan Attia (1977):

$$NS = \frac{LC_{50} \text{ insektisida tunggal}}{LC_{50} \text{ insektisida campuran}}$$

Apabila NS>1 maka campuran mempunyai efek sinergistik, NS=1 maka Netral (tidak mempunyai efek sinergistik), sedangkan NS<1 maka campuran mempunyai efek antagonistik.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan analisis sidik ragam (ANOVA), jika respon perlakuan berpengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Selanjutnya data persentase mortalitas serangga yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Probit dengan bantuan software Hsin Chi.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Serangkaian penelitian tentang pengujian kombinasi bio-insektisida *L.lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan (EDP) terhadap *R. linearis* telah dilakukan di laboratorium Toksikologi Pestisida Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Berikut merupakan hasil dan pembahasannya.

4.1 Pengaruh Bio-insektisida *L. lecanii* dan Pestisida Nabati Ekstrak Daun Paitan secara Tunggal terhadap *R. linearis*

a. Aktivitas Bio-insektisida *L. lecanii* terhadap Mortalitas *R. linearis*

Hasil pengujian aktivitas bio-insektisida *L. lecanii* terhadap mortalitas *R. linearis* menunjukkan bahwa perlakuan aplikasi berbagai konsentrasi memberikan pengaruh nyata terhadap mortalitas *R. linearis* (Tabel Lampiran 2-6). Rata-rata persentase mortalitas *R. linearis* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 1. Rata-rata persentase mortalitas nimfa *R. Linearis* instar III setelah aplikasi bio-Insektisida *L. lecanii*

Perlakuan (ppm)	Mortalitas (%)			
	24 JSA ± SB	48 JSA ± SB	72 JSA ± SB	96 JSA ± SB
1000	5 ± 0,00 a	10 ± 0,00 a	13,75 ± 2,50 a	18,75 ± 2,50 a
2000	5 ± 0,00 a	11,25 ± 2,50 a	16,25 ± 2,50 a	22,5 ± 2,89 a
3000	15 ± 0,00 b	23,75 ± 2,50 b	30 ± 0,00 b	35 ± 0,00 b
4000	15 ± 4,08 b	30 ± 7,07 c	38,75 ± 9,46 c	46,25 ± 8,54 c
5000	21,25 ± 2,50 c	38,75 ± 2,50 d	50 ± 4,08 d	60 ± 4,08 d

Keterangan : JSA : Jam Setelah Aplikasi; ppm : *Part per Million*; SB : Simpangan Baku

Pengamatan 24 JSA pada berbagai tingkat konsentrasi bio-insektisida *L.lecanii*, perlakuan 5000 ppm memperlihatkan mortalitas yang paling tinggi yakni sebesar 21,25%. Hasil pengamatan pada Tabel 5 menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan mortalitas tertinggi pada pengamatan 24 - 96 JSA terdapat pada perlakuan 5000 ppm dengan nilai sebesar 60%. Tingkat mortalitas akibat aplikasi bio-insektisida *L. lecanii* meningkat secara linier mengikuti tingkat konsentrasi bio-insektisida *L. lecanii* yang diujikan dalam penelitian. Hal tersebut disebabkan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin tinggi pula jumlah konidia pada perlakuan (Lampiran 17), sehingga kemungkinan konidia

yang menempel dan berkecambah di permukaan tubuh *R. linearis* juga tinggi. Menurut Prayogo (2009), menyatakan bahwa Jamur *L. lecanii* menginfeksi inang dengan cara, konidia membentuk tabung kecambah untuk menembus kutikula, atau berkecambah di atas permukaan kutikula. Selanjutnya penetrasi melalui integumen, akan merusak fisiologis *R. linearis* karena permukaan inang lebih cepat dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur dan menyebabkan kematian. Menurut Rustama *et al.* (2008), semakin banyak konidia yang melekat pada kutikula serangga, maka semakin banyak pula konidia yang melakukan penetrasi terhadap kutikula.



Gambar 1. Nimfa *R. linearis* instar III yang terserang *L. lecanii* (A) Dokumentasi Pribadi (B) Prayogo (2009)

Gejala yang ditimbulkan akibat pengaplikasian bio-insektisida terhadap nimfa *R. linearis* instar III yakni pertama-tama serangga mengalami perubahan tingkah laku dan cenderung kurang aktif bergerak, selanjutnya saat disentuh menggunakan kuas, serangga tidak bergerak mati. Hal ini disebabkan jamur *L. lecanii* mematikan inang/serangga dengan cara mencerna jaringan sebagai sumber nutrisi dan menghasilkan zat beracun/toksin yang berperan dalam mematikan inang/serangga. Menurut Vey *et al.* 2001 (*dalam* Khaerati dan Indriati 2015), beberapa jenis toksin yang diproduksi oleh jamur *L. lecanii* yakni *dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid*, dan *cyclosporin*.

Gejala yang lain akibat pengaplikasian bio-insektisida *L. lecanii* yakni permukaan tubuh serangga yang sudah mati ditumbuhi miselium berwarna putih pucat dan halus. Hal ini disebabkan sejumlah hifa dan konidia yang masuk ke dalam tubuh serangga akan berkembang dan memperbanyak diri dengan cara menyerap cairan tubuh serangga. Menurut Yeo 2000 (*dalam* Khaerati dan Indriati

2015), menyatakan bahwa setelah nutrisi atau cairan inang habis, hifa akan berdiferensiasi memanjang keluar dari tubuh serangga dan membentuk kumpulan miselium diatas permukaan integumen, sehingga mengakibatkan kematian pada inang/mumifikasi.

b. Aktivitas EDP terhadap Mortalitas *R. linearis*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa EDP memiliki sifat racun yang dapat menyebabkan mortalitas pada *R. linearis*. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap mortalitas *R. linearis* (Tabel Lampiran 7-10). Rata-rata persentase mortalitas *R. linearis* disajikan pada Tabel 6.

Tabel 2. Rata-rata persentase mortalitas nimfa *R. Linearis* instar III setelah aplikasi Ekstrak Daun Paitan (EDP)

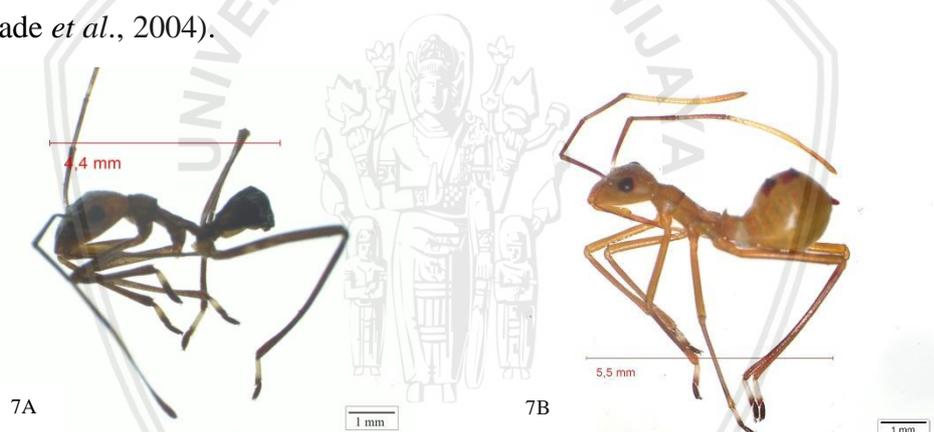
Perlakuan (ppm)	Mortalitas (%)			
	24 JSA ± SB	48 JSA ± SB	72 JSA ± SB	96 JSA ± SB
1000	5 ± 0,00 a	8,75 ± 2,50 a	13,75 ± 2,50 a	18,75 ± 2,50 a
2000	7,5 ± 2,89 ab	12,5 ± 2,89 b	17,5 ± 2,89 a	22,5 ± 2,89 a
3000	10 ± 0,00 b	15 ± 0,00 b	23,75 ± 2,50 b	32,5 ± 2,89 b
4000	13,75 ± 2,50 c	28,75 ± 2,50 c	37,5 ± 2,89 c	43,75 ± 2,50 c
5000	17,5 ± 2,89 d	36,25 ± 2,50 d	47,5 ± 5,00 d	55 ± 4,08 d

Keterangan : JSA : Jam Setelah Aplikasi; ppm : *Part per Million*; SB : Simpangan Baku

Pengamatan 24 JSA pada berbagai tingkat konsentrasi EDP masih memperlihatkan mortalitas yang rendah, namun pada pengamatan 48 JSA terjadi peningkatan mortalitas *R. linearis*. Hal ini terus terjadi hingga pengamatan terakhir (96 JSA) (Tabel 6). Tingkat mortalitas serangga pada tabel diatas ditentukan oleh tingkat konsentrasi EDP yang dipaparkan. Tingkat mortalitas akibat paparan EDP meningkat secara linier mengikuti tingkat konsentrasi EDP yang diujikan. Efektivitas pengujian EDP baru tampak pada selang waktu 96 JSA, yaitu dengan tercapainya mortalitas diatas 50% pada konsentrasi EDP sebanyak 5000 ppm. Kemampuan daun paitan sebagai pestisida nabati disebabkan karena di dalam daun paitan terkandung senyawa yang bersifat racun terhadap serangga. Hasil pengujian Wardhana dan Diana (2014), menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam tumbuhan paitan adalah golongan dari terpenoid yakni

sesquiterpene lactone yang bersifat racun bagi serangga. Senyawa ini termasuk monoterpen yang berperan penting dalam pertahanan tumbuhan terhadap serangga atau patogen lainnya. Menurut Taofik *et al.* (2010), Ekstrak dari daun paitan mengandung beberapa senyawa toksik (tannin, flavonoid dan alkaloid) yang dapat mengakibatkan mortalitas suatu hama.

Kemampuan ekstrak daun paitan sebagai pestisida nabati telah dilaporkan oleh Osipitan dan Oseyemi (2012), bahwa pemberian ekstrak daun paitan dapat mematikan 80% hama rayap dalam waktu 10 hari. Hasil penelitian Rohman (2007), menunjukkan bahwa ekstrak daun paitan dengan konsentrasi 100 g/1000 ml air mampu mematikan 88,3% kutu daun *Toxoptera citridus*. Pemberian beberapa ekstrak botani pada tanaman kacang merah juga menunjukkan bahwa daun paitan dapat menurunkan populasi hama yaitu *nezara viridula* 38%, *Oothecha* spp 46,44%, trips 54,7%, *Maruca* spp 57,71% dan *Clavigralla* spp 48,86% (Owolade *et al.*, 2004).



Gambar 2. Nimfa *R. linearis* instar III (A) setelah aplikasi EDP (B) Normal

Gejala kematian nimfa *R.linearis* instar III akibat aplikasi EDP dapat dilihat pada Gambar 7. Ciri-ciri serangga uji setelah aplikasi yaitu mengalami keracunan, lemas, lumpuh, tubuh bagian perut mengkerut dan mati. Gejala mortalitas serangga uji setelah aplikasi EDP (gambar 7A) terlihat bahwa tubuh serangga uji menjadi kempis dan mengkerut sedangkan serangga uji pada perlakuan kontrol tidak terlihat gejala pengempisan dan pengkerutan tubuh (gambar 7B). Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa bioaktif berupa *sesquiterpene lactone* pada paitan mampu membuka lapisan *lipid bilayer* pada kutikula yang menyebabkan terjadinya peningkatan cairan membran dan terganggunya permeabilitas sel otot, sehingga mengakibatkan semakin lemahnya

gerakan serangga sampai terjadinya kematian (Cestari *et al.*, 2004). Senyawa *sesquiterpene lactone* bersifat toksik dan masuk ke dalam tubuh serangga melalui kutikula (racun kontak) dan saluran pernafasan. Menurut Ibrahim *et al.* (2013), penetrasi senyawa bioaktif yang masuk melalui kutikula akan bergerak menembus jaringan yang lebih dalam dan menyebabkan gangguan metabolisme dan terjadinya hambatan kerja dalam sistem saraf pada serangga, akibatnya otot menjadi kejang, selanjutnya terjadi kelumpuhan dan berakhir dengan kematian.

4.2 Toksisitas Bio-insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan terhadap *R. linearis*

Toksisitas atau daya racun suatu bahan dinyatakan dengan nilai LC₅₀ (*Median Lethal Concentration*), yang menyatakan bahwa banyaknya atau jumlah bahan racun yang dapat mematikan 50% dari populasi serangga uji, yang dalam penelitian ini adalah nimfa *R. linearis* instar III. Hasil analisis probit toksisitas jamur *L.lecanii* dan EDP terhadap *R. linearis* diperoleh nilai LC₅₀ dan LC₉₀ yang disajikan pada (Tabel 7).

Tabel 3. Estimasi nilai LC₅₀ dan LC₉₀ *L. lecanii* dan EDP terhadap nimfa *R.linearis* instar III

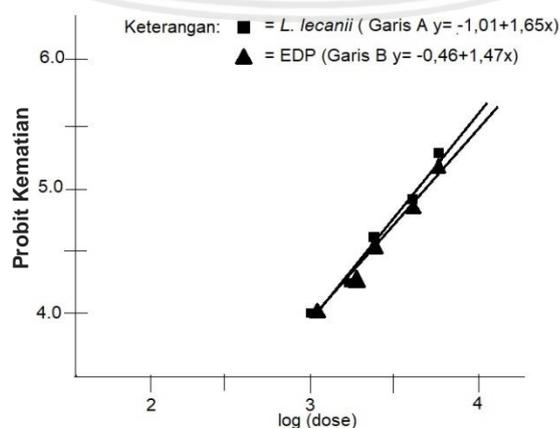
Perlakuan	Nilai LC ₅₀ (ppm)	Nilai LC ₉₀ (ppm)	Persamaan Resgresi	SE	Batas Acuan	
					Bawah	Atas
<i>L. lecanii</i>	4407,9	26234	$y = -1,01 + 1,65x$	0,29	3325,7	7920,0
EDP	4979,2	37583	$y = - 0,46 + 1,47x$	0,28	3761,2	9983,4

Keterangan : EDP adalah Ekstrak Daun Paitan; LC₅₀ adalah *Lethal Concentration* 50%; SE adalah *Slope of Error*; ppm adalah *Part per Million*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan antara bio-insektisida *L.lecanii* dengan EDP sama-sama menyebabkan mortalitas pada nimfa *R.linearis* instar III. Pada tabel 7 menunjukkan, nilai LC₅₀ pada bio-insektisida *L. lecanii* lebih rendah dibandingkan dengan nilai LC₅₀ EDP. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan bio-insektisida *L. lecanii* lebih beracun dibandingkan dengan perlakuan EDP. Menurut Hasyim *et al.* (2016), semakin kecil nilai LC₅₀ bahan insektisida atau jamur entomopatogen tersebut maka bahan tersebut semakin beracun. Konsentrasi bio-insektisida *L. lecanii* yang dapat menyebabkan 50%

kematian serangga *R.linearis* yaitu sebesar 4407,9 ppm, sedangkan EDP yakni sebesar 4979,2 ppm .

Perlakuan dengan menggunakan bio-insektisida *L. lecanii* lebih beracun di bandingkan dengan EDP karena mekanisme kerja *L. lecanii* yang cepat dalam menginfeksi inang yakni dengan cara masuk kedalam tubuh serangga, setelah hifa jamur menempel pada tubuh serangga, jamur mengadakan penetrasi, dan mengeluarkan enzim-enzim yang dapat membunuh dan menghisap cairan tubuh serangga. Menurut Wang *et al.*, (2005), enzim ekstraseluler yang dihasilkan jamur *L.lecanii* adalah protease, lipase, amilase, dan kitinase yang berfungsi sebagai perombak struktur dinding sel serangga yang tersusun dari protein, lemak, karbohidrat, dan kitin. Hal ini sesuai dengan Vey *et al.* (2001) dalam Khaerati dan Gusti (2015), yang menyatakan bahwa jamur entomopatogen *L. lecanii* mematikan serangga/inang dengan cara mencerna jaringan sebagai sumber nutrisi dan menghasilkan zat beracun/toksin seperti *dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid*, dan *cyclosporin* yang berperan dalam mematikan inang/serangga. Sedangkan perlakuan dengan EDP memiliki daya racun yang lebih rendah dibandingkan dengan bio-insektisida *L. lecanii*, karena kandungan senyawa pada EDP tidak langsung mematikan serangga. Pestisida nabati juga memiliki sifat mudah terurai dan bekerja lambat. Menurut Wiratno *et al.* (2013), pestisida nabati memiliki daya kerja yang relatif lambat, sehingga aplikasinya harus lebih sering dilakukan. Dan umumnya pestisida nabati mempunyai tingkat toksisitas yang rendah sehingga tidak langsung mematikan hama sasaran.



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi Bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP terhadap persentase mortalitas nimfa *R.linearis* instar III

Hasil persamaan regresi tabel 7, digambarkan hubungan antar konsentrasi dengan respon nimfa *R. linearis* instar III (Gambar 8). Persamaan regresi (Garis A) tersebut menunjukkan bahwa setiap penambahan konsentrasi bio-insektisida *L. lecanii* sebesar 1000 ppm dapat menyebabkan mortalitas nimfa *R. linearis* instar III sebesar 1,65%. Nilai hasil koefisien regresi variabel konsentrasi (x) sebesar 1,65% menunjukkan bahwa tingkat mortalitas memiliki hubungan positif atau searah dengan garis regresi tersebut (Garis A). Sedangkan persamaan regresi (Garis B) menunjukkan, dengan penambahan konsentrasi sebesar 1000 ppm EDP dapat menyebabkan mortalitas nimfa *R. linearis* instar III sebesar 1,47%. Nilai koefisien regresi variabel konsentrasi (x) sebesar 1,47% menunjukkan bahwa tingkat mortalitas memiliki hubungan positif atau searah dengan garis regresi tersebut (Garis B).

Efektivitas daya racun suatu bahan juga harus mempertimbangkan waktu yang dibutuhkan untuk dapat mematikan serangga uji yang dinyatakan dengan nilai LT_{50} (*Median Lethal Time*). LT_{50} adalah waktu yang dibutuhkan untuk mematikan 50% serangga uji (nimfa *R. linearis* instar III). Hasil perhitungan LT_{50} dari kisaran konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel(8).

Tabel 4. Estimasi nilai LT_{50} Bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP terhadap nimfa *R. linearis* instar III

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Estimasi Nilai LT_{50} (Jam)	Persamaan Regresi
<i>L. lecanii</i>	1000	352,71	$y = 0,18 + 1,89 x$
	2000	267,05	$y = 4,19 + 2,04 x$
	3000	189,43	$y = 0,30 + 2,06 x$
	4000	100,40	$y = -1,12 + 3,00 x$
	5000	88,66	$y = -0,28 + 2,71 x$
EDP	1000	277,00	$y = -0,59 + 2,29 x$
	2000	288,86	$y = -6,05 + 2,05 x$
	3000	166,20	$y = -1,61 + 3,00 x$
	4000	156,33	$y = 1,01 + 1,81 x$
	5000	95,24	$y = -1,01 + 2,53 x$

Keterangan : EDP adalah Ekstrak Daun Paitan; LT_{50} adalah *Lethal Time* 50%; ppm adalah *Part per Million*

Pada tabel 8 hasil analisis probit diperoleh nilai LT_{50} untuk masing-masing konsentrasi menunjukkan perbedaan. Waktu yang diperlukan untuk mematikan

50% serangga uji dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka waktu yang diperlukan untuk dapat mematikan 50% serangga uji semakin pendek. Berdasarkan hasil perhitungan interpolasi data konsentrasi dan nilai LT_{50} pada tabel 8, untuk nilai LC_{50} *L. lecanii* (4407,9 ppm) diperoleh nilai $LT_{50} = 94,62$ JSA, artinya pada konsentrasi 4407,9 ppm yang dibutuhkan untuk mematikan 50% serangga uji diperlukan waktu 94,62 jam. Berdasarkan penelitian Prayogo *et al.*, (2005), aplikasi suspensi konidia *L. lecanii* menggunakan kerapatan konidia $10^7/ml$ mampu membunuh nimfa *R. linearis* instar III mulai 3 hari setelah aplikasi (HSA). Hasil penelitian Balfour and Khan (2012), menyatakan bahwa *L. lecanii* dengan kerapatan $1,95 \times 10^9$ cfu/ml mampu menurunkan populasi imago *Toxoptera citrinda* sampai 95% dalam waktu 6 hari. Tingginya efikasi penggunaan jamur entomopatogen disebabkan oleh mekanisme kerja toksin yang dihasilkan oleh jamur akan menyebabkan terjadinya kenaikan pH hemolimfa, penggumpalan hemolimfa, dan berhentinya peredaran hemolimfa yang mengakibatkan kematian pada serangga (Tanada dan Kaya 1993 dalam Khaerati dan Gusti, 2015). Menurut Vey *et al.* 2001 (dalam Khaerati dan Indriati 2015), toksin yang dihasilkan oleh jamur *L. lecanii* yakni *dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid*, dan *cyclosporin*. Selain itu, toksin yang dihasilkan oleh jamur entomopatogen juga menyebabkan kerusakan jaringan/organ tubuh seperti saluran makanan, otot, sistem saraf, dan pernafasan (Prayogo, 2010).

Nilai LC_{50} perlakuan EDP (4979,2 ppm) diperoleh nilai $LT_{50} = 95,52$ JSA, artinya pada konsentrasi 4979,2 ppm yang dibutuhkan untuk mematikan 50% serangga uji diperlukan waktu 95,52 jam. Berdasarkan hasil penelitian Widyastuti *et al.* (2018), nilai LC_{50} ekstrak air daun paitan pada kutu putih adalah 4,932 mg/L dan mampu mengendalikan kutu putih dalam waktu 4 hari setelah aplikasi. Menurut Susanti *et al.* (2015), konsentrasi insektisida nabati tumbuhan paitan yang lebih rendah memiliki LT_{50} yang lebih tinggi karena pada konsentrasi rendah, ekstrak tumbuhan paitan lebih berperan sebagai repelan dan *antifeedant*, sedangkan pada konsentrasi 4 dan 6 mg/L bersifat racun untuk kutu putih. Ekstrak air daun paitan memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap hama tungau Eriophyidae adalah 2,292 ppm, yaitu pada perlakuan 72 jam (Taofik *et al.*, 2010).

4.3 Uji Kompatibilitas Bio-Insektisida *L. lecanii* dengan EDP

4.3.1 Pengaruh Aplikasi Bio-Insektisida *L. lecanii* dengan EDP terhadap Pertumbuhan Diameter Koloni, Sporulasi dan Viabilitas Jamur *L. lecanii*

Hasil analisis ragam (Tabel Lampiran 11-12) menunjukkan bahwa penambahan EDP pada media tumbuh memberikan pengaruh yang nyata terhadap rerata diameter, sporulasi dan viabilitas koloni *L. lecanii*.

Tabel 5. Rerata diameter, sporulasi dan viabilitas koloni *L. lecanii* dengan EDP

Perlakuan	Diameter 6 HSA (cm) ± SB	Sporulasi Konidia <i>L. lecanii</i> (...x10 ⁸) ± SB	Viabilitas Konidia <i>L. lecanii</i> (%) ± SB
AB0	4,54 ± 0,77 a	7,09 ± 0,40 a	70,37 ± 8,10 a
AB1	4,76 ± 0,37 a	7,40 ± 0,68 ab	71,30 ± 7,21 a
AB2	5,06 ± 0,74 ab	8,03 ± 0,69 abc	77,35 ± 5,25 ab
AB3	6,41 ± 1,22 b	8,96 ± 0,88 c	83,61 ± 5,89 b
AB4	5,79 ± 1,07 ab	8,34 ± 0,89 bc	80,37 ± 4,16 ab

Keterangan : AB0 = kontrol, AB1 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 686 ppm EDP, AB2 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 1364 ppm EDP, AB3 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP, AB4 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 3419 ppm EDP; SB : Simpangan Baku

Uji ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pada media tumbuh yang mengandung EDP terhadap pertumbuhan dan perkembangan *L. lecanii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan EDP pada media tumbuh berpengaruh nyata terhadap diameter koloni *L. lecanii*. Diameter koloni terlebar terdapat pada perlakuan AB3 (1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP) yaitu sebesar 6,41 cm (Tabel 9). Diameter koloni terendah terjadi pada perlakuan kontrol yaitu 4,54 cm, meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan AB1 (4,76 cm). Penambahan EDP dapat meningkatkan diameter jamur *L. lecanii* di duga karena pada daun paitan terdapat kandungan lemak kasar yang dapat memperkaya nutrisi media tumbuh. Kandungan lemak kasar pada daun paitan yakni sebesar 2,47%-5,6% (Umar *et al.*, 2015; Adrizal *et al.*, 2014). Meskipun kandungan lemak pada daun paitan tergolong rendah, namun kandungan lemak tersebut mampu menjadi nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangan jamur *L. lecanii*. Menurut Luthana (2008), asam lemak khususnya yang tidak jenuh

merupakan sumber nutrisi yang baik dan mudah terhidrolisis, terutama sumber nitrogen bagi pertumbuhan mikroba termasuk jamur.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi EDP yang ditambahkan di dalam media tumbuh berpengaruh nyata terhadap pembentukan konidia (sporulasi) *L.lecanii*. Semakin tinggi konsentrasi EDP yang ditambahkan ke dalam media tumbuh, semakin banyak jumlah konidia yang terbentuk. Meskipun EDP yang ditambahkan ke dalam media tumbuh meningkatkan jumlah konidia yang dihasilkan, namun pembentukan konidia tertinggi terdapat pada perlakuan AB3. Dengan demikian, perlakuan yang sesuai untuk dikombinasikan dengan *L.lecanii* adalah perlakuan AB3 (1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP). Jumlah konidia terendah terdapat pada kontrol yakni sebesar $7,09 \times 10^8$, dan jumlah konidia tertinggi pada perlakuan AB3 yakni sebesar $8,96 \times 10^8$. Hal ini diduga berhubungan dengan kandungan senyawa yang terkandung dalam daun paitan. Menurut Prayogo (2011), kandungan karbohidrat dan protein yang tinggi berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jamur termasuk pembentukan konidia. Umar *et al.* (2015), melaporkan bahwa daun paitan memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 52,27% dan protein sebesar 14,43%. Sehingga dengan kandungan karbohidrat dan protein yang tinggi pada daun paitan akan mendukung pertumbuhan dan perkembangan *L. lecanii*. Menurut Gao *et al.* (2007); Nehls (2008), jamur entomopatogen memerlukan karbohidrat sebagai sumber karbon dalam pertumbuhannya, karena karbohidrat merupakan sumber nutrisi utama bagi pembentukan konidia jamur. Protein dibutuhkan oleh jamur dalam pembentukan organel yang berperan dalam pertumbuhan apikal dan enzim-enzim yang diperlukan oleh jamur.

Penambahan EDP selain meningkatkan jumlah konidia yang terbentuk juga berkorelasi positif terhadap daya kecambah/viabilitas *L. lecanii* (Tabel 9). Konsentrasi EDP yang ditambahkan di dalam media tumbuh berpengaruh nyata terhadap perkecambahan konidia (viabilitas) *L. lecanii*. Hal ini diduga terdapat senyawa pada EDP yang mendukung pertumbuhan jamur *L. lecanii*. Kandungan senyawa pada daun paitan yakni alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan saponin (Odeyemi, 2014). Menurut Mastuti (2016), alkaloid adalah senyawa nitrogen (N) yang merupakan hasil metabolit sekunder pada tumbuhan. Nitrogen merupakan

unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan jamur. Menurut Taurisia *et al.* (2015), menyatakan bahwa salah satu elemen non logam yang dibutuhkan jamur untuk bertumbuh kembang adalah unsur nitrogen. Unsur nitrogen diasimilasi menjadi asam amino, kemudian asam amino menjadi protein yang berperan aktif dalam pembentukan hifa (Webster dan Weber, 2007).

Jumlah konida yang mampu berkecambah terbanyak yakni pada perlakuan AB3 sebanyak 83,61%. Viabilitas terendah terjadi pada kontrol dengan nilai viabilitas sebesar 70,37%. Perlakuan AB1 tidak berbeda nyata dengan kontrol, karena perkecambahan konidia tidak terjadi peningkatan yang signifikan dengan perlakuan kontrol. Menurut Prayogo (2009) melaporkan bahwa semakin banyak jumlah konidia yang berkecambah akan semakin besar peluang konidia menginfeksi inang, karena tabung kecambah yang terbentuk dengan cepat dan memiliki ukuran yang besar diduga akan semakin besar pula peluang inang dapat dipenetrasi oleh jamur karena permukaan inang lebih cepat terhidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur. Dilihat dari hasil pengamatan diameter, sporulasi dan viabilitas koloni *L. lecanii*, didapatkan hasil bahwa perlakuan AB3 lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penambahan EDP dapat meningkatkan diameter, sporulasi dan viabilitas dari *L. lecanii* hanya terbatas pada perlakuan AB3, karena apabila konsentrasi EDP dinaikkan EDP tersebut akan menjadi racun atau bersifat antagonis bagi *L. lecanii*.

4.3.2 Klasifikasi Hasil Uji Kompatibilitas

Berdasarkan perhitungan nilai T, seluruh kombinasi bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP menunjukkan hasil diatas 60 atau kompatibel (Tabel 10). Tingginya nilai T dipengaruhi oleh variabel pengamatan lebar diameter dan persentase sporulasi. Nilai T tertinggi terdapat pada perlakuan AB3 (1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP) yakni sebesar 129,34. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Prayogo (2011) melaporkan bahwa penambahan insektisida nabati serbuk daun pacar cina *Aglaia odorata*, serbuk biji srikaya *Annona squamosa*, dan serbuk biji jarak *Jatopha curcas* kedalam media tumbuh mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan jamur *L. lecanii*.

Tabel 6. Hasil uji kompatibilitas bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP

Perlakuan	T	Kategori
AB1	104,47	Kompatibel
AB2	112,90	Kompatibel
AB3	129,34	Kompatibel
AB4	119,61	Kompatibel

Keterangan : AB1 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 686 ppm EDP, AB2 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 1364 ppm EDP, AB3 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP, AB4 = 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 3419 ppm EDP; T= nilai kompatibilitas

Hasil penelitian yang menunjukkan kompatibel diduga karena kandungan senyawa alkaloid yang terdapat pada EDP bekerja dengan cara mendukung pertumbuhan dan perkembangan jamur *L. lecanii*. Menurut Mastuti (2016), alkaloid adalah senyawa nitrogen (N) yang merupakan hasil metabolit sekunder pada tumbuhan, dimana nitrogen merupakan unsur yang berperan aktif dalam pembentukan hifa jamur. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa pada perlakuan AB3 dengan konsentrasi 1720 ppm Bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP sudah optimal, sehingga jika konsentrasi EDP dinaikkan lagi akan mengurangi efikasi dan bahkan kurang ekonomis. Hasil penelitian Tripathy *et al.* (2001); Khalequzzaman dan Sultana (2006) bahwa dosis pestisida nabati dalam pengendalian hama tanaman tidak dianjurkan jika memakai bahan aktif yang melebihi 5%. Dari hasil nilai kompatibilitas didapatkan bahwa nilai T tertinggi pada perlakuan AB3, selanjutnya dari hasil tersebut dibuat campuran antara bio-insektisida *L.lecanii* dan EDP untuk dilakukan pengujian mortalitas dan toksisitas terhadap *R.linearis*.

4.4 Pengaruh Bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP secara Campuran

4.4.1 Aktivitas Campuran Bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP terhadap Mortalitas *R. linearis*

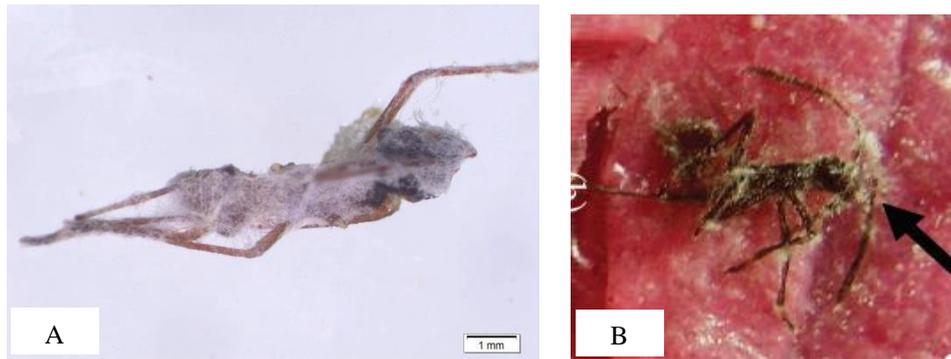
Hasil pengujian aktivitas campuran Bio-insektisida *L. lecanii* dan EDP terhadap mortalitas memiliki sifat racun yang dapat menyebabkan mortalitas pada nimfa *R. linearis* instar III. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap mortalitas nimfa *R. linearis* instar III (Tabel Lampiran 13-16).

Tabel 7. Rata-rata persentase mortalitas hama *R. Linearis* setelah campuran *L.lecanii* dan EDP

Perlakuan (ppm)	Mortalitas (%)			
	24 JSA \pm SB	48 JSA \pm SB	72 JSA \pm SB	96 JSA \pm SB
1000	5 \pm 0,00 a	8,75 \pm 2,50 a	13,75 \pm 2,50 a	18,75 \pm 2,50 a
2000	7,5 \pm 2,89 b	16,25 \pm 2,50 b	21,25 \pm 2,50 b	26,25 \pm 2,50 b
3000	12,5 \pm 2,89 b	23,75 \pm 2,50 c	31,25 \pm 4,79 c	37,5 \pm 6,45 c
4000	20 \pm 4,08 c	36,25 \pm 2,50 d	47,5 \pm 2,89 d	57,5 \pm 2,89 d
5000	26,25 \pm 6,29 d	50 \pm 4,08 e	63,75 \pm 4,79 e	70 \pm 4,08 e

Keterangan : JSA : Jam Setelah Aplikasi; ppm : *Part per Million*; SB : Simpangan Baku

Tingkat mortalitas akibat aplikasi campuran bio-insektisida *L. lecanii* meningkat secara linier mengikuti tingkat konsentrasi bio-insektisida *L.lecanii* yang diujikan. Campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP pada konsentrasi rendah tidak banyak mematikan nimfa *R. linearis* instar III. Pengamatan 96 JSA, dengan level konsentrasi 1000 ppm hanya menyebabkan mortalitas nimfa *R. linearis* instar III sebesar 18,75%. Mortalitas serangga uji tertinggi tercapai pada 70% pada level konsentrasi 5000 ppm. Pada konsentrasi 5000 ppm pengamatan 48 JSA, persentase mortalitas sudah mencapai 50%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut sudah dapat mematikan 50% nimfa *R. linearis* instar III yang di uji, dan lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan lain. Hasil penelitian Halder *et al.* (2013), melaporkan bahwa *L.lecanii* 2×10^9 cfu/g ditambah minyak mimba 5% (1:1) menyebabkan mortalitas *Phenacoccus solenopsis* 82,47%; betina *Dysdercus cingulatus* 73,63% pada enam hari perlakuan; *Aphis craccivora* 86,23% dan *Lipaphis erysimi* 83,55% pada lima hari setelah perlakuan. Hasil penelitian Prayogo (2011), menyatakan bahwa kombinasi insektisida nabati serbuk daun pacar cina *Aglaia odorata*, serbuk biji srikaya *Annona squamosa*, dan serbuk biji jarak *Jatopha curcas* dengan jamur entomopatogen *L. lecanii* mampu meningkatkan efikasi pengendalian telur kepik coklat dibandingkan dengan aplikasi secara tunggal. Dari hasil penelitian Halder *et al.* (2013), melaporkan bahwa aplikasi *L. lecanii* secara tunggal menyebabkan mortalitas lebih rendah dibandingkan setelah kombinasikan dengan minyak mimba.



Gambar 4. Nimfa *R. linearis* instar III yang terserang campuran bio-insektisida *L.lecanii* dengan EDP (A) Dokumentasi pribadi (B) Prayogo (2009)

Gejala kematian *R. linearis* nimfa instar III akibat aplikasi campuran Bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP dapat dilihat pada Gambar 9. Ciri-ciri *R. linearis* nimfa instar III yang mengalami kematian setelah aplikasi yaitu tubuh serangga mengerut, berubah warna menjadi kehitaman dan kaku, lama kelamaan tubuh serangga di tumbuhi miselium. Namun serangga yang mati tidak selalu disertai gejala pertumbuhan miselium, apabila keadaan kurang mendukung perkembangan saprofit maka pertumbuhannya hanya berlangsung didalam tubuh serangga (Ladja, 2011). Menurut Gindin *et al.* (2000), aktivitas serangga yang terinfeksi jamur entomopatogen mengalami penurunan, bahkan nafsu makan juga berhenti karena sistem saraf serangga terganggu. Saraf serangga memegang peranan sangat penting dalam mengatur semua aktivitas, semua serangga yang mengalami gangguan sistem sarafnya akan mengacaukan semua perilaku termasuk dalam memenuhi kebutuhan makan.

Hasil pengujian pada media tumbuh yang mengandung EDP didapatkan hasil bahwa, kombinasi *L. lecanii* dan EDP memberikan dampak positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan jamur *L. lecanii*. Serta penambahan EDP dapat meningkatkan jumlah konidia jamur *L. lecanii* dibandingkan dengan kontrol. Dengan meningkatnya jumlah konida maka semakin tinggi pula kematian pada serangga uji. Hal ini disebabkan semakin banyak konida yang menempel pada tubuh serangga makin besar peluang konidia untuk tumbuh dan berkembang pada serangga sasaran. Menurut Gottel *et al.* (2008), semakin banyak konidia yang menempel pada tubuh serangga, semakin besar pula peluang jamur untuk berkecambah dan mampu menimbulkan kematian pada serangga. Menurut Prayogo (2009), jamur entomopatogen *L. lecanii* menginfeksi inang dengan cara

konidia membentuk tabung kecambah untuk menembus kutikula, atau berkecambah di atas permukaan kutikula. Tabung kecambah yang terbentuk akan berkembang membentuk apresorium yang berfungsi untuk menempelkan organ infeksi pada permukaan inang. Tabung kecambah yang terbentuk dengan cepat dan memiliki ukuran yang besar diduga akan semakin besar pula peluang inang dapat dipenetrasi oleh jamur karena permukaan inang lebih cepat dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur.

4.4.2 Toksisitas Campuran Bio-insektisida *L. lecanii* dan Ekstrak Daun Paitan terhadap *R. linearis*

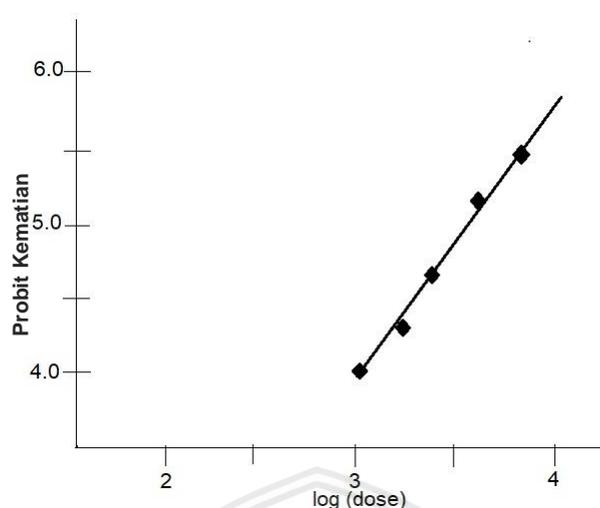
LC₅₀ adalah konsentrasi atau tolok ukur toksisitas suatu bahan pestisida yang dapat mematikan 50% dari serangga uji.

Tabel 8. Estimasi nilai LC₅₀ dan LC₉₀ campuran *L. lecanii* dan EDP

Perlakuan	Nilai LC ₅₀ (ppm)	Nilai LC ₉₀ (ppm)	Persamaan Resgresi	SE	Batas Acuan	
					Bawah	Atas
Campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	3393,32	14337	$y = -2,22 + 2,04x$	0,28	2621,2	4963,1

Keterangan : LC₅₀ adalah *Lethal Concentration* 50%; SE adalah *Slope of Error*; ppm adalah *Part per Million*

Pada tabel 12, nilai LC₅₀ dan LC₉₀ campuran *L. lecanii* dan EDP berturut-turut sebesar 3393,32 ppm dan 14337 ppm. Hasil LC₅₀ dari uji campuran *L. lecanii* dengan EDP didapatkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan pengujian *L. lecanii* dan EDP secara tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa campuran *L. lecanii* dengan EDP lebih beracun dibandingkan pengujian secara tunggal. Penambahan EDP pada pengaplikasian bio-insektisida *L. lecanii* mengakibatkan mekanisme infeksi dari *L. lecanii* terhadap *R. linearis* nimfa instar III lebih meningkat akibat jumlah konidia yang berkecambah meningkat pula. Menurut Prayogo (2009), menyatakan bahwa Jamur *L. lecanii* menginfeksi inang dengan cara, konidia membentuk tabung kecambah untuk menembus kutikula, atau berkecambah di atas permukaan kutikula. Selanjutnya penetrasi melalui integumen, akan merusak fisiologis *R. linearis* karena permukaan inang lebih cepat dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur dan menyebabkan kematian.



Gambar 5. Grafik hubungan konsentrasi campuran Bio-insektisida *L.lecanii* dengan EDP

Persamaan regresi berfungsi untuk mencari hubungan konsentrasi yang dibutuhkan dengan persentase kematian tertentu. Berdasarkan persamaan regresi pada tabel 12, maka dapat digambarkan hubungan antara konsentrasi campuran *L. lecanii* dan EDP dengan mortalitas *R. linearis* nimfa instar III. Persamaan regresi campuran *L. lecanii* dan EDP didapatkan $y = -2,22 + 2,04x$. Pada persamaan tersebut menunjukkan bahwa setiap penambahan konsentrasi sebesar 1000 ppm campuran dapat menyebabkan mortalitas *R. linearis* nimfa instar III sebesar 2,04%. Nilai koefisien regresi variabel konsentrasi (x) sebesar 2,04% menunjukkan bahwa tingkat mortalitas memiliki hubungan positif atau searah dengan garis regresi tersebut (Gambar 10).

Tabel 9. Estimasi nilai LT_{50} *L. lecanii* dan EDP terhadap *R. linearis* nimfa instar III

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Estimasi Nilai LT_{50} (Jam)	Persamaan Regresi
Campuran <i>L.lecanii</i> dan EDP	1000	277,00	$y = -0,59 + 2,29x$
	2000	140,83	$y = -0,18 + 2,41x$
	3000	95,89	$y = -0,10 + 2,57x$
	4000	69,72	$y = 0,17 + 2,61x$
	5000	57,19	$y = -0,15 + 2,93x$

Keterangan : LT_{50} adalah *Lethal Time* 50%; ppm adalah *Part per Million*

Pada tabel 13, dari hasil analisis probit diperoleh nilai LT_{50} untuk masing-masing konsentrasi yang diujikan pada penelitian ini menunjukkan perbedaan. Waktu yang diperlukan untuk mematikan 50% dari populasi *R. linearis* dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka waktu yang diperlukan untuk dapat mematikan 50% serangga uji semakin cepat. Berdasarkan nilai LT_{50} dari beberapa konsentrasi yang diujikan dalam penelitian ini, maka dapat ditentukan waktu yang diperlukan untuk dapat mematikan 50% serangga uji untuk nilai LC_{50} (3393,32 ppm). Hasil perhitungan interpolasi berdasarkan data konsentrasi dan nilai LT_{50} pada tabel 13, untuk nilai LC_{50} (3393,32 ppm) diperoleh nilai $LT_{50}=85,6$ jam setelah aplikasi, artinya pada konsentrasi 3393,32 ppm yang dibutuhkan untuk mematikan 50% serangga uji diperlukan waktu 85,6 jam. Hasil penelitian Halder *et al.* (2013), melaporkan bahwa LT_{50} *L. lecanii* yang ditambahkan minyak mimba 5% (1:1) pada *Phenacoccus solenopsis*, *Dysdercus cingulatus*, *Aphis craccivora*, dan *Lipaphis erysimi* berturut-turut adalah 87,57 jam, 86,18 jam, 45,13 jam dan 45,37 jam.

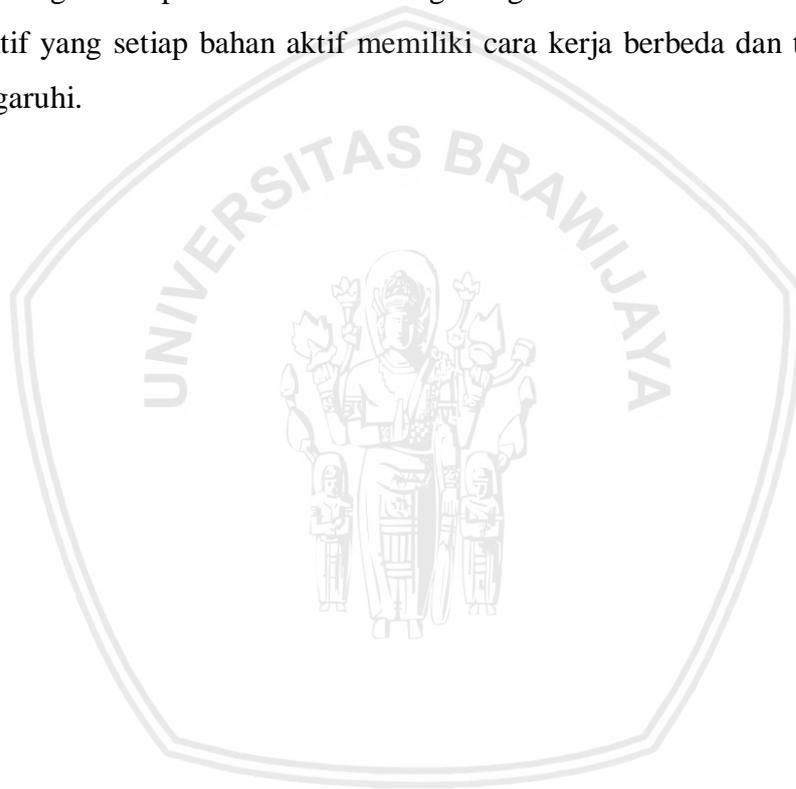
4.4.3 Nisbah Sinergistik (NS)

Tabel 10. Nilai nisbah sinergistik

Perlakuan	LC_{50} (ppm)	Nisbah Sinergetik
<i>L. lecanii</i>	4407,9	1,29
EDP	4979,2	1,46
Campuran <i>L. lecanii</i> dan EDP	3393,3	-

Berdasarkan hasil analisis probit dari *L. lecanii* dan EDP yang di uji, menunjukkan bahwa nilai LC_{50} *L. lecanii* dan EDP secara tunggal lebih besar dari nilai LC_{50} secara campuran. Menurut Hasyim *et al.* (2016), semakin kecil nilai LC_{50} bahan insektisida atau jamur entomopatogen tersebut maka bahan tersebut semakin beracun. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan efikasi *L. lecanii* terhadap *R. linearis* nimfa instar III. Nilai nisbah sinergistik tertinggi terdapat pada perlakuan EDP sebesar 1,46. Hal ini membuktikan bahwa campuran dengan penambahan EDP memberikan efek sinergis (bersifat sinergis) terhadap *L. lecanii*, karena memberikan nilai nisbah sinergistik lebih dari satu. Sesuai dengan rumus Hamilton dan Attia (1977), yang menyatakan bahwa jika nilai $NS > 1$ maka campuran tersebut mempunyai efek sinergistik. Senyawa alkaloid yang

terkandung dalam EDP diduga bersifat sinergis dengan jamur *L. lecanii*. Alkaloid merupakan senyawa nitrogen yang memberi pengaruh terhadap virulensi jamur *L.lecanii* dalam menyerang *R. linearis*. Senyawa alkaloid EDP diduga bersifat sinergis dengan zat toksin (*dipicolinic acid*, *hydroxycarboxylic acid* dan *cyclosporin*) yang dihasilkan oleh *L.lecanii* dalam mematikan inang/serangga. Menurut Safavi *et al.* (2007), sumber energi utama yang dibutuhkan jamur yakni karbon dan nitrogen yang memberi pengaruh terhadap viabilitas, virulensi, dan patogenisitas jamur. Menurut Hasyim *et al.* (2016), sifat interaksi insektisida yang bersifat sinergistik dapat disebabkan oleh gabungan toksisitas intrinsik dari kedua bahan aktif yang setiap bahan aktif memiliki cara kerja berbeda dan tidak saling mempengaruhi.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil pengujian secara campuran menunjukkan bahwa penambahan EDP kompatibel terhadap bio-insektisida *L. lecanii* dengan nilai kompatibilitas optimal pada perlakuan AB3 (1720 ppm bio-insektisida *L. lecanii* + 2239 ppm EDP). Perhitungan nilai nisbah sinergistik didapatkan hasil bahwa penambahan EDP memberikan efek sinergis terhadap *L. lecanii*, dengan nilai nisbah sinergistik lebih besar dari satu (1,46). Dari hal tersebut diketahui bahwa campuran bio-insektisida *L. lecanii* dengan EDP mampu meningkatkan mortalitas nimfa *R. linearis* instar III dibandingkan aplikasi secara tunggal.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini maka perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengujian untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan campuran Bio-insektisida *L.lecanii* dengan EDP untuk mengendalikan hama *R. linearis* pada skala lapang dengan mengacu pada nilai LC₉₀ serta pengaruhnya terhadap musuh alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W.S. 1987. Classic Paper : Abbots formula. A method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. Journal of the American Mosquito Control Association. 3 (2) : 302-303.
- Adrizal, T., Montesqrit, D. dan Abas, A. 2014. Komersialisasi Paket Silase Ransum Komplit Berbasis Limbah Tebu Dengan Teknologi Vakum Untuk Menunjang Program Swasembada Daging Sapi Nasional. Laporan Penelitian Rapid Tahun Pertama. Universitas Andalas. Padang.
- Amaria, W., Taufiq, E. dan Harni, R. (2013). Seleksi & Identifikasi Jamur Antagonis sebagai Agens Hayati Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*) pada Tanaman Karet. Buletin RISTRI4 (1): 55-64.
- Angelo, I.C., Everton, K.K.F., Thiago, C.B., Wendel, M.S.P., Ana, P.R.M., Andreia, L.M.T. and Vania, R.E.P.B. 2010. Efficiency of *Lecanicillium lecanii* to Control the Tick *Rhipicephalus microplus*. Veterinary Parasitology 172 : 317-322.
- Arneti. 2006. Isolasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun dan Bunga Paitan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) (Asteraceae) dari Lokasi Tempat Tumbuh yang Berbeda dan Pengaruhnya Terhadap *P. Xylostella* Linn. dan Parasitoid *Diadegma semiclausum* Hellen. Laporan Penelitian. Universitas Andalas.
- Astoni, A.M., Puspitarini, R.D. dan Tarno, H. 2015. Uji Kompatibilitas Jamur Patogen Serangga *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) Dengan Insektisida Nabati Ekstrak Daun Putri Malu. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan 3(3):79-86.
- Balfour, A. and Khan, A. (2012). Effect of *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas on *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae) and its parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae). Plant Protection Science, 48(3), 123–130.
- Bayu, W dan Tengkano. 2014. Endemik Kepik Hijau Pucat, *Piezodorus hybneri* Gmelin (Hemiptera: Pentatomidae) dan Pengendaliannya. Buletin Palawija. Vol. 73: 28.
- Cestari, I.M., Sarti, S.J., Waib, C.M. and Branco, A.C. 2004. Evaluation of the Potential Insecticide Activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) Essential Oil Against the Head Lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). Neotropical Entomology.
- Cloyd, R.A. 2011. Pesticide Mixtures, In M. Stoytcheva (Ed.) Pesticides Formulations, Effect, Fate: 69-80. Diunduh dari [Http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate/pesticide-mixtures](http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate/pesticide-mixtures). Diakses pada tanggal 28 juni 2019.
- Dadang, 2006. Pengenalan Pestisida dan Teknik Aplikasi. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.
- Depieri, R.A., Martinez, S.S. and Menezes, A.O. 2005. Compatibility of the Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with Extract of

- Neem Seeds and Leaves and the Emulsible Oil. *Neotropical Entomology* 34(4):601-606.
- Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. 2012. Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) dalam Pengendalian Vektor. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Feng, K.C., Liu B.L. and Tzeng Y.M. 2002. Morphological characterization and germination of aerial and submerged spores of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 18(3):217-224.
- Fitriana, Y., Purnomo, dan Hariri A. M. 2012. Uji efikasi ekstrak gulma siam terhadap mortalitas hama pencucuk buah kakao (*helopeltis spp.*) Di laboratorium. *Jurnal HPT Tropika* 12(1): 85-91.
- Gabriel, B.P. dan Riyanto. 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metch) Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya. Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Gao, L., Sun M.H., Liu X.Z. and Cha Y.S. 2007. Effect of Carbon Concentration and Carbon to Nitrogen ratio on the Growth and Sporulation of Several Biocontrol Fungi. *Mycology Research* 111(1) : 87-92.
- GBIF (Global Biodiversity Information Facility). 2014. *Riptortus linearis*: 7 Taxonomy Levels for *Riptortus linearis*. <http://www.gbif.org/species/4391806/classification>. (diunduh pada tanggal 14 Desember 2018).
- Gindin, G., Geschtovt, N.U., Raccach, B. and Barash, I. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different development stages of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. *Phytopar*, 28 (3): 231-242.
- Gottel, M.S., Koike, M., Kim, J.J., Aiuchi, D., Shinya, R. and Brodeur, J. 2008. Potential of *Lecanicillium spp.* For management of insects, nematodes, and plant disease. *Journal Invertebrata Pathology* 98 (3): 256-261.
- Halder, J., Rai, A.H. and Kadandaram, M.H. 2013. Compatibility of Neem Oil and Different Entomopathogens for the Management of Major Vegetable Sucking Pests. *Journal of Agricultural Science*. 36(1): 19-25.
- Hamilton, J.T. and Attia, FI. 1977. Effect of mixtures of *Bacillus thuringiensis* and Pesticide Xylostella and the Parasite *Thyraeella collaris*. *J. Econ. Entomology*. 70 (1) :146-148.
- Hasyim, A., Setiawati, W., Hudayya, A. dan Luthfy. 2016. Sinergisme Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dengan Insektisida Kimia untuk Mengendalikan Mortalitas Ulat Bawang *Spodoptera exigua*. *Jurnal Hortikultura* 26 (2) : 257-266.
- Hendra, W.D., Salbiah. dan Sutikno. 2013. Penggunaan Ekstrak Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) untuk Mengendalikan Hama Kutu Daun (*Aphis gossypii*) pada Tanaman Cabai. Pekanbaru: Jurnal Fakultas Pertanian. Universitas Riau.

- Herlinda, S., Utama, M.D., Pujiastuti, Y. dan Suwandi. 2006. Kerapatan dan Viabilitas Konidia *B. bassiana* (Bals.) Akibat Subkultur dan Pengayaan Media, serta Virulensinya terhadap Larva *Plutella xylostella* (Linn.) Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropik 6(2): 70-78.
- Hudayya, A. dan Hadis, J. 2012. Pengelompokan Pestisida Berdasarkan Cara Kerjanya (*Mode of Action*). Yayasan Bina Tani Sejahtera. ISBN: 978-602-19092-2-5.
- Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z.E., Karimi, E. and Ghasemzadeh, A. 2013. Impact of Organic and Inorganic Fertilizers Application on the Phytochemical and Antioxidant Activity of Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Agroscience*: 4(3). 12-17.
- Indriati, G., Samsudin dan Widi, A. 2015. Potensi *Lecanicillium lecanii* untuk Pengendalian *Helopeltis antonii* pada Tanaman Teh. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. 2 (2), 99-106.
- Indriyati. 2009. Virulensi Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Terhadap Kutu Daun (*Aphis* spp) dan Kepik Hijau (*Nezara viridula*). Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika 9(2): 92-98.
- Juliani, W. dan Yuliani. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) dan Daun Saliara (*Lantana camara* L). terhadap Mortalitas Kepinding Tanah (*Scotinophora coarctata*). *Agroscience* : 7 (2). ISSN: 1979-4661.
- Kandungu, J., Anjarwalia, P., Mwaura, L., Ofori, D.A., Jamnadass, R., Stevenson, P.C. and Smith, P. 2013. Pesticidal Plant Leaflet *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray. Worl Agroforestry Centre. University Greenwich.
- Khaerati dan Gusti, I. 2015. *Lecanicillium lecanii* (Ascomycota: Hypocreales) Sebagai Agens Hayati Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman. Sukabumi: Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. SIRINOV, Vol 3 (2) p 93-102.
- Khalequzzaman, M. and Sultana, S. 2006. Insecticidal Activity of *Annona squamosa* L. Seed Extract Againsts the Red Flour Beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Bio Science* 14:107-112.
- Kurniawan, T. 2010. Infektivitas Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* terhadap Parasitoid Telur *Trichogrammatidae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ladja, F. T., Santoso T., & Nurhayati E. 2011. Potensi Cendawan Entomopatogen *Verticillium lecanii* dan *Beauveria bassiana* dalam Mengendalikan Wereng Hijau dan Menekan Intensitas Penyakit Tungro. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 30 (2): 114-120.
- Luthana, Y.K. 2008. Minyak kelapa: Komposisi asam lemak. [http:// www. Food entertaining. htm](http://www.foodentertaining.htm). Diakses pada 19 Mei 2019.
- Manurung, D.S.L., Lahmuddin. dan Marheni. 2016. Potensi Serangan Hama Kepik Hijau *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae) dan Hama

- Kepik Coklat *Riptortus linearis* L. (Hemiptera: Alydidae) pada Tanaman Kedelai di Rumah Kassa. *Jurnal Agroekoteknologi* 4(3): 2003-2007.
- Marwoto. 2008. Hama Penyakit dan Masalah Hara pada Tanaman Kedelai. Bogor: Departemen Pertanian.
- Mastuti, R. 2016. Metabolit Sekunder dan Pertahanan Tumbuhan. Jurusan Biologi. Universitas Brawijaya.
- Mfarrej, M.F.B. and Fatimetou. 2018. Competitive, Sustainable Natural Pesticides. *Ecological Society of China*. 145-151.
- Munarso, J., Miskiyah. dan Broto, W. 2006. Studi Kandungan Residu Pestisida pada Kubis, Tomat, dan Wortel di Malang dan Cianjur. Bogor: Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian.
- Nehls, U. 2008. Mastering Ectomycorrhizal Symbiosis: The Impact of Carbohydrates. *Journal of Experimental Botany* 59 (5): 1097-1108.
- Odeyemi, A.T. 2014. Antibacterial Activities of Crude Extracts of *Tithonia diversifolia* Against Common Environmental Pathogenic Bacteria. *International Journal Science* 20(4): 1421-1426.
- Osipitan, A.A. and Oseyemi, A.E. 2012. Evaluation of the Bio-insecticidal Potential of Some Tropical Plant Extracts Against Termites (Termitidae: Isoptera) in Ogun State, Nigeria. *Journal Entomology*. 9: 257-265.
- Owolade, O.F., Alabi, B.S., Osikanlu, Y.O.K. and Odeyemi, O.O. 2004. On Farm Evaluation of Some Plant Extracts as Biofungicide and Bioinsecticide on Cowpea in Southwest Nigeria. *Food, Agriculture & Environment*. 2 (2): 237-240.
- Prayogo Y. 2009. Kajian cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Viegas) Zare & Gams untuk menekan perkembangan telur hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis*. [Disertasi]. Departemen Proteksi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prayogo, Y. 2010. Efikasi Cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* untuk Pengendalian Hama Kepik Coklat pada Kedelai. *Buletin palawija* no. 20: 47-61.
- Prayogo Y. 2011. Sinergisme Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) dengan Insektisida Nabati untuk Meningkatkan Efikasi Pengendalian Telur Kepik Coklat *Riptortus linearis* pada Kedelai. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Malang. *Jurnal HPT Tropika*. 11(2): 166-177. ISSN 1411-7625.
- Prayogo, Y., Santoso, dan Widodo. 2005. Keefektifan Cendawan Entomopatogen dalam Mengendalikan Hama Pengisap Polong Kedelai *Riptortus linearis* L. dan Dampaknya terhadap Predator *Oxyopes javanus* Thorell. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 24(2).
- Prayogo, Y. dan Suharsono. 2005. Optimalisasi Pengendalian Hama Polong Kedelai (*Riptortus linearis*) dengan Cendawan Entomopatogen *Verticillium lecanii*. *Jurnal Litbang Pertanian* 24(4): 123-130.

- Purwar, J.P. and Sachan, G.C. 2006. Synergistic Effect of Entomogenous Fungi on Some insecticides Against Bihar Hairy Caterpillar *Spilarctia Obliqua* (Lepidoptera: Arctiidae). *Microbiological Research* 161(1): 38-42.
- Ramadhanti, U., Koswanudin, D. dan Ibnudarda, R. 2016. *Riptortus linearis* (Hemiptera: Alydidae) pada Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* L.). *Jurnal Hasil Penelitian FMIPA Universitas Pakuan: Bogor*.
- Rohman, T.S. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*), Biji Mimba (*Azadirachta indica*), dan Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kutu Daun pada Tanaman Jeruk (*Citrus* sp.). *Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Malang*.
- Rusli, R., Arneti dan Sari, S.P. 2010. Pengujian ekstrak metanol bunga Kipait (*Tithonia diversifolia* A. GRAY) (Asteraceae) untuk Mengendalikan *Spodoptera exigua* HUBNER (Lepidoptera: Noctuidae). *Manggaro* 11(1): 25-32.
- Rustama, Melanie dan Budi, 2008. Patogenisitas Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* terhadap *Crocidolomia pavonana* Fab. Dalam Kegiatan Studi Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kubis Dengan Menggunakan Agensia Hayati. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (Litmud) UNPAD. Bandung: Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran.
- Safavi, S.A., Farooq A.S., Azis K.P., Reza R.G., Ali R.B., dan Tariq M.B. 2007. Effect of Nutrition on Growth and Virulence of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiology Letter* 270(1): 116–123.
- Sari, K. P. dan Suharsono. 2011. Status Hama Pengisap Polong pada Kedelai, Daerah Penyebarannya dan Cara Pengendalian. *Buletin Palawija* (22).79-85.
- Setiawati, W., Murtiningsih R., Gunaeni N. dan Rubiati, T. 2008. Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati dan Cara Pembuatannya untuk Mengendalikan Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT). *Balai Penelitian Tanaman Sayuran*. Bandung
- Shinde, S.V., Patel, K.G., Purohit, M.S., Pandya, J.R., and Sabalpara, A.N. 2010. *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare and Games an Important Biocontrol Agent for the anagement of insect pests- A riview. *Agriculture. Review*, 31(4): 235-252.
- Sinaga, R. 2009. Uji Efektifitas Pestisida Nabati Terhadap Hama *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Pada tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.). *Skripsi*. Universitas Sumatra Utara.
- Sukarno, N., Yuko, K., Muhammad, I., Wibowo, M., Erny, Y., Wellyzar, S., Ju-Young, P., Rasti, S., Shigeki, I., Yantiyati, W., Katshuhiko, A., Shigeaki, H. 2009. *Lecanicillium* and *Verticillium* species from Indonesia and Japan Including Three New Species. *Mycoscience*. 50: 369-379. DOI 10.1007/s10267-009-0493-1.
- Sunarno. 2011. Pengendalian Hayati sebagai Komponen Pengendalian Hama Terpadu (PHT). *Pengembangan inovasi pertanian*. 2(1): 67-68.

- Susanti, D., Widyastuti, R. dan Sulistyono, A. (2015) Aktivitas Antifeedant dan Antioviposisi Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia* terhadap kutu kebul. *Agrosains*. 17 (2), 33-38.
- Taufik M, Yudianti E, Barizi, A. dan Hayati, E.K. 2010. Isolasi dan identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai Bahan Insektisida Botani untuk Pengendalian Hama Tungau Eriophyidae. *Alchemi* 2(1):104-157.
- Taurisia, P.P., Proborini, M.W. dan Nuhantoro, I. 2015. Pengaruh Media terhadap Pertumbuhan dan Biomassa Cendawan *Alternaria alternata* (Fries) Keissler. *Jurnal Biologi* 19(1) : 30–33.
- Tjitrosoepomo., G. 1988. Taksonomi tumbuhan (Spermathopyta). Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Tohir, A.M. 2010. Teknik Ekstraksi dan Aplikasi beberapa Pestisida Nabati untuk Menurunkan Palatabilitas ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di Laboratorium. Balai Penelitian Lingkungan Pertanian. Bogor. 1 (15):37-40.
- Tripathy, M.K., Sahoo, P., Das, B.C. and Mohanty, S. 2001. Efficacy of Botanical Oils Plant Powders and Extracts Against *Callosobruchus chinensis* Linn. Attacking Blackgram (Cv.T9). *Legume Research* 24: 82-86.
- Trizelia dan Rusli, R. 2012. Kompatibilitas Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Deuteromycotina: Hyphomycetes) dengan Minyak Serai Wangi. *Universitas Andalas* 12(1): 78-84.
- Umar, O.B., Alex, D.X. and Obukohwo, E.E. 2015. Phytochemical and Proximate Composite of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. Nigeria : *Journal Food Science and Technology*.
- Wardhana dan Diana. 2014. Aktivitas Biolarvasidal Ekstrak Metanol Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) terhadap Larva Lalat *Chrysomya bezziana*. Jakarta: Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Wang, L., Huang, J., You, m., Guan, X. and Liu, B. 2005. Effects of toxins from strains of *Verticillium lecanii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on bioattributes of a predatory ladybeetle *Delphastus catalinae* (Coleoptera Coccinellidae). *J. Appl. Entomol.* 129(1):32-38.
- Webster, J. and Weber, R.W.S. 2007. *Introduction to Fungi*, Third Edition. Cambridge University Press.
- Widyastuti, R., Susanti, D. dan Wijayanti, R. 2018. Toksisitas dan Repelensi Ekstrak Daun Titonia (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kutu Putih Pada Tanaman Iler. *Balai Besar Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. 29 (1).
- Wiratno, Siswanto dan Trisawa, L.M. 2013. Perkembangan Penelitian, Formulasi dan Pemanfaatan Pestisida Nabati. *Jurnal Litbang Pertanian* 32 (4) :150-157.
- Zare, R and W. Gams. 2001. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. IV the general *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. *Nova Hedwigia* 73: 1–50