

Patogenisitas Cendawan *Metarhizium anisopliae* (Metsch) dalam mengendalikan Kepik Hijau (*Nezara viridula* L.) pada Stadia Perkembangan yang Berbeda di Laboratorium
(*Pathogenicity of Fungi *Metarhizium anisopliae* (Metsch) in controlling Green Stink bug (*Nezara viridula* L.) at Different Developmental Stages in Laboratory*)

Ahmad Alwi Azhari¹, Muhammad Sayuthi², Hasnah^{2*},

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

²Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

Abstrak. *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) adalah serangga hama yang bersifat kosmopolit dan mempunyai banyak tanaman inang (polifagus) antara lain kacang-kacangan dan kubis-kubisan. Serangan serangga hama ini dapat menurunkan kualitas dan kuantitas hasil tanaman. Salah satu metoda pengendalian hama yang ramah lingkungan yaitu penggunaan cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* sebagai agen pengendalian hayati yang dapat menyebabkan penyakit *green muscardin fungus* pada serangga. Keefektifan cendawan entomopatogen sangat dipengaruhi oleh stadia perkembangan inang dan kerapatan konidia cendawan yang diaplikasikan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi yang efektif dari cendawan *M. anisopliae* dan stadia perkembangan serangga yang paling rentan terhadap cendawan *M. anisopliae*. Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu konsentrasi cendawan *M. anisopliae*: K₁ (4g/100 ml), K₂ (6g/100 ml) dan K₃ (8g/100 ml) serta stadia perkembangan serangga: N₁ (Nimfa instar 2), N₂ (Nimfa instar 4) dan N₃ (Imago). Menghasilkan jumlah kombinasi perlakuan 9 dengan 3 ulangan sehingga terdapat 27 unit percobaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi cendawan entomopatogen *M. anisopliae* berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi, mortalitas, dan waktu kematian dari *N. viridula*. Masa inkubasi tercepat pada 8g/ 100 ml yaitu 1,33 hari dan terlama pada 4g/ 100 ml yaitu 1,44 hari. Masa inkubasi tercepat pada nimfa instar 2 yaitu 1,00 hari dan terlama pada imago yaitu 2,11 hari. Mortalitas tertinggi yaitu pada 8g/ 100 ml sebesar 97,67% dan terendah pada 4g/ 100 ml sebesar 87,78% pengamatan 8 HSA. Mortalitas tertinggi terjadi pada nimfa instar 2 sebesar 98,89% dan terendah pada imago sebesar 86,67% pengamatan 8 HSA. Waktu kematian tercepat pada perlakuan 8g/ 100 ml sebesar 4,49 hari dan terendah pada perlakuan 4g/ 100 ml sebesar 5,50 hari. Waktu kematian tercepat pada nimfa instar 2 sebesar 4,31 hari dan terendah pada imago sebesar 6,00 hari. Cendawan entomopatogen *M. anisopliae* efektif dalam mengendalikan *N. viridula* pada nimfa instar 2 dengan konsentrasi 8g/ 100 ml.

Kata Kunci: Patogenisitas cendawan, *Metarhizium anisopliae*, kepik hijau, *Nezara viridula*, stadia perkembangan

Abstract. *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) is a cosmopolitan insect pest and has many host plants (polyphagus) such as beans and cabbage. Attack of the pests can reduce the quality and quantity of crops. One of the most environmentally friendly methods of pest control is the use of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* as a biological control agent can cause *green muscard fungus* disease in insects. The effectiveness of entomopathogenic fungi is strongly influenced by the stadia of host development and the density of conidial fungi applied. The aim of this study is to obtain an effective concentration of the fungus *M. anisopliae* and the stages of development of the most vulnerable insects against the fungus *M. anisopliae*. The design used in the study was a Factorial Randomized Complete Random consisting of two factors: the concentration of fungus *M. anisopliae*: K1 (4g / 100 ml), K2 (6g / 100 ml) and K3 (8g / 100 ml) and stages insect development: N1 (instar nymph 2), N2 (instar nymph 4) and N3 (Adult). Produced a combined number of treatments 9 with 3 replications so that there were 27 experimental units. The result showed that the application of entomopathogenic fungi *M. anisopliae* had significant effect on the incubation period, mortality, and death time of *N. viridula*. The fastest incubation period at 8g / 100ml is 1.33 days and the longest at 4g / 100ml is 1.44 days. The fastest incubation period in nymph instar 2 is 1.00 days and the longest in adult is 2.11 days. The highest mortality is at 8g / 100 ml of 97,67% and the lowest at 4g / 100 ml equal to 87,78% observation 8 HSA. The highest mortality occurred in instar nymph 2 of 98.89% and the lowest in adult of 86,67% observation 8 HSA. The fastest death time in the 8g / 100 ml treatment was 4.49 days and the lowest in the 4g / 100 ml treatment was 5.50 days. The fastest death time in instar nymph 2 is 4.31 days and the lowest is adult at 6.00 days. The entomopathogenic fungus *M. anisopliae* is effective in controlling *N. viridula* in instar nymph 2 with a concentration of 8g / 100 ml.

Keywords: Pathogenicity of fungi, *Metarhizium anisopliae*, Green Stink bug, *Nezara viridula*, stages development

PENDAHULUAN

Kepik hijau (*Nezara viridula* L.) termasuk dalam ordo Hemiptera dan famili Pentatomidae. Kepik hijau tersebar di seluruh daerah tropis maupun daerah sub tropis, mempunyai tipe alat mulut menusuk dan mengisap yang disebut stilet (Kalshoven, 1981). Serangga ini bersifat kosmopolit dan polifagus yang memiliki tanaman inang lebih dari satu famili seperti tanaman pangan, hortikultura dan palawija (Todd, 1989; Mau & Kessing, 2007). Umumnya kepik hijau menyerang tanaman pada fase generatif, dimana pada saat pembentukan polong akan terganggu proses pembentukan biji sehingga menyebabkan polong menjadi kempis, mengering dan gugur. Selanjutnya serangan yang terjadi pada saat pengisian biji menyebabkan biji keriput dan terdapat bintik-bintik kecokelatan serta menghitam yang pada akhirnya biji menjadi busuk. Serangga ini aktif merusak pada stadia nimfa dan imago, serta berpeluang besar menyebabkan kehilangan hasil mencapai 80% pada tanaman kedelai (Panizzi & Correa, 1997; Correa & Azevedo, 2002).

Salah satu agen hayati yang dapat digunakan untuk mengendalikan serangga hama adalah cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* Metsch. yang dapat menyebabkan penyakit *green muscardin fungus* pada serangga. Umumnya cendawan ini menginfeksi serangga karena adanya kontak antara konidia cendawan dengan serangga. Konidia *M. anisopliae* berkecambah membentuk hifa pada segmen tubuh serangga yang lunak dan masuk ke dalam jaringan tubuh serangga dengan bantuan enzim *kitinase*, *protease*, dan *lipase* yang mampu mengurai komponen penyusun kutikula serangga. Setelah masuk ke dalam tubuh serangga, hifa memanjang secara lateral dan berkembangbiak dengan mengonsumsi cairan dari tubuh serangga, sehingga serangga tersebut tidak mampu melakukan metabolisme. Pertumbuhan hifa berlanjut sampai serangga tersebut ditumbuhi dengan miselium berwarna putih, kemudian terdapat bercak berwarna hijau dan menghitam. Hal ini yang mengakibatkan serangga mati dalam keadaan tubuh yang mengeras (Tanada & Kaya, 1993; Aw & Hue, 2017).

Keefektifan cendawan entomopatogen sangat dipengaruhi oleh stadia perkembangan inang dan kerapatan konidia cendawan yang diaplikasikan. Serangga muda lebih rentan dari pada serangga dewasa, hal ini disebabkan lapisan lilin serangga muda lebih tipis dibandingkan serangga dewasa sehingga menyebabkan konidia cendawan lebih mudah berpenetrasi ke dalam lapisan kutikula serangga (Prayogo, 2010). Kemudian kandungan lilin yang menutupi kutikula serangga memiliki beberapa senyawa kimia yang dapat menghambat perkecambahan konidia cendawan pada tubuh serangga Toledo *et al.* (2010).

Cendawan *M. anisopliae* berpotensi dalam mengendalikan berbagai jenis serangga hama seperti ordo Lepidoptera, Coleoptera, Isoptera serta Hemiptera (Prayogo, 2006). Hasil penelitian Trizelia *et al.* (2010) aplikasi suspensi cendawan *M. anisopliae* isolat asal tanah dari pertanaman kubis pada larva *Crociodomia pavonana* instar 2 sebanyak 10^8 konidia/ml menghasilkan mortalitas 66,63% pada 7 HSA dengan nilai LT_{50} yaitu 4,65 hari. Selanjutnya hasil penelitian Susanti *et al.* (2012) aplikasi *M. anisopliae* pada imago kepik hijau dengan konsentrasi 45g/L menghasilkan nilai LT_{50} 189,00 jam dan rata-rata mortalitas adalah 90,00% pada 12 HSA.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala dan Laboratorium UPTD Balai Proteksi

Tanaman Perkebunan Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh. Penelitian ini dilakukan dari bulan April sampai Juli 2017.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet*, *petridish*, spatula, pinset, gunting, *erlenmeyer*, jarum ose, pisau, bunsen, *autoclave*, *shaker*, timbangan analitik, inkubator, stoples, dandang, kompor, tabung gas, saringan, ember, kamera digital (Sony α 5000), mikroskop binokuler (Swift SM-80), klip (*hektet*) dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serangga *N. viridula*, tepung PDA (*potato dextrose agar*), jagung pecah, isolat cendawan *M. anisopliae* koleksi Laboratorium UPTD Balai Proteksi Tanaman Perkebunan Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh, *aquadest*, kain kasa, kertas merang, alkohol 70%, *aluminium foil*, spirtus, kacang panjang, kertas label, karet gelang dan plastik tahan panas.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu konsentrasi cendawan *M. anisopliae*: K_1 , K_2 dan K_3 serta stadia perkembangan serangga: N_1 , N_2 dan N_3 . Jumlah kombinasi perlakuan 9 dengan 3 ulangan sehingga terdapat 27 unit percobaan

Tabel 1. Susunan Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	Konsentrasi
K_1N_1	4 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 2
K_1N_2	4 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 4
K_1N_3	4 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada imago
K_2N_1	6 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 2
K_2N_2	6 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 4
K_2N_3	6 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada imago
K_3N_1	8 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 2
K_3N_2	8 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada nimfa instar 4
K_3N_3	8 gram starter jagung <i>M. anisopliae</i> /100 ml aquades pada imago

Prosedur Penelitian

Pembiakan Serangga *N. viridula*

N. viridula diperoleh dari kebun percobaan kemudian dibiakkan di Laboratorium Nimfa dan imago yang diperoleh dari lapangan dimasukkan ke dalam stoples berukuran 8 x 16 cm yang telah diisi kacang panjang sebagai pakan, kemudian stoples tersebut ditutup dengan kain kasa dan setiap dua hari sekali pakan diganti. Setelah imago berkopulasi dan meletakkan telur, imago tersebut dipindahkan ke dalam stoples lain yang telah berisi kacang panjang. Telur yang menetas, diamati perkembangannya hingga menjadi nimfa instar II, nimfa instar IV dan imago yang digunakan sebagai serangga uji.

Peremajaan Cendawan *M. anisopliae* pada Media PDA

Tepung PDA diambil sebanyak 3,9 gram dan dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* sebagai wadah tempat campuran, kemudian ditambah 100 ml *aquadest* dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C untuk proses pemasakan dan sterilisasi selama 30 menit. Setelah itu *erlenmeyer* dikeluarkan dari *autoclave* dan didinginkan selama 10 menit di dalam *Laminar Air Flow*

Cabinet. Media PDA yang telah masak dituangkan ke dalam *petridish* steril yang berdiameter 9 cm sebanyak 10 ml. Selanjutnya cendawan *M. anisopliae* diremajakan dan ditumbuhkan pada media PDA steril dengan cara melepas koloni cendawan menggunakan jarum ose setelah itu biakan cendawan diinkubasi pada suhu $\pm 24^\circ\text{C}$ selama 7 hari.

Peremajaan Cendawan *M. anisopliae* pada Media Jagung

Hasil dari peremajaan cendawan *M. anisopliae* yang berumur 7 hari ditumbuhkan kembali pada media jagung pecah. Jagung pecah ditimbang sebanyak 300 gr dan dicuci hingga bersih lalu direndam selama 12 jam. Selanjutnya jagung pecah dalam plastik tahan panas dimasukkan ke dalam dandang untuk proses pemasakan dan sterilisasi selama 5 jam 30 menit, lalu diangkat dan didinginkan selama 10 jam. Setelah itu media jagung pecah diinokulasi dengan isolat cendawan *M. anisopliae* di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dengan memotong PDA yang telah ditumbuhi cendawan *M. anisopliae* menggunakan spatula, kemudian potongan tersebut dimasukkan ke dalam plastik yang berisi jagung pecah lalu dilipat dan tutup mulut plastik, lalu diklip dengan *hektet*, media jagung pecah diinkubasi selama 7 hari sambil diremas setiap harinya. Selanjutnya biakan jagung pecah dikeringkan selama 2 hari agar dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Persiapan Konsentrasi dan Aplikasi Cendawan *M. anisopliae*

Biakan cendawan *M. anisopliae* dalam media jagung pecah selanjutnya ditimbang sesuai dengan perlakuan yaitu 4, 6 dan 8 gr. Kemudian masing-masing konsentrasi tersebut dicampur dengan *aquadest* sebanyak 100 ml lalu diaduk menggunakan *shaker* ± 30 menit. Aplikasi pada masing-masing perlakuan dilakukan dengan cara mencelupkan serangga uji pada tiap unit perlakuan (masing-masing 10 ekor serangga sesuai dengan perlakuan) dan ditambah 3 unit kontrol yang hanya dicelupkan dengan *aquadest*. Setelah dicelup, serangga uji dimasukkan ke dalam stoples yang diberi kacang panjang dan ditutup dengan kain kasa. Selanjutnya diamati sesuai dengan peubah.

Peubah yang diamati.

Masa Inkubasi Cendawan *M. anisopliae* terhadap *N. viridula* (hari)

Masa inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan cendawan *M. anisopliae* untuk menimbulkan gejala infeksi pertama pada *N. viridula*. Umumnya ditandai adanya hifa putih yang tumbuh pada bagian tubuh serangga di awal infeksi cendawan serta perubahan lain yang diamati secara visual pada *N. viridula*. Pengamatan masa inkubasi cendawan dilakukan sejak 1 HSA sampai munculnya gejala infeksi awal pada serangga uji.

Mortalitas *N. viridula* (%)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah *N. viridula* yang mati sejak 1 HSA sampai ada salah satu unit perlakuan yang mati 100%. Perhitungan persentase mortalitas *N. viridula* dengan menggunakan rumus (Abbott, 1925 dalam Prijono, 1999) sebagai berikut:

$$Po = \frac{r}{n} \times 100\%$$

Keterangan:

Po : Mortalitas *N. viridula*

r : Jumlah *N. viridula* yang mati

n : Jumlah keseluruhan *N. viridula*

Waktu Kematian (%)

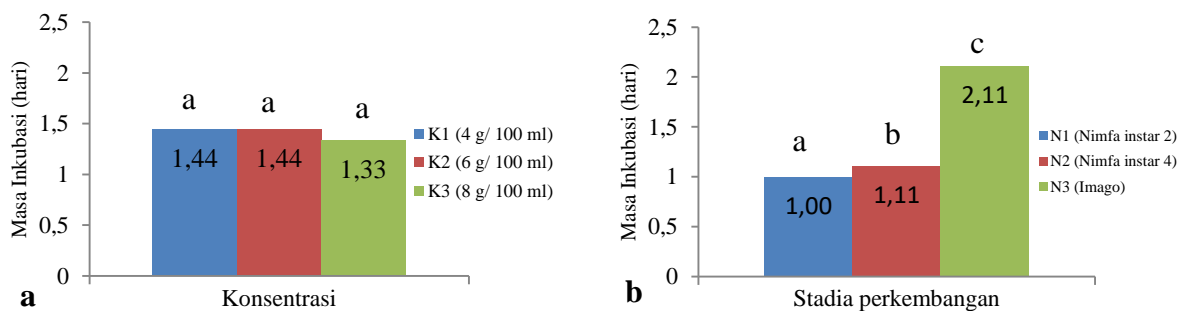
Waktu kematian adalah rentang waktu yang diperlukan oleh cendawan *M. anisopliae* sampai menimbulkan kematian pada nimfa dan imago. Waktu kematian nimfa dan imago sangat bervariasi. Kecepatan kematian dihitung dengan interval 1 HSA sampai ada unit perlakuan yang mati 100%. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus berikut ini.

$$\text{Waktu kematian} = \frac{\sum(\text{waktu pengamatan} \times \text{jumlah } N. \text{viridula} \text{ yang mati})}{\text{Jumlah } N. \text{viridula} \text{ awal}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Masa Inkubasi Cendawan *M. anisopliae* terhadap *N. viridula* (hari)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa secara mandiri stadia perkembangan *N. viridula* berpengaruh sangat nyata terhadap masa inkubasi cendawan *M. anisopliae*. Sedangkan konsentrasi cendawan tidak berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi serta tidak terdapat adanya interaksi antara kedua faktor. Rata-rata masa inkubasi cendawan *M. anisopliae* pada nimfa dan imago *N. viridula* dapat dilihat pada Gambar 1 (a dan b).



Gambar 1. (a). Masa inkubasi dari cendawan *M. anisopliae* pada *N. viridula* dengan konsentrasi yang berbeda. (b). Masa inkubasi dari cendawan *M. anisopliae* pada stadia perkembangan *N. viridula* yang berbeda (huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 0,05

Berdasarkan Gambar 1a dapat dilihat bahwa masa inkubasi cendawan *M. anisopliae* tidak berbeda nyata terhadap semua perlakuan. Hal ini diduga karena cendawan memiliki tingkat patogenesitas yang tinggi sehingga bila diaplikasi dengan konsentrasi rendah akan menimbulkan gejala pada tubuh nimfa dan imago *N. viridula*. Hal ini sejalan dengan Sumartini *et al.* (2001) dalam Prayogo *et al.* (2005) menyatakan bahwa cendawan entomopatogen *M. anisopliae* merupakan salah satu agen hayati yang potensial untuk mengendalikan serangga hama.

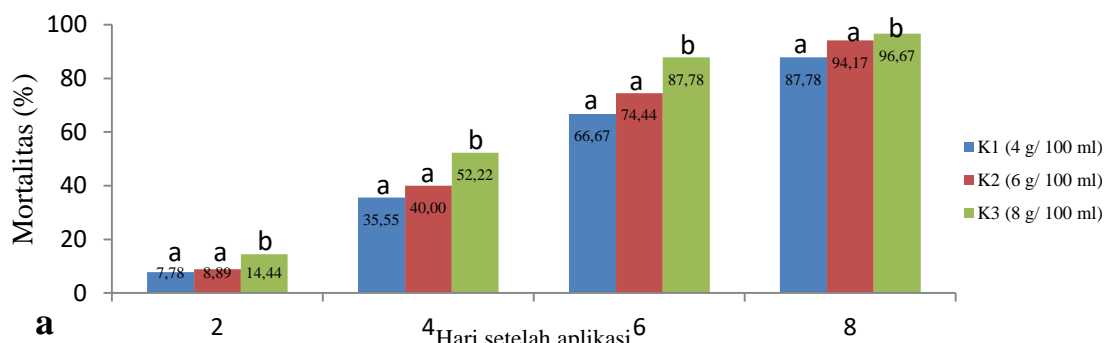
Gambar 1b dapat dilihat bahwa masa inkubasi berbeda nyata antar stadia perkembangan *N. viridula*. Rata-rata masa inkubasi paling cepat terlihat pada nimfa instar 2 yaitu 1,00 hari, diikuti nimfa instar 4 yaitu 1,11 hari dan masa inkubasi paling lama pada imago yaitu 2,11 hari. Masa inkubasi sangat dipengaruhi oleh struktur tubuh serangga, kutikula nimfa instar 2 belum terbentuk sempurna dimana lapisan kitinnya masih tipis dan lunak, sehingga cendawan lebih mudah berpenetrasi ke dalam tubuh serangga. Pada nimfa instar 4 integumen tubuh serangga sudah menebal tetapi belum sempurna, sedangkan pada imago lapisan integumen sudah terbentuk sempurna sehingga cendawan membutuhkan waktu lebih lama untuk berpenetrasi ke dalam tubuh serangga. Gejala awal yang terlihat pada nimfa dan imago yang terinfeksi cendawan yaitu serangga menjadi lemah, kurang aktif bergerak dan daya konsumsi pakan sudah berkurang. Hal ini sesuai dengan pendapat Sedighi *et al.* (2013) bahwa cendawan membutuhkan waktu lebih dari 24 jam untuk menginfeksi serangga. Selanjutnya proses penetrasi cendawan terjadi ke dalam tubuh serangga dengan bantuan enzim pendegradasi

kutikula seperti *lipase*, *protease*, dan *kitinase* (Aw & Hue, 2017). Kaya *et al.* (2016) menambahkan bahwa senyawa kitin pada stadia muda masih sedikit sehingga lapisan integumen masih tipis, sedangkan pada stadia dewasa sudah menebal.

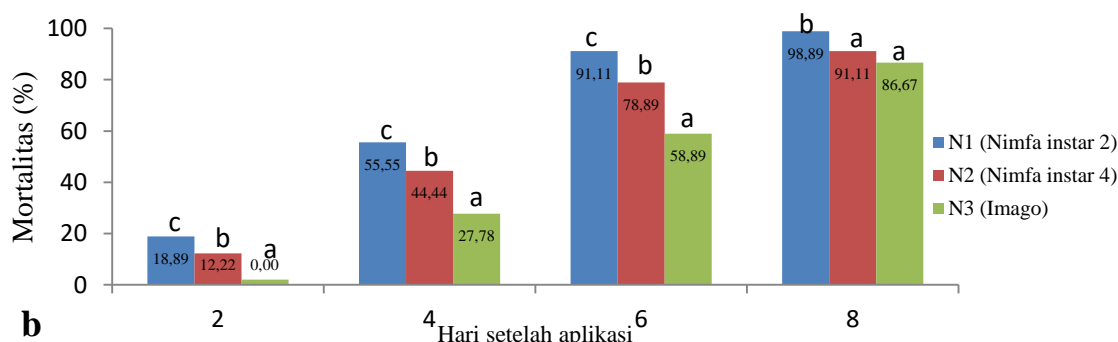
Ulya *et al.* (2016) menyatakan bahwa gejala yang ditimbulkan akibat aplikasi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 10^{10} /ml yaitu adanya miselium berwarna putih pada tubuh *Lepidiotia stigma* setelah 6 HSA. Selanjutnya Han *et al.* (2014) menambahkan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 10^9 /ml pada larva instar 2 *Spodoptera exigua* menimbulkan gejala adanya miselium berwarna putih pada tubuhnya setelah 3 HSA kemudian berubah menjadi hijau setelah 5 HSA.

Mortalitas *N. viridula* (%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa secara mandiri konsentrasi cendawan *M. anisopliae* dan stadia perkembangan *N. viridula* berpengaruh nyata terhadap mortalitas *N. viridula*, namun tidak terdapat adanya interaksi antara kedua faktor tersebut. Rata-rata mortalitas nimfa dan imago *N. viridula* pada berbagai konsentrasi cendawan *M. anisopliae* dan rata-rata mortalitas *N. viridula* pada stadia perkembangan yang berbeda pada pengamatan 2, 4, 6 dan 8 HSA dapat dilihat pada Gambar 2 (a dan b).



Gambar 2. (a). Mortalitas *N. viridula* akibat aplikasi cendawan *M. anisopliae* pada pengamatan 2, 4, 6 dan 8 hari (huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 0,05



Gambar 2. (b). Rata-rata mortalitas *N. viridula* pada stadia perkembangan yang berbeda pada pengamatan 2,4,6 dan 8 HSA cendawan *M. anisopliae* (huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 0,05

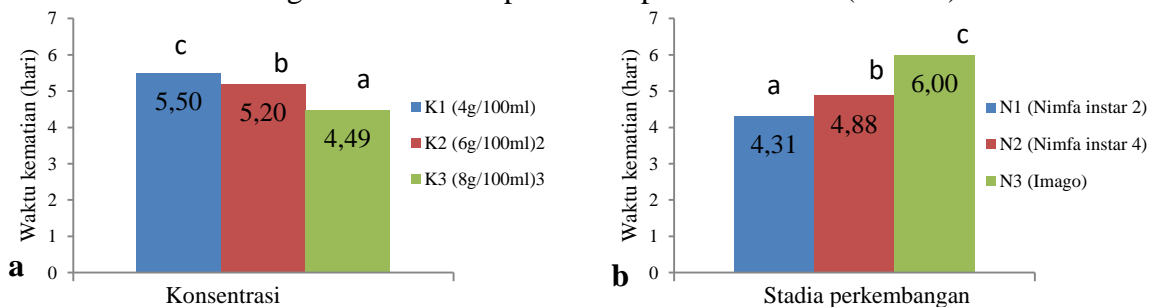
Pada Gambar 2a dapat dilihat bahwa pada 2 sampai 8 HSA ada perbedaan yang nyata antar perlakuan K₃ dengan K₁ dan K₂. Mortalitas tertinggi terdapat pada K₃ yaitu 96,67% diikuti oleh K₂ yaitu 94,17% dan K₁ 87,78% pada pengamatan 8 HSA. Tinggi dan rendahnya mortalitas disebabkan karena perbedaan konsentrasi yang menyebabkan kerapatan konidia yang menghasilkan enzim dan toksin berbeda. Semakin tinggi konsentrasi cendawan yang diaplikasikan pada *N. viridula* maka semakin tinggi mortalitasnya. Cendawan *M. anisopliae*

mengelurkan enzim *kitinase* dan *protease* yang dapat mendegradasi kutikula pada integumen serangga. Kemudian setelah cendawan masuk ke dalam rongga tubuh serangga, toksin destruxin yang dihasilkan cendawan dapat mengakibatkan terjadinya defisiensi nutrisi dan kerusakan jaringan di dalam tubuh serangga. Hal tersebut dapat menyebabkan kematian pada serangga. Kemudian Schrank & Vainstein (2010) menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* mengeluarkan toksin Destruxin A, E dan B (DA, DE, DB). Selanjutnya Samuels *et al.* (1988) menambahkan toksin yang dikeluarkan cendawan entomopatogen mampu melemahkan inang dari pertahanan kekebalan tubuh sehingga dapat menyebabkan gangguan fisiologi, kerusakan fisik jaringan atau pengurangan nutrisi, hal ini mempercepat proses kematian inang. Wright & Cornelius (2012) menyatakan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 10^6 /ml menghasilkan mortalitas 7,5% pada *Coptotermes formosanus* dan 77,5% dengan konsentrasi 10^8 /ml setelah 14 HSA.

Pada Gambar 2b dapat dilihat bahwa pada 2 sampai 6 HSA mortalitas *N. viridula* berbeda nyata antar stadia perkembangan N₁, N₂ dan N₃, namun pada 8 HSA ada perbedaan yang nyata antar stadia perkembangan N₁ dengan N₂ dan N₃. Mortalitas tertinggi pada pengamatan 8 HSA terdapat pada perlakuan N₁ yaitu 98,89% dan terendah yaitu N₃ 86,67%. Perbedaan stadia perkembangan serangga mempengaruhi tinggi rendahnya mortalitas. Nimfa instar 2 memiliki kutikula yang tipis pada integumen, mengakibatkan enzim yang dihasilkan cendawan mudah dalam mendegradasi integumen serangga sehingga proses infeksi semakin cepat. Hal ini menyebabkan nimfa muda lemah dalam mempertahankan kekebalan tubuhnya terhadap serangan cendawan entomopatogen, sehingga peluang terjadinya kerusakan jaringan pada tubuh semakin besar yang menyebabkan kematian pada nimfa, sedangkan imago lapisan kutikula pada integumen sudah terbentuk sempurna, sehingga proses masuknya toksin ke dalam tubuh serangga agak lambat menyebabkan proses kematian membutuhkan waktu lebih lama. Hal ini sesuai dengan pernyataan James (2001) bahwa struktur integumen tubuh nimfa lebih tipis karena lapisan lilin (*wax*) maupun lipid belum terbentuk secara optimal sehingga konidia yang sudah berkecambah tidak mengalami kesulitan dalam menginfeksi serangga. Selanjutnya Bai *et al.* (2012) menyatakan bahwa cendawan *M. anisopliae* dapat menghasilkan enzim *kitinase*, *protease* dan *lipase* yang berperan dalam penguraian komponen penyusun kutikula serangga. Ulya *et al.* (2016) menyatakan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 10^{10} /ml menghasilkan mortalitas 68,86% pada instar 2 dan 57,75% pada instar 3 *Lepidiota stigma* setelah 10 HSA.

Waktu Kematian *N. viridula* (hari)

Hasil analisis ragam menunjukkan secara mandiri bahwa konsentrasi cendawan *M. anisopliae* dan stadia perkembangan *N. viridula* berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata waktu kematian, namun tidak terdapat interaksi antara kedua faktor tersebut. Rata-rata waktu kematian nimfa dan imago *N. viridula* dapat dilihat pada Gambar 3 (a dan b).



Gambar 3. (a).Waktu kematian *N. viridula* akibat aplikasi cendawan *M. anisopliae* pada berbagai konsentrasi.
(b). Waktu kematian *N. viridula* akibat aplikasi cendawan *M. anisopliae* pada berbagai stadia

perkembangan (huruf yang sama di atas bar tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf 0,05

Gambar 3a menunjukkan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* berbeda nyata terhadap waktu kematian dari *N. viridula*. Waktu kematian tercepat pada K₃ yaitu pada 4,49 hari kemudian diikuti K₂ yaitu pada 5,20 hari dan K₁ yaitu pada 5,50 hari. Semakin tinggi konsentrasi cendawan yang diaplikasikan, maka tingkat kerapatan konidia semakin tinggi, menyebabkan jumlah enzim dan toksin yang dihasilkan lebih banyak, sehingga mempercepat waktu kematian *N. viridula*. Sesuai hasil penelitian Han *et al.* (2014) menyatakan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* konsentrasi 10⁵/ml menghasilkan nilai LT₅₀ 4,7 hari, sedangkan konsentrasi 10⁸/ml menghasilkan nilai LT₅₀ 2,1 hari pada instar 2 larva *Spodoptera exigua*. Selanjutnya Susanti *et al.* (2012) menambahkan bahwa aplikasi konsentrasi cendawan *M. anisopliae* 25g/L menghasilkan nilai LT₅₀ 229 jam sedangkan konsentrasi 45g/L menghasilkan nilai LT₅₀ 189 jam pada imago *N. viridula*.

Gambar 3b memperlihatkan bahwa waktu kematian berbeda nyata antar perlakuan stadia perkembangan *N. viridula* akibat aplikasi cendawan *M. anisopliae*. Waktu kematian tercepat terjadi pada N₁ yaitu pada 4,31 hari diikuti N₂ yaitu pada 4,88 hari dan N₃ yaitu pada 6,00 hari. Semakin muda stadia perkembangan serangga, maka semakin singkat waktu yang dibutuhkan cendawan *M. anisopliae* untuk menembus ke dalam tubuh kepik hijau sehingga mempercepat kematian. Perbedaan stadia perkembangan berkaitan dengan tebal tipisnya integumen tubuh serangga, integumen serangga terdiri dari kitin, protein dan lipid. Bagi serangga muda ketiga senyawa tersebut masih belum terbentuk sempurna sehingga lapisan tubuhnya masih lunak menyebabkan cendawan lebih mudah mendegradasi lapisan kulit tubuh serangga. Sesuai dengan pernyataan Sedighi *et al.* (2013) bahwa tingkat ketebalan kutikula pada kulit tubuh serangga sangat berperan dalam proses masuknya cendawan entomopatogen ke dalam tubuh serangga. Begitu juga stadia perkembangan serangga sangat berpengaruh terhadap daya infeksi cendawan entomopatogen, sehingga mempengaruhi waktu kematian. Hasil penelitian Sedighi *et al.* (2013) menyatakan bahwa aplikasi cendawan *M. anisopliae* isolat Iran715_c pada *Eurygaster integriceps* dengan konsentrasi 10⁸ konidia/ml, maka nilai LT₅₀ adalah 17,52 hari pada imago dan nilai LT₅₀ pada nimfa instar 5 yaitu 3,45 hari.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dirangkumkan bahwa cendawan entomopatogen *M. anisopliae* efektif dalam mengendalikan serangga hama *N. viridula*. Aplikasi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 8 gr/100 ml pada nimfa instar 2 sudah dikatakan efektif untuk mengendalikan hama ini di laboratorium. Mortalitas *N. viridula* mencapai 87,78% pada 6 HSA akibat infeksi cendawan *M. anisopliae* dengan konsentrasi 8 gr/100 ml pada stadia nimfa instar 2. Tingginya angka mortalitas dapat mempengaruhi masa inkubasi, persentase penghambat makan dan waktu kematian *N. viridula*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Semakin tinggi konsentrasi cendawan *M. anisopliae* yang diaplikasikan, maka semakin cepat timbulnya gejala penyakit *green muscardin fungus* pada *N. viridula*. Aplikasi suspensi cendawan *M. anisopliae* berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi, mortalitas dan waktu kematian *N. viridula*. Aplikasi suspensi cendawan *M. anisopliae* berpengaruh terhadap stadia perkembangan *N. viridula* pada nimfa instar 2 menghasilkan masa inkubasi 1,00 hari, mortalitas 98,89% dan waktu kematian 4,31 hari. Aplikasi cendawan *M. anisopliae* 8g/100 ml telah efektif dalam mengendalikan *N. viridula*, karena telah menghasilkan mortalitas 87,78% pada nimfa instar 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Alejandra, G., G. J. Jose, A. Raul, U. Maria, & L. Claudia. 2014. Susceptibility of different life stages of *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) and *Periplaneta fuliginosa* (Blattodea: Blattidae) to entomopathogenic fungi. *J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(12): 614-621.
- Aw, K. M. S. & S. M. Hue. 2017. Mode of infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. *J. Fungi* 3(30): 1-20.
- Bai, N. S., O. K. Remadevi, T. O. Sasidharan, M. Balachander, & P. Dharmarajan. 2012. Cuticle degrading enzyme production by some isolates of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.). *J. Bio-Sci.* 20: 25-32.
- Correa, F. B. S. & J. D. Azevedo. 2002. Soybean seed damage by different species of stink bug. *J. Agriculture and Forest Entomology.* 4: 145-150.
- Han, J. H., B. R. Jin, J. J. Kim, & S. Y. Lee. 2014. Virulence of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua*. *Artikel Mycobiology.* 42(4): 385-390.
- James, R.R. 2001. Effect of exogeneous nutrients on conidial germination and virulence against the silverleaf whitefly for two hyphomycetes. *J. Invertebrate Pathology.* 77: 99-107.
- Kalshoven. L. G. E. 1981. Pest of Crops in Indonesia. Revised and Translated by P.A. Van Der Laan. Pt. Ictiar Baru-Van Hoeve, Jakarta.
- Kaya, M., K. Sofi, I. Sargin, & M. Mujtaba. 2016. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). *J. Carbohydrat Polymers.* 145(10): 64-70.
- Mau, R. F. L, & J. L. M. Kessing. 2007. *Nezara viridula* (Linnaeus). www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/nezara.html#References .Diakses tanggal: 25 maret 2017.
- Panizzi, A. R. & B. S. Correa-Ferreira. 1997. Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. *J. Trends in Entomology.* 1: 71- 88.
- Permadi, M. A. 2016. Pemanfaatan cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecaniilecanii*, *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* sebagai mikoinsektisida terhadap kutu loncat jeruk *Diaphorina citri* kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Prayogo, Y., W. Tengkan, & Marwanto. 2005. Prospek cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk mengendalikan ulat grayak *Spodoptera litura* pada kedelai. *J. Litbang Pertanian.* 24(1): 19-24.
- Prayogo, Y. 2010. Efikasi cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) untuk pengendalian hama kepik coklat pada kedelai. *Buletin Palawija* 20: 47-61.

- Prijono, D. 1999. Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Samuels, R. I., A. K. Charnley, & S. E. Reynolds. 1988. The role of destruxins in the pathogenicity of 3 strains of *Metarhizium anisopliae* for the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *J. Mycopathologia*. 104: 51-58.
- Schrank. A. & M. H. Vainstein. 2010. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *J. Toxicon*. 56: 1267-1274.
- Sedighi, N., H. Abbasipour, H. Askary, A. S.Gorjan, & J. Karimi. 2013. Pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *major* on different stages of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*. *J. Insect Science*. 13(150): 1-9.
- Susanti, U., D. Salbiah, J. H. Laoh. 2012. Uji beberapa konsentrasi *Metarhizium anisopliae* (Metsch) sorokin untuk mengendalikan hama kepik hijau (*Nezara viridula*) pada kacang panjang (*Vigna sinensis* L.). Artikel Penelitian. Program Studi Agroteknologi. Universitas Riau.
- Tanada, Y. & H. K. Kaya. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, inc., New York.
- Todd, J. W. 1989. Ecology and Behavior of *Nezara viridula*. Annual Reviews Inc., Georgia.
- Toledo, A.V., A. M. M. R. Lenicov, & C. C. L. Lastra. 2010. Histopathology caused by the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, in the adult planthopper, *Peregrinus maidis*, a maize virus vector. *J. Insect Science*. 10(35): 1-10.
- Trizelia., U. Syam, & Y. Herawaty. 2010. Virulensi isolat *Metarhizium* sp yang berasal dari beberapa rizosfer tanaman terhadap *Crocidolomia pavonana* Fabricus (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Manggaro*. 10(2): 51-56.
- Ulya, L. N., T. Himawan, G. Mudjiono. 2016. Uji patogenesitas jamur entomopatogen *Metarhizium anisopliae* (Moniliales: Moniliaceae) terhadap hama uret *Lepidiota stigma* F. (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. HPT* 4(1): 24-31.
- Wright, M. S. & M. L. Cornelius. 2012. Mortality and repellent effects of microbial pathogens on *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Article BMC Microbiology. 12(291): 1-7.