

**KARAKTER GENETIK DAN FISIOLOGI CENDAWAN
ENTOMOPATOGEN *Beauveria bassiana* SERTA DAMPAKNYA
TERHADAP *Verania lineata***

Oleh:

**NANDA SAPUTRA
2420281002**

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Magister Pertanian**

- 1. Dr. My Syahrawati, SP, M.Si**
- 2. Prof. Dr. Trizelia, M.Si**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

**KARAKTER GENETIK DAN FISILOGI CENDAWAN
ENTOMOPATOGEN *Beauveria bassiana* SERTA DAMPAKNYA
TERHADAP *Verania lineata***

Oleh:

**NANDA SAPUTRA
2420281002**



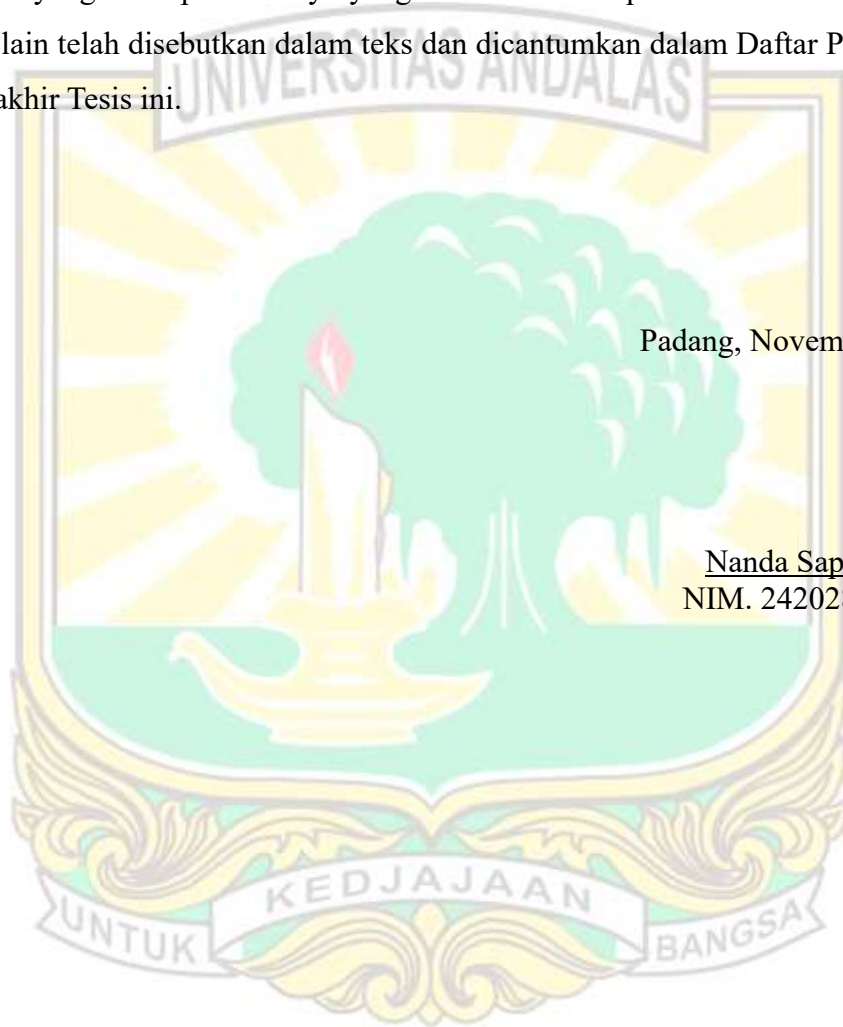
**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Dengan ini dinyatakan bahwa Tesis berjudul “Karakter genetik dan fisiologi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* serta dampaknya terhadap *Verania lineata*” adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir Tesis ini.

Padang, November 2025

Nanda Saputra
NIM. 2420281002



LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tesis : Karakter genetik dan fisiologi cendawan entomopatogen
Beauveria bassiana serta dampaknya terhadap *Verania*
lineata

Nama Mahasiswa : Nanda Saputra

Nomor Buku Pokok : 2420281002

Program Studi : S2 Proteksi Tanaman

Tesis ini telah diuji pada Sidang Panitia Ujian Akhir Magister Pertanian pada program Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, pada tanggal 03 November 2025.

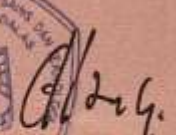
Menyetujui

I. Komisi Pembimbing


Dr. My Syahrawati, S. P., M. Si
NIP. 197205302005012003
Ketua
Prof. Dr. Ir. Trizelia, M. Si
NIP. 196412241989032004
Anggota

Mengetahui

3. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Andalas

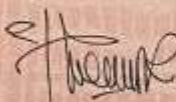


Prof. Dr. Ir. Indra Dwipa, M. S
NIP. 196502201989031003

2. Ketua Program Studi S2 Proteksi Tanaman


Dr. My Syahrawati, S. P., M. Si
NIP. 197205302005012003

Tesis ini telah diuji dan dipertahankan pada Sidang Panitia Ujian Akhir Magister Pertanian, pada program Pascasarjana, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, pada tanggal 03 November 2025.

No.	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1.	Dr. Hasmiandy Hamid, SP. M.Si		Ketua
2.	Prof. Dr. Ir. Nurbailis, MS		Sekretaris
3.	Dr. Haliatur Rahma, S.Si. MP		Anggota
4.	Dr. My Syahrawati, SP. M.Si		Anggota
5.	Prof. Dr. Trizelia, M.Si		Anggota

PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIK

Saya mahasiswa Universitas Andalas yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nanda Saputra

NIM : 2420281002

Program Studi : Magister Proteksi Tanaman

Fakultas : Pertanian

Jenis Tugas Akhis : Tesis

Demi pembangunan ilmu pengetahuan dan teknologi, menyetujui untuk memberikan Tesis ini kepada Universitas Andalas atas publikasi Tesis ini dengan judul "Karakter genetik dan fisiologi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* serta dampaknya terhadap *Verania lineata*". Universitas Andalas berhak untuk menyimpan, mengelola, merawat, dan mempublikasikan Tesis ini selama tetap mencantumkan nama penulis dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya untuk kepentingan yang telah ditentukan.

Padang, November 2025

Nanda Saputra
2420281002

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui."

(Q.S. Al-Baqarah: 216)

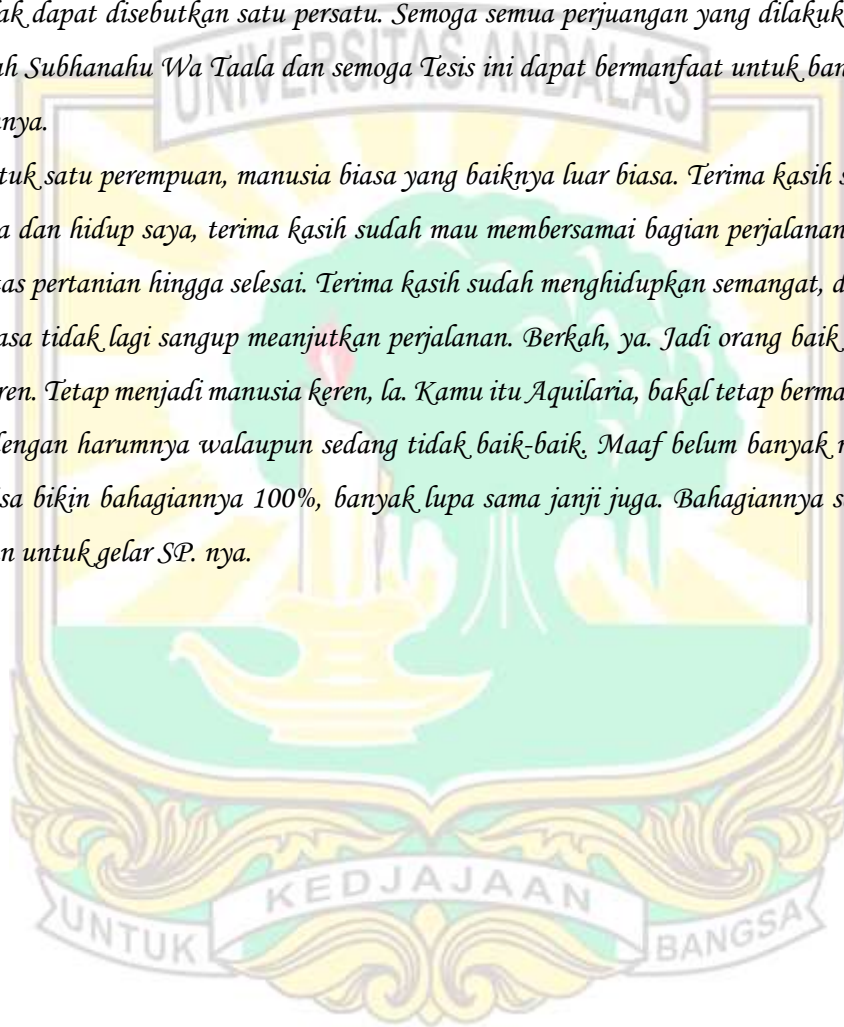
Alhamdulillah Rabbil 'Alamiin puji syukur atas kehadiran Allah Subhanahu Wa Taala atas karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan hingga meraih gelar Magister Pertanian ini, semoga Allah senantiasa memudahkan dan meridhai setiap jalan yang akan ditempuh. Shalawat disampaikan kepada Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wasallam yang telah membawa ke zaman yang penuh ilmu pengetahuan dan kemajuan teknologi.

Dengan segala rahmat dan Ridho Allah Subhanahu Wa Ta'ala, ananda persembahkan karya ini dan mengucapkan terima kasih kepada bapak dan ibu saya yang telah selalu mendoakan, membantu, memberikan dorongan semangat dan selalu mengingatkan untuk jangan lupa beribadah dalam proses penyelesaian sebuah tesis ini. Terima kasih untuk segala doa disepertiga malamnya dan kasih sayang yang tidak pernah ada hentinya. Terima kasih yang belum sempat terucapkan oleh mulut ini secara langsung dan hanya doa yang dapat tersampaikan kepada almarhum kakek dan almarhumah nenek saya yang memberikan semangat untuk cucunya hingga dapat sampai pada tahap ini. Terima kasih kepada adik saya satu-satunya Reza Ahmad Putra yang mampu menjadi motivasi ananda dalam mewujudkan cita-cita. Terima kasih kepada keluarga besar yang selalu memberikan kehangatan dan memotivasi ananda dalam hidup yang masih terus berjalan.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besar nya kepada kedua pembimbing hebat Ibu Dr. My Syahrawati, SP. M.Si. dan Ibu Prof. Dr. Ir. Trizelia, M.Si., atas ilmu, bimbingan, dan motivasinya serta kesabaran yang selalu ibu berikan dalam membimbing saya. Terima kasih sudah banyak sekali membantu dan memberikan kesempatan-kesempatan besar kepada ananda. Permohonan maaf dari hati yang paling dalam atas kesalahan dan kelalaian selama perkuliahan ini. Tidak lupa ucapan terima kasih kepada Bapak Dr. Hasmiandy Hamid, SP. M.Si, Ibu Dr. Haliatur Rahma, S.Si, MP. dan Ibu Prof. Dr. Nurbailis, M.S. selaku penguji yang telah memberi banyak masukan yang membangun untuk sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik. Terima kasih kepada semua dosen, staf administrasi Fakultas Pertanian Universitas Andalas atas semua bantuan dan kemudahan. Semoga Ibu dan Bapak selalu dalam lindungan Allah Subhanahu Wa Ta'ala.

Terima kasih saya ucapkan kepada teman-teman Laboratorium Pengendalian Hayati yang telah membantu dalam proses penelitian, semoga Allah membalas seluruh kebaikan teman-teman. Terima kasih kepada teman-teman kontrak ibu Ar (James, Iqbal, Pikrun, dan Defri) yang telah berbagi tempat bernaung, berbagi pengalaman, berbagi pemikiran, susah dan senang kita lalui bersama-sama, semoga kita semua sukses di jalan masing-masing. Ucapan terima kasih untuk teman-teman Proteksi Tanaman Angkatan 2020, sukses dan sehat selalu untuk semuanya, Terima kasih kepada semua pihak yang telah terlibat dalam pembuatan Tesis ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga semua perjuangan yang dilakukan dibalas oleh Allah Subhanahu Wa Taala dan semoga Tesis ini dapat bermanfaat untuk banyak orang ke depannya.

Untuk satu perempuan, manusia biasa yang baiknya luar biasa. Terima kasih sudah mau tau nama dan hidup saya, terima kasih sudah mau kebersamaan bagian perjalanan membumi di fakultas pertanian hingga selesai. Terima kasih sudah menghidupkan semangat, dan hal-hal yang terasa tidak lagi sanggup melanjutkan perjalanan. Berkah, ya. Jadi orang baik terus, jadi orang keren. Tetap menjadi manusia keren, la. Kamu itu Aquilaria, bakal tetap bermanfaat bagi sekitar dengan harumnya walaupun sedang tidak baik-baik. Maaf belum banyak membantu, belum bisa bikin bahagiannya 100%, banyak lupa sama janji juga. Bahagiannya selalu, yaa. Didoakan untuk gelar SP. nya.



BIODATA

Penulis dilahirkan di Kerinci, Provinsi Jambi pada tanggal 06 Juni 2003. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Harmaidi dan Ibu Julisni. Riwayat Pendidikan Sekolah Dasar ditempuh di SDN 156 Tangkil, Provinsi Jambi (2009-2014). Selanjutnya Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 25 Kerinci, Provinsi Jambi (2014-2017). Pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 7 Kerinci, Provinsi Jambi (2017-2020). Penulis melanjutkan pendidikan S1 di Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang (2020-2024), dan penulis melanjutkan pendidikan S2 di Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang (2024-2025).

Padang, November 2025

N.S



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah Subhanahu Wata'ala yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dengan judul “Karakter Genetik dan Fisiologi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* serta Dampaknya terhadap *Verania lineata*” Shalawat beserta salam penulis sampaikan kepada Rasulullah Muhammad Shallallahu Alaihi wa Sallam yang menuntun jalan keselamatan dunia dan akhirat bagi umat sekalian alam.

Penulis mengucapkan terima kasih yang setulusnya kepada Ibu Dr. My Syahrawati, SP. M.Si selaku dosen pembimbing I dan Ibu Prof. Dr. Ir. Trizelia, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan, nasihat serta motivasi dalam menyelesaikan tesis ini. Selain itu, penelitian ini didukung oleh pendanaan Kemdikbudristek melalui Hibah Skema Penelitian Fundamental Reguler dengan nomor kontrak induk 060/C3/DT.05.00/PL/2025, dan nomor kontrak turunan 71/UN16.19/PT.01.03/PL/2025 atas nama My Syahrawati. Atas dukungan tersebut penulis mengucapkan terima kasih. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada orang tua, saudara serta teman-teman yang telah memberi semangat. Penulis menyadari bahwa dalam tesis ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan tesis ini.

Padang, November 2025

N.S

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK	xxv
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Masalah Penelitian	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Padi.....	7
B. Wereng Batang Coklat (<i>Nilaparvata lugens</i>).....	9
C. <i>Verania lineata</i>	11
D. Cendawan <i>Beauveria bassiana</i>	13
E. Keragaman Genetik Cendawan <i>Beauveria bassiana</i>	16
F. Enzim dan Toksin cendawan <i>B. bassiana</i>	16
G. Dampak Negatif Penggunaan Cendawan entomopatogen	18
BAB III METODE PENELITIAN	21
Studi 1. Karakteristik Fisiologis dan Molekuler Isolat Cendawan Entomopatogen <i>B. bassiana</i>	
A. Tempat dan Waktu	22
B. Bahan Penelitian.....	22
C. Peralatan Penelitian.....	22
D. Rancangan Penelitian	23
E. Prosedur Penelitian.....	23
F. Pengamatan Penelitian	28

Studi 2. Uji Dampak Aplikasi Cendawan Entomopatogen <i>B. bassiana</i> Terhadap Larva dan Imago <i>Verania lineata</i>	
A. Tempat dan Waktu	30
B. Bahan Penelitian.....	30
C. Peralatan Penelitian.....	30
D. Rancangan Penelitian	30
E. Prosedur Penelitian.....	31
F. Pengamatan Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil	37
B. Pembahasan.....	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	60
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	78

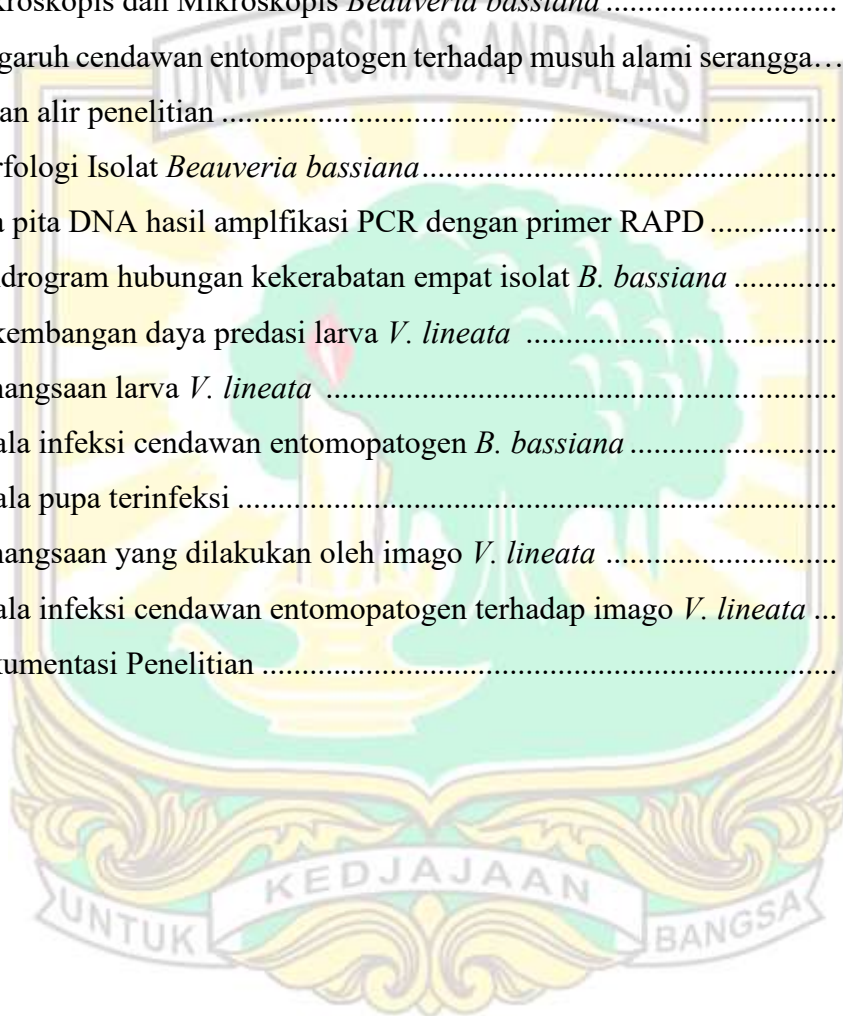


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat cendawan <i>Beauveria bassiana</i> yang digunakan.....	22
2. Perlakuan penelitian tentang dampak aplikasi <i>B. bassiana</i>	31
3. Index IOBC	36
4. Produksi enzim ekstraseluler empat Isolat <i>B. bassiana</i>	37
5. Produksi toksin Beauvericin oleh <i>B. bassiana</i>	37
6. Jumlah dan ukuran fragmen DNA yang diamplifikasi	38
7. Daya predasi larva <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	41
8. Mortalitas predasi larva <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	43
9. Berat tubuh larva <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	44
10. Ukuran tubuh larva <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	44
11. Persentase pupa <i>V. lineata</i> yang terbentuk pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	45
12. Persentase imago <i>V. lineata</i> yang terbentuk pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	46
13. Daya predasi imago <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	47
14. Mortalitas imago <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	49
15. Berat tubuh imago <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	50
16. Ukuran tubuh imago <i>V. lineata</i> pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan <i>B. bassiana</i>	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi wereng batang coklat	8
2. Siklus hidup <i>Verania lineata</i>	10
3. Makroskopis dan Mikroskopis <i>Beauveria bassiana</i>	12
4. Pengaruh cendawan entomopatogen terhadap musuh alami serangga...	16
5. Bagan alir penelitian	18
6. Morfologi Isolat <i>Beauveria bassiana</i>	39
7. Pola pita DNA hasil amplifikasi PCR dengan primer RAPD	41
8. Dendrogram hubungan kekerabatan empat isolat <i>B. bassiana</i>	42
9. Perkembangan daya predasi larva <i>V. lineata</i>	43
10. Pemangsaan larva <i>V. lineata</i>	44
11. Gejala infeksi cendawan entomopatogen <i>B. bassiana</i>	45
12. Gejala pupa terinfeksi	47
13. Pemangsaan yang dilakukan oleh imago <i>V. lineata</i>	51
14. Gejala infeksi cendawan entomopatogen terhadap imago <i>V. lineata</i> ...	52
15. Dokumentasi Penelitian	93



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Jadwal penelitian.....	78
2. Komposisi Medium.....	79
3. Kromatogram	81
4. Sidik Ragam.....	87
5. Dokumentasi Penelitian	92
6. Hasil pengujian enzim ekstraseluler dan RAPD	93



**KARAKTER GENETIK DAN FISIOLOGI CENDAWAN
ENTOMOPATOGEN *Beauveria bassiana* SERTA DAMPAKNYA
TERHADAP *Verania lineata***

Abstrak

Empat isolat *Beauveria bassiana* asal Payo Kerinci mampu memiliki daya patogenisitas yang cukup tinggi terhadap wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens*). Sejauh ini belum diketahui keragaman genetik dan karakter fisiologi mereka yang diduga berperan penting dalam interaksi dengan musuh alami seperti *Verania lineata*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter genetik dan fisiologi, serta dampak negatif beberapa isolat *B. bassiana* terhadap *V. lineata*. Penelitian tersebut dilaksanakan dalam 2 studi, yaitu: 1) karakterisasi genetik dan fisiologi 4 isolat *B. bassiana* (enzim protease, lipase, kitinase dan kadar Beauvericin), 2) Dampak negatif *B. bassiana* terhadap *V. lineata*. Studi tentang keragaman genetik dilakukan secara molekuler menggunakan teknik RAPD-PCR. Studi tentang karakter fisiologi dilakukan dengan uji produksi enzim ekstraseluler dan uji produksi Beauvericin. Studi 2 dilaksanakan secara bertahap terhadap larva dan imago *V. lineata*. Perlakuan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor 1 yaitu beberapa isolat *B. bassiana* (PYB13, PYB23, PYB11, PYA31, dan kontrol), dan faktor 2 adalah perbedaan metode aplikasi (langsung dan tidak langsung). Seluruh perlakuan dilaksanakan dalam lima ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa empat isolat *B. bassiana* uji memiliki karakter fisiologi yang berbeda antar isolat, di mana isolat PYB11 memiliki kadar enzim dan toksin tertinggi dibandingkan isolat lainnya, serta memiliki tingkat keragaman genetik relatif tinggi yang membedakannya dari kelompok isolat lain. Semua isolat cenderung memberikan dampak negatif yang rendah terhadap imago *V. lineata*, ditunjukkan oleh mortalitas <10% dan daya predasi yang berbeda tidak nyata dengan kontrol. Di sisi lain, isolat PYB11 signifikan menyebabkan dampak lebih besar terhadap larva *V. lineata*, dengan mortalitas mencapai 23–32% serta penurunan daya predasi hingga 77% dibanding kontrol (90,8%). Metode aplikasi langsung secara signifikan memberikan pengaruh lebih besar dibanding aplikasi tidak langsung, baik terhadap mortalitas maupun daya predasi larva. Berdasarkan indeks IOBC, empat isolat *B. bassiana* asal Payo relatif aman terhadap predator.

Kata kunci: Beauvericin, Enzim ekstraseluler, IOBC, RAPD-PCR, Virulensi

GENETIC AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* AND THEIR IMPACT ON *Verania lineata*

Abstract

Four isolates of *Beauveria bassiana* from Payo Kerinci have a high pathogenicity against the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). So far, their genetic diversity and physiological characteristics, which are presumed to play an important role in interactions with natural enemies such as *Verania lineata*, have not yet been fully understood. This study aims to determine the genetic diversity and physiological characteristics of *B. bassiana* isolates and to evaluate their potential negative effects on *V. lineata*. The research was conducted in two studies: (1) assessment of genetic diversity and physiological characteristics of four *B. bassiana* isolates (protease, lipase, and chitinase enzymes) and their Beauvericin production, and (2) evaluation of the negative effects on *V. lineata*. The study of genetic diversity was analyzed molecularly using the RAPD-PCR technique, while physiological characteristics were determined through qualitative and quantitative assays of enzyme activity and beauvericin production using a Completely Randomized Design (CRD) with three replications. The second study was carried out on both larvae and adults of *V. lineata* using a factorial CRD, with factor one being the isolates (PYB13, PYB23, PYB11, PYA31, and control) and factor two the application methods (direct and indirect), each treatment replicated five times. The results showed that *B. bassiana* isolates had different physiological characteristics with isolate PYB11 demonstrating the highest enzyme activity and toxin production among all isolates, and that the isolates had relatively high genetic diversity. All isolates generally exerted low negative effects on *V. lineata* adults, as indicated by mortality rates of <10% and predation capacity comparable to the control. In contrast, isolate PYB11 had a stronger impact on larvae, causing mortality rates of 23–32% and reducing predation capacity to 77% compared to 90.80% in the control. Direct application had greater effects than indirect application, both on larva mortality and predation capacity. According to IOBC classification, the four *B. bassiana* isolates from Payo were considered relatively safe for the predator.

Keywords : Beauvericin, Extracellular enzymes, IOBC, RAPD-PCR, Virulence

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman padi merupakan komoditas pertanian yang sangat penting dan merupakan tanaman sereal kedua yang paling banyak dibudidayakan di dunia. Beras yang dihasilkan, dapat memenuhi lebih dari 21% kebutuhan kalori manusia pada skala global dan sangat penting untuk mendukung ketahanan pangan dan kesejahteraan masyarakat (Morales & Villalobos, 2023). Produktivitas padi di Indonesia dari tahun 2021-2024 mengalami peningkatan yaitu 5,22 ton/ha; 5,23 ton/ha, 5,28 ton/ha dan 5,29 ton/ha (Badan Pusat Statistik, 2024). Produktivitas tersebut masih tergolong rendah dibandingkan produktivitas potensial tanaman padi yang dapat mencapai 10-11 ton/ha (Aditya *et al.*, 2021). Rendahnya produktivitas padi di Indonesia salah satunya disebabkan oleh Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) (Sudewi *et al.*, 2020).

Salah satu hama utama yang menyerang tanaman padi yaitu wereng batang coklat (WBC) atau *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphachide) yang menyebabkan kerusakan yang signifikan pada tanaman padi (Syahrawati *et al.*, 2019; Fatimah *et al.*, 2021). WBC menyerang dengan cara menghisap cairan dari batang padi sehingga menyebabkan kerusakan dengan gejala daun-daun menguning seperti terbakar (*Hopperburn*) (Zulyusri & Anugrah, 2023). WBC juga dapat menjadi vektor virus kerdil rumput dan virus kerdil hampa. Serangan WBC dan juga virus secara bersamaan dapat menyebabkan kerugian hingga 80% (Yuliani & Agustian, 2020).

Beberapa teknik pengendalian sudah banyak dilakukan, namun umumnya petani lebih memilih menggunakan insektisida yang dapat berdampak negatif terhadap lingkungan seperti resistensi hama, hilangnya musuh alami, peledakan populasi hama, hingga pencemaran lingkungan (Anjum & Wright, 2023). Teknik pengendalian yang juga sering digunakan yaitu penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap WBC (VUTW). Namun, penggunaannya yang terus menerus dapat dipatahkan oleh WBC dan hanya bertahan 2-3 musim (Ikeda & Vaughan, 2004). Alternatif lain yang lebih direkomendasikan adalah dengan pengendalian hayati

(Bayu *et al.*, 2021), berupa pemanfaatan predator (Syahrawati *et al.*, 2021), parasitoid (Shi *et al.*, 2023) dan entomopatogen (Minarni *et al.*, 2021).

Cendawan entomopatogen telah banyak dilaporkan sebagai agens pengendali hayati antara lain cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Trizelia *et al.*, 2017). *B. bassiana* merupakan salah satu cendawan entomopatogen yang mampu menginfeksi serangga secara langsung dan memiliki kisaran inang yang sangat luas, termasuk WBC (Hendra *et al.*, 2022; Liswandi *et al.*, 2023). Trizelia *et al.* (2017) melaporkan bahwa *B. bassiana* mampu menyebabkan mortalitas hingga 95% pada larva *Spodoptera litura*. Ihsan *et al.* (2023) menyatakan bahwa *B. bassiana* dengan kerapatan 10^9 konidia/mL dapat menyebabkan mortalitas sebesar 95% pada WBC.

B. bassiana memiliki beberapa karakteristik yang menguntungkan, memiliki keanekaragaman genetik yang tinggi, termasuk berpotensi menyebabkan kematian yang tinggi pada populasi hama sasaran (Serna-Domínguez *et al.*, 2019). Perbedaan genetik antar strain *B. bassiana* sangat menentukan virulensinya terhadap hama maupun predator (Dhar *et al.*, 2019; Firouzbakht *et al.*, 2015; Trizelia, 2005). Karakter genetik isolat *B. bassiana* memainkan peran penting dalam efektivitasnya terhadap hama sasaran. Salah satu metode molekuler yang umum digunakan untuk mengevaluasi karakter genetik yaitu *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Dhar *et al.*, 2019). Teknik ini memanfaatkan primer acak untuk mengamplifikasi segmen DNA secara acak (Kumari & Thakur, 2014), sehingga menghasilkan pola pita DNA yang dapat digunakan untuk membedakan antar isolat *B. bassiana* (Dhar *et al.*, 2019; Prabhukarthikeyan *et al.*, 2017; Trizelia, 2005). Keunggulan utama dari metode ini terletak pada kecepatannya, efisiensi biaya, serta kemampuannya menghasilkan banyak penanda genetik tanpa memerlukan informasi awal mengenai sekuen genom (Kumar & Gurusubramanian, 2011). Selain itu, metode ini juga digunakan untuk mengeksplorasi potensi hubungan antara keragaman genetik dengan tingkat virulensi atau distribusi geografis suatu isolat (Imoulan *et al.*, 2016; Jie & Shi, 2010) serta profil RAPD antar isolat dapat dimanfaatkan untuk memantau penyebaran dan persistensi *B. bassiana* di lapangan (Imoulan *et al.*, 2016).

Informasi mengenai karakter genetik dan hubungannya dengan virulensi cendawan entomopatogen telah banyak dilaporkan seperti penelitian Golshan *et al.*

(2014) melaporkan analisis RAPD menghasilkan 227 fragmen DNA polimorfik yang menunjukkan keragaman genetik tinggi, meskipun tidak sepenuhnya berkorelasi dengan tingkat virulensi cendawan, dimana sembilan isolat *B. bassiana* menunjukkan tingkat virulensi yang bervariasi terhadap *Tribolium castaneum*, dengan tiga isolat paling virulen menghasilkan mortalitas lebih dari 45%. Dhar *et al.* (2019) menemukan bahwa isolat lokal *B. bassiana* memiliki kesamaan genetik sebesar 88% antar isolat dan menunjukkan perbedaan nyata dalam tingkat virulensi terhadap *Spodoptera litura*, di mana isolat *BbR2* memiliki virulensi yang paling tinggi dengan mortalitas 83,33%.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa perbedaan genetik memengaruhi virulensi cendawan *B. bassiana* terhadap hama ataupun predator seperti yang dilaporkan Hendra *et al.* (2022) 4 isolat cendawan *B. bassiana* dengan strain yang berbeda menunjukkan tingkat virulensi yang berbeda terhadap WBC. Suryadi *et al.* (2018) juga menunjukkan *B. bassiana* strain STGD 7(14)₂ dan STGD 5(14)₂ menyebabkan patogenesis 100% terhadap WBC dibandingkan strain lainnya. Perbedaan strain juga dapat mempengaruhi patogenesisnya terhadap musuh alami predator seperti yang dilaporkan oleh Li *et al.* (2024) *B. bassiana* strain B4 menyebabkan kematian *Anastatus japonicus* tertinggi (61,07%) pada hari ke-20 dan memiliki efek menghambat pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi predator *Amblyseius cucumeris* dan *A. japonicus* dibandingkan dengan 5 strain *B. bassiana* lainnya yang tidak menunjukkan efek berbahaya.

Selain perbedaan strain atau genetik, enzim ekstraseluler dan toksin yang dihasilkan cendawan *B. bassiana* berpengaruh terhadap patogenesisnya terhadap hama dan predator (Firouzbakht *et al.*, 2015; Gebremariam *et al.*, 2022). Infeksi cendawan entomopatogen berlangsung melalui sinergi enzim ekstraseluler dan toksin. Enzim seperti protease, kitinase, dan lipase melunakkan kutikula serangga sehingga memudahkan penetrasi dan menjadi indikator penting virulensi cendawan (Hasan *et al.*, 2013; Semenova *et al.*, 2020). Variasi ekspresi enzim antar isolat berkaitan erat dengan perbedaan patogenesis, bahkan kombinasi enzim dan konidia terbukti mempercepat kematian inang (Ferreira *et al.*, 2024; Pedrini, 2022).

Cendawan *B. bassiana* juga dapat menghasilkan toksin seperti Beauvericin yang dapat melemahkan imun, merusak membran sel, dan mempercepat mortalitas

serangga (Wang *et al.*, 2021). Dias *et al.* (2016) melaporkan bahwa kadar beauvericin yang tinggi pada kultur *in vitro* maupun pada larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi berkorelasi dengan waktu mortalitas larva. Safavi (2013) melaporkan bahwa kadar Beauvericin berkorelasi dengan virulensi cendawan yang ditunjukkan dengan mortalitas *Galleria mellonella* tinggi pada cendawan yang menghasilkan kadar Beauvericin yang tinggi.

Kisaran inang cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang cukup luas dapat berpotensi menimbulkan risiko patogenik terhadap serangga musuh alami (Sen *et al.*, 2023). Perbedaan stadia berpengaruh terhadap patogenisitas cendawan terhadap predator. Beberapa penelitian melaporkan bahwa cendawan entomopatogen lebih rentan menginfeksi musuh alami larva ordo Coleoptera seperti yang dilaporkan oleh Scorsetti *et al.* (2017) melaporkan bahwa larva predator Coccinellidae (*Eriopis connexa*) yang memangsa kutu daun terinfeksi *B. bassiana* lebih berpengaruh dibandingkan dengan imago. Aghaeepour *et al.* (2022) melaporkan *B. bassiana* signifikan menyebabkan mortalitas terhadap larva *Cryptolaemus montrouzieri* instar ke-3. Trizelia *et al.* (2017) melaporkan isolat *Metarhizium* spp. dengan konsentrasi 10^8 spora/ml dapat menyebabkan mortalitas berkisar antara 27,5% hingga 67,5% terhadap larva *Menochilus sexmaculatus*.

Stadia imago Coccinellidae juga dapat terinfeksi oleh cendawan entomopatogen seperti yang dilaporkan oleh Mohamed (2019) cendawan *B. bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* dengan konsentrasi 10^7 , 10^8 dan 10^9 spora/ml dapat menginfeksi musuh alami Coccinellidae dengan akumulatif persentase mortalitas *Cryptolaemus montrouzieri* betina, masing-masing dari 25 dan 52% hingga 32.5 dan 65%. Sayed *et al.* (2021) *Coccinella undecimpunctata* dan *Hippodamia variegata* yang memakan kutu daun terinfeksi *B. bassiana* mengalami mortalitas masing-masing sebesar 8,33% dan 10% dan memperlama perkembangan larvanya.

Salah satu tujuan penting dalam pemanfaatan cendawan entomopatogen *B. bassiana* ini tidak memberikan dampak negatif terhadap musuh alami WBC seperti kumbang Coccinellidae. Berdasarkan penelitian González-Mas *et al.* (2019) cendawan endofit *B. bassiana* tidak memberikan dampak negatif terhadap *Chrysoperla cranea*, *M. anisopliae* tidak berdampak terhadap predator *Menochilus*

sexmaculatus (Atrchian *et al.*, 2022) dan *B. bassiana* aman terhadap musuh alami dari *Helicoverpa armigera* (Bajya *et al.*, 2015).

Metode aplikasi sangat berperan penting untuk memastikan cendawan entomopatogen aman digunakan untuk pengendalian hama. Metode paparan secara langsung lebih berdampak dibandingkan dengan paparan terhadap mangsa seperti yang dilaporkan oleh Sayed *et al.* (2021) aplikasi secara langsung dapat menyebabkan mortalitas *Coccinella undecimpunctata* dibandingkan dengan tidak langsung hanya memperlama stadia larva.

Keberhasilan penggunaan cendawan entomopatogen dalam pengendalian hama terpadu tidak hanya membutuhkan virulensi yang tinggi terhadap serangga hama, tetapi juga virulensi yang rendah atau selektif terhadap musuh alami (Portilla *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya didapatkan 63 cendawan endofit dari tanaman padi varietas lokal payo Kerinci. Namun, hanya terdapat 4 isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* dengan kode isolat PYA31, PYB13, PYB11 dan PYB23 memiliki patogenisitas tinggi terhadap *Tenebrio molitor* dan berpotensi sebagai patogen WBC serta memiliki karakteristik fisiologi seperti daya kecambah, pertumbuhan koloni dan kerapatan konidia yang optimal (Saputra, 2024). Untuk itu, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut cendawan terkait keamanannya terhadap musuh alami predator (*Verania lineata*).

Pengujian cendawan entomopatogen terhadap musuh alami perlu dilakukan untuk mengetahui keamanan isolat (Sen *et al.*, 2023). Sejauh ini, belum diketahui keragaman genetik dan karakter fisiologi keempat isolat tersebut yang diduga berperan penting dalam interaksinya dengan musuh alami seperti *V. lineata*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai karakter genetik dan fisiologi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* serta dampaknya terhadap *Verania lineata*, predator utama wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens*).

B. Masalah Penelitian

1. Bagaimana karakteristik genetik cendawan entomopatogen *B. bassiana*
2. Bagaimana karakteristik fisiologis cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang memengaruhi virulensinya terhadap predator.
3. Bagaimana dampak negatif cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap predator *V. lineata* pada stadia berbeda dan metode aplikasi yang berbeda

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui karakteristik genetik dan hubungan kekerabatan antara beberapa isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana*
2. Mengetahui karakteristik fisiologis cendawan *B. bassiana* serta hubungan virulensinya terhadap predator.
3. Mengetahui dampak negatif cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap predator *V. lineata* pada stadia berbeda dan metode aplikasi yang berbeda.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan dalam penggunaan dan waktu aplikasi yang tepat dalam aplikasi isolat cendawan *B. bassiana* sehingga dapat diterapkan dalam sistem PHT.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Padi (*Oryza sativa* Linnaeus)

Padi (*Oryza sativa* Linnaeus) merupakan tanaman yang menjadi sumber ekonomi dan sebagai tanaman pangan bagi sebagian besar masyarakat Indonesia (Ningrat *et al.*, 2021). Klasifikasi tanaman padi secara taksonomi yaitu Kingdom plantae, subkingdom Tracheobionta, Super devisi Spermatophyta, Divisi Magnoliophyta, Kelas Liliopsida, Subkelas Commelinidae, Ordo Cyperales, Family Poaceae, Genus *Oryza* L, nama ilmiah *Oryza sativa* L (USDA, 2024). Umumnya petani membudidayakan padi tanpa adanya bimbingan ataupun pelatihan, sehingga petani terus menggunakan pertanian konvensional. Budidaya yang dilakukan dimulai dari pemilihan benih, penyemaian, penanaman, pemupukan, pemeliharaan, panen dan pasca panen (Utama, 2015). Pada saat pemeliharaan petani masih menggunakan teknik konvensional dengan penggunaan pestisida dalam mengendalikan hama (Ratih *et al.*, 2014).

Budidaya tanaman padi dalam sejarah telah banyak dilakukan untuk membantu pembangun ekonomi dan sosial di Asia, terutama di Asia Tenggara yang telah menyumbang 26% dari produksi beras global (Yuan *et al.*, 2022). Tanaman padi dapat tumbuh di dataran rendah hingga tinggi. Padi dapat tumbuh antara 0 sampai 650 mdpl pada suhu antara 22,5 - 26,5 °C, sedangkan di dataran tinggi padi tumbuh paling baik antara 650 - 1,500 meter dari permukaan laut (mdpl) pada suhu berkisar antara 18,7 - 22,5 °C (Taufik *et al.*, 2016). Budidaya tanaman padi bukan hanya sebagai peningkatan produktivitas pertanian tetapi juga sebagai tempat ekosistem dalam regulasi biokontrol dan polinator serta menjadi penyumbang unsur hara di tanah (Settele *et al.*, 2018). Penerapan *smart-farming*, pengelolaan hama terpadu, pertanian organik dan pengelolaan jerami serta mengurangi penggunaan bahan kimia dalam budidaya tanaman padi dapat meningkatkan produksi tanaman padi (Ha & Bac, 2021).

Pemanfaatan varietas yang unggul menjadi salah satu cara dalam meningkatkan hasil produksi padi. Kriteria khusus seperti umur tanaman, hasil per hektar, dan ketahanan terhadap hama dan penyakit diperlukan agar varietas padi dapat disertifikasi. Varietas-varietas baru yang ditemukan melalui seleksi galur atau

persilangan mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi, umur produksi, dan ketahanan terhadap hama dan penyakit (Taufik *et al.*, 2016). Karakteristik varietas unggul terutama dalam ketahanan terhadap hama dapat mengurangi kehilangan hasil oleh hama. Karakteristik lain juga berperan penting seperti pertumbuhannya yang singkat dan produktivitasnya yang tinggi serta kualitas nasi yang baik (Donggulo *et al.*, 2017).

Budidaya tanaman padi secara konvensional dengan penggunaan intensif pestisida dapat menimbulkan berbagai masalah yang dapat mengganggu ekosistem pertanian sehingga dapat berdampak pada resistensi hama dan peledakan hama sehingga produksi yang cenderung tidak stabil (Swastika *et al.*, 2022). Budidaya yang perlu dilakukan oleh petani yaitu dengan meningkatkan kegiatan pengendalian yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan ekosistem yang banyak kehadiran musuh alami dan ramah lingkungan. Penanaman refugia juga salah satu langkah konservasi yang dapat dilakukan (Fauziah *et al.*, 2025).

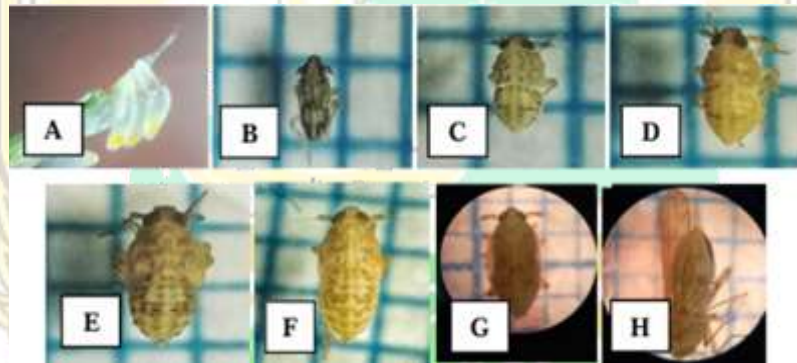
Berbagai permasalahan pada tanaman padi terus menjadi tantangan dalam peningkatan produksi. Perubahan iklim global yang menyebabkan berkembangnya hama dan penyakit sehingga mengancam keselamatan produksi beras sehingga usaha meningkatkan keuntungan menurun karena kebutuhan untuk biaya pengendalian hama dan penyakit meningkat (Nuryanto, 2018).

Upaya dalam meningkatkan produktivitas tanaman padi, masih terdapat beberapa kendala yang perlu diatasi, salah satunya adalah serangan hama yang dapat mengganggu pertumbuhan dan hasil panen. Wereng coklat dan penggerek batang padi menjadi salah satu hama utama yang menjadi kendala budidaya tanaman padi serta ada beberapa hama penting lain yang berpotensi merusak tanaman padi antara lain wereng hijau (*Nephotettix virescens*), walang sangit (*Leptocorisa oratorius*), ulat grayak (*Mythimna separate*), belalang (*Oxya*), ganjur (*Orseolia oryzae*) (Zakqy & Wiyatiningsih, 2023). Rata-rata kehilangan hasil yang disebabkan OPT mencapai 30% dari potensi hasil, sedangkan kerugian hasil akibat hama berkisar 20-25% (Usyati *et al.*, 2018).

B. Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens*)

Nilaparvata lugens (Hemiptera: Delphacidae) atau wereng batang coklat (WBC) merupakan salah satu hama pada tanaman padi yang menyerang pada semua fase pertumbuhan tanaman padi. Nimfa dan dewasa WBC merusak dengan cara mengisap cairan sel tanaman pada bagian batang, sebagai vektor virus dan pada serangan yang berat dapat menyebabkan puso (*hopperburn*) dan kegagalan panen (Akula *et al.*, 2013). Sistem taksonomi WBC termasuk ke dalam kingdom: Animalia, filum: Arthropoda, kelas: Insecta, ordo: Hemiptera, famili: Delphacidae, genus: *Nilaparvata*, nama ilmiah: *Nilaparvata lugens* (Mochida & Okada, 1979).

WBC merupakan serangga yang bersifat monofag, memiliki inang yang terbatas pada padi dan padi liar (Nurbaeti *et al.*, 2010). Siklus hidup WBC dimulai dari telur, nimfa, makroptera jantan dan betina dewasa (Permana, 2016). Telur WBC berbentuk lonjong, diletakkan berkelompok dalam pangkal pelepah daun, jika populasinya tinggi telur diletakkan di ujung pelepah daun dan tulang daun, betina meletakkan telur 3-21 butir per kelompok dan menetas antara 7-11 hari (Gambar 1) (Baehaki & Widiarta, 2010).



Gambar 1. Tahapan perkembangan Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens*) (A). Telur, (B). Nimfa instar 1, (C). Nimfa instar 2, (D). Nimfa instar 3, (E). Nimfa instar 4, (F). Nimfa instar 5, (G). Imago brakiptera, (H). Imago makroptera (Hendra, 2021)

Nimfa mengalami pergantian kulit (instar), dengan rata-rata stadium nimfa berlangsung selama 12,8 hari (Nurbaeti *et al.*, 2010). Nimfa WBC melewati 5 tahap yang dapat dibedakan dari bentuk mesonotum dan metanotum serta dari ukuran tubuhnya. Perkembangan nimfa yaitu selama 10-15 hari (Mochida & Okada, 1979). Nimfa WBC instar I bewarna putih keabu-abuan, kemudian bewarna coklat cerah pada saat nimfa instar V dengan panjang $\pm 2,9$ mm. Nimfa instar terakhir memiliki

kesamaan dengan imago dengan beda pada bagian organ reproduksi yang belum terbentuk (Gambar 1) (Listihani *et al.*, 2023).

Nimfa dapat berkembang menjadi dua bentuk wereng dewasa yaitu bersayap panjang (makroptera) dengan sayap belakang normal, dan bentuk kedua bersayap kerdil (brakhiptera) dengan sayap belakang tidak normal (Gambar 1). Umumnya wereng brakhiptera bertubuh lebih besar, mempunyai tungkai dan peletak telur lebih panjang. Imago makroptera lebih banyak pada tanaman tua dan lebih banyak pada tanaman setengah rusak (Nurbaeti *et al.*, 2010). Imago brakhiptera memiliki masa peneluran selama 3-4 hari dan untuk wereng makroptera selama 3-8 hari (Permana, 2016).

WBC memiliki tipe mulut menusuk menghisap, terutama mengisap getah floem, mengurangi klorofil dan kandungan protein daun, serta mengurangi laju fotosintesis. Imago dan nimfanya menghisap cairan tanaman sehingga tanaman menjadi sakit, tumbuh kerdil, daun mulai kuning, layu dan akhirnya menimbulkan gejala serangan yang disebut *hopperburn* atau mati kering (Baehaki & Mejaya, 2014).

WBC menyerang tanaman padi pada saat tanaman padi berumur 15 hari setelah tanam (Nurbaeti *et al.*, 2010). Gejala serangan hama WBC mulai terlihat pada fase vegetatif yaitu setelah tanaman padi berumur 20-40 hari setelah tanam dengan menghisap cairan batang tanaman padi sehingga menyebabkan gejala pada daun menguning akibat nutrisi pada batang tanaman sudah terganggu (Anggraini *et al.*, 2014). Serangan 1 hingga 4 ekor wereng coklat per batang pada periode anakan selama 30 hari dapat menurunkan hasil 35% dan 77%. Serangan 1 hingga 4 ekor WBC per batang pada masa bunting selama 30 hari dapat menurunkan hasil berturut-turut 20 % dan 37%. Serangan 4 ekor WBC per batang pada masa pemasakan buah selama 30 hari dapat menurunkan hasil sebesar 28% (Nurbaeti *et al.*, 2010).

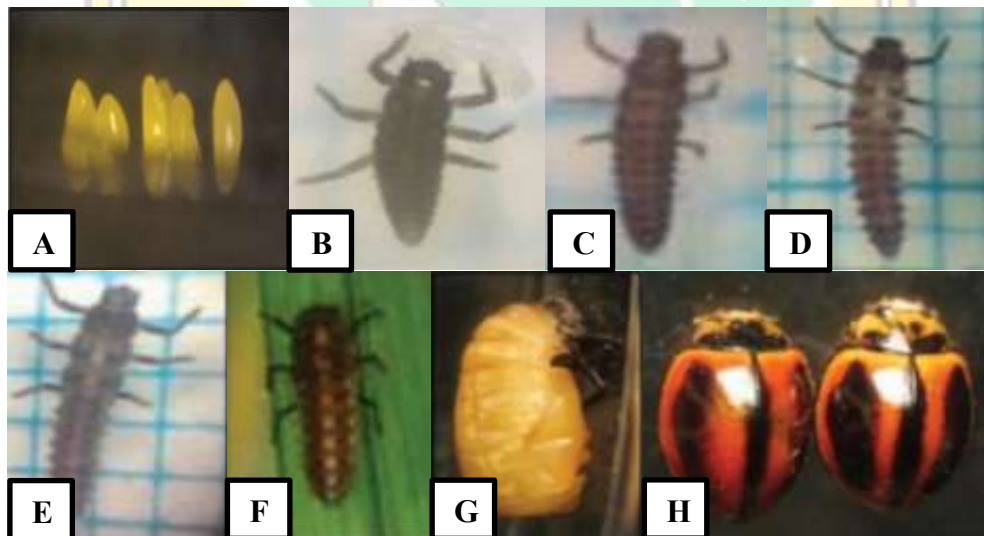
Faktor biotik dan abiotik mempengaruhi keberadaan WBC di lahan sawah (Liang *et al.*, 2022). Penggunaan varietas rentan secara terus menerus dan tetap mempertahankan cara budidaya padi konvensional dapat menyebabkan peledakan hama. Selain itu, faktor abiotik seperti temperatur, kelembaban, dan intensitas sinar

matahari juga menjadi salah satu faktor penyebab tingginya keberadaan WBC (Humaidi & Daryanto, 2020).

C. *Verania lineata*

Verania lineata Thumb. (Coleoptera: Coccinelidae) atau kumbang koksi merupakan predator polifag yang banyak dijumpai pada tanaman padi yang mulai berbunga. Mangsa utama *V. lineata* adalah WBC dan wereng daun. Selain memangsa WBC, *V. lineata* juga memangsa penggulung daun padi (*Cnaphalocrocis medinalis*) (Hendriwal *et al.*, 2017). *V. lineata* juga memangsa kutu daun, kutu sisik serta serangga-serangga kecil lainnya (Amir, 2002).

Siklus hidup *V. lineata* dari telur sampai imago yaitu 29 hari. Lama hidup imago berkisar antara 101,4-106,2 hari. Persentase penetasan telur sebesar 91,99 %, sedangkan persentase menjadi imago sebesar 48,75 %. Pada waktu satu dan dua bulan seekor imago betina dapat menghasilkan keturunan sebanyak 5,35 pasang dan 41 pasang (Santosa & Sulisty, 2007).



Gambar 2. Tahapan perkembangan *Verania lineata*: A) Kelompok telur, B) Larva instar ke-1 yang baru menetas, C) Larva instar ke-2, D) Larva instar ke 3, E) Larva instar ke-4, F) Pra pupa, G) Pupa, H) Imago jantan dan betina (Utarie, 2018).

Ciri-ciri *V. lineata* diantaranya tidak memiliki bintik pada sayap tetapi terdapat garis melengkung berwarna hitam, kepala berbentuk segitiga dengan ujung lancip berwarna coklat dengan panjang kepala 1 mm, kaki berjumlah 3 pasang berwarna hitam, tubuh berbentuk lonjong dengan panjang 5 mm, sayap berwarna orange kecoklatan dengan panjang 4 mm dan tipe alat mulut mengunyah (Gambar

2) (Yudiawati & Pertiwi, 2020). *V. lineata* mempunyai ukuran sedang dengan panjang tubuh 4–5 mm dan lebar 3 mm. Kepalanya kecil, berwarna kuning kecoklatan, hampir tersembunyi di bawah pronotum. Pada frons terdapat satu titik hitam. Pronotumnya berwarna kuning kecoklatan dengan satu bercak hitam besar yang hampir menutupi bagian pangkal. Elitranya sangat cembung, berwarna kuning kecoklatan, dengan pita hitam yang membentang memanjang dari bagian anterior ke posterior pada sisi dorsal. Selain itu, pada sisi lateral kiri dan kanan masing-masing terdapat pita lebar yang juga memanjang (Gambar 2) (Efendi, 2023). *V. lineata* mulai ditemukan pada tanaman padi umur 3 MST. Populasi *V. lineata* tertinggi dicapai pada umur 8 MST dan menurun hingga tanaman padi siap panen (12 MST) (Najah, 2018).

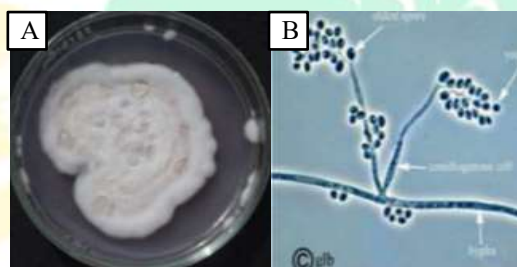
Imago dan larva *V. lineata* memiliki kemampuan memangsa yang cukup baik. Beberapa penelitian meaporkan bahwa *V. lineata* dapat memangsa 1-11 ekor WBC per hari. Pengujian daya predasi pada kepadatan yang berbeda juga menunjukkan kemampuan memangsa yang meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah mangsa dengan persentase hanya berkisar antar 38-47,5% per hari. *V. lineata* juga memiliki perilaku untuk tidak menghabiskan mangsa baik pada kepadatan rendah maupun pada kepadatan tinggi. Hal ini diduga karena perilaku predator untuk melindungi mangsa (Syahrawati *et al.*, 2015).

Komposisi *V. lineata* pada pertanaman padi lebih banyak pada pertanian organik daripada pertanian konvensional. Keberadaan Coccinellidae predator yang lebih tinggi pada pertanaman padi organik dipengaruhi oleh populasi mangsa. Populasi mangsa yang tinggi akan menarik minat predator untuk datang dan hidup di tempat tersebut, sedangkan pada pertanaman padi konvensional keberadaan predator rendah. Hal ini dikarenakan pada pertanaman padi konvensional petani selalu melakukan penyemprotan pestisida sintetik sehingga predator tidak mendekati mangsa pada lokasi yang berbahaya baginya (Putri, 2018).

Perilaku *V. lineata* dalam mencari mangsa yaitu bergerak aktif pada bagian ujung daun padi. *V. lineata* cenderung diam dan mengamati mangsa sebelum mencari dan mengejar mangsa. Setelah mendapatkan mangsa, *V. lineata* langsung memangsa WBC sampai habis, kemudian beristirahat sebelum memulai mencari mangsa baru (Desiska, 2021).

D. Cendawan *Beauveria bassiana*

Cendawan *B. bassiana* merupakan cendawan entomopatogen yang memiliki jenis inang terbanyak di antara cendawan entomopatogen lainnya. Inang utama *B. bassiana* adalah serangga dari ordo Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera dan Hymenoptera (Trizelia *et al.*, 2017). *B. bassiana* tergolong ke dalam filum: Ascomycota, kelas: Sordariomycetes, ordo: Hypocreales, famili: Clavicipitaceae, genus: *Beauveria* (Bayu *et al.*, 2021). Cendawan *B. bassiana* memiliki karakteristik makroskopis menunjukkan adanya warna putih pada permukaan koloni dan miselium yang memiliki bentuk seperti benang-benang halus (Amanah *et al.*, 2023). Karakteristik mikroskopis seperti konidiofor berbentuk tegak dan tunggal dengan ujung konidiofor meruncing. Pada bagian ujung konidiofor terdapat kondia berbentuk agak bulat oval, bersel satu dan berwarna hialin (Trizelia *et al.*, 2015).



Gambar 3. Morfologi cendawan *Beauveria bassiana*: (A) Bentuk makroskopis dan (B) Bentuk mikroskopis (Farida *et al.*, 2018).

Cendawan *B. bassiana* mempunyai kapasitas reproduksi yang tinggi, mudah diproduksi (Abdelghany, 2015). Cendawan *B. bassiana* memiliki patogenisitas yang tinggi terhadap inangnya. Keberadaan epizootiknya di alam membuat *B. bassiana* cepat menginfeksi populasi serangga dan dapat mengakibatkan kematian pada inang (Rosmiati *et al.*, 2018).

Cendawan *B. bassiana* dikenal sebagai penyebab penyakit *white muscardine* pada serangga karena miselia dan konidia (spora) yang dihasilkan berwarna putih, berbentuk bulat sampai oval (Pertiwi *et al.*, 2016). Spora *B. bassiana* yang melekat pada permukaan kutikula serangga inang akan membentuk hifa, hifa masuk pada jaringan internal serangga inang melalui interaksi biokimia yang kompleks antara inang dan cendawan (Rosmiati *et al.*, 2018). Enzim yang dihasilkan akan mendegradasi kutikula serangga. *B. bassiana* menghasilkan toksin beauvericin yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan akibat terinfeksi secara menyeluruh

(Hidayah *et al.*, 2019). Hifa akan tumbuh ke dalam sel-sel tubuh serangga, dan menyerap cairan tubuh serangga yang mengakibatkan serangga mati dalam keadaan tubuh yang mengeras yang dikenal dengan mumifikasi (Rosmiati *et al.*, 2018).

Pada tahap infeksi lanjut *B. bassiana*, hifa akan memasuki hemocoel dan akan membentuk “*yeastlike hyphal bodies*” (blastopora) yang memperbanyak diri dengan cara pembentukan tunas. Blastopora tumbuh dan berkembang di dalam hemocoel dengan menyerap cairan haemolymph inangnya. Selain itu, infeksi cendawan ini juga menghasilkan enzim protease, kitinase, amilase, dan lipolitik bersifat toksik dan menimbulkan kerusakan pada jaringan tubuh serangga inang (Rosmiati *et al.*, 2018).

Perbedaan tingkat virulensi beberapa isolat cendawan *B. bassiana* sangat bergantung pada keragaman genetik dan sifat fisiologis cendawan. Salah satu faktor yang menentukan virulensinya yaitu karakter fisiologis isolat cendawan seperti daya kecambah konidia, laju pertumbuhan koloni dan kemampuannya bersporulasi (Trizelia, *et al.*, 2017) serta kepadatan konidia yang menentukan peluang menempelnya konidia pada tubuh serangga (Budi *et al.*, 2013)

Enzim dan toksin yang dihasilkan *B. bassiana* dapat menyebabkan kerusakan jaringan serangga, seperti saluran pencernaan, mengganggu kinerja otot serangga, terganggunya proses jalannya impuls sistem syaraf, dan terganggunya sistem sirkulasi udara untuk serangga bernafas (Wahyudi, 2008). Salah satu studi dengan rata-rata lipase (5,3 U/ml), protease (32,13 U/ml) dan kitinase (2,95 U/ml). menunjukkan patogenisitas yang tinggi terhadap *Galleria mellonella*. Beberapa enzim yang dapat dihasilkan cendawan *B. bassiana* yaitu kitinase, protease dan lipase sangat menentukan tingkat virulensinya terhadap serangga (El-Maraghy *et al.*, 2023).

E. Keragaman Genetik Cendawan *Beauveria bassiana*

Berbagai studi telah dilakukan untuk mengevaluasi keragaman genetik *B. bassiana* menggunakan pendekatan molekuler yang berbeda. Studi awal yang dilakukan oleh Maurer *et al.* (1997) menunjukkan bahwa keragaman genetik antar isolat *B. bassiana* berkorelasi dengan kisaran inangnya, melalui analisis isoenzim dan RAPD yang membedakan isolat berdasarkan asal serangga dan lokasi geografis. Pendekatan molekuler ini kemudian dikembangkan oleh Urtz *et al.*

(1997) yang menggunakan RAPD-PCR untuk karakterisasi isolat dari berbagai sumber dan menunjukkan tingginya tingkat polimorfisme di antara isolat.

Penelitian Rehner & Buckley (2003) mengisolasi dan mengkarakterisasi lokus mikrosatelit baru, memungkinkan analisis populasi yang lebih presisi terhadap isolat komersial dan alami. Pendekatan berbasis AFLP dan rDNA oleh Fernandes et al. (2009) mengungkapkan adanya variasi genetik yang signifikan antar isolat Brasil, dengan kemungkinan adaptasi lokal terhadap kondisi lingkungan yang berbeda. Teknik lain seperti ISSR juga dilaporkan oleh Estrada *et al.* (2006) untuk membandingkan isolat dari berbagai sumber, menghasilkan pola pita yang menunjukkan perbedaan genetik yang jelas. Carneiro *et al.* (2008) menggabungkan analisis molekuler dan uji patogenesis, memperlihatkan bahwa isolat dengan jarak genetik dekat cenderung memiliki tingkat virulensi yang serupa terhadap serangga inang. Selain itu, beberapa teknik baru dalam analisis keragaman genetik antar isolat *B. bassiana* juga telah di laporkan seperti menggunakan teknik *multilocus sequence analysis* (MLSA) (Chaithra *et al.*, 2022).

Analisis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan salah satu metode molekuler yang banyak digunakan untuk menentukan keragaman genetik antar isolat *B. bassiana*. Teknik ini efektif karena relatif murah, cepat dan mampu menghasilkan pola pita DNA yang spesifik untuk setiap isolat tanpa memerlukan informasi sekuens awal (Bidochka *et al.*, 1994). Pendekatan RAPD juga terbukti dapat membedakan spesies dan strain entomopatogen secara akurat serta menggambarkan hubungan genetik antar isolat yang berasal dari inang atau wilayah yang berbeda (Berretta *et al.*, 1998).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa analisis RAPD mampu mengidentifikasi hubungan antara keragaman genetik dan virulensi *B. bassiana* terhadap berbagai serangga inang (Maurer *et al.*, 1997). Studi pada isolat dari berbagai daerah dan inang memperlihatkan adanya pola polimorfisme yang tinggi, yang menunjukkan bahwa *B. bassiana* memiliki kemampuan adaptasi yang luas terhadap kondisi lingkungan dan tipe inang (Urtz *et al.*, 1997).

Dhar *et al.* (2019) menunjukkan bahwa isolat *B. bassiana* lokal di Punjab memiliki tingkat kemiripan genetik yang tinggi (88%) antar isolat tetapi rendah terhadap isolat standar (58%), dan perbedaan genetik tersebut berkorelasi dengan

variasi tingkat virulensi terhadap *S. litura*. Penelitian Golshan *et al.* (2014) juga menemukan bahwa meskipun RAPD menghasilkan 227 fragmen DNA polimorfik yang menunjukkan keragaman genetik tinggi, pola pengelompokan molekuler tidak sepenuhnya sejalan dengan hasil uji virulensi terhadap *Tribolium castaneum*. Temuan yang sama juga dilaporkan oleh Imoulan *et al.* (2016), yang menggunakan kombinasi RAPD dan ITS untuk karakterisasi isolat asli *B. bassiana* dan menemukan keragaman genetik yang signifikan antar populasi di wilayah berbeda.

Secara umum, berbagai penelitian tersebut menegaskan bahwa RAPD-PCR merupakan metode yang cepat, sensitif, dan efektif untuk mengidentifikasi variasi genetik pada *B. bassiana*, serta dapat digunakan untuk mendukung pemilihan isolat dengan virulensi tinggi sebagai kandidat potensial agen biokontrol (Prabhukarthikeyan *et al.*, 2017). Meskipun demikian, sebagian besar studi juga menyarankan bahwa hasil analisis RAPD sebaiknya dikombinasikan dengan uji bioasai dan marker molekuler lain seperti ITS, AFLP, atau SCAR untuk memperoleh hasil yang lebih komprehensif tentang hubungan antara keragaman genetik dan virulensi isolat (Dalzoto *et al.*, 2003; Dhar *et al.*, 2019).

F. Enzim dan Toksin Cendawan *B. bassiana*

B. bassiana merupakan salah satu cendawan entomopatogen yang dapat menghasilkan enzim ekstraseluler dalam proses awal infeksi hingga penetrasi ke dalam tubuh serangga inangnya. Tubuh serangga memiliki pelindung luar yang tersusun oleh lipid (Epikutikula), kitin dan juga protein (Prokutikula) (Keyhani, 2018). Enzim ekstraseluler, terutama protease, kitinase, dan lipase, dapat bekerja secara sinergis dalam mendegradasi komponen utama kutikula serangga tersebut, sehingga memungkinkan hifa cendawan menembus lapisan pelindung inang (Gebremariam *et al.*, 2022). Dhawan & Joshi (2017) melaporkan bahwa protease Pr1 dan Pr2 yang diproduksi oleh *B. bassiana* mampu memecah protein struktural kutikula, dan mekanisme ini menjadikannya faktor utama yang menentukan tingkat virulensi cendawan. Temuan ini diperkuat oleh Fang *et al.* (2005) yang berhasil mengkloning dan mengkarakterisasi gen kitinase Bbchit1, yang berperan penting dalam hidrolisis kitin pada eksoskeleton serangga, sehingga menunjukkan bukti nyata kontribusi enzim kitinase dalam mempermudah penetrasi cendawan entomopatogen. Penelitian Dhawan & Joshi (2017) menegaskan bahwa variasi

tingkat aktivitas protease, kitinase, dan lipase antar isolat *B. bassiana* memiliki hubungan yang erat dengan tingkat mortalitas serangga uji, sehingga enzim-enzim tersebut dapat dijadikan indikator dalam menyeleksi isolat yang unggul untuk aplikasi biokontrol.

Gao *et al.* (2020) menemukan bahwa protease subtilisin-like Pr1 yang bersifat konservatif memainkan peran kolektif yang signifikan dalam evolusi kemampuan *B. bassiana* sebagai patogen serangga. Fan *et al.* (2007) membuktikan bahwa peningkatan ekspresi kitinase rekombinan mampu memperkuat efektivitas infeksi, yang menunjukkan bahwa manipulasi enzimatik dapat meningkatkan virulensi isolat. Hasil penelitian Golzan *et al.* (2023) memperlihatkan bahwa protease dan lipase yang diproduksi oleh isolat-isolat lokal juga memiliki kontribusi nyata terhadap daya infeksi, sehingga mendukung gagasan bahwa keberagaman aktivitas enzim menentukan variasi patogenisitas. Mejia *et al.* (2024) menambahkan bahwa tingkat stabilitas enzim lisis, seperti lipase, protease, dan kitinase, menjadi faktor penentu efektivitas cendawan ini dalam pengendalian hayati di lapangan.

Studi metabolomik oleh Bhadani *et al.* (2021) menunjukkan adanya keterkaitan erat antara profil metabolit ekstraseluler dan aktivitas enzimatik dalam meningkatkan virulensi serangga target. Penelitian Lovera *et al.* (2020) bahkan memberikan bukti tambahan bahwa suplementasi dengan kitinase terlarut mampu meningkatkan efektivitas *B. bassiana* dalam menginfeksi inang, sehingga mendukung potensi pemanfaatan kombinasi enzim untuk memperkuat kinerja biokontrol. Wang *et al.* (2021) menekankan bahwa enzim ekstraseluler tidak bekerja secara terisolasi, melainkan berinteraksi dan bersinergi dengan toksin sekunder yang diproduksi cendawan, sehingga keduanya secara bersama-sama menentukan keberhasilan proses infeksi dan efektivitas *B. bassiana* sebagai agens pengendali hayati.

Penelitian Firouzbakht *et al.* (2015) menunjukkan perbedaan cendawan *B. bassiana* dalam menghasilkan enzim mempengaruhi virulensinya terhadap predator yaitu isolat *B. bassiana* AM-118 memiliki virulensi lebih tinggi terhadap *Andrallus spinidens* dibandingkan isolat BB2 seperti yang ditunjukkan oleh nilai LC_{50} yang lebih tinggi (37×10^4 spora/ml) dibandingkan AM-118 (15×10^3 spora/ml). Aktivitas enzim yang juga berperan dalam patogenisitas, seperti kitinase, lipase, ALP, dan

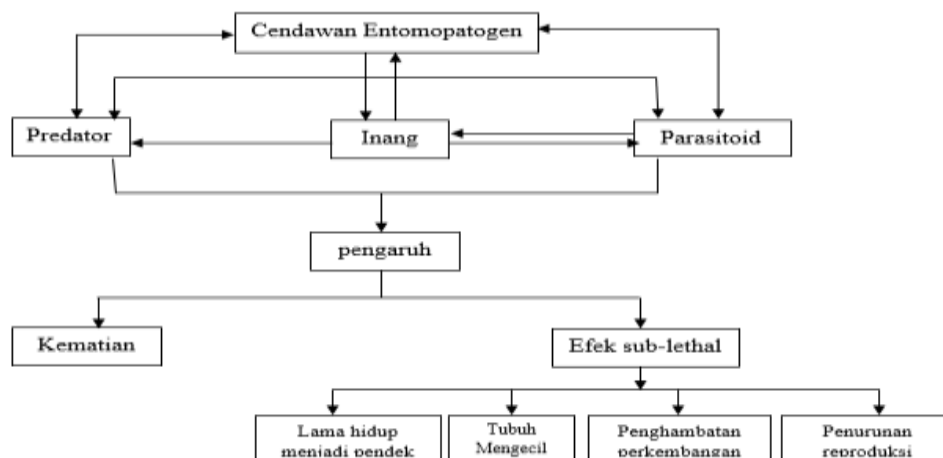
Pr2, juga lebih tinggi pada AM-118, meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan dalam aktivitas protease, Pr1, dan esterases.

B. bassiana merupakan cendawan entomopatogen yang tidak hanya menghasilkan enzim ekstraseluler, tetapi juga memproduksi metabolit sekunder berupa toksin, salah satunya Beauvericin (Cito *et al.*, 2016. Penelitian Xu *et al.* (2008) menunjukkan bahwa strain *B. bassiana* yang mengalami disrupsi gen *bea* mengalami kehilangan kemampuan memproduksi beauvericin dan menunjukkan virulensi yang lebih rendah dibandingkan strain *wild type*. Hal ini menegaskan bahwa meskipun beauvericin bukan satu-satunya faktor penentu, keberadaannya berkontribusi penting dalam proses infeksi.

Dias *et al.* (2016) melaporkan bahwa kadar beauvericin yang tinggi ditemukan baik pada kultur *in vitro* maupun pada larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi, dan peningkatan toksin tersebut berkorelasi dengan percepatan mortalitas larva. Hasil serupa diperkuat oleh studi transkriptomik terbaru yang dilakukan Mejia *et al.* (2024), yang menemukan bahwa ekspresi gen *bea* meningkat selama fase infeksi dan dikaitkan dengan peran beauvericin setelah cendawan berhasil memasuki hemocoel inang. Fakta ini mengindikasikan bahwa beauvericin berfungsi memperkuat efek patogenik setelah penetrasi fisik kutikula berhasil dilakukan oleh enzim-enzim ekstraseluler.

G. Dampak Negatif Penggunaan Cendawan entomopatogen

Cendawan entomopatogen merupakan golongan insektisida mikroba yang banyak digunakan dalam pengendalian hayati hama karena karakteristik kisaran inang yang luas dan investasi yang aktif. Cendawan entomopatogen dapat menimbulkan risiko patogenik atau subletal terhadap artropoda non-target, termasuk serangga musuh alami (Sen *et al.*, 2023).



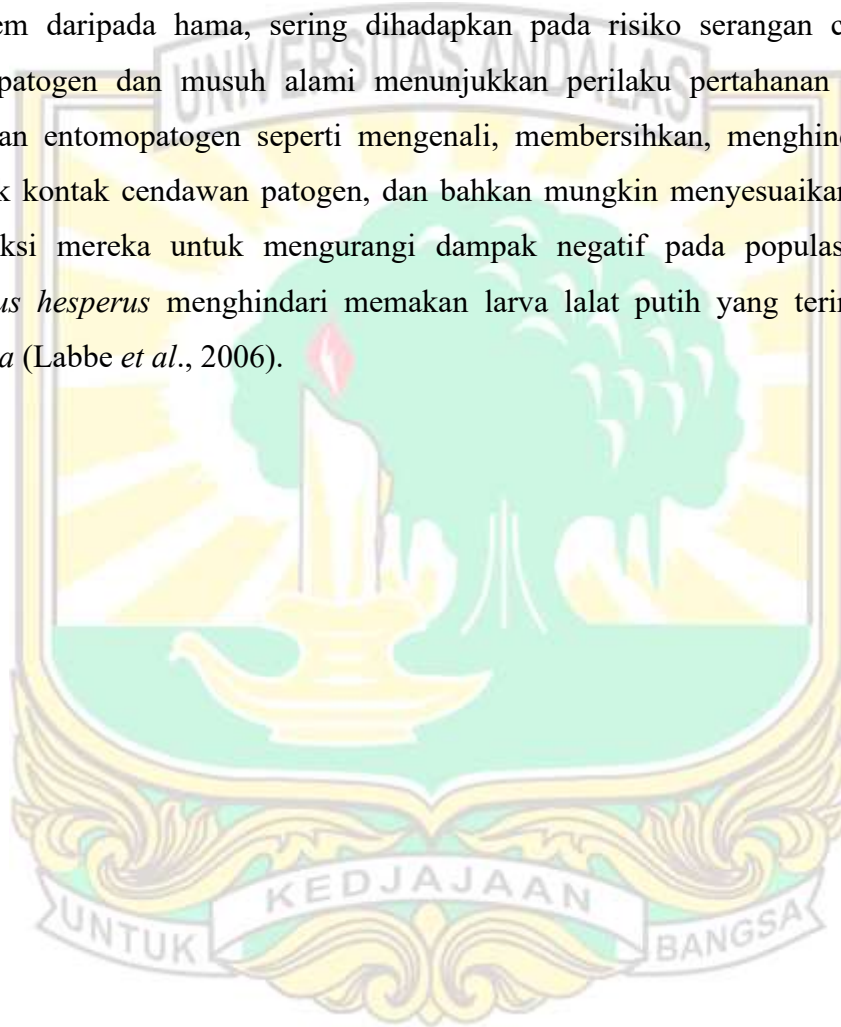
Gambar 4. Pengaruh cendawan entomopatogen terhadap musuh alami serangga (Sen *et al.*, 2023)

Inang menjadi titik interaksi antara cendawan entomopatogen dan musuh alami. Musuh alami dapat mengalami dampak negatif karena paparan secara langsung ataupun setelah memakan inang yang terinfeksi. Pada parasitoid terdapat dua kemungkinan yaitu cendawan entomopatogen menginfeksi inang hama sebelum hama tersebut diparasit oleh parasitoid atau parasitoid terlebih dahulu memarasit inang sebelum inang tersebut diinfeksi oleh cendawan entomopatogen (Gambar 4). Cendawan entomopatogen dapat mempengaruhi musuh alami secara langsung maupun secara tidak langsung melalui hama target yang terserang yang menunjukkan gejala mematikan atau subletal (Sen *et al.*, 2023).

Intensitas dampak cendawan entomopatogen terhadap musuh alami bervariasi tergantung pada lingkungan eksternal dan perubahan perilaku pertahanan musuh alami. Salah satunya metode aplikasi sangat berperan penting untuk memastikan cendawan entomopatogen aman digunakan untuk pengendalian hama dan tidak berdampak terhadap predator. Metode aplikasi secara langsung lebih menimbulkan efek letal dibandingkan dengan metode lainnya yang biasanya hanya memberikan efek subletal (Scorsetti *et al.*, 2017). Hal tersebut disebabkan karena metode aplikasi langsung dapat memastikan kontak konidia dengan serangga sehingga mempercepat proses infeksi dan membunuh serangga predator (Zhu & Kim, 2012). Selain itu, waktu aplikasi cendawan entomopatogen atau lingkungan yang berubah-ubah di lapangan juga dapat mempengaruhi dampaknya terhadap musuh alami (Sen *et al.*, 2023). Sebagai contoh, aplikasi *Bradyrhizobium globosum* di awal mengakibatkan penurunan jumlah *Hippodamia convergens* sebesar 75-93%

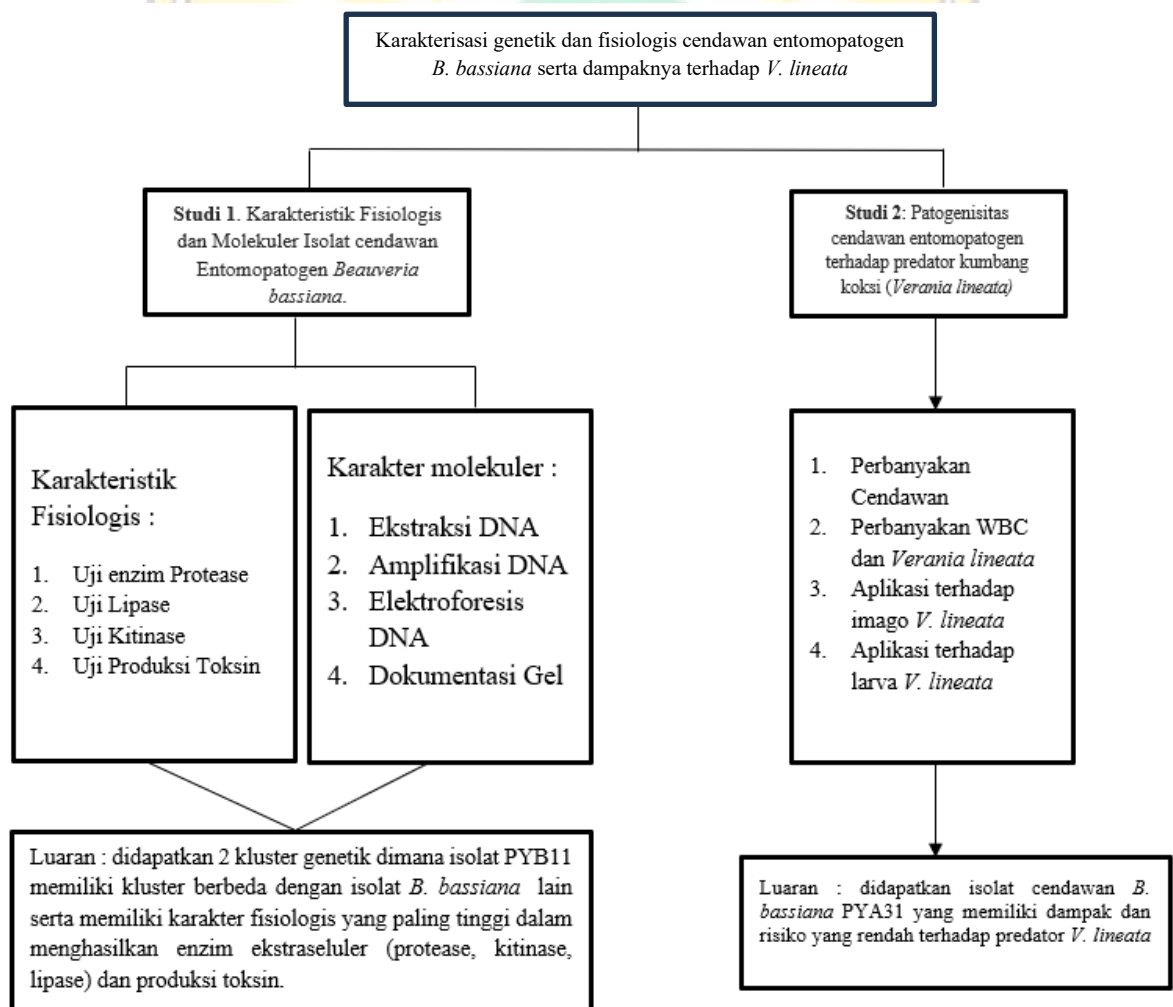
sedangkan aplikasi selanjutnya hampir tidak memiliki pengaruh terhadap kumbang tersebut karena lingkungan tidak cocok untuk pembentukan miselium tumbuh di dalam tubuh kepik pada aplikasi selanjutnya (James *et al.*, 1995).

Cendawan entomopatogen memiliki risiko patogenik langsung terhadap musuh alami, namun jika risiko tersebut masih dalam batas yang wajar, cendawan entomopatogen juga tidak mempengaruhi aplikasi sinergis keduanya (Sen *et al.*, 2023). Musuh alami, sebagai spesies yang lebih tinggi dalam rantai makanan ekosistem daripada hama, sering dihadapkan pada risiko serangan cendawan entomopatogen dan musuh alami menunjukkan perilaku pertahanan terhadap cendawan entomopatogen seperti mengenali, membersihkan, menghindari, dan menolak kontak cendawan patogen, dan bahkan mungkin menyesuaikan strategi reproduksi mereka untuk mengurangi dampak negatif pada populasi seperti *Dicyphus hesperus* menghindari memakan larva lalat putih yang terinfeksi *B. bassiana* (Labbe *et al.*, 2006).



BAB III. METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini telah dilakukan dalam dua studi. Studi pertama dilakukan analisis enzim ekstraseluler dan toksin yang dihasilkan, serta identifikasi molekuler menggunakan teknik RAPD. Hasil dari studi ini memberikan dasar untuk mengetahui potensi serta variasi karakter isolat yang digunakan. Studi kedua dilakukan pengujian terhadap predator melalui aplikasi cendawan, sehingga dapat diperoleh informasi mengenai tingkat pengaruhnya terhadap predator. Rangkaian tahapan penelitian secara sistematis dapat dilihat pada bagan alir pada Gambar 5.



Gambar 5. Bagan alir penelitian tentang karakteristik fisiologis dan molekuler isolat cendawan *B. bassiana* serta patogenisitasnya terhadap predator *V. lineata*

Studi I. Karakteristik Fisiologis dan Molekuler Isolat Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

A. Tempat dan Waktu

Penelitian studi ini telah dilaksanakan pada beberapa tempat. Perbanyakan cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan uji kualitatif enzim ekstraseluler cendawan dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati, Fakultas Pertanian. Pengujian enzim cendawan *B. bassiana* secara kuantitatif dan uji RAPD dilakukan di Laboratorium Unggulan dan Kerja Sama, Biotech Center, Jawa Barat. Uji produksi toksin cendawan entomopatogen *B. bassiana* dilakukan di Laboratorium CV. Vahana scientific dan Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari hingga September 2025. Jadwal kegiatan penelitian terlampir (Lampiran 1).

B. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* dari penelitian sebelumnya (Saputra, 2024), aquadest, alkohol 70%, Media *Sabouroud Dextrosa Agar Yeast* (SDAY), *Sabouroud Dextrosa Broth* (SDB), kasein 1%, *Tricholoro acetic acid*, koloid kitin, agarose gel 1%, buffer Tris Boric EDTA (TBE 0.5 x), minyak kelapa, buffer 0,01 M, aseton-etanol, Klorida 1 M, natrium hidroksida, Aquabidest, Acetonitril, Metanol.

C. Peralatan Penelitian

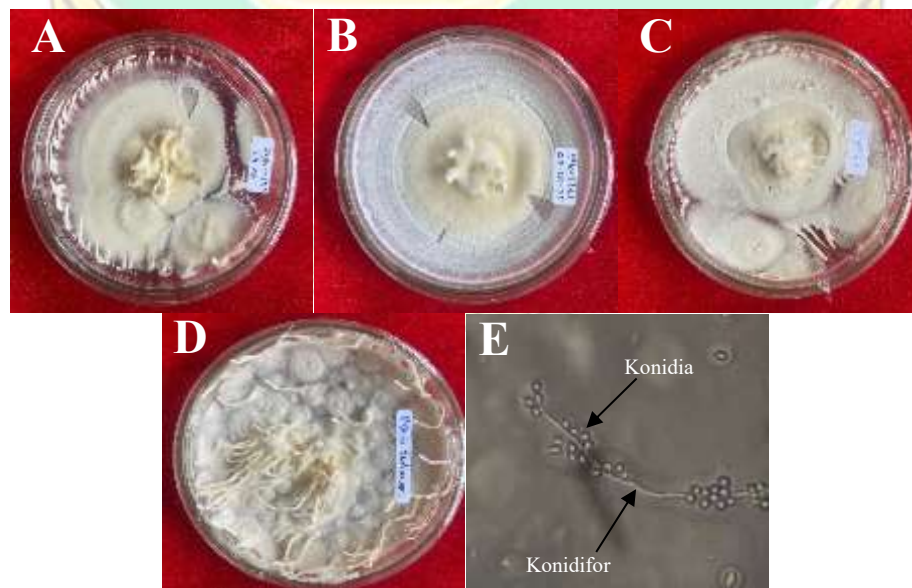
Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, kompor listrik, pisau, oven, erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, mikroskop binokuler, gelas objek, cover glass, pinset, jarum ose, cawan petri kaca berukuran 9 cm, pipet tetes, lampu bunsen, tabung reaksi, *autoclave*, *laminar air flow*, *cock borrer* dengan ukuran 0,7 cm, *vortex*, sentrifus, *vacuum filtration*, *syringae filter*, haemocytometer, mikropipet, *microtube*, *High-Performance Liquid chromatography* (HPLC) Agilent 1220 Infinity II, *Ultrasonic bath* Taffware Ultrasonic 40 KHz, spektrofotometer, *water bath*, mesin PCR, elektroforesis, spektrofotometer dan alat-alat tulis.

D. Rancangan Penelitian

Cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang digunakan didapatkan endofit dari tanaman padi varietas payo asal Kabupaten Kerinci, Provinsi Jambi yaitu sebanyak 4 isolat (Tabel 1) dan telah dilakukan uji kemampuan virulensinya terhadap wereng batang coklat serta memiliki karakteristik fisiologi seperti daya kecambah, pertumbuhan koloni dan kerapatan konidia yang tinggi (Gambar 6) (Saputra, 2024). Karakterisasi cendawan *B. bassiana* dibagi menjadi dua tahap yaitu karakterisasi fisiologis dan karakterisasi molekuler. Karakteristik fisiologis meliputi beberapa pengujian yaitu uji enzim lipase, protease dan kitinase serta toksin. Pengujian enzim secara kuantitatif dan kualitatif serta toksin menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan masing-masing 3 ulangan. Karakteristik molekuler bersifat deskriptif dan dilakukan dengan mengidentifikasi keragaman genetik cendawan *B. bassiana* secara molekuler menggunakan metode *Random Amplified Polymorphic DNA PCR* (RAPD-PCR).

Tabel 1. Isolat cendawan *Beauveria bassiana* yang digunakan dalam penelitian

Kode Isolat	Asal Isolat
<i>B. bassiana</i> PYB 11	Batang tanaman padi Varietas Payo
<i>B. bassiana</i> PYB 13	Batang tanaman Varietas padi Payo
<i>B. bassiana</i> PYB 23	Batang tanaman padi Varietas Payo
<i>B. bassiana</i> PYA 31	Akar tanaman padi Varietas Payo



Gambar 6. Morfologi Isolat *Beauveria bassiana* umur 21 hari: A) *B. bassiana* PYB11, B) *B. bassiana* PYB13, C) *B. bassiana* PYB23, D) *B. bassiana* PYA31, E) Mikroskopis Cendawan isolat *B. bassiana*

E. Prosedur Penelitian

1. Karakterisasi Fisiologis Cendawan *B. bassiana*

a. Uji produksi enzim ekstraseluler

Produksi enzim dapat dilakukan dengan mengetahui jumlah enzim yang dihasilkan secara kuantitatif. Produksi enzim kitinase secara kuantitatif dilakukan dengan membuat sampel 1 ml 0.3% larutan koloid kitin (substrat) ditambah 2 ml 0.2 M buffer fosfat pH7 dan 1 ml supernatan kitinase enzim dimasukan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Komponen yang sama juga dibuatkan untuk kontrol, namun sebelum inkubasi diinaktivasi terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 10 menit. Sampel dan kontrol diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 420 nm (Elawati *et al.*, 2018).

Produksi protease secara kuantitatif dilakukan menggunakan larutan media kasein sesuai dengan metode Sulistiyono *et al.* (2022) menggunakan spektrofotometer untuk deteksi aktivitas protease. Substrat kasein 1% dilarutkan dalam 100 ml akuades, kemudian dipanaskan dalam *water bath* dengan suhu 100°C selama 10 menit dan didinginkan pada suhu ruang. 10 gram TCA (*Tricholoro acetic acid*) dilarutkan dalam 100 ml akuades untuk membuat larutan 10% TCA.

Aktivitas protease diukur dengan mencampurkan 0,4 ml sumber enzim masing-masing isolat yang ditambahkan 1,2 ml substrat dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40°C dan diakhiri dengan penambahan TCA sebanyak 2,5 ml dan buffer posfat 50 mm pH 7. Seluruh perlakuan dilakukan perhitungan absorbansi pada panjang gelombang 280 nm (Yusriah & Kuswyasari, 2013).

Produksi lipase secara kuantitatif ditentukan dengan menggunakan minyak kelapa sebanyak 2 g dan dimasukan ke erlenmeyer 500 ml. Larutan buffer ditambahkan kedalam erlenmeyer sebanyak 4 ml 0,01 M (pH 6,0), 1 ml larutan klorida 1 M dan 1 ml filtrate (larutan enzim). Campuran tersebut di diinkubasi menggunakan *inkubator shaker* agitasi 300 rpm pada suhu ruang selama 1 jam. Setelah inkubasi selesai, substrat enzim diinaktifkan dengan penambahan 10 ml campuran aseton-etanol (1:1 v/v). Campuran dihomogenkan dan ditambahkan 3 tetes indikator pp dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida standar sampai campuran berwarna merah jambu. Blanko dilakukan dengan cara yang sama akan

tetapi enzim langsung ditambahkan dengan campuran aseton-etanol 1:1 (v/v) (Indah & Musafira, 2017).

b. Uji Produksi Beauvericin

Uji produksi Beauvericin bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* dalam menghasilkan toksin untuk mengganggu sistem imun serangga, mengganggu fungsi hemolimfa dan membunuh serangga (Wang *et al.*, 2021). Uji dilakukan dengan menggunakan *high-performance liquid chromatography* (HPLC). Setiap strain isolat *B. bassiana* dilakukan pembuatan kultur cair untuk mendapatkan filtrat. Isolat cendawan yang telah diperbanyak pada media SDAY selama berumur 15 hari diambil menggunakan *cock borer* 0.7 mm, kemudian diinokulasikan ke dalam 250 ml erlenmeyer yang berisi 100 ml medium *Sabouroud Dextrosa Broth* (SDB). Semua kultur diinkubasi pada suhu 24°C selama 10 hari pada *rotaty shaker* (150 rpm).

Kultur cair yang telah diinkubasi selama 10 hari dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan filtrat cendawan. Ekstraksi dilakukan dengan melakukan penyaringan pada kultur cair menggunakan kertas saring Whatman No.4 sebanyak 1 kali kemudian dilanjutkan dengan menggunakan Whatman No.1 sebanyak 4 kali menggunakan alat *vacuum filtration*. Masing-masing kultur kembali di filtrasi untuk memisahkan spora atau miselia yang masih tertinggal dengan menggunakan *filter syringe*. Kultur filtrat selanjutnya digunakan pada proses ekstraksi untuk mendapatkan senyawa toksin.

Kultur filtrat diekstraksi 2 x 12 jam menggunakan diklorometana:etilasetat (1:1) sebagai pelarut dengan volume sebanyak 40 ml. Pelarut dimasukan kedalam kultur filtrat menggunakan corong kaca, kemudian dimaserasi selama 12 jam. Setelah 12 jam, campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah untuk dilakukan pemisahan antara pelarut dan kultur filtrat. Pelarut yang didapatkan dari hasil pemisahan kemudian diuapkan dalam rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak kasar dilarutkan dalam 1 ml metanol absolut untuk dilakukan analisis kadar toksin menggunakan HPLC.

Analisis kadar Beauvericin didalam ekstrak kasar dilakukan dengan menggunakan metode oleh Wu *et al* (2021). Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 mg Beauvericin kemudian dilarutkan dengan

menggunakan Methanol hingga 1 ml. Larutan disaring dengan PTFE syringe 0,22 μ m ke dalam vial 1,5 ml. Larutan kemudian diinjeksikan ke sistem HPLC. Sampel ekstrak kasar yang dilarutkan dengan metanol 1 ml disonikasi selama 15 menit dan disaring dengan menggunakan PTFE syringe 0,22 μ m ke dalam vial 1,5 ml. Larutan diinjeksikan ke sistem HPLC.

2. Analisis keragaman genetik cendawan entomopatogen *B. bassiana*

a. Persiapan sampel cendawan *B. bassiana*

Cendawan entomopatogen *B. bassiana*, yang telah dikarakteristasi secara fisiologi dari tahap sebelumnya dilakukan analisis PCR menggunakan RAPD secara molekuler dengan menggunakan beberapa primer untuk mengetahui keragaman genetik masing-masing spesies cendawan *B. bassiana* yang ditemukan. Isolat cendawan entomopatogen disiapkan dengan melakukan peremajaan isolat pada medium SDAY dan diinkubasi selama 21 hari pada suhu 25°C. Biakan murni akan digunakan untuk tahap ekstraksi DNA.

b. Ekstraksi DNA *B. bassiana*

Ekstraksi DNA dilakukan dari isolat cendawan *B. bassiana* menggunakan metode Aamir *et al.* (2015). Konidia dipanen dari biakan cendawan yang telah ditumbuhkan pada media SDAY yang telah ditumbuhkan selama 21 hari. Konidia yang telah dipanen dibuatkan suspensi dengan menambahkannya ke dalam larutan Tween 80 steril 0,01% (v/v). Suspensi konidia disesuaikan konsentrasinya hingga mencapai 10^8 konidia/ml. 2 ml suspensi konidia dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang telah berisi 200 ml medium cair, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan shaker pada kecepatan 250 rpm pada suhu 25°C selama 3-5 hari (Aamir *et al.* 2015).

Miselia yang terbentuk setelah inkubasi terbentuk dipanen melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 8000 g selama 20 menit, kemudian miselia yang diperoleh dikeringkan dengan metode liofilisasi ditimbang, dan disimpan pada suhu -20°C untuk digunakan pada pengujian lebih lanjut. Sebanyak 1 gr miselia kering hasil liofilisasi, atau miselia segar yang baru dipanen, digerus dalam nitrogen cair hingga homogen (Aamir *et al.* 2015).

Hasil homogenisasi miselia dilarutkan ke dalam buffer ekstraksi DNA yang terdiri dari 100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 20 mM EDTA, 100 mM Na₂SO₃, 1% SDS, dan 100 mM NaCl. Larutan diekstraksi kembali setelah dihomogenkan dengan menggunakan volume yang sama dari campuran fenol : kloroform : isoamil alkohol (25:24:1). Fase yang diatas hasil ekstraksi di prepitasi dengan menggunakan etanol dingin, kemudian pelet DNA yang terbentuk dilarutkan kembali dalam larutan TE buffer (10 mM Tris-HCl pH 8,0 dan 1 mM EDTA) yang mengandung Rnase (Aamir *et al.* 2015)

DNA yang terlarut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan kemudian dilakukan ekstraksi ulang menggunakan campuran kloroform : isoamil alkohol (24:1), kemudian DNA kembali diprepitasi menggunakan etanol dingin dan ambil dalam bentuk pelet dengan sentrifugasi pada 12.000 rpm selama 5 menit. Pelet DNA yang diperoleh, kemudian dicuci sekali menggunakan etanol 70% untuk menghilangkan sisa garam atau pelarut yang masih menempel. Pelet DNA yang telah didapatkan dikeringanginkan pada suhu ruang dan dilarutkan kembali dalam 100 µl larutan TE buffer (10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 8,0) (Aamir *et al.* 2015).

c. Amplifikasi DNA dengan teknik RAPD

DNA hasil ekstraksi selanjutnya di amplifikasi menggunakan teknik RAPD-PCR dengan menggunakan 8 jenis primer acak dan dilakukan penggabungan primer. Primer yang digunakan yaitu OPA-4 (AATCGGCTG), OPA-10 (GTGATCGCAG), OPA-3 (AGTCAGCCAC), OPA-16 (AGCCAGCGAA), OPA 14 (TCTGTGCTGG), OPB-04 (GGACTGGAGT) dan OPB10 (CTGCTGGAC). Pemilihan primer bertujuan untuk menghasilkan pola pita DNA yang bervariasi untuk melihat keragaman genetik isolat *B. bassiana*. Penggabungan primer dilakukan karena tidak adanya pita polimorfik pada single primer. Adapun penggabungan primer yang dilakukan yaitu OPA4 + OPA10, OPA3 + OPA16, OPA04 + OPA14, OPB4 + OPB10.

Reaksi PCR dilakukan pada volume akhir 25 µl. Setiap tabung reaksi PCR terdiri atas 12,5 µl GoTaq Green Master Mix 2x sebagai sumber enzim DNA polimerasi, dNTP, dan buffer reaksi, NTP, dan buffer reaksi (pH 8,5; 3 mM MgCl₂; 50 mM KCl; 10 mM Tris-HCl); 2,5 µl primer; 5 µl DNA hasil ekstraksi sebagai

cetakan (template); serta 5 μ l ddH₂O sebagai pelarut. Seluruh komponen dicampurkan dalam kondisi steril untuk menghindari kontaminasi yang dapat memengaruhi hasil amplifikasi (Sirait *et al.*, 2023).

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan mesin *thermal cycler* pada suhu 94 °C selama 1 menit untuk memastikan denaturasi awal (Sirait *et al.*, 2023). Tahap berikutnya adalah siklus amplifikasi yang diulang sebanyak 40 kali. Pada setiap siklus, terdapat tiga sub-tahapan, yaitu: denaturasi pada suhu 94 °C selama 35 detik; penempelan primer (annealing) pada suhu 40 °C selama 35 detik, serta pemanjangan atau sintesis DNA pada suhu 72 °C selama 1 menit dan terakhir tahap pasca-amplifikasi pada suhu 72 °C selama 10 menit (Sirait *et al.*, 2023).

d. Analisis DNA pada agarosa gel elektroforesis

Fragmen DNA yang diperoleh dari hasil amplifikasi menggunakan setiap primer diambil sebanyak 8 μ l. Sampel tersebut kemudian ditambahkan dengan 2 μ l larutan penanda yang terdiri dari 0,25% Bromophenol Blue serta 40% (w/v) sukrosa. Campuran tersebut dipisahkan melalui proses elektroforesis menggunakan gel agarosa dengan konsentrasi 1,5% dalam buffer TBE 1X. Pewarnaan gel dilakukan dengan cara merendam gel agarosa ke dalam larutan etidium bromida dengan konsentrasi 0,5 μ g/ml selama kurang lebih 30 menit. Setelah proses perendaman selesai, gel kemudian dibilas dengan akuades (H₂O) selama 30 menit agar sisa etidium bromida dapat berkurang sehingga hasil visualisasi lebih jelas. Pita DNA yang dihasilkan dari proses amplifikasi ini kemudian diamati menggunakan transiluminator UV untuk memastikan keberadaan dan ukuran fragmen DNA yang terbentuk serta pemotretan menggunakan alat dokumentasi gel UV (Sirait *et al.*, 2023).

F. Pengamatan Penelitian

1. Karakterisasi Fisiologi Cendawan Entomopatogen *B. bassiana*

a. Produksi enzim ekstraseluler secara kuantitatif

Pengamatan secara kuantitatif aktivitas kitinase ditentukan secara turbidimetri. Satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah kitinase yang menyebabkan pengurangan absorbansi sebesar 0,001 campuran reaksi per menit. Unit aktivitas kitinase dinyatakan dengan rumus:

$$(U/ml) = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{abs sampel}}{0,001} \times \frac{1}{60}$$

Keterangan :

Abs kontrol = Absorbansi kontrol (Substrat + enzim yang diinaktivasi)

Abs sampel = Absorbansi sampel (Substrat + enzim yang tidak diinaktivasi)

Produksi enzim protease secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung absorbansi pada panjang gelombang 280 nm (Yusriah & Kuswytasari 2013). Aktivitas protease dihitung dalam satuan U (unit) per mL ekstrak enzim dengan persamaan:

$$\text{Aktivitas unit (U/ml)} = [\text{tirosin}] \frac{V}{p \times q}$$

Keterangan : V = volume total sampel percobaan tiap tabung (ml)

p = Jumlah enzim (ml)

q = waktu inkubasi (menit)

Pengamatan lipase secara kuantitatif dengan mengukur absorbansi warna yang terbentuk. Satu unit lipase adalah jumlah enzim yang dilepaskan dari 1 mol asam lemak per menit. Intensitas perubahan warna diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm.

b. Produksi Beauvericin

Kadar toksin Beauvericin yang dihasilkan oleh isolat *B. bassiana* dianalisis menggunakan HPLC dengan detektor UV. Penentuan konsentrasi dilakukan berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh dari larutan standar Beauvericin (Wu *et al.*, 2021). Konsentrasi toksin dalam sampel dihitung melalui integrasi luas area puncak kromatogram dan dibandingkan dengan persamaan regresi dari kurva kalibrasi. Hasil analisis ditampilkan dalam bentuk tabel untuk memudahkan interpretasi (Lampiran 4).

c. Analisis Keragaman Genetik Isolat *B. bassiana* Berdasarkan Data RAPD

Keragaman genetik dapat ditentukan dari banyaknya pita polimorfik yang dihasilkan. Polimorfisme ditentukan berdasarkan pita yang hanya muncul pada sebagian isolat, sedangkan pita yang muncul pada seluruh isolat dianggap monomorfik. Jumlah dan ukuran pita yang didapatkan akan sangat menentukan tingkat keragaman genetik masing-masing isolat. Data pita DNA hasil amplifikasi

RAPD dianalisis dengan metode skoring biner. Setiap pita yang muncul pada gel agarosa dihitung sebagai satu karakter, kemudian diberi skor 1 apabila pita teramplifikasi dan 0 apabila pita tidak teramplifikasi. Seluruh data biner dari empat isolat dan empat primer digabungkan menjadi satu matriks untuk analisis lebih lanjut. Matriks biner yang diperoleh selanjutnya diubah ke dalam format NTS dan dianalisis menggunakan koefisien kesamaan Jaccard untuk menghitung indeks kesamaan antar isolat. Nilai kesamaan digunakan untuk menyusun dendrogram sehingga diperoleh informasi hubungan kekerabatan genetik antar isolat *B. bassiana* sehingga diperoleh informasi hubungan kekerabatan genetik antar isolat *B. bassiana* (Dhar *et al.*, 2019).

d. Analisis Data Penelitian

Data Produksi enzim ekstraseluler dan toksin dianalisis menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA), apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different* (LSD) pada taraf 5%. Data dianalisis menggunakan *software* Statistix 8. Data hasil analisis enzim disajikan dalam bentuk tabel. Data analisis molekuler disajikan dalam bentuk tabel dan dendogram. Dendrogram dibuat menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) dengan *software* NTSYS-pc (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*) Versi 2.1, (Dhar *et al.*, 2019).

Studi 2. Uji Dampak Negatif Aplikasi Cendawan Entomopatogen *B. bassiana* Terhadap Larva dan Imago *Verania lineata*

A. Tempat dan Waktu

Penelitian tahap ini telah dilaksanakan di dua tempat. Perbanyakan cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan aplikasi cendawan dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati, Fakultas Pertanian. Perbanyakan WBC dan adaptasi Coccinelidae dilakukan di Laboratorium Klinik Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juli 2025. Jadwal kegiatan penelitian terlampir (Lampiran 1).

B. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu benih padi IR42, nimfa WBC instar 2-3, imago *Verania lineata*, larva *V. lineata* instar 3-4, NaOCl 2%, aquadest, alkohol 70%, larutan Tween 20 (0,05 %), ember, plastik mika dan tanah steril. kertas label, wrapping, plastik, tissue, kertas saring Whatman No. 1 dan No. 42, kertas milimeter. isolat cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* dari penelitian sebelumnya (Saputra, 2024), aquadest, alkohol 70%, Media Sabouroud Dextrosa Agar Yeast (SDAY).

C. Peralatan Penelitian

Peralatan penelitian yang digunakan pada studi ini yaitu timbangan analitik, kompor listrik, pisau, oven, erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, mikroskop binokuler, gelas objek, cover glass, pinset, jarum ose, cawan petri kaca berukuran 9 cm, pipet tetes. ember plastik (diameter atas = 15 cm, alas = 10 cm, t = 12 cm), sprayer, baki plastik (30 cm x 21 cm x 5 cm), kamera digital, kain kasa, penggaris, kaca pembesar, kuas berukuran kecil dan alat-alat tulis.

D. Rancangan Penelitian

Uji dampak cendawan entomopatogen terhadap musuh alami predator *V. lineata* dilakukan dengan mengidentifikasi dampak negatif yang disebabkan oleh cendawan *B. bassiana*. Uji dilakukan dalam dua tahap yaitu:

1. **Tahap pertama** pengujian terhadap imago *V. lineata* dengan jumlah imago yang digunakan yaitu 500 ekor imago *V. lineata* dan 1000 ekor WBC

2. **Tahap kedua** pengujian terhadap larva *V. lineata* dengan jumlah digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 500 ekor serta 1000 WBC sebagai mangsa *V. lineata*.

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama berupa perbedaan isolat cendawan *B. bassiana* yang terdiri dari 5 taraf perlakuan dan faktor kedua adalah perbedaan teknik aplikasi terhadap predator yang terdiri dari 2 taraf perlakuan (Tabel 2):

Tabel 2. Taraf uji dari dua faktor penelitian (perbedaan isoolat dan teknik aplikasi) tentang dampak aplikasi cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap larva dan imago *V. lineata*

Isolat cendawan	Teknik aplikasi
Isolat <i>B. bassiana</i> PYB13	Langsung pada <i>V. lineata</i>
Isolat <i>B. bassiana</i> PYB23	Tidak langsung (Semprot pada WBC)
Isolat <i>B. bassiana</i> PYB11	
Isolat <i>B. bassiana</i> PYA31	
Kontrol (Akuades)	

Terdapat 5 taraf (4 isolat cendawan *B. bassiana* + 1 kontrol akudes) $\times$ 2 taraf teknik aplikasi. Pada rancangan diperoleh 10 kombinasi perlakuan dan tiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, sehingga didapatkan 50 unit percobaan (Lampiran 2).

E. Prosedur Penelitian

1. Perbanyakan wereng batang coklat

WBC yang digunakan pada penelitian ini merupakan koleksi Yolma Hendra, SP. MP., WBC berasal dari populasi Kuranji, Pauh, Kota Padang. WBC yang digunakan generasi ke-30. Perbanyakan WBC dilakukan dengan menggunakan pakan dari padi varietas IR42. Perbanyakan WBC dilakukan dengan menggunakan kotak perbanyakan WBC dengan ukuran panjang 30 cm x lebar 20 cm x tinggi 8 cm. Benih disemai menggunakan kotak semai dan terus dilakukan supaya pakan tetap tersedia. Penyemaian dilakukan dengan benih direndam selama 24 jam kemudian dikering anginkan selama 1 jam. Benih kemudian ditaburkan pada kotak semai yang telah berisi tanah dan digenangi air hingga menutup bulir padi. Benih

padi yang telah disemai selama 5-7 hari sudah dapat dimasukkan ke dalam kotak perbanyakan untuk pakan WBC. Bibit padi terus disediakan sebagai pakan hingga populasi WBC tetap terjaga selama penelitian berlangsung. WBC yang dibutuhkan dalam tahap ini yaitu sebanyak 2000 nimfa WBC instar 2-3.

2. Koleksi Predator *Verania lineata*

Imago dan larva *V. lineata* dikoleksi langsung dari lahan sawah petani di Kecamatan Pauh, Kota Padang, masing-masing sebanyak 500 ekor. Serangga hasil koleksi kemudian dipelihara terlebih dahulu di Laboratorium Klinik Tanaman untuk proses adaptasi selama satu minggu. Selama masa adaptasi, *V. lineata* diberi pakan berupa nimfa wereng batang coklat (WBC) instar 2–3 serta disediakan sumber air. Adaptasi ini dilakukan untuk memastikan kondisi fisiologis serangga tetap stabil sebelum digunakan pada percobaan.

3. Perbanyakan Cendawan Entomopatogen *B. bassiana*

Isolat cendawan entomopatogen yang digunakan merupakan isolat yang didapatkan dari penelitian sebelumnya (Saputra, 2024). Perbanyakan dilakukan dengan cara meremajakan isolat cendawan. Isolat cendawan yang ada dipindahkan menggunakan spatula ke cawan petri yang berisi medium SDAY. Isolat yang diremajakan diinkubasi pada suhu 25°C selama $\pm$ 21 hari.

4. Penyediaan Suspensi Cendawan *B. bassiana*

Cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang telah diperbanyak dan berumur 21 hari sudah dapat digunakan. Aquades sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam isolat cendawan dan ditambahkan 3 tetes larutan Tween 80 0,05% sebagai bahan perata. Konidia cendawan dilepas menggunakan kuas halus, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Konsentrasi yang digunakan 10^8 konidia/ml. Perhitungan kerapatan konidia dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* tipe *Neubauer Improved*. Rumus yang digunakan untuk mendapatkan konsentrasi adalah:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan :

V1 = Volume akuades pada larutan dasar

V2 = Volume akuades setelah penambahan

N1 = Populasi awal konidia

N2 = Populasi inokulum yang diinginkan (10^8 konidia/ml).

5. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanah sawah dan pupuk kandang sapi dengan perbandingan volume 5:1, lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan dandang 1 jam. Media tanam tersebut didiamkan selama 24 jam dan terus diulang hingga 3 kali. Media tanam digunakan untuk penyemaian benih dan penanaman bibit.

6. Aplikasi suspensi cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap predator *V. lineata*

a. Aplikasi suspensi secara langsung cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap imago dan larva *V. lineata*

Aplikasi suspensi secara langsung terhadap imago atau larva *V. lineata* instar 3-4 dilakukan dengan cara disemprot menggunakan *sprayer*. Sebanyak 3 ml suspensi cendawan entomopatogen dengan kerapatan konidia 10^8 dimasukkan ke *sprayer*. Sebelum diinfestasikan *V. lineata* dilaparkan selama 1 x 24 jam untuk dilakukan pengujian. *V. lineata* ditimbang terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke wadah pengujian. Sebanyak 10 ekor larva atau imago *V. lineata* dimasukkan ke dalam kurungan yang telah berisi nimfa WBC instar 2-3 sebanyak 50 ekor. Suspensi cendawan disemprotkan menggunakan *sprayer* terhadap *V. lineata* dan WBC hingga basah keseluruhan. Pada perlakuan kontrol *V. lineata* dan WBC disemprot dengan menggunakan akuades steril.

b. Aplikasi suspensi secara tidak langsung cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap imago dan larva *V. lineata*

Aplikasi suspensi cendawan secara tidak langsung pada WBC yang diinfestasikan yaitu sebanyak 50 ekor nimfa instar 2-3. Aplikasi dilakukan dengan cara 3 ml suspensi cendawan *B. bassiana* kerapatan 10^8 disemprot menggunakan *sprayer* sampai nimfa WBC basah keseluruhan. Sebelum diinfestasikan *V. lineata* dilaparkan selama 1 x 24 jam untuk dilakukan pengujian. *V. lineata* ditimbang terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam wadah pengujian Aplikasi dilakukan sebelum infestasi. Setelah satu jam WBC diinfestasikan, sebanyak 10 ekor larva atau imago *V. lineata* kemudian diinfestasikan ke dalam kurungan yang sama. Pada perlakuan kontrol nimfa WBC disemprot dengan akuades steril.

F. Variabel Pengamatan

1. Perilaku memangsa

Pengamatan perilaku diamati setiap hari selama 1 jam menggunakan kamera. Perilaku memangsa yang diamati berupa kegiatan mencari (terbang mengitari wadah uji), mengejar (mendekati mangsa), menangkap (menggunakan mulut atau tungkai) dan membunuh mangsa (menggigit dan mengunyah tubuh mangsa),

2. Daya Predasi

Pengamatan daya predasi dilakukan dengan menghitung jumlah nimfa WBC uji yang dimangsa pada 3 hari setelah infestasi. Pengamatan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Daya predasi} = \frac{\text{Jumlah WBC yang dimangsa}}{\text{Jumlah WBC yang diinfestasikan}} \times 100\%$$

3. Perkembangan Daya Predasi

Perkembangan daya predasi diamati setiap hari dengan melihat jumlah total individu yang dimangsa oleh predator. Jumlah yang dimangsa oleh predator dihitung per hari hingga hari ke 7 untuk mengetahui perkembangan daya predasi predator.

4. Mortalitas Larva dan Imago *V. lineata* (%)

Mortalitas diamati satu hari setelah perlakuan hingga hari ke-7 pengamatan. Mortalitas dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$Ma = \frac{Mi}{Ni} \times 100\% \quad Ml = \frac{mi}{ni} \times 100\%$$

Keterangan:

Ma = Mortalitas imago

Mi = Jumlah imago yang mati

Ni = Jumlah imago yang diperlakukan

Ml = Mortalitas larva

mi = Jumlah larva yang mati

ni = Jumlah Larva yang diperlakukan

5. Pupa terbentuk

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah pupa yang berhasil terbentuk dari larva yang diberi perlakuan. Jumlah pupa yang terbentuk dicatat setiap hari selama periode pengamatan. Persentase pupa terbentuk dihitung dengan rumus:

$$\text{Pupa terbentuk} = \frac{\text{Jumlah pupa terbentuk}}{\text{Jumlah larva yang diperlakukan}} \times 100\%$$

6. Imago terbentuk

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah Imago yang berhasil terbentuk dari larva yang diberi perlakuan. Jumlah imago yang terbentuk dicatat setiap hari selama periode pengamatan. Persentase imago terbentuk dihitung dengan rumus:

$$\text{Imago terbentuk} = \frac{\text{Jumlah imago terbentuk}}{\text{Jumlah larva yang diperlakukan}} \times 100\%$$

7. Berat tubuh *V. lineata* (g)

Perhitungan berat tubuh dengan menghitung berat akhir perlakuan (hari ke-7) dengan berat sebelum pengujian. *V. lineata* ditimbang satu per satu dengan menggunakan timbangan analitik. Botol film digunakan sebagai wadah timbang sebelum dilakukan kalibrasi sehingga berat yang diperoleh merupakan berat asli dari tubuh *V. lineata*.

8. Ukuran tubuh *V. lineata* (cm)

Pengamatan ukuran tubuh dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-7 menggunakan *software* ImageJ untuk mengukur panjang tubuh predator Coccinellidae. Perubahan ukuran tubuh dihitung dengan membandingkan ukuran akhir perlakuan dan kontrol untuk menilai pengaruh perlakuan cendawan entomopatogen terhadap pertumbuhan.

9. Indeks *International Organization for Biological Control (IOBC)*

Indeks IOBC dapat ditetapkan dari data mortalitas dan disesuaikan dengan panduan dari IOBC. Menurut rekomendasi *International Organisation Biological Control* (IOBC) efek biologis agen hayati pada musuh alami dalam kondisi laboratorium diklasifikasikan sebagai berikut :

Tabel 3. Indeks IOBC efek cendawan entomopatogen terhadap musuh alami pada kondisi laboratorium/ rumah kaca (Sen *et al*, 2023).

Nilai Skala	Kategori	Persentase mortalitas
I	Tidak berisiko/berisiko rendah	<30%
II	Berisiko Sedang	30-79%
III	Berisiko tinggi	>79%

G. Analisis Data Penelitian

Data mortalitas, daya predasi, ukuran tubuh, berat tubuh, imago terbentuk, dan pupa terbentuk di analisis dengan *Analysis of Varians* (ANOVA), apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different* (LSD) pada taraf 5%. Analisis data menggunakan aplikasi *software Statistix 8*. Adapun data perkembangan daya predasi disajikan dalam bentuk grafik sedangkan data tentang perilaku pemangsaan disajikan secara deskriptif.



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Produksi Enzim Ekstraseluler

Empat isolat uji menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan enzim ekstraseluler. Produksi enzim kitinase PYB 11 (3,346 U/ml) lebih tinggi dibandingkan PYB13, namun berbeda tidak nyata dengan PYA31 dan PYB23 ($P < 0,000$) (Tabel 4) (Lampiran 4). Aktivitas enzim protease dan enzim lipase menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antar isolat ($P_p = 0,4627$, $P_1 = 0,8878$). Produksi enzim protease hanya berkisar 0,999 - 1,048 U/ml dan produksi enzim lipase berkisar antar 1000 – 1200 U/ml (Tabel 4).

Tabel 4. Produksi enzim ekstraseluler empat isolat *B. bassiana*

Kode Isolat	Kitinase (U/ml)	Protease (U/ml)	Lipase (U/ml)
PYB11	3,346a	1,034a	1,200a
PYA31	3,329a	1,031a	1,050a
PYB23	2,555ab	0,999a	1,050a
PYB13	2,000 b	1,048a	1,000a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada lajur yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

a. Produksi Beauvericin

Empat isolat uji dapat menghasilkan Beauvericin dengan rentang berkisar antara 87,97-122,97 mg/L. PYB 11 merupakan isolat yang paling tinggi dalam menghasilkan Beauvericin (122,97 mg/L) dibandingkan isolat lainnya ($P < 0,000$). Adapun isolat yang menghasilkan Beauvericin terendah yaitu PYB13 dengan nilai 87,97 mg/L (Tabel 5).

Tabel 5. Produksi Beauvericin oleh empat isolat *B. bassiana* dalam filtrat cendawan

Kode Isolat	Beauvericin (mg/L)
PYB11	122,97 ± 0,30a
PYA31	111,40 ± 1,36 b
PYB23	89,76 ± 0,92 c
PYB13	87,97 ± 0,18 d

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada lajur yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

2. Keragaman Genetik Cendawan Entomopatogen *B. bassiana*

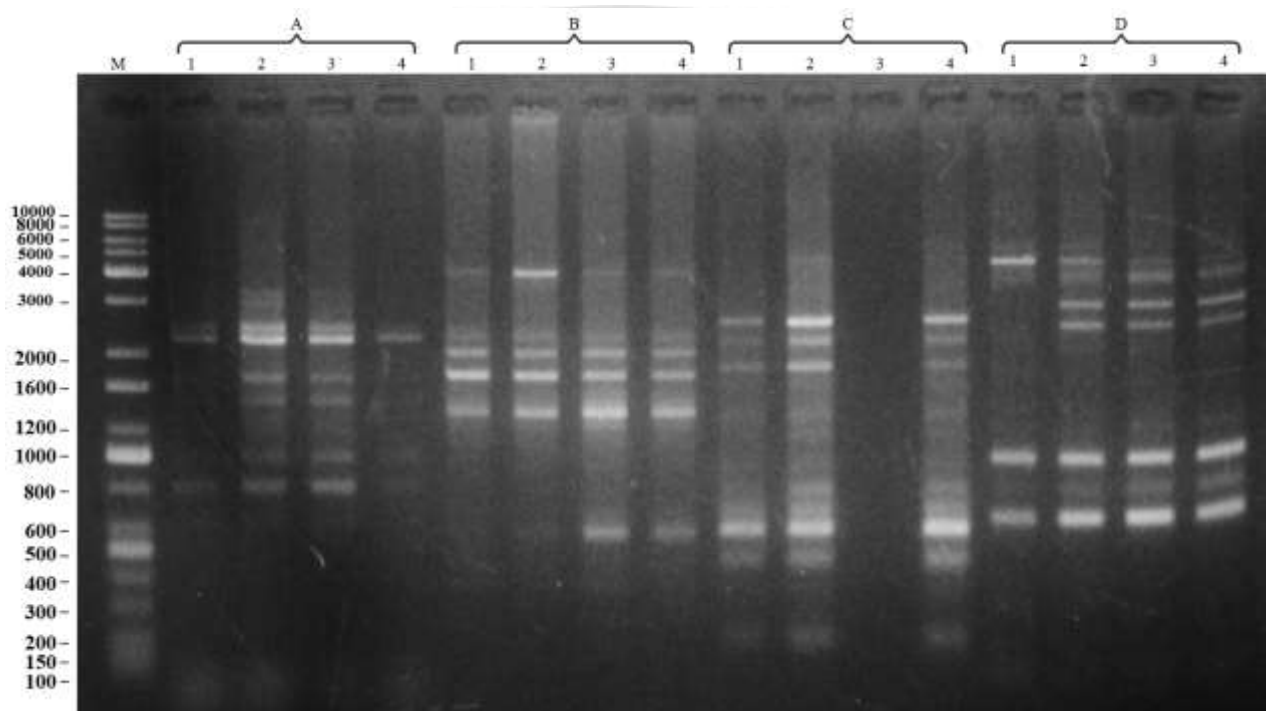
a. Profil Pita RAPD

Berdasarkan hasil seleksi gabungan antar primer terhadap 4 isolat *B. bassiana* menunjukkan hanya 4 kombinasi primer yang memiliki pita polimorfik. Hasil profil fragmen DNA hasil amplifikasi RAPD-PCR dengan empat kombinasi primer menunjukkan variasi yang jelas antar isolat *B. bassiana* (Tabel 6). Jumlah dan ukuran pita DNA bervariasi, dengan kisaran 600–5000 pb. Primer OPB4 + OPB10 menghasilkan fragmen terbanyak dan pita terbesar (5000 pb pada PYB11), sedangkan pita terkecil (600 pb) muncul hampir pada semua isolat dan bersifat umum. Isolat PYB13 dan PYB23 memperlihatkan pola pita yang relatif mirip pada kisaran 1600–3000 pb, sementara PYB11 dan PYA31 memiliki fragmen berukuran lebih besar (>2000 pb), menandakan variasi urutan DNA antar isolat. Perbedaan jumlah dan ukuran pita ini menunjukkan adanya keragaman genetik antar isolat *B. bassiana* (Tabel 6).

Tabel 6. Jumlah dan ukuran fragmen DNA yang diamplifikasi dari 4 isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana*

Isolat <i>B. bassiana</i>	Ukuran DNA Fragmen Ke-				
	1	2	3	4	5
OPA4 + OPA10 (pb)					
PYB11	2000	800	-	-	-
PYB13	2000	1600	1000	800	-
PYB23	2000	1600	1000	800	-
PYA31	2000	-	-	-	-
OPA3 + OPA16 (pb)					
PYB11	2000	1600	1200	-	-
PYB13	4000	2000	1600	1200	-
PYB23	2000	1600	1200	600	-
PYA31	2000	1600	1200	600	-
OPA4 + OPA14 (pb)					
PYB11	> 2000	2000	600	-	-
PYB13	> 2000	2000	600	-	-
PYB23	-	-	-	-	-
PYA31	> 2000	2000	600	-	-
OPB4 + OPB10 (pb)					
PYB11	5000	1000	600	-	-
PYB13	4000	3000	>2000	1000	600
PYB23	4000	3000	>2000	1000	600
PYA31	4000	3000	>2000	1000	600

Amplifikasi DNA menggunakan teknik RAPD-PCR dengan empat kombinasi primer menghasilkan pola pita yang bervariasi antar isolat yang diuji. Pita yang relatif banyak seperti OPB4 + OPB10 dapat optimal dalam membedakan isolat. Variasi pola pita terlihat pada masing-masing isolat dan pita DNA spesifik tidak selalu muncul pada isolat lain. Hasil menunjukkan bahwa keempat isolat memiliki perbedaan genetik yang dapat diidentifikasi dengan kombinasi primer yang digunakan (Gambar 7).



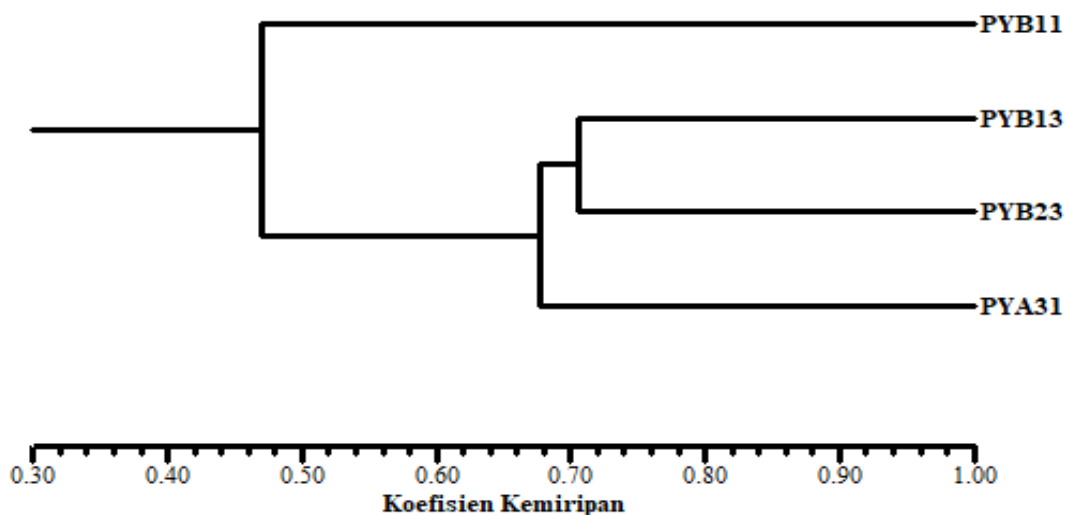
Gambar 7. Pola pita DNA hasil amplifikasi PCR dengan primer RAPD. M = marker DNA (Kappa Universal Ladder 10,000 pb); A = OPA4 + OPA10; B = OPA3 + OPA16; C = OPA4 + OPA14; D = OPB4 + OPB10. Angka 1 = PYB11, 2 = PYB13, 3 = PYB23, dan 4 = PYA31.

b. Keragaman Genetik

Analisis kesamaan genetik berdasarkan data biner hasil amplifikasi RAPD menghasilkan dendrogram yang menggambarkan hubungan kekerabatan antar isolat *B. bassiana*. Dendrogram menunjukkan bahwa isolat PYB11 membentuk kelompok terpisah dari ketiga isolat lainnya, menandakan adanya perbedaan genetik yang relatif lebih jauh. Sementara itu, isolat PYB13, PYB23, dan PYA31 memiliki tingkat kemiripan genetik yang lebih tinggi, dengan PYB13 berkerabat dekat dengan PYB23, sedangkan PYA31 masih berada dalam kelompok yang sama

namun dengan jarak genetik yang lebih besar (Gambar 8). Pola pengelompokan ini mengindikasikan adanya keragaman genetik antar isolat.

Rentang koefisien kemiripan yang diperoleh berada antara 0,46 hingga 0,68, yang menunjukkan adanya variasi genetik yang cukup nyata antar isolat yang diuji. Pola pengelompokan ini memperlihatkan bahwa meskipun keempat isolat berasal dari sumber yang sama akan tetapi memiliki keragaman genetik diantara isolat.



Gambar 8. Dendrogram hubungan kekerabatan empat isolat *B. bassiana* berdasarkan analisis RAPD

Studi 2. Dampak Aplikasi Cendawan Entomopatogen *B. bassiana* terhadap Larva dan Imago *V. lineata*

2.1. Dampak terhadap larva

2.1.1. Daya predasi larva *V. lineata*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara jenis isolat dan metode aplikasi *B. bassiana* terhadap daya predasi larva *V. lineata*, akan tetapi ditemukan pengaruh jenis isolat secara tunggal. Aplikasi *B. bassiana* cenderung menurunkan daya predasi larva *V. lineata* ($P=0.000$). Isolat PYB11 lebih tinggi menurunkan daya predasi (77,20%) dibandingkan PYA31 (PYB31), tapi tidak berbeda nyata dengan PYB 13 dan PYB23 (Tabel 7). Perbedaan metode aplikasi tidak berpengaruh nyata terhadap daya predasi larva *V. lineata* ($P>0.05$).

Tabel 7. Daya predasi larva *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan *B. bassiana* selama (3 x 24 jam) (ekor).

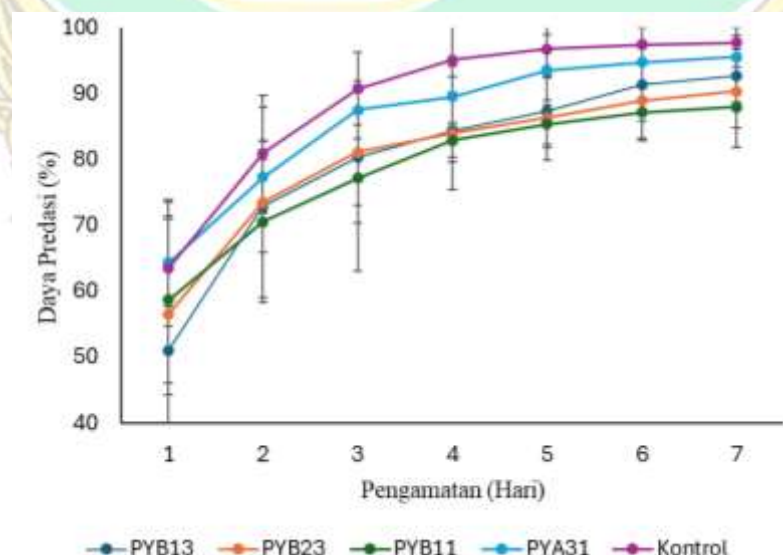
Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) $\pm$ SD
	Langsung (%) $\pm$ SD	Tidak Langsung (%) $\pm$ SD	
	SD	$\pm$ SD	
PYB11	75,60 $\pm$ 5,36	78,80 $\pm$ 14,1	77,20 $\pm$ 5,82c
PYB13	82,00 $\pm$ 3,16	78,80 $\pm$ 7,29	80,40 $\pm$ 5,56c
PYB23	82,40 $\pm$ 4,56	80,00 $\pm$ 10,7	81,20 $\pm$ 7,89bc
PYA31	88,00 $\pm$ 6,63	87,20 $\pm$ 9,69	87,60 $\pm$ 5,31ab
Kontrol	91,20 $\pm$ 6,72	90,40 $\pm$ 5,54	90,80 $\pm$ 5,82a
Rata-rata	83,84 $\pm$ 7,41A	83,04 $\pm$ 9,69A	(-)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.1.2. Perkembangan daya predasi larva *V. lineata*

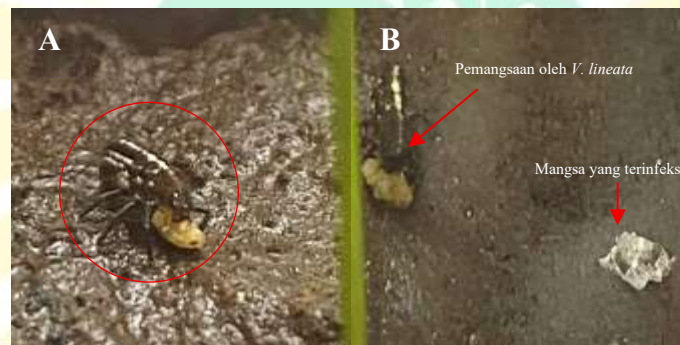
Daya predasi larva *V. lineata* menunjukkan kecenderungan meningkat hingga hari ke-7 setelah aplikasi pada perbedaan jenis isolat. Isolat *B. bassiana* PYB11 telah menurunkan daya predasi larva *V. lineata* yang ditunjukkan dengan sedikitnya kenaikan daya predasi hingga hari ke-7 setelah aplikasi. Isolat yang paling sedikit menurunkan daya predasi adalah PYA31 (Gambar 9).



Gambar 9. Perkembangan daya predasi larva *V. lineata* yang diberi perlakuan isolat cendawan *Beauveria bassiana* yang berbeda

2.1.3. Perilaku pemangsaan larva *V. lineata*

Hasil pengamatan pada perilaku pemangsaan WBC oleh larva *V. lineata* menunjukkan perilaku yang sama pada perlakuan secara langsung, tidak langsung, maupun kontrol. Larva *V. lineata* memiliki perilaku berlari mengejar mangsa dan cenderung berada pada batang tanaman padi dan wadah uji. Larva *V. lineata* memangsa dengan menangkap mangsanya terlebih dahulu menggunakan tungkai depan, kemudian dilanjutkan dengan menggigit dan menghabiskan mangsanya. Larva *V. lineata* juga memiliki perilaku berdiam di ujung daun padi ketika mangsa telah habis dimakan dan beristirahat terlebih dahulu sebelum melanjutkan pemangsaan berikutnya. Larva hanya memangsa WBC yang sehat dan dalam kondisi hidup dan cenderung menghindari WBC terinfeksi hingga cendawan bersporulasi pada tubuh WBC tersebut (Gambar 10).



Gambar 10. Pemangsaan yang dilakukan oleh larva *V. lineata* : A) Larva *V. lineata* sedang menghabiskan mangsa, B) Penghindaran mangsa yang terinfeksi oleh larva *V. lineata*

2.1.4. Mortalitas Larva *V. lineata*

Mortalitas larva *V. lineata* dapat terjadi akibat terpapar langsung cendawan entomopatogen ataupun melalui mangsa yang telah terpapar. Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi perbedaan jenis isolat *B. bassiana* dan metode aplikasi terhadap mortalitas larva *V. lineata* ($P=0,7549$), akan tetapi aplikasi beberapa jenis isolat secara tunggal dapat meningkatkan mortalitas larva secara signifikan ($P=0,000$) begitu juga dengan metode aplikasi. Isolat PYB11 merupakan isolat yang paling tinggi menyebabkan kematian pada larva *V. lineata* (32%), lebih tinggi dari PYB13 namun berbeda tidak nyata dengan PYB23 dan PYA31. Aplikasi dengan metode langsung lebih meningkatkan mortalitas secara signifikan dibandingkan dengan metode tidak langsung ($P=0,004$). Berdasarkan mortalitas yang disebabkan oleh masing-masing isolat, dapat diketahui bahwa

indeks IOBC isolat PYB11 menunjukkan skala II yang berarti berisiko sedang, sedangkan isolat lain berisiko ringan atau tidak berisiko terhadap larva *V. lineata* (Tabel 8).

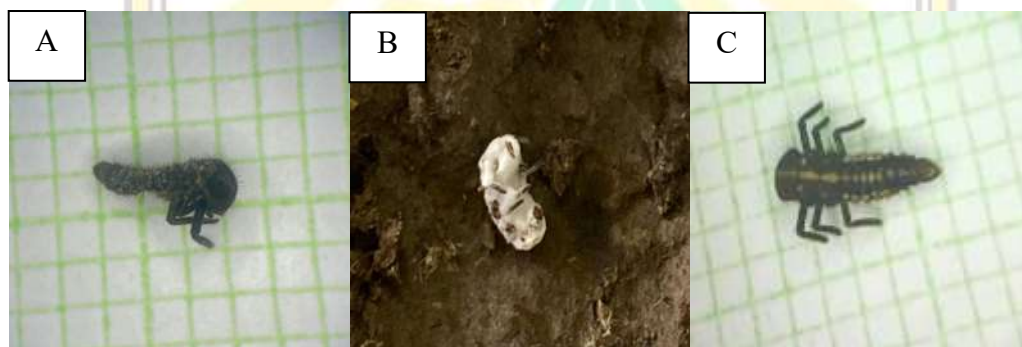
Tabel 8. Mortalitas larva *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan entomopatogen pada hari ke-7 pengamatan.

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) $\pm$ SD	Indeks IOBC
	Langsung (%) $\pm$ SD	Tidak Langsung (%) $\pm$ SD		
PYB11	44,00 $\pm$ 0,01	22,00 $\pm$ 0,02	32,00 $\pm$ 0,03 a	II
PYB13	24,00 $\pm$ 0,03	14,00 $\pm$ 0,05	18,00 $\pm$ 0,49 b	I
PYB23	24,00 $\pm$ 0,03	12,00 $\pm$ 0,03	23,00 $\pm$ 0,49 ab	I
PYA31	28,00 $\pm$ 0,01	14,00 $\pm$ 0,01	22,00 $\pm$ 0,24 ab	I
Kontrol	6,00 $\pm$ 0,06	2,00 $\pm$ 0,05	4,00 $\pm$ 0,75c	I
Rata - rata (%)	25,20 $\pm$ 0,05A	14,40 $\pm$ 0,06B	(-)*	
Indeks IOBC	I	I		

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

Larva *V. lineata* yang terinfeksi menunjukkan penurunan aktivitas memangsa, kemudian tidak bergerak dan kaku. Larva yang mati memiliki warna tubuh gelap kemudian tampak miselia cendawan yang tumbuh pada larva *V. lineata* yang mati setelah hari ke 6 atau 7 pengamatan (Gambar 11).



Gambar 11. Gejala infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana*; A) larva *V. lineata* yang terinfeksi tahap awal, B) larva *V. lineata* yang sudah ditumbuhi miselia berwarna putih, C) larva normal

2.1.5. Berat tubuh

Berdasarkan hasil analisis ragam didapatkan hasil bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara perbedaan jenis isolat dengan metode aplikasi ($P = 0,0732$), namun ditemukan ada pengaruh kedua faktor tersebut secara tunggal. Aplikasi *B. bassiana* dapat menurunkan berat tubuh larva secara signifikan ($P=0,000$). Isolat *B. bassiana* PYB11 merupakan isolat yang paling tinggi menyebabkan penurunan berat tubuh

larva *V. lineata* (4,610 mg) dibandingkan tiga perlakuan lainnya (Tabel 9). Aplikasi secara langsung lebih menurunkan berat tubuh larva *V. lineata* (5,202 mg) dibandingkan secara langsung ($P=0,005$).

Tabel 9. Berat tubuh larva *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi di hari ke-7 hari setelah infestasi

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) $\pm$ SD
	Langsung (%) $\pm$ SD	Tidak Langsung (%) $\pm$ SD	
PYB11	4,01 $\pm$ 0,001	5,21 $\pm$ 0,001	4,61 $\pm$ 0,001 c
PYB13	5,16 $\pm$ 0,001	5,46 $\pm$ 0,001	5,31 $\pm$ 0,001 b
PYB23	5,37 $\pm$ 0,001	5,35 $\pm$ 0,001	5,36 $\pm$ 0,001 b
PYA31	5,09 $\pm$ 0,607	5,40 $\pm$ 0,001	5,25 $\pm$ 0,001 b
Kontrol	6,38 $\pm$ 0,002	6,62 $\pm$ 0,001	6,50 $\pm$ 0,001a
Rata-rata (%)	5,20 $\pm$ 0,001B	5,61 $\pm$ 0,001A	(-)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.1.6. Ukuran tubuh larva

Analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh interaksi antara perbedaan isolat *B. bassiana* dan metode aplikasi terhadap ukuran tubuh larva *V. lineata* ($P=0,000$). Hal ini mengindikasikan bahwa ukuran tubuh larva predator dipengaruhi oleh kombinasi kedua faktor. Aplikasi isolat PYB11 secara langsung menyebabkan penurunan ukuran tubuh larva *V. lineata* paling tinggi (0,41 mm²) dibandingkan perlakuan lainnya. Interaksi ini menunjukkan bahwa efektivitas isolat dalam memengaruhi ukuran tubuh larva *V. lineata* juga berkaitan dengan metode aplikasi.

Tabel 10. Ukuran tubuh larva *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi di hari ke-7 setelah infestasi

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (mm ²) $\pm$ SD
	Langsung (mm ²) $\pm$ SD	Tidak Langsung (mm ²) $\pm$ SD	
PYB11	0,41 $\pm$ 0,15d	0,80 $\pm$ 0,08c	0,60 $\pm$ 0,23
PYB13	0,89 $\pm$ 0,05ab	0,89 $\pm$ 0,05ab	0,89 $\pm$ 0,05
PYB23	0,76 $\pm$ 0,18c	0,82 $\pm$ 0,05cd	0,79 $\pm$ 0,09
PYA31	0,84 $\pm$ 0,02abc	0,82 $\pm$ 0,03abc	0,83 $\pm$ 0,03
Kontrol	0,90 $\pm$ 0,02ab	0,91 $\pm$ 0,02a	0,91 $\pm$ 0,02
Rata-rata (mm ²)	0,77 $\pm$ 0,2007	0,85 $\pm$ 0,06	(+)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.1.7. Pupa terbentuk (%)

Berdasarkan hasil analisis ragam ditemukan adanya pengaruh interaksi antara perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi terhadap persentase pupa terbentuk. ($P=0.0202$). Semua perlakuan telah menurunkan persentase pupa terbentuk. Aplikasi PYB11 dengan metode aplikasi secara langsung paling tinggi menyebabkan penurunan persentase pupa terbentuk (34%) (Tabel 11).

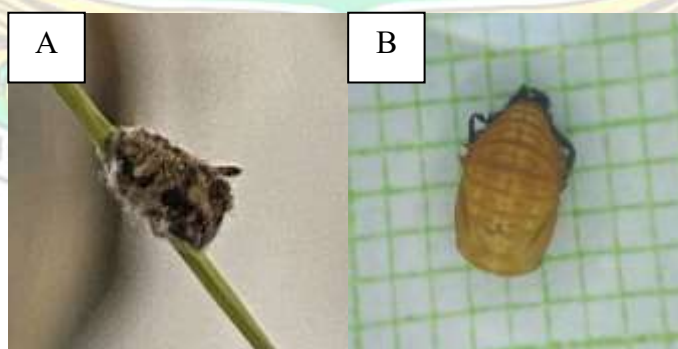
Tabel 11. Persentase pupa *V. lineata* yang terbentuk dari larva yang diaplikasikan beberapa isolat *B. bassiana* dengan metode aplikasi berbeda

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) $\pm$ SD
	Langsung (%) $\pm$ SD	Tidak Langsung (%) $\pm$ SD	
PYB11	34,00 $\pm$ 11,40c	66,00 $\pm$ 11,40b	50,00 $\pm$ 20,00
PYB13	54,00 $\pm$ 15,17b	68,00 $\pm$ 13,03b	61,00 $\pm$ 15,23
PYB23	64,00 $\pm$ 16,73b	62,00 $\pm$ 13,03b	63,00 $\pm$ 14,18
PYA31	60,00 $\pm$ 12,24b	64,00 $\pm$ 11,40b	62,00 $\pm$ 11,35
Kontrol	90,00 $\pm$ 10,00a	88,00 $\pm$ 8,36a	89,00 $\pm$ 8,75
Rata-rata (%)	60,40 $\pm$ 22,07	69,60 $\pm$ 14,28	(+)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

Larva yang berubah bentuk menjadi pupa dapat terganggu karena adanya infeksi cendawan, terjadi perubahan warna menjadi gelap serta ditumbuhi oleh hifa sehingga gagal menjadi imago (Gambar 12).



Gambar 12. Gejala pupa yang terinfeksi oleh cendawan entomopatogen *B. bassiana*: A) pupa yang ditumbuhi miselia berwarna putih, B) pupa normal

2.1.8. Imago terbentuk (%)

Berdasarkan hasil analisis ragam didapatkan adanya pengaruh interaksi antara perbedaan jenis isolat dengan metode aplikasi terhadap imago terbentuk ($P=0.0002$). Kedua faktor secara bersama menurunkan persentase imago terbentuk secara signifikan. Aplikasi isolat PYB11 dan PYB13 dengan metode aplikasi langsung paling tinggi menurunkan keberhasilan pembentukan imago *V. lineata* (26%) dibandingkan perlakuan lainnya, tapi berbeda tidak nyata dengan PYB 31 (Tabel 12).

Tabel 12. Persentase Imago *V. lineata* terbentuk dari larva yang diaplikasikan beberapa isolat *B. bassiana* dengan metode aplikasi berbeda

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) $\pm$ SD
	Langsung (%) $\pm$ SD	Tidak Langsung (%) $\pm$ SD	
PYB11	26,00 $\pm$ 11,40e	60,00 $\pm$ 11,40b	43,00 $\pm$ 20,00
PYB13	26,00 $\pm$ 15,16e	40,00 $\pm$ 13,03cde	33,00 $\pm$ 15,23
PYB23	50,00 $\pm$ 16,73bcd	54,00 $\pm$ 13,03bc	52,00 $\pm$ 14,18
PYA31	38,00 $\pm$ 12,24de	54,00 $\pm$ 11,40bc	46,00 $\pm$ 11,35
Kontrol	84,00 $\pm$ 10,00a	86,00 $\pm$ 8,36a	85,00 $\pm$ 8,75
Rata-rata (%)	44,80 $\pm$ 22,07	58,80 $\pm$ 14,28	(+)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.2. Dampak terhadap Imago

2.2.1. Daya predasi imago *V. lineata*

Berdasarkan hasil analisis ragam dapat diketahui bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara perbedaan jenis isolat dengan metode aplikasi ($P=0,886$). Perlakuan beberapa jenis isolat secara tunggal juga tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap daya predasi ($P=0,560$), begitu juga dengan metode aplikasi ($P=0,846$). Daya predasi imago *V. lineata* berada pada rentang 72-76% pada hari ke-3 setelah aplikasi (Tabel 13).

Tabel 13. Daya predasi imago *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan *B. bassiana* selama (3 x 24 jam) (%).

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) ± SD
	Langsung (%) ± SD	Tidak Langsung (%) ± SD	
PYB11	80,00 ± 21,07	73,20 ± 14,53	76.60 ± 17,43a
PYB13	74,80 ± 7,264	65,20 ± 19,82	70,00 ± 14,69a
PYB23	74,40 ± 11,61	77,60 ± 7,925	76,00 ± 9,522a
PYA31	72,00 ± 22,89	73,60 ± 17.17	72,80 ± 19,09a
Kontrol	76,00 ± 13,49	73,60 ± 19,87	74,80 ± 16,06a
Rata-rata (%)	75,44 ± 15,17A	72,64 ± 15.59A	(-)*

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.2.2. Perilaku pemangsaan imago *V. lineata*

Berdasarkan hasil pengamatan pada perilaku pemangsaan WBC oleh imago *V. lineata* menunjukkan perilaku yang sama pada perlakuan secara langsung, tidak langsung, maupun kontrol. Imago *V. lineata* terhadap nimfa WBC menunjukkan perilaku yang aktif dalam mencari mangsa, seperti terbang mengililingi wadah uji, mengejar, menangkap, dan memangsa. Perilaku awal yang ditunjukkan oleh *V. lineata* yaitu cenderung berdiam terlebih dahulu pada bagian atas wadah uji. Ketika melakukan pemangsaan, *V. lineata* terbang menuju permukaan tanah dan bergerak menuju keatas batang padi. *V. lineata* mendekati mangsa dan berlari kearah mangsa untuk menangkap mangsa (Gambar 14). *V. lineata* menangkap mangsanya dengan menggunakan sepasang tungkai depan, kemudian mangsa yang sudah ditangkap dimangsa dengan mengigit dan mengunyah tubuh mangsa hingga habis (Gambar 14). Setelah menghabiskan mangsa, *V. lineata* menuju keatas wadah uji dan beristirahat sebelum melanjutkan proses pemangsaan lainnya.



Gambar 13. Imago *V. lineata* sedang melakukan pemangsaan terhadap wereng batang coklat

2.2.3. Mortalitas Imago *V. lineata*

Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi antara perbedaan isolat dengan metode aplikasi terhadap mortalitas imago *V. lineata*, begitu juga pengaruh metode aplikasi secara tunggal ($P > 0.05$). Aplikasi isolat *B. bassiana* telah meningkatkan mortalitas imago *V. lineata*, dan tidak ada perbedaan antar isolat ($P = 0.004$). Secara umum, mortalitas tersebut masih tergolong rendah dengan rata-rata mortalitas berkisar antara 6,00-24,00. Berdasarkan data mortalitas, indeks IOBC penggunaan isolat cendawan masih masih tergolong skala I (tidak berdampak/berdampak ringan) terhadap imago *V. lineata* (Tabel 14).

Tabel 14. Mortalitas Imago *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi cendawan entomopatogen padi hari ke-7 pengamatan.

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (%) ± SD	Indek IOBC
	Langsung (%) ± SD	Tidak Langsung (%) ± SD		
PYB11	24,00 ± 0,02	22,00 ± 0,24	23,00 ± 0,52a	I
PYB13	18,00 ± 0,01	14,00 ± 0,71	14,00 ± 0,49a	I
PYB23	14,00 ± 0,25	12,00 ± 0,66	13,00 ± 0,49a	I
PYA31	14,00 ± 0,07	14,00 ± 0,70	14,00 ± 0,24a	I
Kontrol	6,00 ± 0,80	6,00 ± 0,80	6,00 ± 0,75b	I
Rata- rata (%)	15,20 ± 0,60A	13,60 ± 0,68A	(-)*	
Indeks IOBC	I	I		

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji.

Gejala infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana* terhadap imago *V. lineata*. Gejala imago yang terinfeksi menunjukkan penurunan aktivitas kemudian tubuh menjadi kaku dan mati setelah beberapa hari warna tubuh akan menggelap yang disertai dengan miselia cendawan yang tumbuh pada imago *V. lineata* yang mati. Gejala sporulasi akan muncul pada struktur tipis seperti antar segmen atau pangkal kaki, dan tidak tumbuh pada elytra yang cukup keras (Gambar 15).



Gambar 14. Gejala infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana*; A) Imago *V. lineata* yang terinfeksi, B) Imago *V. lineata* yang bersporulasi yang terinfeksi, C) Imago normal

2.2.4. Berat tubuh imago *V. lineata* (mg)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi antara jenis isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan metode aplikasi terhadap berat tubuh imago *V. lineata* ($P=0,528$) dengan kisaran 9,24–10,49 mg, begitu juga masing-masing faktor ($P=0,784$). Hasil ini menunjukkan bahwa paparan isolat cendawan entomopatogen dan metode aplikasi pada penelitian ini tidak memberikan pengaruh nyata terhadap berat tubuh imago *V. lineata* (Tabel 15).

Tabel 15. Berat tubuh imago *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi di hari ke-7 setelah infestasi

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (mg) $\pm$ SD
	Langsung (mg) $\pm$ SD	Tidak Langsung (mg) $\pm$ SD	
PYB11	9,66 $\pm$ 0,81	8,83 $\pm$ 1,22	9,24 $\pm$ 1,07a
PYB13	10,20 $\pm$ 1,63	9,74 $\pm$ 2,43	9,97 $\pm$ 1,97a
PYB23	9,84 $\pm$ 0,62	9,74 $\pm$ 0,76	9,79 $\pm$ 0,66a
PYA31	9,90 $\pm$ 0,60	11,08 $\pm$ 1,77	10,49 $\pm$ 1,39a
Kontrol	10,81 $\pm$ 1,02	10,48 $\pm$ 1,41	10,65 $\pm$ 1,17a
Rata-rata	10,08 $\pm$ 1,01A	9,98 $\pm$ 1,67A	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji

2.2.5. Ukuran tubuh imago *V. lineata* (mm²)

Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara jenis isolat dan metode aplikasi terhadap ukuran tubuh imago *V.*

lineata ($P=0,3848$), begitu juga pengaruh perbedaan jenis isolat secara tunggal. Metode aplikasi secara langsung justru mendorong ukuran tubuh yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode tidak langsung ($P=0,02$).

Tabel 16. Ukuran tubuh imago *V. lineata* pada perbedaan jenis isolat dan metode aplikasi di hari ke-7 setelah infestasi

Kode Isolat	Metode Aplikasi		Rata-rata (mm ²) ± SD
	Langsung (mm ²) ± SD	Tidak Langsung (mm ²) ± SD	
PYB11	1,41 ± 0,16	1,36 ± 0,19	1,38 ± 0,16a
PYB13	1,59 ± 0,16	1,26 ± 0,07	1,43 ± 0,21a
PYB23	1,50 ± 0,12	1,53 ± 0,13	1,52 ± 0,12a
PYA31	1,48 ± 0,13	1,41 ± 0,12	1,44 ± 0,12a
Kontrol	1,49 ± 0,23	1,41 ± 0,17	1,45 ± 0,19a
Rata-rata	1,49 ± 0,16A	1,3918 ± 0,157B	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama serta angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji LSD pada taraf 5%.

*Tanda (-) menunjukkan tidak ada pengaruh interaksi antara kedua faktor uji.

2. Pembahasan

Hasil uji enzim ekstraseluler secara kuantitatif menunjukkan bahwa semua isolat *B. bassiana* uji dapat menghasilkan enzim kitinase, protease dan lipase (Tabel 5). Isolat PYB11 memperlihatkan aktivitas enzimatik yang relatif lebih tinggi dibanding isolat lainnya, terutama pada protease dan kitinase. Variasi ini menunjukkan adanya perbedaan kemampuan fisiologis antar isolat dalam menghasilkan enzim yang berperan penting dalam proses penetrasi kutikula inang. Semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan terutama kitinase, maka semakin besar peluang keberhasilan cendawan untuk menembus pertahanan serangga dan menyebabkan infeksi karena hampir semua permukaan tubuh serangga terbuat dari kitin (Muthukrishnan *et al.*, 2020).

Variasi enzim yang dihasilkan isolat *B. bassiana* berpengaruh terhadap patogenisitasnya. Isolat yang paling optimal dalam menghasilkan enzim ekstraseluler seperti PYB11 juga akan memiliki virulensi yang tinggi terhadap hama ataupun predator (Tabel 8) (Saputra, 2024). Virulensi *B. bassiana* tidak hanya ditentukan oleh spesies atau sumber isolat, akan tetapi juga sangat dipengaruhi oleh

keragaman genetik dan sifat fisiologis yang dimiliki oleh masing-masing isolat (Trizelia, *et al.*, 2017). El-Maraghy *et al.* (2023) melaporkan *B. bassiana* dengan kode isolat SS1 dapat menghasilkan aktivitas enzim yang cukup baik yaitu lipase (5,3 U/ml), protease (32.13 U/ml) dan kitinase (2,95 U/ml) serta dapat mengendalikan serangga hama *Galleria mellonella*. Semua isolat uji menghasilkan protease dan lipase yang lebih rendah dibandingkan penelitian El-Maraghy *et al.* (2023), namun produksi kitinase oleh semua isolat mendekati dan lebih tinggi dibandingkan penelitian tersebut (2,00-3,35 U/ml). Hal ini menunjukkan potensi yang baik sebagai agen pengendali hama. Gebremariam *et al.* (2022) juga menyatakan bahwa isolat yang terbaik dalam menghasilkan enzim memiliki virulensi yang tinggi terhadap hama.

Aktivitas enzim ekstraseluler yang paling tinggi dimiliki oleh isolat PYB11 dan menjadi faktor penting yang juga membuat tingginya virulensi terhadap hama sasaran. Namun, hal tersebut dapat menimbulkan potensi patogenisitas terhadap predator apabila terpapar secara langsung maupun melalui mangsa yang telah terinfeksi. Studi yang dilakukan oleh Firouzbakht *et al.* (2015) isolat *B. bassiana* AM-118 memiliki aktivitas enzim yang paling tinggi menunjukkan virulensi yang tinggi pula terhadap predator *Andrallus spinidens* dibandingkan dengan isolat *B. bassiana* B2. Hal tersebut disebabkan oleh tingginya aktivitas enzim kitinase yang dimiliki oleh *B. bassiana* AM-118 (10,63 U/ml) dibandingkan dengan B2 (3,67 U/ml).

Semua isolat *B. bassiana* yang diuji dapat menghasilkan toksin dengan jumlah yang berbeda. Isolat PYB 11, selain mempunyai aktivitas enzim yang optimal, isolat ini juga merupakan isolat yang paling tinggi dalam memproduksi Beauvericin (Tabel 5). Menurut Cito *et al.* (2016), produksi Beauvericin bervariasi antar isolat dan dapat dideteksi pada kultur cair, miselium maupun jaringan serangga yang terinfeksi, dengan produksi biasanya terjadi pada 9–11 hari setelah inokulasi. Toksin yang dihasilkan isolat cendawan *B. bassiana* sangat berperan dalam menginfeksi dan membunuh serangga inang. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa *B. bassiana* tidak hanya melakukan penetrasi melalui kutikula serangga inang, akan tetapi juga menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat toksin. Metabolit yang sering ditemukan dan bersifat toksik adalah beauvericin, suatu

senyawa golongan sikloheksadepsipeptida yang diketahui berperan dalam mengganggu keseimbangan ion seluler inang serta bersifat imunotoksik (Al Khoury *et al.*, 2019). Safavi (2013) melaporkan mortalitas larva *Galleria mellonella* meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi toksin Beauvericin, yaitu dari 22% pada 5 μ L, menjadi 36,2% pada 8 μ L, dan mencapai 48,8% pada 11 μ L.

Selain Beauvericin, *B. bassiana* juga dapat menghasilkan bassianolide, beauverolides, tenellin, oosporein, serta turunan asam oksalat, yang masing-masing berkontribusi terhadap efek toksik maupun penurunan daya tahan serangga (Wang *et al.*, 2021). Aktivitas toksin ini umumnya bersinergi dengan enzim protease Pr1 dan Pr2, yang berfungsi mendegradasi kutikula serangga sehingga mempermudah penetrasi hifa dan mempercepat kolonisasi jaringan (Cito *et al.*, 2016).

Hasil amplifikasi RAPD-PCR terhadap empat isolat *B. bassiana* dengan empat kombinasi primer menunjukkan adanya variasi jumlah dan ukuran fragmen DNA yang menunjukkan keragaman genetik antar isolat. Terdapat variasi ukuran pita yang berkisar antara 600 hingga 5000 pb. Primer OPB4 + OPB10 menghasilkan fragmen paling banyak dan pita terbesar (hingga 5000 pb pada isolat PYB11), menandakan tingginya variasi genetik atau tingkat polimorfisme yang tinggi pada isolat tersebut. Pola pita yang relatif mirip antara isolat PYB13 dan PYB23 mengindikasikan kedekatan genetik keduanya, sedangkan perbedaan pola pada PYB11 dan PYA31 memperlihatkan adanya variasi genetik yang lebih jauh antar isolat. Hasil ini sesuai dengan laporan Maurer *et al.* (1997) bahwa perbedaan pola pita RAPD pada *B. bassiana* dapat menunjukkan variasi genetik yang berpengaruh terhadap karakter fisiologis dan virulensi antar isolat. Selain itu, kisaran pita yang luas menunjukkan bahwa metode RAPD cukup mudah untuk mendeteksi polimorfisme genetik pada *B. bassiana*, sebagaimana juga dilaporkan oleh Imoulán dan Alaoui (2011), bahwa variasi ukuran pita DNA menunjukkan perbedaan genetik yang berperan penting dalam adaptasi dan potensi infeksi cendawan entomopatogen tersebut terhadap inang yang berbeda.

Pita polimorfisme yang dihasilkan oleh beberapa isolat cukup tinggi. Polimorfisme ini menunjukkan adanya perbedaan genetik antar isolat dan perbedaan genetik tersebut dapat berkontribusi terhadap sifat fisiologis cendawan, termasuk tingkat virulensi terhadap inang serangga. Isolat yang memiliki profil

RAPD berbeda sering kali menunjukkan perbedaan dalam kemampuan menginfeksi, produksi enzim atau toksin, serta ketahanan dalam kondisi lingkungan tertentu, sehingga keragaman genetik yang terdeteksi melalui RAPD dapat menjadi salah satu cara untuk melihat potensi virulensi antar isolat *B. bassiana* (Dhar *et al.*, 2019; Ferri *et al.*, 2012).

Beberapa isolat yang didapatkan menunjukkan adanya hubungan kekerabatan dan memiliki keragaman genetik diantara isolat serta membentuk dua kelompok genetik yang berbeda. Isolat PYB11 dan PYA31 membentuk kelompok yang lebih dekat berdasarkan analisis kekerabatan, sedangkan PYB13 dan PYB23 menunjukkan jarak genetik yang lebih jauh (Gambar 8). Keragaman genetik menentukan virulensi diantara masing-masing isolat. Hasil studi berbasis RAPD telah menunjukkan adanya polimorfisme genetik yang cukup tinggi antar isolat *B. bassiana* seperti Trizelia (2005) menunjukkan isolat-isolat *B. bassiana* yang berasal dari daerah yang berbeda menunjukkan polimorfik yang tinggi dan membentuk klaster genetik yang berbeda-beda berdasarkan pola pita RAPD, yang kemudian berkorelasi dengan perbedaan kemampuan patogeniknya terhadap hama ulat crop (*Crocidolomia pavonana*). Temuan serupa juga dilaporkan oleh Golshan *et al.* (2014) yang menemukan bahwa isolat *B. bassiana* menunjukkan kedekatan genetik berdasarkan analisis RAPD cenderung memiliki respon fisiologis dan tingkat virulensi yang mirip terhadap serangga uji.

Kelompok genetik isolat PYB11 yang terpisah dari isolat PYB13, PYB23, dan PYA31 menunjukkan adanya perbedaan struktur genetik yang berpotensi memengaruhi sifat fisiologis dan patogenisitasnya. Kelompok PYB11 yang terpisah sejalan dengan aktivitas enzim protease, lipase, dan kitinase yang lebih tinggi serta menghasilkan toksin Beauvericin yang lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Perbedaan dalam menghasilkan enzim tersebut juga berkorelasi dengan tingkat virulensi yang lebih tinggi terhadap larva *V. lineata*, ditunjukkan oleh peningkatan mortalitas dan penurunan kemampuan predasi yang nyata pada isolat PYB11. Temuan ini diperkuat oleh beberapa penelitian yang telah menyatakan bahwa keragaman genetik pada *B. bassiana* berkontribusi terhadap variasi fisiologis terkait mekanisme infeksi dan virulensi, di mana isolat yang

menunjukkan perbedaan genetik cenderung memiliki kemampuan patogenik lebih tinggi (Gasmi *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

Isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang berbeda memiliki keragaman genetik sehingga akan menunjukkan virulensi yang berbeda terhadap predator. Sayed *et al.* (2021) beberapa isolat cendawan *B. bassiana* memiliki kemampuan yang berbeda dalam menginfeksi kumbang koksi predator *Coccinella undecimpunctata* dan *Hippodamia variegata*. Matos *et al.* (2022) melaporkan isolat yang berbeda akan menunjukkan efek yang berbeda terhadap predator. Isolat yang memiliki virulensi tinggi mampu membunuh dan menginfeksi predator, namun beberapa isolat hanya menyebabkan efek subletal.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi berbagai isolat *B. bassiana* berpengaruh nyata terhadap daya predasi larva *V. lineata* sedangkan pada stadia imago tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (Tabel 7). Hal ini mengindikasikan bahwa larva lebih rentan terhadap paparan cendawan dibandingkan imago, sehingga efek subletal jelas terlihat pada penurunan daya predasi, dimana perlakuan isolat menurun menjadi 77,20–87,60 dengan kontrol mencapai 90,80 ekor, sedangkan pada imago, kisaran daya predasi relatif seragam dengan kontrol (70,00–76,60 ekor). Hal tersebut juga dilaporkan Scorsetti *et al.* (2017), stadia larva Coccinelidae lebih rentan mengalami efek subletal dibandingkan dengan stadia imago. Trizelia *et al.* (2017) bahwa aplikasi beberapa isolat entomopatogen *B. bassiana* mempengaruhi daya predasi larva kumbang koksi (*Menochilus sexmaculatus*) terhadap kutu daun. Selain itu efek yang terjadi diduga karena adanya toksin yang dihasilkan cendawan *B. bassiana*. Toksin beauvericin dapat mengganggu fungsi pencernaan dan mengganggu fungsi hemolimfa sehingga mengganggu imun dan menghancurkan gut (Wang *et al.*, 2021).

Terdapat perbedaan dengan daya predasi imago yang ditunjukkan dengan kemampuan imago dalam memangsa WBC masih sama antar perlakuan (Tabel 13). Tidak adanya pengaruh yang signifikan terhadap imago *V. lineata* menunjukkan bahwa infeksi subletal dari cendawan entomopatogen tidak menghambat kemampuan imago dalam menekan populasi hama. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Fincham *et al.* (2019) bahwa cendawan *B. bassiana* berpengaruh

terhadap *Coccinella septempunctata* yang menyebabkan menurunnya kemampuan dalam memangsa ketika terpapar oleh cendawan entomopatogen. Dias *et al.* (2019) juga melaporkan imago *Chrysoperla externa* yang dipaparkan dengan perlakuan *B. bassiana*, *M. Anisopliae* dan *M. Rileyi* dengan berbagai konsentrasi menggunakan metode langsung ataupun secara tidak langsung pada wadah uji menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan dan kontrol dengan asumsi bahwa penggunaan cendawan entomopatogen tidak mempengaruhi nutrisi bagi serangga predator. Perbedaan ada atau tidaknya pengaruh efek subletal tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ketahanan serangga, stadia serangga dan sejarah evolusinya dengan patogen (Fincham *et al.*, 2019).

Berdasarkan grafik perkembangan daya predasi baik pada larva, terlihat bahwa terjadi peningkatan daya predasi yang relatif konsisten hingga hari ke-7 setelah aplikasi, walaupun isolat PYB11 pada perlakuan larva cenderung memiliki persentase rendah karena adanya pengaruh terhadap daya predasi (Gambar 9). Hal ini menunjukkan bahwa cendawan *B. bassiana* tidak selalu menurunkan daya predasi predator namun mampu bersinergis dalam mengendalikan populasi hama. Fincham *et al.* (2019) melaporkan bahwa cendawan *B. bassiana* justru signifikan meningkatkan kemampuan memangsa predator *Harmonia axyridis* dan *Adalia bipunctata* terhadap hama *grain aphids* (*Sitobion avenae*).

V. lineata memiliki perilaku yang aktif dalam memangsa. *V. lineata* akan berlari mengejar mangsa dan menangkap mangsa menggunakan tungkai depan. *V. lineata* memangsa dengan cara menggigit dan mengunyah mangsa hingga habis menggunakan alat mulutnya (Gambar 13). Fitri (2022) menyatakan bahwa predator *V. lineata* melumpuhkan mangsa dengan menangkap mangsa menggunakan tungkai, lalu menggigit dengan perlahan hingga habis. Perilaku yang sama dengan imago juga dimiliki oleh larva *V. lineata* (Gambar 10). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Roy *et al.* (2024) bahwa pada ordo Coleoptera terutama pada famili Coccinellidae memiliki imago dan larva dengan tipe mulut menggigit dan mengunyah sehingga dapat menghabiskan mangsanya.

Perilaku memangsa dapat dipengaruhi oleh adanya infeksi cendawan terhadap predator *V. lineata*. Larva predator *V. lineata* ditemukan cenderung menghindari mangsanya yang telah terinfeksi oleh cendawan entomopatogen. Mangsa yang telah

mati dan bergejala sporulasi cenderung dihindari oleh *V. lineata*. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Avery *et al.* (2020) predator generalis Pentatomidae (*Posidius maculiventri*) lebih memilih mengosumsi mangsa yang tidak terinfeksi oleh cendawan *B. bassiana*. Bayissa *et al.* (2016) melaporkan predator Coccinellidae (*Cheilomenes lunata*) menghindari dan tidak memangsa aphid yang telah terinfeksi oleh cendawan entomopatogen *M. Anisopliae*.

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 8, Tabel 14), mortalitas *V. lineata* menunjukkan bahwa aplikasi beberapa isolat *B. bassiana* menyebabkan kematian terhadap predator, meskipun pengaruhnya berbeda antar stadia. Pada stadia larva, tingkat mortalitas lebih tinggi dibandingkan pada stadia imago. Studi terkait infeksi cendawan pada Coccinellidae stadia yang berbeda pada beberapa metode aplikasi hanya menunjukkan mortalitas yang signifikan pada larva instar 1 dan pupa *C. Undecimpunctata* dibandingkan dengan stadia lainnya (Sayed *et al.*, 2021). Coccinellide dan lacewing menunjukkan kerentanan pada stadia larva instar 1 terhadap infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana* (Corallo *et al.*, 2021).

Metode aplikasi juga memainkan peran penting dalam infeksi cendawan terhadap larva *V. lineata*. Pada tabel menunjukkan bahwa metode langsung lebih banyak menyebabkan mortalitas (25,20%) dibandingkan dengan metode tidak langsung (14,40%). Hal tersebut dikarenakan penyemprotan secara langsung mempercepat kontak antara konidia dengan kutikula serangga (Zhu & Kim, 2012), sehingga risiko kematian lebih tinggi dibandingkan penyemprotan pada mangsa. Beberapa penelitian melaporkan bahwa metode penyemprotan secara langsung dapat menyebabkan efek kematian pada serangga predator (Dias *et al.*, 2020; Mohamed, 2019).

Gejala yang muncul akibat infeksi cendawan entomopatogen *B. bassiana* akan menyebabkan warna tubuh menggelap dan mengalami perubahan bentuk tubuh pada larva (Malformasi) (Gambar 11). Gejala yang muncul akibat infeksi akan menurunkan berat dan ukuran tubuh larva, sehingga pada hari terakhir terjadi penurunan berat tubuh dan ukuran tubuh larva karena aplikasi cendawan. Pengurangan berat dan ukuran tubuh larva dapat terjadi karena adanya gangguan pada aktivitas makan dan fisiologis serangga hama atau predator (Rivera-Alonso *et*

al., 2024; Ullah *et al.*, 2019). Namun, tidak selalu gejala infeksi cendawan akan berpengaruh terhadap ukuran dan berat tubuh pada stadia yang berbeda seperti imago (Tabel 17, 18). Hal yang sama dilaporkan Scorsetti *et al.* (2017) bahwasanya aplikasi entomopatogen *B. bassiana* tidak berpengaruh terhadap berat tubuh Coccinellidae. Namun, metode langsung cenderung meningkatkan ukuran tubuh imago, hal tersebut diasumsikan karena adanya kolonisasi hifa dan akumulasi struktur cendawan di hemocoel serta gangguan cairan yang dipicu oleh toksin dan respons hemolimf sehingga tubuh imago tampak membesar (Wang *et al.*, 2021).

V. lineata yang terinfeksi oleh *B. bassiana* menunjukkan gejala perubahan fisiologis maupun perilaku sebelum akhirnya mati dan bersporulasi (Gambar 11, Gambar 15). Coccinellidae yang terinfeksi menunjukkan pergerakan yang lambat, aktivitas memangsa berkurang, yang kemudian mengalami perubahan kulit menjadi hitam hingga malformasi (Sayed *et al.*, 2021). Gejala eksternal yang kadang dijumpai meliputi perubahan warna pada kutikula, pelunakan jaringan, dan pembengkakan akibat aktivitas enzim degradasi. Konidia yang berhasil berkecambah dan menembus kutikula akan berkembang di dalam hemocoel hingga tubuh inang tertutupi miselia dan konidia berwarna putih (*white muscardine*) (Kovač *et al.*, 2020).

Aplikasi cendawan entomopatogen *B. bassiana*, baik melalui metode langsung maupun tidak langsung, memengaruhi jumlah imago *V. lineata* yang terbentuk. Rendahnya proporsi imago pada perlakuan tertentu berkorelasi dengan tingginya mortalitas larva, sehingga menunjukkan adanya keterkaitan antara tingkat kematian pada stadia awal dengan keberhasilan perkembangan ke stadia dewasa. Hal ini diduga karena adanya infeksi cendawan yang menyebabkan terganggunya proses molting serangga dan pupa yang terinfeksi akan diselimuti oleh miselia cendawan dan gagal bertransformasi ke imago (gambar 12). Trizelia *et al.*, (2017) melaporkan infeksi cendawan entomopatogen terhadap larva *Menochilus sexmaculatus* dapat mengurangi pembentukan pupa dan kemunculan imago yang disebabkan gangguan aktivitas makan dan terganggunya proses molting. Pada predator Coccinellidae, aplikasi *B. bassiana* dilaporkan dapat menurunkan tingkat keberhasilan pupa menjadi imago, dengan sebagian besar individu mati pada tahap larva akhir atau pupa (Sayed *et al.*, 2021; Seiedy *et al.*, 2015). Selain itu efek lain seperti gangguan

reproduksi, misalnya berkurangnya jumlah telur yang dihasilkan, pemendekan umur hidup imago, serta perubahan pada fase perkembangan tertentu, hal ini sangat dipengaruhi oleh konsentrasi konidia serta cara aplikasi, baik melalui kontak langsung maupun konsumsi mangsa yang telah terinfeksi (Seiedy *et al.*, 2015).

Isolat *B. bassiana* PYB11 dengan metode langsung mampu menyebabkan kematian yang signifikan dibandingkan dengan isolat lain pada perlakuan larva serta menyebabkan efek subletal. Isolat tersebut memiliki efek subletal yang cukup tinggi terhadap predator seperti penurunan kemampuan memangsa, turunnya jumlah pembentukan pupa dan jumlah imago yang muncul. Hal tersebut memiliki korelasi dengan kemampuan isolat *B. bassiana* PYB11 yang paling tinggi dalam menghasilkan enzim ekstraseluler dan toksin serta memiliki genetik yang berbeda dengan isolat lainnya. Isolat cendawan entomopatogen memiliki korelasi antara sifat fisiologis dan genetik cendawan terhadap virulensinya ketika menginfeksi inang (Trizelia, *et al.*, 2017). Kemampuan isolat-isolat cendawan *B. bassiana* yang cukup baik dalam menghasilkan enzim dan toksin sehingga dapat menyebabkan efek letal dan subletal pada predator. Namun, yang diharapkan sifat fisiologis cendawan yang baik juga dapat memiliki virulensi yang tinggi terhadap hama.

Efek mortalitas yang ditimbulkan dapat dilakukan penilaian keamanan biologis cendawan menggunakan indeks IOBC. Berdasarkan rata-rata persentase mortalitas, isolat PYB11 dikategorikan ke dalam kelas II (Berisiko sedang), sedangkan isolat PYB13, PYA31, PYB23, maupun kontrol masuk kategori I (tidak berbahaya) untuk larva *V. lineata* sedangkan untuk imago semua isolat dikategorikan tidak berbahaya. Temuan ini menunjukkan bahwa sebagian besar isolat yang diuji relatif aman terhadap predator, meskipun terdapat variasi efek antar isolat dan stadia predator. Hal ini sama seperti yang dilaporkan oleh Sayed *et al.* (2021) isolat *B. bassiana* relatif aman terhadap *Coccinella undecimpunctata* dengan kategori I hingga II. Rakshith *et al.* (2024) melaporkan *Cordyceps fumosorosea* aman terhadap parasitoid dan predator dengan indeks IOBC kategori I (aman).

Efek letal dan subletal cendawan entomopatogen tidak mempengaruhi *V. lineata* dalam menekan populasi WBC. Imago ataupun larva *V. lineata* menunjukkan daya predasi yang cukup tinggi dan mampu menyebabkan tekanan akhir terhadap populasi WBC hingga >70%. Hal ini menandakan bahwa efek yang

ditimbulkan tidak terlalu berpengaruh terhadap kemampuan predator. Interaksi yang diharapkan dalam aplikasi entomopatogen dan predator yaitu dapat diaplikasikan dalam pengendalian hama sehingga lebih efektif. Shi *et al.* (2024) melaporkan bahwa aplikasi *Metarhizium rileyi* bersamaan dengan predator *Harmonia axyridis* dapat meningkatkan mortalitas hama yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan tunggal, sehingga lebih efektif dalam biokontrol. Portilla *et al.* (2017) pada *B. bassiana* strain NI8 terhadap predator *Chrysoperla rufilabris* juga menunjukkan bahwa integrasi EPF dengan predator tetap memungkinkan dan berkontribusi pada efisiensi pengendalian serangga sasaran meskipun terdapat efek subletal. Selain itu, predator dapat berperan penting jika diintegrasikan bersama cendawan entomopatogen yaitu dapat membantu penyebaran spora cendawan (Barahona *et al.*, 2018).

Kemampuan predator *V. lineata* yang masih tinggi dalam menekan populasi WBC meskipun terpapar cendawan entomopatogen menunjukkan bahwa cendawan entomopatogen dan predator masih bisa diintegrasikan dalam PHT sehingga efektifitas pengendalian hama dapat meningkat. Karakteristik genetik dan fisiologis cendawan entomopatogen dan metode aplikasi sangat memainkan peran penting dalam integrasi cendawan entomopatogen dan musuh alami sehingga diharapkan bukan hanya virulensi cendawan yang tinggi terhadap hama sasaran tetapi juga aman terhadap predator (Firouzbakht *et al.*, 2015; Portilla *et al.*, 2017).



BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Isolat *Beauveria bassiana* memiliki keragaman genetik yang cukup tinggi dengan kedekatan kekerabatan yang bervariasi antar isolat. Seluruh isolat mampu menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, dan kitinase, serta toksin Beauvericin dengan tingkat aktivitas yang berbeda. Di antara isolat yang diuji (PYB11, PYB13, PYB23, PYA31), PYB11 menunjukkan aktivitas enzim (Kitinase: 3,346 U/ml, Protease: 1,034 U/ml, Lipase: 1,200 U/ml) dan produksi Beauvericin tertinggi (122,97 mg/l), sedangkan yang terendah PYA31. Isolat PYB11 merupakan isolat dengan dampak tertinggi terhadap larva *V. lineata*, baik dalam meningkatkan mortalitas maupun menurunkan daya predasi. Metode aplikasi secara tidak langsung lebih aman dibandingkan metode aplikasi secara langsung. Patogenisitas terhadap predator *V. lineata* menunjukkan bahwa sebagian besar isolat *B. bassiana* termasuk dalam kategori IOBC kelas I (aman atau tidak berisiko), sedangkan isolat PYB11 berada pada kategori II (risiko sedang), terhadap larva. Temuan ini mengindikasikan bahwa secara umum *B. bassiana* relatif aman digunakan terhadap *V. lineata*. Integrasi pengendalian wereng batang coklat menggunakan *B. bassiana* dan *V. lineata* berpotensi meningkatkan efektivitas, namun perlu selektif dalam pemilihan isolat, dosis, serta metode aplikasi.

B. Saran

Aplikasi cendawan entomopatogen dalam sistem Pengendalian Hama Terpadu (PHT) perlu memperhatikan pemilihan isolat, metode dan waktu aplikasi, konsentrasi, serta interaksi dengan musuh alami agar efektivitas pengendalian meningkat tanpa mengganggu keseimbangan ekosistem dan perlu dilakukan penelitian lanjutan di kondisi rumah kaca maupun lapangan untuk mengevaluasi efektivitas, konsistensi, dan keamanan isolat *B. bassiana*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aamir, S., Sutar, S., Singh, S. K., & Baghela, A. (2015). A rapid and efficient method of fungal genomic DNA extraction, suitable for PCR based molecular methods. *Plant Pathol Quar*, 5(2), 74-81.
- Aditya, F., Gusmayanti, E., & Sudrajat, J. (2021). Pengaruh Perubahan Curah Hujan terhadap Produktivitas Padi Sawah di Kalimantan Barat. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 19(2), 237–246. <https://doi.org/10.14710/jil.19.2.237-246>
- Aghaeepour, S., Zibae, A., Ramzi, S., & Hoda, H. (2022). Host-pathogen interactions of the two native isolates of *Beauveria bassiana* to a predatory coccinellid, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). *ISJ*, 19, 53–68.
- Al Khoury, C., Guillot, J., & Nemer, N. (2019). Lethal activity of beauvericin, a *Beauveria bassiana* mycotoxin, against the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology*, 143(9), 974–983. <https://doi.org/10.1111/jen.12684>
- Amanah, Q., Windari, A., Afifah Nugraheni, I., Mindrati Fardhani, D., Sains dan Teknologi, F., & Yogyakarta, A. (2023). Pemanfaatan Jamur *Beauveria bassiana* Sebagai Pengendalian Hama Pada Tanaman Padi. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1(1), 300–307.
- Anjum, F., & Wright, D. J. (2023). Foliar Residual Toxicity of Insecticides to Brassica Pests and Their Natural Enemies. *Journal of Economic Entomology*, 116(1), 153–159. <https://doi.org/10.1093/jee/toac188>
- Atrchian, H., Mahdian, K., & Izadi, H. (2022). Sub-lethal effects of *Metarhizium anisopliae* on the life table parameters of the predatory coccinellid *Menochilus sexmaculatus* Fabricius. *Journal of Applied Entomology*, 146(9), 1136–1144. <https://doi.org/10.1111/jen.13052>
- Avery, P. B., Kumar, V., Francis, A., McKenzie, C. L., & Osborne, L. S. (2020). Compatibility of the predatory beetle, *delphastus catalinae*, with an entomopathogenic fungus, *cordyceps fumosorosea*, for biocontrol of invasive pepper whitefly, *aleurothrixus trachoides*, in florida. *Insects*, 11(9), 1–11. <https://doi.org/10.3390/insects11090590>
- Badan Pusat Statistik. (2024). *Luas Panen, Produksi, dan Produktivitas Padi Menurut Provinsi 2018-2024*. <https://www.bps.go.id/>.

- Baehaki SE, & Mejaya, I. M. J. (2014). Wereng Cokelat sebagai Hama Global Bernilai Ekonomi Tinggi dan Strategi Pengendaliannya. *Iptek Tanaman Pangan*, 9(1), 1–12.
- Bajya, D. R., Ranjith, M., & Raza, S. K. (2015). Evaluation of *Beauveria bassiana* against chickpea pod borer, *Helicoverpa armigera* and its safety to natural enemies. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 85(3), 378–381. <https://doi.org/10.56093/ijas.v85i3.47122>
- Barahona, C. F. S., Threlkeld, B. S., Avery, P. B., Francis, A. W., & Cave, R. D. (2018). Compatibility and efficacy of the lady beetle *Thalassa montezumae* and the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* for biological control of the green croton scale: laboratory and greenhouse investigations. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(5), 715–723. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9618-9>
- Bayissa, W., Ekesi, S., Mohamed, S. A., Kaaya, G. P., Wagacha, J. M., Hanna, R., & Maniania, N. K. (2016). Interactions among vegetable-infesting aphids, the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) and the predatory coccinellid *Cheilomenes lunata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biocontrol Science and Technology*, 26(2), 274–290. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1099148>
- Bayu, M. S. Y. I., Prayogo, Y., & Indiati, S. W. (2021). *Beauveria bassiana*: Biopestisida Ramah Lingkungan dan Efektif untuk Mengendalikan Hama dan Penyakit Tanaman. *Buletin Palawija*, 19(1), 41–63. <https://doi.org/10.21082/bulpa.v19n1.2021.p41-63>
- Berretta, M. F., Lecuona, R. E., Zandomeni, R. O., & Grau, O. (1998). Genotyping Isolates of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* by RAPD with Fluorescent Labels. *Journal Of Invertebrate Pathology*, 71, 145–150.
- Bhadani, R. V., Gajera, H. P., Hirpara, D. G., Kachhadiya, H. J., & Dave, R. A. (2021). Metabolomics of extracellular compounds and parasitic enzymes of *Beauveria bassiana* associated with biological control of whiteflies (*Bemisia tabaci*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 176, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104877>
- Bidochka, M. J., McDonald, M. A., St Leger, R. J., & Roberts, D. W. (1994). Differentiation of species and strains of entomopathogenic fungi by random amplification of polymorphic DNA (RAPD). In *Curr Genet* (Vol. 25).

- Carneiro, A. A., Gomes, E. A., Guimarães, C. T., Fernandes, F. T., Carneiro, N. P., & Cruz, I. (2008). Molecular characterization and pathogenicity of isolates of *Beauveria* spp. to fall armyworm. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 513-520.
- Chaithra, M., Prameeladevi, T., Bhagyasree, S. N., Prasad, L., Subramanian, S., & Kamil, D. (2022). Multilocus sequence analysis for population diversity of indigenous entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its bio-efficacy against the cassava mite, *Tetranychus truncatus* Ehara (Acari: Tetranychidae). *Frontiers in Microbiology*, 13, 1007017.
- Cito, A., Barzanti, G. P., Strangi, A., Francardi, V., Zanfini, A., & Dreassi, E. (2016). Cuticle-degrading proteases and toxins as virulence markers of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Journal of Basic Microbiology*, 56(9), 941–948. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600022>
- Corallo, A. B., Pechi, E., Bettucci, L., & Tiscornia, S. (2021). Biological control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) by Entomopathogenic fungi and their side effects on natural enemies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00358-2>
- Dalzoto, P. R., Glienke-Blanco, C., Kava-Cordeiro, V., Araújo, W. L., & Azevedo, J. L. (2003). RAPD analyses of recombination processes in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Mycological Research*, 107(9), 1069–1074. <https://doi.org/10.1017/S0953756203008293>
- Deb, L., & Dutta, P. (2021). Antagonistic potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against *Pythium myriotylum* causing damping off of tomato. *Indian Phytopathology*, 74(3), 715–728. <https://doi.org/10.1007/s42360-021-00372-w>
- Dhar, S., Jindal, V., Jariyal, M., & Gupta, V. K. (2019). Molecular characterization of new isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and their efficacy against the tobacco caterpillar, *spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0110-3>
- Dhawan, M., & Joshi, N. (2017). Enzymatic comparison and mortality of *Beauveria bassiana* against cabbage caterpillar *Pieris brassicae* LINN. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(3), 522–529. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.08.004>

- Dias, P. M., De Souza Loureiro, E., Pessoa, L. G. A., De Oliveira Neto, F. M., De Souza Tosta, R. A., & Teodoro, P. E. (2019). Interactions between fungal-infected *Helicoverpa armigera* and the predator *Chrysoperla externa*. *Insects*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/insects10100309>
- Dias, P. M., Loureiro, E. D. S., Pessoa, L. G. A., Devos, G. L. R., Barbosa Junior, G. B., Werner, A. M., Navarrete, A. A., & Teodoro, P. E. (2020). Selectivity of entomopathogenic fungi to *chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Insects*, *11*(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects11100716>
- Donggulo, C. V., Lapanjang, I. M., & Made, U. (2017). Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi (*Oryza sativa* L) pada Berbagai Pola Jajar Legowo dan Jarak Tanam. *J. Agroland*, *24*(1), 27–35.
- Elawati, N. E., Pujiyanto, S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik dan Sifat Kinetika Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, *5*(1), 1–7. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
- El-Maraghy, S. S. M., Abdel-Rahman, M. A. A., Hassan, S. H. M., & Hussein, K. A. (2023). Pathogenicity and other characteristics of the endophytic *Beauveria bassiana* strain (Bals.) (Hypocreales: Cordycipitaceae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *33*(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00690-3>
- Estrada, M. E., Camacho, M. V., & Benito, C. (2007). The molecular diversity of different isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. as assessed using intermicrosatellites (ISSRs). *Cellular & Molecular Biology Letters*, *12*(2), 240–252.
- Fan, Y., Fang, W., Guo, S., Pei, X., Zhang, Y., Xiao, Y., Li, D., Jin, K., Bidochka, M. J., & Pei, Y. (2007). Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains overexpressing an engineered chitinase. *Applied and Environmental Microbiology*, *73*(1), 295–302. <https://doi.org/10.1128/AEM.01974-06>
- Fang, W., Leng, B., Xiao, Y., Jin, K., Ma, J., Fan, Y., Feng, J., Yang, X., Zhang, Y., & Pei, Y. (2005). Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(1), 363–370. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.363-370.2005>
- Fauziah, H., Sudirman, I., Gunawan, R., & Wachdijono, W. (2025). Optimizing Refugia Planting Areas and Increasing the Frequency of Predator Sighting can Increase Environmentally Friendly and Sustainable Rice Production. *Jurnal Impresi Indonesia*, *4*(2), 1132–1145. <https://doi.org/10.58344/jii.v4i2.6319>

- Fernandes, E. K. K., Moraes, A. M. L., Pacheco, R. S., Rangel, D. E. N., & Miller, M. P. Genetic diversity among Brazilian isolates of *Beauveria bassiana*, 760–774.
- Ferreira, J. M., Fernandes, É. K. K., Kim, J. S., & Soares, F. E. F. (2024). The Combination of Enzymes and Conidia of Entomopathogenic Fungi against *Aphis gossypii* Nymphs and *Spodoptera frugiperda* Larvae. *Journal of Fungi*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/jof10040292>
- Ferri, D. V., Munhoz, C. F., Neves, P. M. O., Ferracin, L. M., Sartori, D., Vieira, M. L. C., & Fungaro, M. H. P. (2012). Genetic Variability of *Beauveria bassiana* and a DNA Marker for Environmental Monitoring of a Highly Virulent Isolate Against *Cosmopolites sordidus*. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 569–574. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0292-9>
- Fincham, W. N. W., Dunn, A. M., Brown, L. E., Hesketh, H., & Roy, H. E. (2019). Invasion success of a widespread invasive predator may be explained by a high predatory efficacy but may be influenced by pathogen infection. *Biological Invasions*, 21(12), 3545–3560. <https://doi.org/10.1007/s10530-019-02067-w>
- Firouzbakht, H., Zibaee, A., Hoda, H., & Sohani, M. M. (2015). Virulence determination of *Beauveria bassiana* isolates on a predatory hemipteran, *Andrallus spinidens* fabricius (hemiptera: Pentatomidae). *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 50(1), 115–125. <https://doi.org/10.1556/038.50.2015.1.11>
- Fitri, Z. Y. (2022). *Interaksi Predator Verania lineata dan Ophionea nigrofasciata pada beberapa kepadatan wereng batang coklat (Nilaparvata lugens) di Laboratorium [SKRIPSI]*. Universitas Andalas.
- Gao, B. J., Mou, Y. N., Tong, S. M., Ying, S. H., & Feng, M. G. (2020). Subtilisin-like Pr1 proteases marking the evolution of pathogenicity in a wide-spectrum insect-pathogenic fungus. *Virulence*, 11(1), 365–380. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1749487>
- Gebremariam, A., Chekol, Y., & Assefa, F. (2022). Extracellular enzyme activity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their pathogenicity potential as a bio-control agent against whitefly pests, *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *BMC Research Notes*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-022-06004-4>
- Golshan, H., Saber, M., Majidi-Shilsar, F., Karimi, F., & Ebadi, A. A. (2014). Laboratory Evaluation of *Beauveria bassiana* Isolates on Red Flour Beetle *Tribolium castaneum* and Their Characterization by Random Amplified Polymorphic DNA. In *J. Agr. Sci. Tech* (Vol. 16).

- González-Mas, N., Cuenca-Medina, M., Gutiérrez-Sánchez, F., & Quesada-Moraga, E. (2019). Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon. *Journal of Pest Science*, 92(3), 1271–1281. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01098-5>
- Hasan, S., Ahmad, A., Purwar, A., Khan, N., Kundan, R., & Gupta, G. (2013). Production of extracellular enzymes in the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Bioinformation*, 9(5), 238–242. www.bioinformation.net
- Hendra, Y., Trizelia, & Syahrawati, M. (2022). Virulensi Empat Isolat *Beauveria bassiana* Bals. Vuill Terhadap Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens* Stall.). *Jurnal Pertanian Agros*, 24(2), 552–558.
- Hendrival, Hakim, L., & Halimuddin. (2017). Komposisi dan Keanekaragaman Arthropda Predator pada Agroekosistem Padi. *J. Floratek*, 12(1), 21–33.
- Hidayah, A., Harijani, W., Widajati, W., & Ernawati, D. (2019). Potensi Jamur Entomopatogen *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* dan *Streptomyces* sp. Terhadap Mortalitas *Lepidiotia stigma* pada Tanaman Tebu. *Plumula*, 7(2), 64–72.
- Ihsan, K. A., Afifah, L., Sugoarto, & Kurniati, A. (2023). Virulensi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* Terhadap Wereng Batang Coklat *Nilaparvata lugens* Stal. *Jurnal Agrotech*, 13(1), 63–70.
- Ikeda, R., & Vaughan, D. A. (2004). The distribution of resistance genes to the brown planthopper in rice germplasm. *Rice Gen New*, 8, 125–127. <https://shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/asset/rgn/vol8/v8p125.html>
- Imoulan, A., Koraichi Ibensouda, S., & El Meziane, A. (2016). Molecular characterization and the effectiveness of native entomopathogenic *Beauveria bassiana* strains against adults of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*, 1(1), 6–16. <https://doi.org/10.31248/JBBD2016.008>
- Indah, & Musafira. (2017). Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* Isolat Kapang Kopra dengan Menggunakan Medium Kelapa Parut. *KOVALEN*, 3(3), 269–276.
- James, R., Shaffer, B. T., Croft, B., & Lighthart, B. (1995). Field Evaluation of *Beauveria bassiana*: Its Persistence and Effects on the Pea Aphid and a Non-target Coccinellid in Alfalfa. *Biocontrol Science and Technology*, 5(4), 425–438. <https://doi.org/10.1080/09583159550039620>

- Jie, J., & Shi, L. (2010). RAPD analyse to detect genetic diversity of *Beauveria bassiana* from the silkworm, *Bombyx mori* in China. *2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1–5.
- Keyhani, N. O. (2018). Lipid biology in fungal stress and virulence: Entomopathogenic fungi. In *Fungal Biology* (Vol. 122, Issue 6, pp. 420–429). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.07.003>
- Kovač, M., Lacković, N., & Pernek, M. (2020). Effect of *Beauveria bassiana* fungal infection on survival and feeding behavior of pine-tree lappet moth (*Dendrolimus pini* L.). *Forests*, *11*(9). <https://doi.org/10.3390/f11090974>
- Kumar, N. S., & Gurusubramanian, G. (2011). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision*, *11*(3), 116–124. www.usask.ca/.../pawlin/
- Kumari, N., & Thakur, S. K. (2014). Randomly Amplified Polymorphic DNA-A Brief Riview. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, *9*(1), 6–13. <https://doi.org/10.3844/ajavssp.2014.6.13>
- Labbe, R., Cloutier, C., & Brodeur, J. (2006). Prey selection by *Dicyphus hesperus* of infected or parasitized greenhouse whitefly. *Biocontrol Science and Technology*, *16*(5), 485–494. <https://doi.org/10.1080/09583150500532535>
- Li, X. L., Zhang, J. J., Li, D. D., Cai, X. Y., Qi, Y. X., & Lu, Y. Y. (2024). Toxicity of *Beauveria bassiana* to *Bactrocera dorsalis* and effects on its natural predators. *Frontiers in Microbiology*, *15*(1362089). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1362089>
- Liswandi, A., Syahrawati, M., Hamid, H., Arneti, & Rinaldi, J. (2023). Ability of commercial *Beauveria bassiana* to suppress the brown planthopper attack by inducing resistance into different rice variety. *Biodiversitas*, *24*(12), 6704–6710. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241232>
- Lovera, A., Belaich, M., Villamizar, L., Patarroyo, M. A., & Barrera, G. (2020). Enhanced virulence of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* using a soluble recombinant enzyme with endo- and exochitinase activity. *Biological Control*, *144*. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104211>
- Matos, G., Chen, Y., Doyle, V. P., Rehner, S. A., & Diaz, R. (2022). Will the application of biocontrol fungi disrupt predation of *Acanthococcus lagerstroemiae* by coccinellids? *Journal of Invertebrate Pathology*, *193*(193), 107789. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2022.107789>

- Maurer, P., Counteaudier, P.A. G., Bridge P.D, & Riba, G. (1997). Genetic diversity of *Beauveria basiana* and relatedness to host insect range. *Mycol. Res.*, 2(101), 159–164.
- Mejía, C., Bautista, E. J., García, L., Barrios Murcia, J. C., & Barrera, G. (2024). Assessment of Fungal Lytic Enzymatic Extracts Produced Under Submerged Fermentation as Enhancers of Entomopathogens' Biological Activity. *Current Microbiology*, 81(7). <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03702-z>
- Minarni, E. W., Soesanto, L., Suyanto, A., & Rostaman. (2021). Molecular identification of three entomopathogenic fungi infecting the brown plant hopper pest in Indonesia. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00412-7>
- Mochida, O., & Okada, T. (1979). *Taxonomy and biology of Nilaparvata lugens* (Hom., Delphacidae).
- Mohamed, G. S. (2019). The virulence of the entomopathogenic fungi on the predatory species, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0146-4>
- Morales, A., & Villalobos, F. J. (2023). Using machine learning for crop yield prediction in the past or the future. *Frontiers in Plant Science*, 14(1128388). <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1128388>
- Muthukrishnan, S., Mun, S., Noh, M. Y., Geisbrecht, E. R., & Arakane, Y. (2020). Insect Cuticular Chitin Contributes to Form and Function. *Current Pharmaceutical Design*, 26(29), 3530–3545. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200523175409>
- Ningrat, M. A., Mual, C. D., & Makabori, Y. Y. (2021). Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) pada Berbagai Sistem Tanam di Kampung Desay, Distrik Prafi, Kabupaten Manokwari. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 2(1), 325–332. <https://doi.org/10.47687/snppvp.v2i1.191>
- Nurbaeti, B., Diratmaja, I. A., & Putra, S. (2010). *hama wereng coklat (Nilaparvata lugens Stal) dan pengendaliannya* (K. Permadi, Ed.). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Barat.
- Nuryanto, B. (2018). Pengendalian Penyakit Tanaman Padi Berwawasan Lingkungan Melalui Pengelolaan Komponen Epidemik. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 37(1), 1. <https://doi.org/10.21082/jp3.v37n1.2018.p1-8>

- Örtücü, S., & Albayrak İskender, N. (2017). Determination of Control Potentials And Enzyme Activities Of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull. Isolates Against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Trakya University Journal of Natural Sciences*. <https://doi.org/10.23902/trkjnat.285656>
- Pedriani, N. (2022). The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Shows Its Toxic Side within Insects: Expression of Genes Encoding Secondary Metabolites during Pathogenesis. *Journal of Fungi*, 8(488). <https://doi.org/10.3390/jof8050488>
- Pelizza, S. A., Medina, H., Ferreri, N. A., Eliades, L. A., Pocco, M. E., Stenglein, S. A., & Lange, C. E. (2020). Virulence and enzymatic activity of three new isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) from the South American locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.11.006>
- Permana, A. (2016). *Dinamika Hama Wereng Batang Coklat (Nilaparvata lugens Stal.) terhadap faktor iklim di Kabupaten Karawang, Jawa Barat*. Institut Pertanian Bogor.
- Pertiwi, S. P., Hasibuan, R., & Wibowo, L. (2016). Pengaruh Jenis Formulasi Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* terhadap pertumbuhan spora dan kematian kutu daun (*Aphis glycines* Matsumura). *J. Agrotek Tropika*, 4(1), 55–61.
- Portilla, M., Snodgrass, G., & Luttrell, R. (2017). Lethal and Sub-Lethal Effects of *Beauveria bassiana* (Cordycipitaceae) Strain NI8 on *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *Florida Entomologist*, 100(3), 627–633. <https://doi.org/10.1653/024.100.0321>
- Prabhukarthikeyan, S. R., Keerthana, U., Archana, S., & Raguchander, T. (2017). Analysis of genetic diversity among different isolates of *Beauveria bassiana* by RAPD-PCR. *Journal of Biological Control*, 31(1), 18–24. <https://doi.org/10.18311/jbc/2017/15581>
- Rakshith, H. S., Hegde, J. N., Sumalatha, B. V., Selvaraj, K., Rajashekharappa, K., Ganesha Naik, R., & Thippesha, D. (2024). Laboratory assays to test *Cordyceps* (= *Isaria*) *fumosorosea*, spiroetramat, flupyradifurone and imidacloprid against the parasitoid *Encarsia guadeloupae* and predator *Apertochrysa astur*. *Biocontrol Science and Technology*, 1(35), 71–87. <https://doi.org/10.1080/09583157.2024.2430480>

- Rehner, S. A., & Buckley, E. P. (2003). Isolation and characterization of microsatellite loci from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Molecular Ecology Notes*, 3(3), 409–411.
- Rivera-Alonso, E., González-Zamora, J. E., Avilla, C., & Sanz-Gomez, J. (2024). Compatibility of two novel insecticides dimpropyridaz and *Beauveria bassiana* PPRI 5339 with the beneficial insect *Nesidiocoris tenuis* (Reuter). *Crop Protection*, 178(178), 106582. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106582>
- Rosmiati, A., Hidayat, C., Firmansyah, E., & Setiati, Y. (2018). Potensi *Beauveria bassiana* sebagai Agens Hayati *Spodoptera litura* Fabr. pada Tanaman Kedelai. *Agrikultura*, 29(1), 43. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v29i1.16925>
- Roy, D. N., Maheswari, T. U., & Raghavender, B. (2024). Mouthparts of ladybird beetles (Coccinellidae: Coleoptera): A comparative analysis. *Journal of Biological Control*, 38(1), 92–96. <https://doi.org/10.18311/jbc/2024/36558>
- Safavi, S. A. (2013). In Vitro and In Vivo Induction, and Characterization of Beauvericin Isolated from *Beauveria bassiana* and Its Bioassay on *Galleria mellonella* Larvae. *J. Agr. Sci. Tech*, 15, 1–10.
- Saif, I., Sufyan, M., Baboo, I., Jabbar, M., Shafiq, A., Saif, R. N., Liaqat, U., & Lackner, M. (2024). Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against wheat aphid. *Eurobiotech Journal*, 8(1), 23–31. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2024-0003>
- Santosa, S. J., & Sulistyo, J. (2007). Peranan Musuh Alami Hama Utama Padi pada Ekosistem Sawah. *Jurnal Inovasi Pertanian*, 6(1), 1–10.
- Saputra, N. (2024). *Eksplorasi Cendawan Endofit dari Padi Varietas Payo yang Dibudidayakan di Kabupaten Kerinci, Yang berpotensi sebagai patogen Nilaparvata lugens (Hemiptera: Delphacidae)*. Universitas Andalas.
- Sayed, S., Elarnnaouty, S.-A., Alotaibi, S., & Salah, M. (2021). Pathogenicity and Side Effect of Indigenous *Beauveria bassiana* on *Coccinella undecimpunctata* and *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Insects*, 12, 42. <https://doi.org/10.3390/insects>
- Scorsetti, A. C., Pelizza, S., Fogel, M. N., Vianna, F., & Schneider, M. I. (2017). Interactions between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the Neotropical predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae): Implications in biological control of pest. *Journal of Plant Protection Research*, 57(4), 389–395. <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0053>

- Seiedy, M., Tork, M., & Deyhim, F. (2015). Effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) as a nontarget organism. *Systematic and Applied Acarology*, 20(3), 241–250. <https://doi.org/10.11158/saa.20.3.2>
- Semenova, T. A., Dunaevsky, Y. E., Beljakova, G. A., & Belozersky, M. A. (2020). Extracellular peptidases of insect-associated fungi and their possible use in biological control programs and as pathogenicity markers. In *Fungal Biology* (Vol. 124, Issue 1, pp. 65–72). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.11.005>
- Sen, Y., Xiaoyun, R., Dengjie, W., Ye, Z., Zhike, Z., Jiyuan, G., Wang, H., Zhongren, L., & Shengyong, W. U. (2023). The Research Progress on the Effects of Entomopathogenic Fungi on Natural Enemies. *Chinese Journal of Biological Control*, 39(1), 221–230. <https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2022.01.014>
- Serna-Domínguez, M. G., Andrade-Michel, G. Y., Rosas-Valdez, R., Castro-Félix, P., Arredondo-Bernal, H. C., & Gallou, A. (2019). High genetic diversity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in Colima, Mexico. *Journal of Invertebrate Pathology*, 163, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.03.007>
- Shi, L., Liu, D., Qiu, L., Jiang, Z., & Zhan, Z. (2023). Evaluation of the Parasitism Capacity of a Thelytoky Egg Parasitoid on a Serious Rice Pest, *Nilaparvata lugens* (Stål). *Animals*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani13010012>
- Shi, N., Lu, Y., Sui, L., Wang, J. J., Zhao, Y., Li, Q. Y., & Zhang, Z. K. (2024). Study on the Synergistic Control Effect of *Metarhizium rileyi* and *Harmonia axyridis* Toward Aphids. *Scientia Agricultura Sinica*, 57(17), 3398–3407. <https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2024.17.007>
- Sirait, D. D. N., Tobing, M. C., & Safni, I. (2023). Genetic diversity of the entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) from oil palm planting soil based on RAPD markers. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 20(1), 22–39. <https://doi.org/10.5994/jei.20.1.22>
- Suciatmih, Kartika, T., & Yusuf, S. (2015). Jamur Entomopatogen dan Aktivitas Enzim Ekstraselulernya. *Berita Biologi*, 2(14), 131–142.
- Sudewi, S., Ala, A., & Muhammad Farid, dan. (2020). Keragaman Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) pada Tanaman Padi Varietas Unggul Baru (VUB) dan Varietas Lokal pada Percobaan Semi Lapangan. *Jurnal Agrikultura*, 31(1), 15–24.

- Sulistiyono, F. D., Soesanto Loekas, & Ratnanigtyas, N. I. (2022). Uji Aktivitas Protease Empat Isolat *Trichoderma* spp. yang Berasal dari Tanah Perakaran. *Chimica et Natura Acta*, 9(3), 98. <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36774>
- Suryadi, Y., Wartono, W., Susilowati, D. N., Lestari, P., Nirmalasari, C., & Suryani, S. (2018). Patogenisitas *Beauveria bassiana* Strain STGD 7(14)2 dan STGD 5(14)2 terhadap Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens* STAL). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 11(2), 122–132. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v11i2.6694>
- Swastika, S., Rustam, R., & Fauzana, H. (2022). The Pesticides Use by Rice Farmers in Siak Regency. *Jurnal Agronomi Tanaman Tropika*, 4(2), 371–381. <https://doi.org/10.36378/juatika.v4i2.797>
- Syahrawati, M., Aditia Putra, O., Rusli, R., & Sulyanti, E. (2019). Population structure of brown planthopper (*Nilaparvata lugens*, Hemiptera: Delphacidae) and attack level in endemic area of Padang city, Indonesia. In *Asian J Agric & Biol.*
- Syahrawati, M., Arneti, & Desiska. (2021). Controlling Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* STAL) By Join Predatos (*Pardosa Pseudoannulata* Boesenberg and Strand and *Verania lineata* Thungber) Under Competitive Conditions. *AGRIKULTURA CRI Journal*, 1(2), 1–13.
- Syahrawati, M., Purwanto, B. H., Martono, E., & Putra, N. S. (2015). Predation and Competition of Two Predators (*Pardosa pseudoannulata* and *Verania lineata*) on Different Densities of *Nilaparvata lugens* in Laboratory. In *Article in International Journal of Science and Research* (Vol. 4). www.ijsr.net
- Taufik, M., Hasan, A., Rahayu, & Khaeruni, A. (2016). *Padi Gogo*. Universitas Halu Oleo.
- Trizelia. (2005). *Cendawan Entomopatogen Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil (Deuteromycotina: Hyphomycetes): Keragaman Genetik, Karakterisasi Fisiologi, dan Virulensinya Terhadap *Crociodolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae). Institut Pertanian Bogor.
- Trizelia, Armon, N., & Jailani. (2015). Keanekaragaman cendawan entomopatogen pada rizosfer berbagai tanaman sayuran. *Pros sem nas masy biodiv indon*, 998–1004. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010307>
- Trizelia, Busniah, M., & Permadi, A. (2017). Pathogenicity of entomopathogenic fungus *Metarhizium* spp. against predators *Menochilus sexmaculatus* Fabricius (Coleoptera: Coccinellidae). *Asian Journal of Agriculture*, 1(01), 1–5. <https://doi.org/10.13057/asianjagric/g010101>

- Trizelia, Nelly, N., & Hendrik, A. M. (2017). Karakterisasi Fisiologi Beberapa Isolat Cendawan Entomopatogen *Beauveria Bassiana* Dan Virulensinya Terhadap Spodoptera Litura. *Jurnal Proteksi Tanaman*, 1(1), 10–17.
- Ullah, M. I., Altaf, N., Afzal, M., Arshad, M., Mehmood, N., Riaz, M., Majeed, S., Ali, S., & Abdullah, A. (2019). Effects of Entomopathogenic Fungi on the Biology of Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae) and its Reduviid Predator, Rhynocoris marginatus (Heteroptera: Reduviidae) . *International Journal of Insect Science*, 11, 117954331986711. <https://doi.org/10.1177/1179543319867116>
- Urtz, B., Rice, W., & Rtz An D, B. E. (1997). RAP D-PC R characterization of *Beauveria bassiana* isolates from the rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus*. In *Lepers in Applied Microbiology* (Vol. 25).
- Usyati, N., Kurniawati, N., Ruskandar, A., & Rumasa, O. (2018). Populasi Hama dan Musuh Alami pada Tiga Cara Budidaya Padi Sawah di Sukamandi. *Jurnal Agrikultura*, 29(1), 35–42.
- Wahyudi, P. (2008). Enkapsulasi Propogul Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* Menggunakan Alginat dan Pati Jagung sebagai Produk Mikoinsektisida. *Jurnal Ilmu Kefarmasiaan Indonesia*, 6(2), 51–56.
- Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P., & Gong, M. (2021). The Toxins of *Beauveria bassiana* and the Strategies to Improve Their Virulence to Insects. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343>
- Yudiawati, E., & Pertiwi, S. (2020). Keanekaragaman Jenis Coccinellidae pada Areal Pesawahan Tanaman Padi di Kecamatan Tabir dan di Kecamatan Pangkalan Jambu Kabupaten Merangin. *Jurnal Sains Agro*, 5(1), 1–12.
- Yuliani, & Agustian, A. P. (2020). Kepadatan Populasi dan Intensitas Serangan Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata lugens*. Stal) Pada Budidaya Padi Pandanwangi Dengan Penerapan Organik dan Anorganik. *Jurnal Pro-Stek*, 2(1), 49–56.
- Yusriah, & Kuswyasari, N. D. (2013). Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas protease penicillium sp. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 2(1), 48–50.
- Zakqy, N., & Wiyatiningsih, S. (2023). Diversity of Important Pests and Natural Enemies in Rice Plants. *NST Proceedings*, 82–86. <https://doi.org/10.11594/nstp.2023.3117>

- Zhu, H., & Kim, J. J. (2012). Target-oriented dissemination of *Beauveria bassiana* conidia by the predators, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) for biocontrol of *Myzus persicae*. *Biocontrol Science and Technology*, 22(4), 393–406. <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.661843>
- Zulyusri, & Anugrah, C. (2023). Enrichment: Journal of Multidisciplinary Research and Development Brown Plant Insect (*Nilaparvata lugens*) Pathogen On Rice (*Oryza Sativa*). *Enrichment: Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1(3), 82–90.



LAMPIRAN

UNIVERSITAS ANDALAS

ahun 2025

Lampiran 1. Jadwal pelaksanaan penelitian tahun 2025

[illegible]

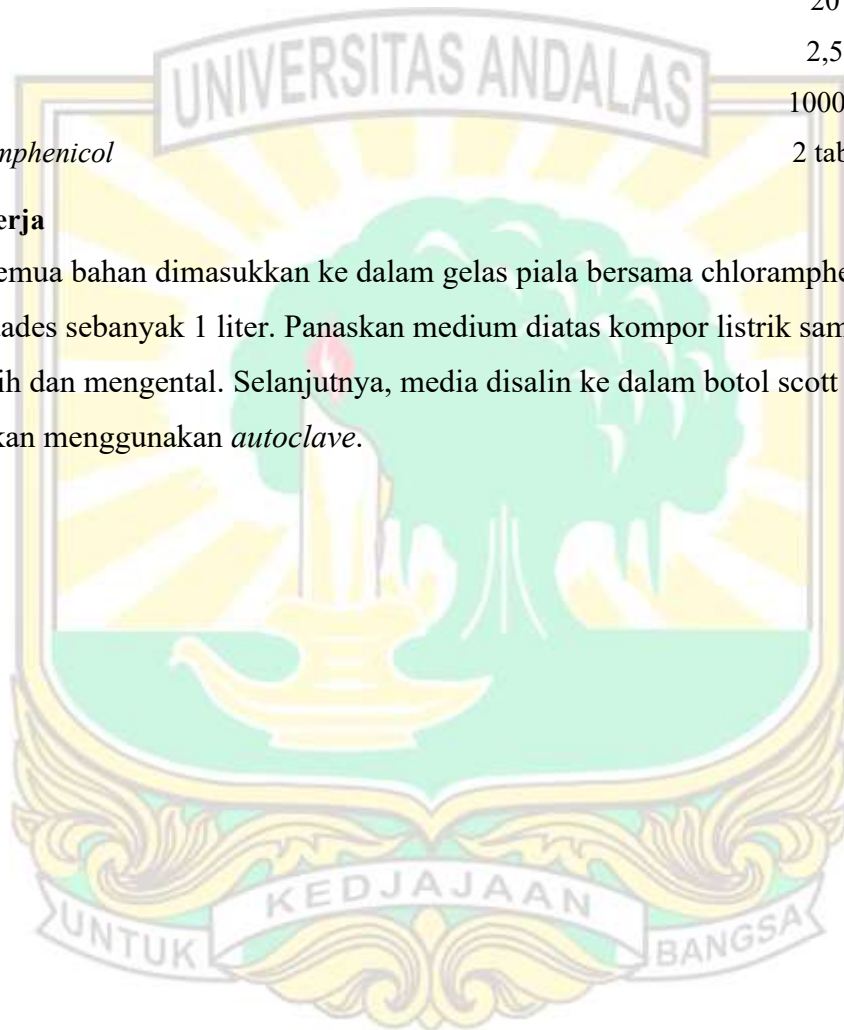
Lampiran 2. Komposisi Medium

1. Medium *Sabouraud Dextrose Agar + Yeast* (SDAY)

Bahan	Jumlah
<i>Peptone</i>	10 g
<i>Dextrose</i>	40 g
Agar	20 g
Yeast	2,5 g
Air	1000 ml
<i>chloramphenicol</i>	2 tablet

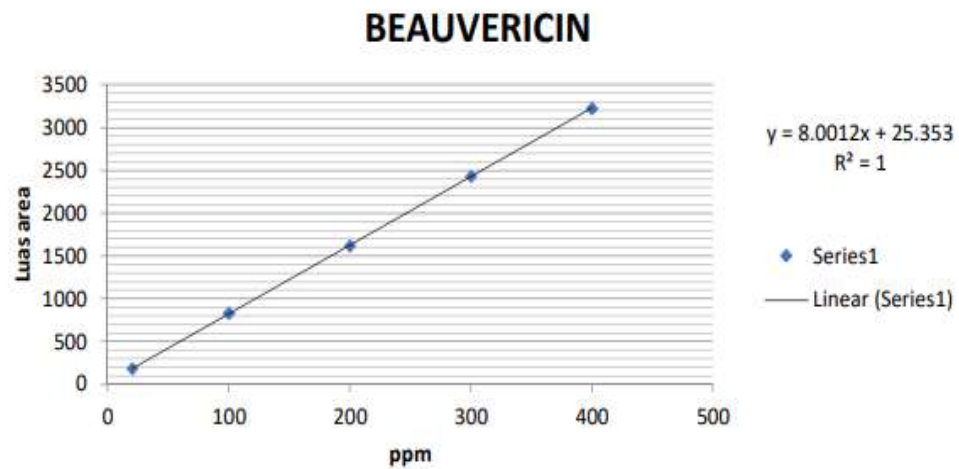
Cara Kerja

Semua bahan dimasukkan ke dalam gelas piala bersama chloramphenicol dan akuades sebanyak 1 liter. Panaskan medium diatas kompor listrik sampai mendidih dan mengental. Selanjutnya, media disalin ke dalam botol scott dan disterilkan menggunakan *autoclave*.



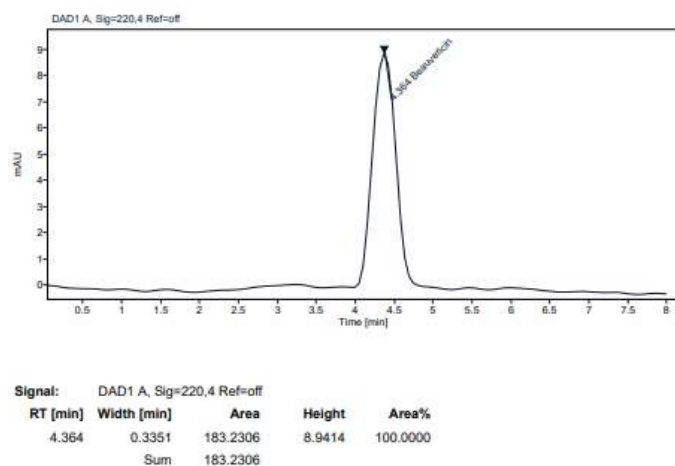
Lampiran 3. Kromatogram

A. Kurva Standar Beauvericin

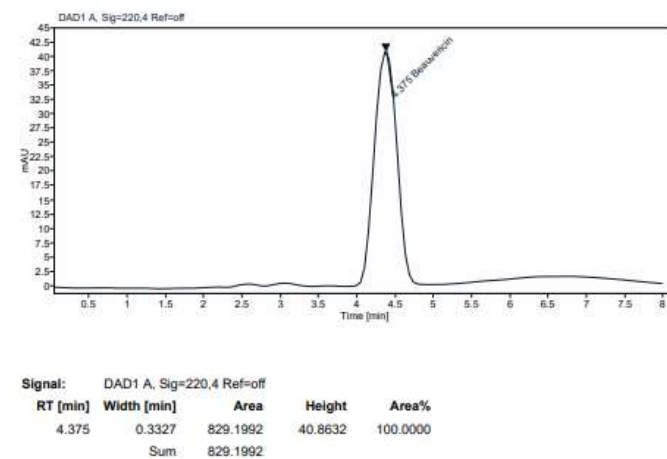


B. HPLC kurva standar Beauvericin

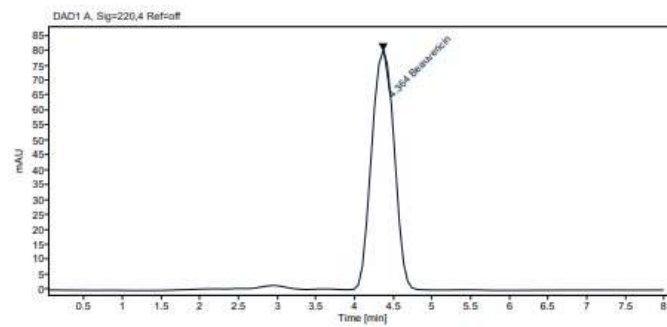
1. 20 ppm



2. 100 ppm



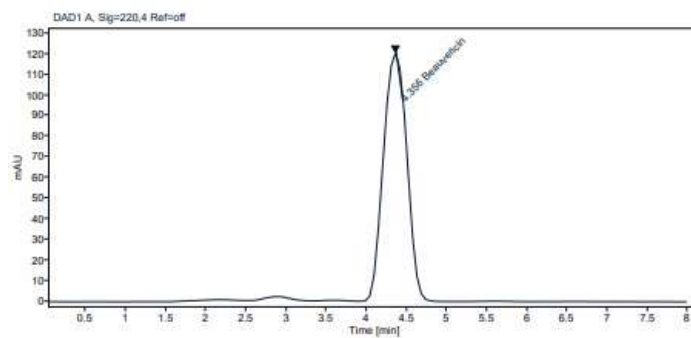
3. 200 ppm



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.364	0.3324	1621.6210	80.0425	100.0000
Sum		1621.6210		

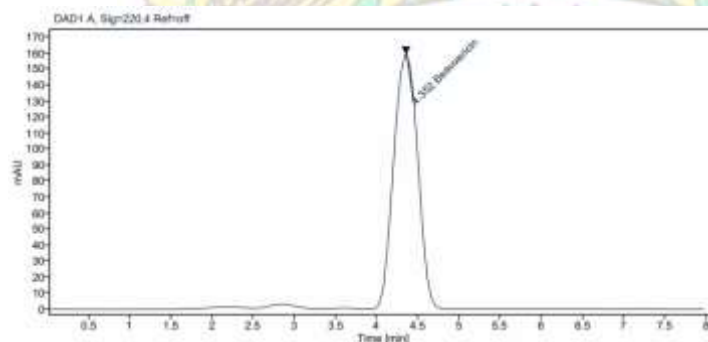
4. 300 ppm



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.356	0.3321	2430.7991	120.1118	100.0000
Sum		2430.7991		

5. 400 ppm



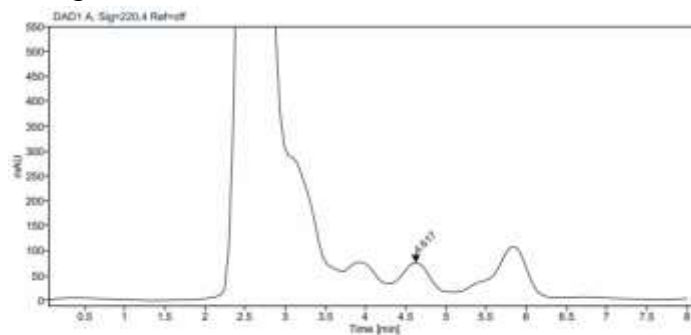
Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.352	0.3322	3223.2271	159.2135	100.0000
Sum		3223.2271		

C. Kromatogram HPLC sampel

1. PYB11

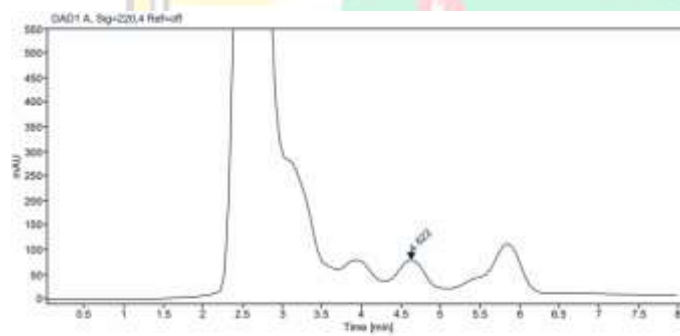
a. Ulangan 1



Signal: DAD1 A, Sig=220.4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.617	0.3312	1011.5227	50.1704	100.0000
Sum		1011.5227		

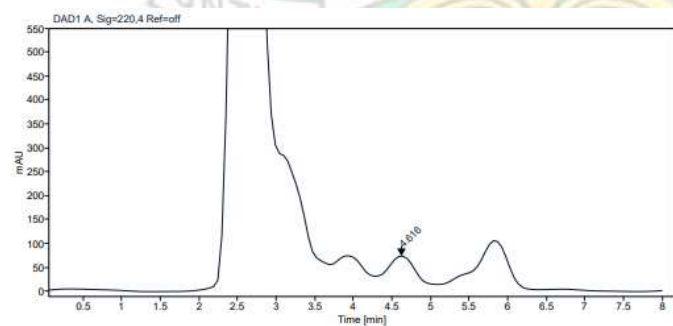
b. Ulangan 2



Signal: DAD1 A, Sig=220.4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.622	0.3364	1006.6566	49.8812	100.0000
Sum		1006.6566		

b. Ulangan 3

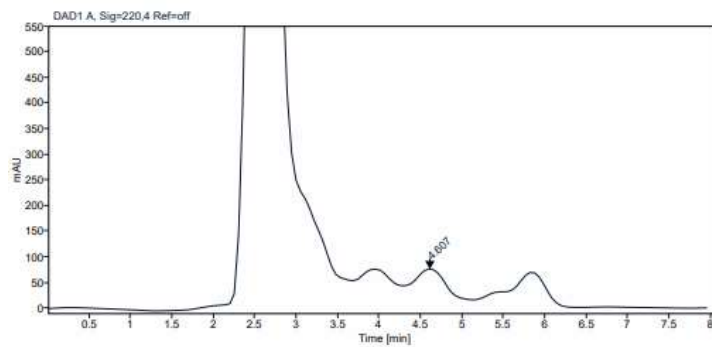


Signal: DAD1 A, Sig=220.4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.616	0.3311	1009.6710	50.0945	100.0000
Sum		1009.6710		

2. PYA31

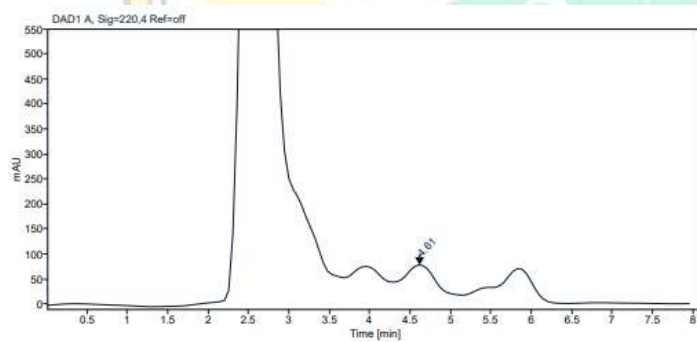
a. Ulangan 1



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.607	0.3350	905.7503	44.2136	100.0000
Sum		905.7503		

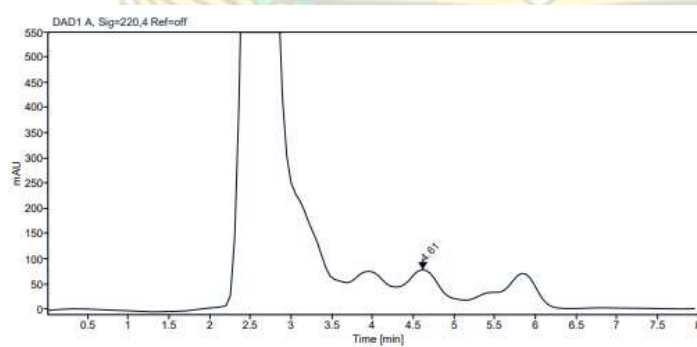
b. Ulangan 2



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.610	0.3361	927.5558	45.0775	100.0000
Sum		927.5558		

c. Ulangan 3

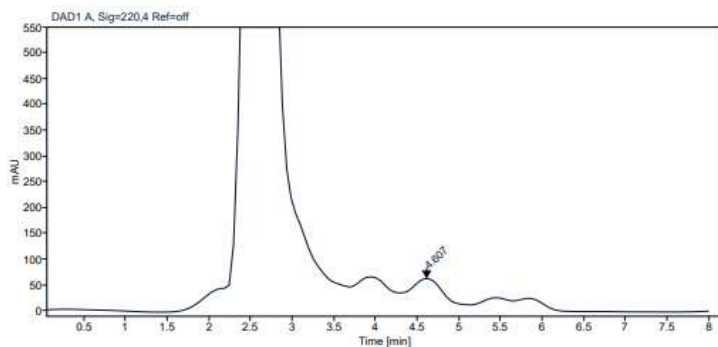


Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.610	0.3361	927.5558	45.0775	100.0000
Sum		927.5558		

3. PYB23

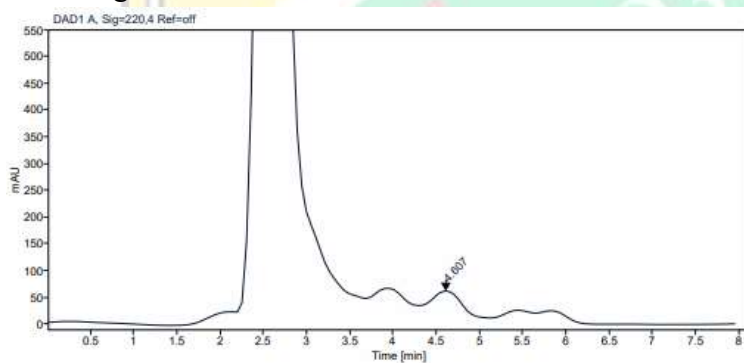
a. Ulangan 1



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.607	0.3285	735.1669	36.8908	100.0000
Sum		735.1669		

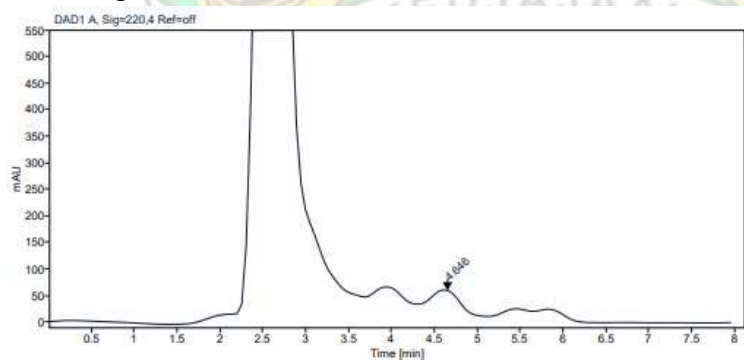
b. Ulangan 2



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.607	0.3317	746.5881	36.9531	100.0000
Sum		746.5881		

c. Ulangan 3

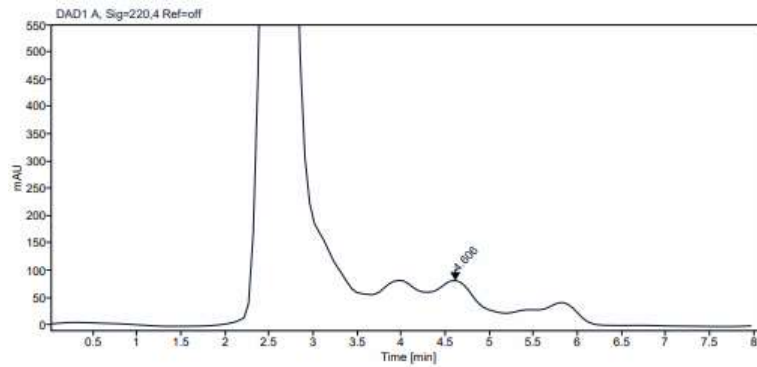


Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.646	0.3383	748.9122	36.8942	100.0000
Sum		748.9122		

4. PYB 11

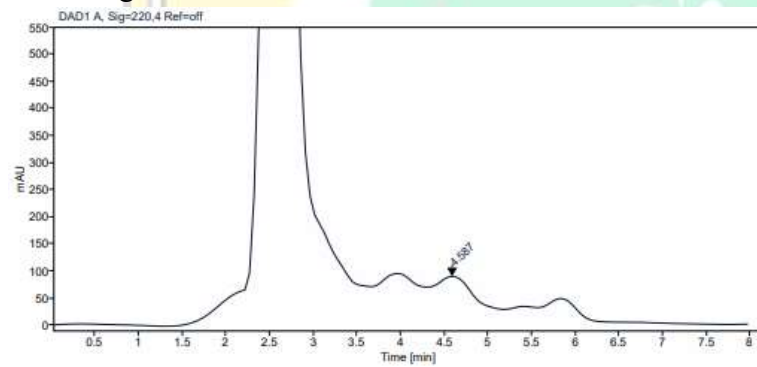
e. Ulangan 1



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.606	0.3408	730.1082	35.7088	100.0000
Sum		730.1082		

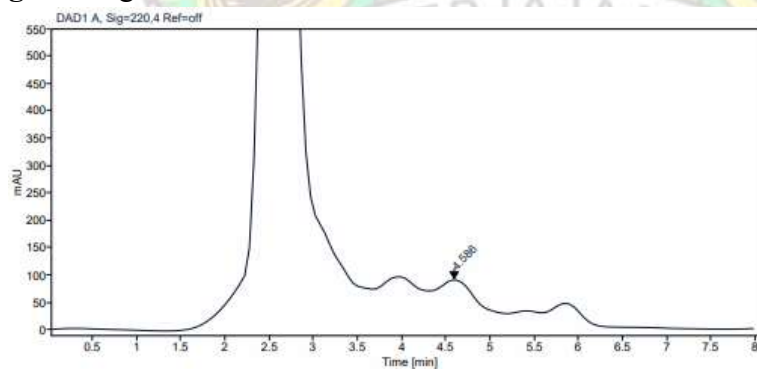
f. Ulangan 2



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.587	0.3416	729.9774	34.6752	100.0000
Sum		729.9774		

g. Ulangan 3



Signal: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=off

RT [min]	Width [min]	Area	Height	Area%
4.586	0.3407	727.5848	34.6944	100.0000
Sum		727.5848		

Lampiran 4. Sidik Ragam

A. Indeks Lipopitik

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	3	0.07604	0.02535	1.00	0.4795
Error	4	0.10154	0.02539		
Total	7	0.17758			

CV = 11.43

B. Indeks Proteolitik

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	3	0.07216	0.02405	2.22	0.000
Error	8	0.08670	0.01084		
Total	11	0.15886			

CV 4.68

C. Uji kuantitatif enzim kitinase

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	2.59276	0.64819	2.71	0.000
Error	3	0.71772	0.23924		
Total	7	3.31048			

CV = 17.42

D. Uji kuantitatif enzim protease

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.00298	7.458E-04	1.19	0.4627
Error	3	0.00189	6.288E-04		
Total	7	0.00487			

CV = 2.44

E. Uji kuantitatif enzim lipase

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.05000	0.01250	0.26	0.8878
Error	3	0.14500	0.04833		
Total	7	0.19500			

CV = 20.45

F. Kadar toksin *Beauveria bassiana*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	3	2611.34	870.445	1239	0.0000
Error	8	5.62	0.702		
Total	11	2616.96			

CV = 0.81%

G. Daya Predasi larva *Verania lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	1246.720	311.680	5.495	0.001
MetodeAplikasi	1	8.000	8.000	0.141	0.709
Isolat *	4	60.800	15.200	0.268	0.897
MetodeAplikasi					
Error	40	2268.800	56.720		
Total	50	351696.000			

CV = 9,03

H. Mortalitas Larva *V. lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.10268	0.02567	14.15	0.0000
MetodeAplikasi	1	0.01626	0.01626	8.96	0.0047
Isolat *	4	0.00345	0.00086	0.47	0.7539
MetodeAplikasi					
Error	40	0.07258	0.00181		
Total	50	0.19496			

CV = 8,96%

I. Ukuran tubuh larva

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0,58568	0,14642	29,39	0,0000
MetodeAplikasi	1	0,08935	0,08935	17,94	0.0001
Isolat *	4	0,28155	0,07039	14,13	0,0000
MetodeAplikasi					
Error	40	0,19926	0,00498		
Total	50	1,15584			

CV = 8,79

J. Berat tubuh larva *V. lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	1.867E-05	4.666E-06	19.80	0.0000
MetodeAplikasi	1	2.067E-06	2.067E-06	8.77	0.0051
Isolat *	4	2.189E-06	5.472E-07	2.32	0.0732
MetodeAplikasi					
Error	40	9.427E-06	2.357E-07		
Total	50	3.235E-05			

CV = 8.98

K. Pupa terbentuk

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	8300	2075	13.301	0.0000
MetodeAplikasi	1	1058	1058	6.782	0.0129
Isolat *	4	2052	513	3.288	0.0202
MetodeAplikasi					
Error	40	6240	156		
Total	50	17650.0			

CV = 19,22%

L. Imago terbentuk

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	8300	2075	13.301	0.0000
MetodeAplikasi	1	1058	1058	6.782	0.0002
Isolat *	4	2052	513	3.288	0.0341
MetodeAplikasi					
Error	40	6240	156		
Total	50	228900			

CV = 22.84

M. Mortalitas WBC pada perlakuan larva *V. lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.050	0.013	13,769	0.001*
MetodeAplikasi	1	0.001	0.001	1,307	0.260
Isolat *	4	0.001	0.000	0.246	0.910
MetodeAplikasi					
Error	40	0.036	0.001		
Total	50	9,553			

CV =7,26%

N. Mortalitas imago *V. lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.062	0.015	4.469	0.004*
MetodeAplikasi	1	0.002	0.002	0.556	0.460
Isolat *	4	0.003	0.001	0.182	0.946
MetodeAplikasi					
Error	40	0.138	0.003		
Total	50	175.542			

CV = 7,87%

O. Daya predasi imago *Verania lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.012	0.003	0.285	0.886
MetodeAplikasi	1	0.004	0.004	0.345	0.560
Isolat *	4	0.015	0.004	0.345	0.846
MetodeAplikasi					
Error	40	0.422	0.011		
Total	50	175.542			

CV = 7,6 %

P. Berat tubuh imago *V. lineata*

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	12.6942	3.17354	1.73	0.1619
MetodeAplikasi	1	0.1383	0.13834	0.08	0.7849
Isolat *	4	5.9086	1.47714	0.81	0.5285
MetodeAplikasi					
Error	40	73.2807	1.83202		
Total	50	92.0218			

CV = 13.49

Q. Ukuran tubuh Imago

Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0,10019	0,02505	1,06	0,3868
MetodeAplikasi	1	0,12802	0,12802	5,44	0.0248
Isolat *	4	0,19078	0,04770	2,33	0,1091
MetodeAplikasi					
Error	40	0,94138	0,02353		
Total	50	1,36037			

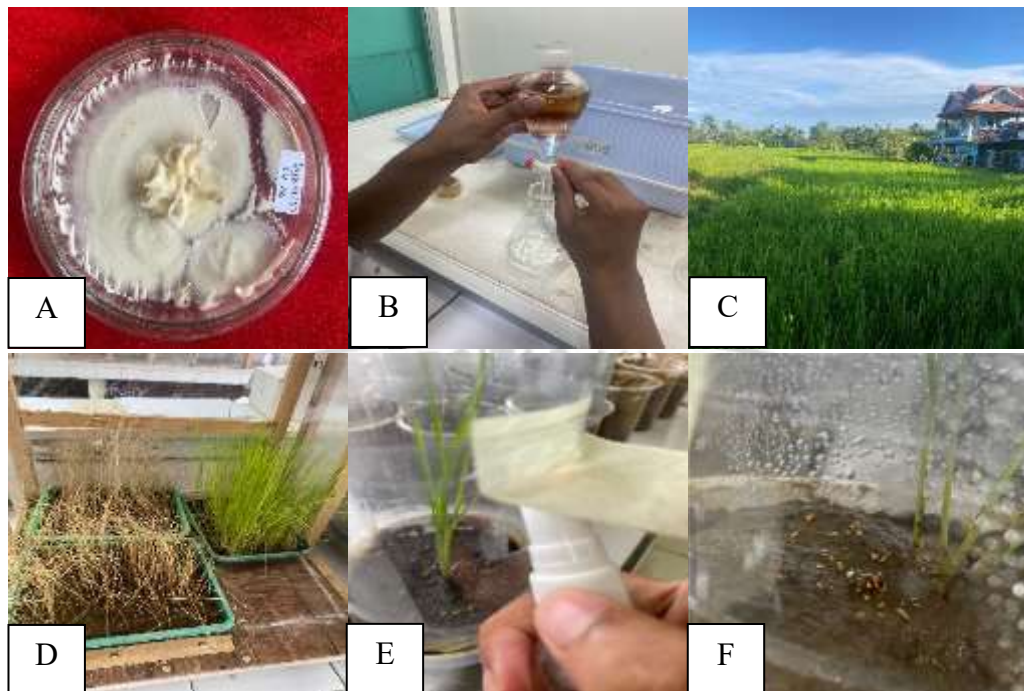
CV = 10,64%

R. Mortalitas WBC pada perlakuan Imago *V. lineata*

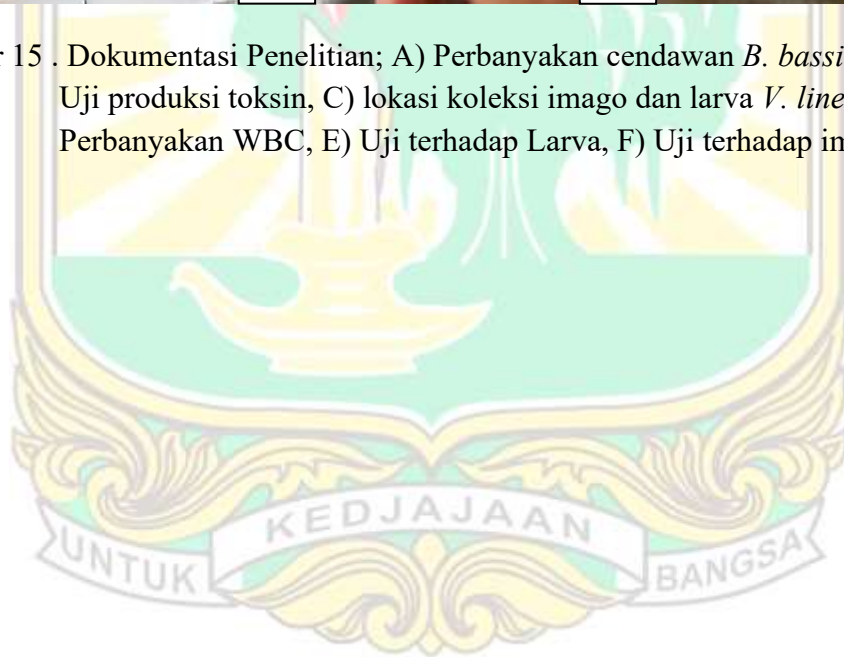
Source	DF	SS	MS	F	P
Isolat	4	0.044	0.011	8,981	0.001*
MetodeAplikasi	1	0.003	0.003	2,437	0.126
Isolat *	4	0.002	0.000	0.407	0.803
MetodeAplikasi					
Error	40	0.049	0.001		
Total	50	9,151			

CV = 15,33%

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Gambar 15 . Dokumentasi Penelitian; A) Perbanyakan cendawan *B. bassiana*, B) Uji produksi toksin, C) lokasi koleksi imago dan larva *V. lineata* , D) Perbanyakan WBC, E) Uji terhadap Larva, F) Uji terhadap imago.



Lampiran 6. Hasil pengujian enzim ekstrak seluler dan RAPD pada jasa uji

a. Uji kuantitatif enzim ekstrak seluler



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
 LEMBAGA RISET INTERNASIONAL TEKNOLOGI MAJU

Pusat Bioteknologi (Biotech Center)
 Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680
 Telepon - (0251) 8405666
 Email - biotech@apps.ipb.ac.id
 Website - biotech.ipb.ac.id

Nomor : 304/IT3.L1.3/KP/2025

Kepada : Nanda Saputra

Berkaitan dengan/regarding to

Tanggal Surat / Permohonan Analisis Date of Letter/Analysis Request	: 15/04/2025	Nomor permohonan Request Number	: 00562025
		Tanggal Penerbitan Date of issued	: 23/05/2025

Dengan hormat kami sampaikan hasil pengujian.
 We kindly inform the test result

Sampel/Sample(s) : Cendawan

Untuk pengujian/For analysing : Terlampir

Keterangan Sampel/Description of
sample(s) : Padat

Tanggal penerimaan contoh/Date of
sample receipt : 15/04/2025

Tanggal pelaksanaan analisis/Date of
analysis : 28/04/2025

Sekretaris Pusat,

Prof. Dr. Dra. Anja Maryandini M.S.
 NIP. 196203271987032001



b. Uji RAPD

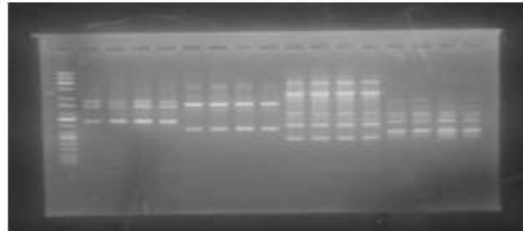


KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
 LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

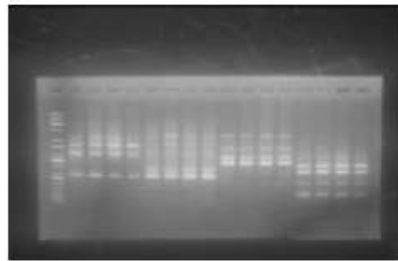
Pusat Bioteknologi (Biotech Center)
 Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680
 Telepon (0251) 8621724
 Faksimile (0251) 8621724
 biotech@apps.ipb.ac.id | ppshb.ipb.ac.id

FUNGSI

1. (OPA 1,8,9,15),



2. OPA 3,4,10,11





11% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database

Top Sources

- 7% Internet sources
- 4% Publications
- 0% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

Our system's algorithms look deeply at a document for any occurrences that would set it apart from a natural submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you take your attention there for further review.

