



Pengaruh penambahan kitosan pada media tumbuh *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill terhadap pertumbuhan, perkembangan, dan virulensinya pada walang sangit (*Leptocoris acuta* F.)

The effect of chitosan addition on growth, development, and virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill in stink bug (*Leptocoris acuta* F.)

Muhammad Ainol Yaqin*, Nanang Tri Haryadi

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jalan Kalimantan No. 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121, Indonesia

(diterima Juli 2020, disetujui September 2022)

ABSTRAK

Perbanyak cendawan *Beauveria bassiana* yang dilakukan beberapa kali pada media alami akan menyebabkan penurunan virulensi. Solusi untuk mengatasi penurunan pertumbuhan *B. bassiana* untuk mempertahankan virulensi cendawan *B. bassiana*, yaitu dengan penambahan kitosan pada media tumbuh dengan konsentrasi yang tepat. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh penambahan kitosan pada beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan, perkembangan, dan virulensi *B. bassiana*. Penelitian ini disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan, yaitu P0 (kontrol), P1 (kitosan 1 mg/ml), P2 (kitosan 2 mg/ml), P3 (kitosan 3 mg/ml), P4 (kitosan 4 mg/ml), dan P5 (kitosan 5 mg/ml). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan cendawan *B. bassiana*. Diameter koloni tertinggi terjadi pada perlakuan P1, yaitu 8,34 cm dan viabilitas konidia tertinggi juga terjadi pada perlakuan P1, yaitu 85,26%. Pengaruh penambahan kitosan pada perlakuan P1 menunjukkan virulensi tertinggi pada *Leptocoris acuta* L. dengan mortalitas imago sebesar 90% selama 10 hari setelah inokulasi (HSI) dan mortalitas pada stadia nimfa sebesar 95% selama 7 HSI. Pengamatan mikosis tertinggi terjadi pada P1 dengan persentase mikosis imago 66,81% dengan lama waktu 2,37 hari dan persentase mikosis nimfa 73,61% dengan lama waktu 2,25 hari. Pengamatan mumifikasi tertinggi terjadi pada P1 dengan persentase mikosis imago 62,02% dengan lama waktu 4,05 hari dan persentase mikosis nimfa 67,56% dengan lama waktu 3,99 hari. Penambahan kitosan sebesar 1 mg/ml pada media pertumbuhan jamur berpengaruh baik terhadap pertumbuhan dan virulensi *B. bassiana*.

Kata kunci: *Beauveria bassiana*, cendawan, hama tanaman, *Leptocoris acuta*, pengendalian hayati

ABSTRACT

Continuous propagation of the fungus *Beauveria bassiana* on artificial media will cause a decrease in its virulence. The solution offered as an alternative to maintain the virulence of the *B. bassiana* fungus is the addition of chitosan to the growing medium with the right concentration. This study aims to determine the effect of the addition of chitosan at several concentrations on growth, development and virulence of *B. bassiana*. This research was designed using a completely randomized design with 6 treatments and 4 replications. The treatments used are P0 (control), P1 (chitosan 1 mg/ml), P2 (chitosan 2 mg/ml), P3 (chitosan 3 mg/ml), P4 (chitosan 4 mg/ml), and

*Penulis korespondensi: Nanang Tri Haryadi. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jalan Kalimantan No. 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121, Indonesia, Tel: 0331-330224, Faks: 0331-339029, Email: haryadi.nt@unej.ac.id
194 This is an open access article under the CC BY 4.0 License
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

P5 (chitosan 5 mg/ml). The results showed that chitosan affected the growth and development of *B. bassiana* fungi, as seen in parameters of colony diameter and conidia viability. The highest colony diameter occurred in the P1 treatment that was 8.34 cm and the highest conidia viability also occurred in the P1 treatment which was 85.26%. The effect of chitosan on *B. bassiana* virulence can be seen in the parameters of mortality, mycosis, and mummification. The addition of a chitosan concentration of 1 mg/ml in the fungal growth medium has a good effect on the growth and virulence of *B. bassiana*.

Key words: *Beauveria bassiana*, biological control, fungus, *Leptocorisa acuta*, crop pest

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa L.*) merupakan komoditas pertanian terpenting sebagai sumber pangan bagi sebagian besar penduduk Indonesia. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan rata-rata konsumsi beras selama periode 2002–2018 tercatat sebanyak 101,65 kg/kapita/tahun (Pusdatin Pertanian 2019). Salah satu faktor pembatas dalam upaya pengembangan komoditas padi, yaitu serangan hama dan penyakit. Walang sangit (*Leptocorisa acuta* F.) merupakan salah satu hama utama yang menyerang tanaman padi (Winarsi et al. 2018). Tingkat serangan hama walang sangit dapat menurunkan hasil produksi 10–40%. Serangan berat akibat populasi yang tinggi dapat menurunkan hasil produksi sampai 100% (BBPADI 2015).

Salah satu teknologi yang efektif dalam menekan populasi walang sangit, yaitu penggunaan cendawan entomopatogen. Cendawan *B. bassiana* memiliki kisaran inang yang luas, namun tingkat virulensinya mudah menurun. Menurut Mohammadbeigi (2013), virulensi cendawan *B. bassiana* yang diukur dengan mortalitas serangga menurun sebesar 13% yang diukur pada isolat yang disubkultur sebanyak empat kali pada media PDA. Triasih et al. (2019) menjelaskan bahwa viabilitas konidia dapat mengalami penurunan apabila selalu dibiakkan pada media buatan yang kandungan nutrisinya sangat berbeda dengan serangga inangnya. Kondisi ini menyebabkan daya bunuh *B. bassiana* cenderung lambat sehingga diperlukan alternatif untuk mempercepat infeksi pada serangga inang (Purnama et al. 2015).

Media tumbuh dapat mempengaruhi tingkat virulensi cendawan *B. bassiana*. Penambahan kitosan pada media tumbuh cendawan *B. bassiana* dengan konsentrasi 2 mg/ml menunjukkan pertumbuhan cendawan tertinggi (Guerrero et al. 2007). Senyawa kitosan yang merupakan senyawa

turunan dari kitin, dilaporkan dapat meningkatkan aktivitas kitinolitik cendawan pada media yang ditambah kitosan. Adanya kitosan pada media tumbuh cendawan akan menginduksi produksi enzim kitinase (Guerrero et al. 2010a).

Hasil penelitian Castillo et al. (2015), menunjukkan bahwa *B. bassiana* dapat tumbuh dengan perkembangan miselium dan sporulasi yang baik pada medium yang ditambah kitosan. Akan tetapi, terjadi penghambatan pertumbuhan konidia pada konsentrasi yang terlalu tinggi. Kondisi tersebut mendorong dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait penambahan kitosan pada media tumbuh cendawan *B. bassiana* dan pengaruhnya terhadap virulensi cendawan pada walang sangit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kitosan pada media tumbuh terhadap pertumbuhan, perkembangan, dan virulensi *B. bassiana* serta mengetahui konsentrasi kitosan yang tepat untuk ditambahkan pada media tumbuh.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari bulan September 2019 hingga Januari 2020, bertempat di Laboratorium Agroteknologi dan Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit Tanaman Pangan dan Hortikultura (PHPTPH) Tanggul Jember.

Rancangan percobaan

Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial. Penelitian dilakukan dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan sehingga didapatkan 24 unit percobaan. Adapun perlakuan yang digunakan, yaitu P0 (kontrol), P1 (kitosan 1 mg/ml), P2 (kitosan 2 mg/ml), P3 (kitosan 3 mg/ml), P4 (kitosan 4 mg/ml), dan P5 (kitosan 5 mg/ml).

Pembuatan stok larutan kitosan

Kitosan yang digunakan pada penelitian ini berasal dari kulit udang. Stok kitosan dengan konsentrasi 10 mg/ml dibuat dengan cara melarutkan 2 g kitosan dalam 200 ml asam asetat 1% dan diaduk dalam suhu 40 °C selama 60 menit (Ihsani & Widayastuti 2015).

Uji pengaruh kitosan terhadap pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana*

Persiapan dan penambahan kitosan pada media potato dextrose agar (PDA). Penambahan kitosan pada media PDA disesuaikan dengan konsentrasi masing-masing perlakuan, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/ml. Penggunaan konsentrasi tersebut didasarkan pada penelitian Castillo et al. (2015), yang menambahkan kitosan berbahan baku udang pada media PDA sebanyak 1 mg/ml dan 5 mg/ml. Setelah media PDA tercampur dengan larutan kitosan, dilakukan pengukuran pH hingga 6–7, kemudian media disterilisasi dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121 °C. Perlakuan kontrol hanya menggunakan media PDA tanpa kitosan. Setelah disterilisasi, media tumbuh dituangkan ke dalam cawan petri berukuran 9 cm masing-masing sebanyak 10 ml (Rohman et al. 2017).

Inokulasi cendawan *B. bassiana* pada media tumbuh. Isolat cendawan *B. bassiana* diperoleh dari koleksi Laboratorium PHP-TPH Tanggul, Jember. Isolat cendawan *B. bassiana* sebanyak 2 tabung dipanen kemudian ditambahkan 10 ml akuades. Hasil panen isolat diencerkan 10⁻³ sehingga konsentrasi suspensi menjadi 10⁸ per ml. Suspensi diambil sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet dan diinokulasikan di bagian tengah permukaan media PDA pada *petridish* yang dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF). Biakan cendawan disimpan dalam suhu ruang (27 °C).

Variabel pengamatan diameter koloni. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur pertambahan jari-jari koloni cendawan setiap 24 jam. Pengamatan dilakukan selama 14 hari atau sampai kontrol memenuhi cawan petri. Pengukuran diameter dengan membuat garis vertikal dan horizontal yang titik potong kedua garisnya tepat di tengah koloni cendawan. Cara pengukuran diameter koloni cendawan pada

cawan petri berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$D = \frac{d_1 + d_2}{2}, \text{ dengan}$$

D: diameter koloni cendawan entomopatogen (cm); d₁: diameter horizontal koloni cendawan entomopatogen (cm); d₂: diameter vertikal koloni cendawan entomopatogen (cm).

Pengamatan viabilitas konidia. Media PDA berbentuk lempengan seluas 4 cm² diletakkan pada *object glass*. Pada media PDA diinokulasikan cendawan *B. bassiana* dengan konsentrasi 10⁸ per ml sebanyak 0,1, kemudian media PDA hasil inokulasi ditutup dengan menggunakan *cover glass* kemudian preparat uji ditutup dengan lakban hitam. Preparat uji diinkubasi selama 48 jam di dalam *petridish* yang dilapisi tisu basah. Setelah diinkubasi, balutan solasi pada preparat uji dilepas dan diamati di bawah mikroskop cahaya merk LW Scientific untuk melakukan uji viabilitas, yaitu mengamati jumlah konidia yang berkecambah dan tidak berkecambah pada 5 kontak pandang. Hasil pengamatan dimasukkan dalam rumus berdasarkan standar nasional Indonesia (SNI) 8027.1:2014 tentang agens pengendali hayati sebagai berikut:

$$V = \frac{G}{U} \times 100\%, \text{ dengan}$$

V: viabilitas konidia (%); G: jumlah konidia yang berkecambah; dan U: jumlah konidia yang tidak berkecambah.

Uji pengaruh kitosan terhadap virulensi *B. bassiana*

Penyediaan walang sangit. Nimfa atau imago walang sangit dikumpulkan dari pertanaman padi dan dipelihara dalam kotak serangga dengan ukuran (30 cm × 30 cm × 100 cm). Serangga uji yang digunakan dalam penelitian, yaitu generasi kedua setelah diperbanyak di laboratorium. Nimfa yang digunakan pada pengujian, yaitu nimfa instar 3. *L. acuta* dipelihara dengan memberikan pakan dan tempat peneluran berupa tanaman padi fase vegetatif pada kotak perbanyakan. Setiap hari pakan diganti dengan pakan baru dan segar (Effendy et al. 2010).

Pembuatan suspensi *B. bassiana*. Pembuatan suspensi *B. bassiana* dilakukan dengan mengambil

biakan *B. bassiana* pada masing-masing perlakuan. Kemudian dituangkan akuades sebanyak 10 ml dan menambahkan 0,1% Tween 80. Selanjutnya, dihomogenkan menggunakan spatula (Risal 2017).

Aplikasi *B. bassiana* pada walang sangit.

Uji dilakukan dengan mencelupkan nimfa dan imago walang sangit selama 2 detik pada suspensi *B. bassiana* yang sudah diketahui volume dan kerapatan konidianya. Kerapatan konidia yang digunakan, yaitu $3,5 \times 10^8$ konidia/ml. Setiap isolat diinokulasi pada 10 nimfa dan 10 imago walang sangit dan masing-masing diulang sebanyak empat kali sehingga total 40 serangga. Nimfa dan imago walang sangit yang telah diaplikasikan dengan isolat selanjutnya dipelihara di dalam botol plastik. Botol plastik tersebut diisi dengan setengah bulir padi matang susu.

Variabel pengamatan

Mortalitas walang sangit dan waktu kematian. Pengamatan waktu kematian dilakukan dengan mengamati pada hari ke berapa imago mati setelah aplikasi cendawan entomopatogen. Pengamatan mortalitas dilakukan dengan menghitung jumlah hama yang mati akibat *B. bassiana* menggunakan rumus (Balse 1985):

$$M = \frac{a}{a + b} \times 100\%, \text{ dengan}$$

M: mortalitas; *a*: jumlah larva yang mati; *b*: jumlah larva yang hidup.

Pengamatan mikosis dan mumifikasi.

Pengamatan mikosis dilakukan dengan cara menghitung waktu yang dibutuhkan serta mengamati kemunculan konidia cendawan *B. bassiana* dalam menginfeksi serangga uji walang sangit, yang diamati ketika serangga mati hingga tumbuh miselia cendawan. Pengamatan mumifikasi dilakukan dengan cara mengamati waktu (hari) yang dibutuhkan *B. bassiana* mulai mikosis hingga miselia cendawan dapat menutupi seluruh permukaan tubuh walang sangit (Zhakaria 2016).

Analisis data

Data hasil pengamatan diolah menggunakan analisis ragamANOVA untuk mengetahui pengaruh perlakuan, kemudian dilanjut dengan uji *Duncan*

multiple range test (DMRT) taraf kepercayaan 95% dengan *software* SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versi 21.0.

HASIL

Pengaruh kitosan terhadap pertumbuhan dan perkembangan *B. bassiana*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan diameter koloni *B. bassiana* setiap hari (Tabel 1). Perlakuan penambahan kitosan dengan konsentrasi 1 mg/ml menunjukkan diameter pertumbuhan koloni tertinggi, yaitu 8,34 cm pada pengamatan 14 hari setelah inokulasi (HSI). Hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan kontrol secara statistik, sedangkan diameter pertumbuhan koloni terendah ditunjukkan oleh perlakuan P5 dengan penambahan kitosan 5 mg/ml, yaitu 6,77 cm.

Penambahan kitosan berpengaruh nyata pada parameter viabilitas konidia. Rata-rata viabilitas konidia *B. bassiana* menunjukkan bahwa perlakuan P1 memiliki viabilitas yang tinggi hingga mencapai 85,26%, sedangkan viabilitas terendah terjadi pada perlakuan P5 sebesar 70,78% (Tabel 2).

Pengaruh kitosan terhadap virulensi *B. bassiana*

Waktu kematian imago *L. acuta* terjadi pada 5 HSI pada beberapa perlakuan. Mortalitas kumulatif tertinggi pada hari ke 10 setelah inokulasi terjadi pada perlakuan P1 mencapai 90% dan terendah terjadi pada perlakuan P5 mencapai 70% (Tabel 3).

Pengujian menggunakan nimfa menunjukkan waktu kematian mulai terjadi pada 3 HSI. Perlakuan P1 dengan mortalitas kumulatif tertinggi pada hari ke-7 setelah inokulasi mencapai 95% dan perlakuan P5 menunjukkan mortalitas kumulatif terendah mencapai 72,5% (Tabel 4).

Penambahan kitosan tidak berbeda nyata terhadap persentase mikosis imago maupun nimfa. Pengujian pada imago menyebabkan persentase mikosis tertinggi pada perlakuan P1 sebesar 66,81% (Tabel 5). Sama halnya pada pengujian menggunakan nimfa, persentase mikosis tertinggi juga terjadi pada perlakuan P1, yaitu 73,61%. Lama waktu mikosis imago menunjukkan perlakuan P1 menyebabkan mikosis tercepat, yaitu 2,37 hari dan perlakuan P4 menyebabkan mikosis terlama, yaitu 3,01 hari. Pengujian menggunakan nimfa,

Tabel 1. Diameter koloni *Beauveria bassiana* pada pengamatan 1–14 hari setelah inokulasi (HSI)**Table 1.** Colony diameter of *Beauveria bassiana* on observation 1–14 days after inoculation (DAI)

Perlakuan (Treatment)	Rata-rata diameter koloni <i>B. bassiana</i> (cm) (Average diameter of <i>B. bassiana</i> colonies (cm))		
	1 HSI (DAI)	7 HIS (DAI)	14 HSI (DAI)
Kontrol (Control)	0,79 ± 0,02 ab	4,57 ± 0,19 cd	7,10 ± 0,16d
Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	0,99 ± 0,15 a	5,02 ± 0,22 a	8,34 ± 0,09a
Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	0,87 ± 0,44 ab	4,63 ± 0,22 b	7,81 ± 0,12b
Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	0,66 ± 0,07 abc	4,6 ± 0,16 bc	7,52 ± 0,11c
Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	0,52 ± 0,13 bc	4,25 ± 0,19 d	7,04 ± 0,16d
Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	0,12 ± 0,06 c	3,75 ± 0,11 d	6,77 ± 0,18e
Signifikan (p-value)	0,000	0,000	0,000

HSI: hari setelah inokulasi; Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan multiple range test (DMRT) 5%. (DAI: days after inoculation; Numbers followed by the same letter in the same column show no significant difference in the Duncan multiple range test (DMRT) 5%).

Tabel 2. Viabilitas konidia *Beauveria bassiana* pada pengamatan 48 jam**Table 2.** Viability of conidia *Beauveria bassiana* at 48 hours observation

Perlakuan (Treatment)	Rata-rata viabilitas konidia (Average viability of conidia) (%)	
	1	2
Kontrol (Control)	72,89 ± 2,23b	
Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	85,26 ± 1,47 a	
Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	80,45 ± 1,82 ab	
Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	78,18 ± 5,92 ab	
Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	72,44 ± 4,75 b	
Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	70,78 ± 10,69 b	
Signifikan (p-value)	0,03	

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan multiple range test (DMRT) 5%. (Numbers followed by the same letter in the same column show no significant difference in the Duncan multiple range test (DMRT) 5%).

Tabel 3. Waktu kematian imago *Leptocoris acuta***Table 3.** Time of mortality of imago *Leptocoris acuta*

Perlakuan (Treatment)	Waktu kematian hari ke- (Day of mortality)					
	5	6	7	8	9	10
P0: Kontrol (Control)	10,0 ± 0,00 bc	25,0 ± 5 bc	45,0 ± 5 cd	57,5 ± 10,9 b	70,0 ± 7,07 cd	80,0 ± 7,07 bc
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	17,5 ± 4,33 a	32,5 ± 4,33 a	57,5 ± 8,29 a	70,0 ± 7,07 a	80,0 ± 7,07 a	90,0 ± 7,07 a
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	15 ± 5 ab	30,0 ± 7,07 ab	52,5 ± 4,33 ab	67,5 ± 8,29 a	77,5 ± 8,29 ab	85,0 ± 5 b
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	12,5 ± 4,33 ab	27,5 ± 4,33 abc	50,0 ± 7,07 bc	65,0 ± 8,66 a	72,5 ± 4,33 bc	82,5 ± 4,33 b
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	7,5 ± 4,33 cd	27,5 ± 10,89 abc	42,5 ± 8,29 d	55,0 ± 5 b	65,0 ± 5 de	75,0 ± 5 cd
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	5,0 ± 5 d	22,5 ± 8,29 c	40,0 ± 7,07 d	50,0 ± 7,07 b	60,0 ± 7,07 e	70,0 ± 7,07 d
Signifikan (p-value)	0,0294	0,611	0,0498	0,0488	0,0187	0,021

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan multiple range test (DMRT) 5%. (Numbers followed by the same letter in the same column show no significant difference in the Duncan multiple range test (DMRT) 5%).

mikosis tercepat terjadi pada perlakuan P1, yaitu 2,25 hari dan terlama pada perlakuan P5, yaitu 2,74 hari (Tabel 6). Hal tersebut berkaitan dengan kemampuan cendawan *B. bassiana*, semakin baik pertumbuhan dan perkembangannya maka akan meningkatkan virulensi cendawan dalam menginfeksi dan berkembang di tubuh serangga.

Percentase mumifikasi pada imago (Gambar 1) menunjukkan angka tertinggi terjadi pada perlakuan P1 mencapai 62,02%, sedangkan persentase mumifikasi terendah terjadi pada perlakuan P5 mencapai 51,67% persen. Pengujian pada nimfa menunjukkan persentase mumifikasi tertinggi terjadi pada perlakuan P1 mencapai

Tabel 4. Waktu kematian nimfa *Leptocoris acuta***Table 4.** Time of mortality of nymph *Leptocoris acuta*

Perlakuan (Treatment)	Waktu kematian hari ke- (Day of mortality)				
	3	4	5	6	7
P0: Kontrol (Control)	17,5 ± 4,33 bc	40,0 ± 7,07 b	57,5 ± 4,33 cd	72,5 ± 4,33 b	82,5 ± 4,33 bc
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	22,5 ± 4,33 a	47,5 ± 4,33 a	65,0 ± 5 a	85,0 ± 5 a	95,0 ± 5 a
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	20,0 ± 0,00 ab	40,0 ± 7,07 b	60,0 ± 0 bc	75,0 ± 5 b	85,0 ± 5 b
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	17,5 ± 4,33 bc	40,0 ± 0 b	62,5 ± 4,33 ab	72,5 ± 4,33 b	82,5 ± 4,33 bc
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	15,0 ± 5 cd	35,0 ± 5 c	55,0 ± 5 d	67,5 ± 4,33 c	77,5 ± 4,33 cd
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	12,5 ± 4,33 d	27,5 ± 4,33 d	50,0 ± 7,07 e	62,5 ± 4,33 d	72,5 ± 4,33 d
Signifikan (p-value)	0,097	0,0052	0,0157	0,0003	0,0006

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan *multiple range test* (DMRT) 5%. (*Numbers followed by the same letter in the same column show no significant difference in the Duncan multiple range test (DMRT) 5%*).

Tabel 5. Persentase mikosis imago dan nimfa *Leptocoris acuta***Table 5.** Percentage of mycosis imago and nymph *Leptocoris acuta*

Perlakuan (Treatment)	Mikosis (Mycosis) %	
	Imago (Imago)	Nimfa (Nymph)
P0: Kontrol (Control)	62,20 ± 3,38	63,54 ± 1,80
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	66,81 ± 7,14	73,61 ± 5,46
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	64,58 ± 2,08	68,40 ± 5,67
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	60,42 ± 6,25	64,93 ± 7,04
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	59,37 ± 17,01	61,16 ± 9,14
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	56,69 ± 4,44	58,93 ± 7,78
Signifikan (p-value)	0,72	0,34

Tabel 6. Lama waktu mikosis imago dan nimfa *Leptocoris acuta***Table 6.** Duration of mycosis in adult and nymphs of *Leptocoris acuta*

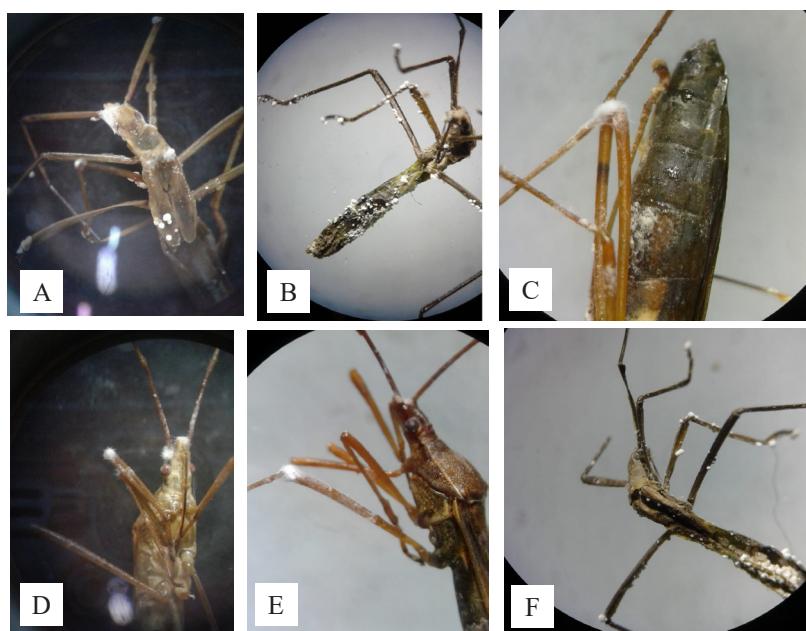
Perlakuan (Treatment)	Lama waktu mikosis (hari) (Mycoses duration (days))	
	Imago (Imago)	Nimfa (Nymph)
P0: Kontrol (Control)	2,67 ± 0,16	2,50 ± 0,36
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	2,37 ± 0,23	2,25 ± 0,11
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	2,46 ± 0,09	2,46 ± 0,17
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	2,74 ± 0,18	2,62 ± 0,23
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	3,01 ± 0,16	2,70 ± 0,21
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	2,78 ± 0,23	2,74 ± 0,45
Signifikan (p-value)	0,50	0,32

67,56% dan terendah pada perlakuan P5, yaitu mencapai 53,08% (Tabel 7). Mumifikasi pada imago menunjukkan waktu tercepat pada perlakuan P1, yaitu 4,05 hari dan terlama pada perlakuan P5, yaitu 4,75 hari. Pada pengujian nimfa menunjukkan waktu mumifikasi tercepat pada perlakuan P1, yaitu 3,99 hari dan terlama pada perlakuan P5, yaitu 4,58 hari (Tabel 8).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, kitosan mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, dan virulensi *B. bassiana*. Menurut Llorca (2017), cendawan *B. bassiana* tahan terhadap kitosan sehingga cendawan mampu tumbuh baik

pada media tumbuh yang ditambah kitosan. Hal tersebut berkaitan dengan fluiditas membran *B. bassiana* lebih rendah dibandingkan dengan fluiditas cendawan patogen tanaman. Cendawan *B. bassiana* tidak mudah meloloskan kitosan untuk masuk dalam selnya, sedangkan cendawan patogen tanaman sangat mudah meloloskan kitosan. Hal tersebut menunjukkan alasan pertumbuhan yang baik *B. bassiana* pada media yang ditambah kitosan. Selain itu, cendawan *B. bassiana* mampu mendegradasi kitosan menjadi nutrisi yang baik untuk pertumbuhan maupun perkembangan cendawan. Lebih lanjut menurut Guerrro et al. (2010a), kitosan hanya berada di bagian luar membran cendawan *B. bassiana*. Sementara, pada cendawan patogen tanaman, kitosan terlihat masuk memenuhi seluruh sel pada cendawan.



Gambar 1. A: mikosis P0; B: mikosis P1; C: mikosis P2; D: mikosis P3; E: mikosis P4; F: mikosis P5.
Figure 1. A: mycosis P0; B: mycosis P1; C: mycosis P2; D: mycosis P3; E: mycosis P4; F: mycosis P5.

Tabel 7. Persentase mumifikasi imago dan nimfa *Leptocoris acuta*

Table 7. Percentage of mummified imago and nymph *Leptocoris acuta*

Perlakuan (Treatment)	% Mumifikasi (% Mummification)	
	Imago (Imago)	Nimfa (Nymph)
P0: Kontrol (Control)	56,25 ± 12,93	61,67 ± 12,93
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	62,02 ± 8,04	67,56 ± 8,81
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	59,17 ± 5,95	64,05 ± 15,52
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	57,08 ± 15,02	63,33 ± 2,88
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	52,38 ± 8,74	54,58 ± 19,09
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	51,67 ± 9,57	53,08 ± 14,87
Signifikan (p-value)	0,82	0,83

Tabel 8. Lama waktu mumifikasi imago dan nimfa *Leptocoris acuta***Table 8.** Duration of mummification imago and nymphs *Leptocoris acuta*

Perlakuan (Treatment)	Lama waktu mumifikasi (hari) (Mummification duration (days))	
	Imago (Imago)	Nimfa (Nymph)
P0: Kontrol (Control)	4,62 ± 0,25 ab	4,21 ± 0,28
P1: Kitosan (Chitosan) 1 mg/ml	4,05 ± 0,28 c	3,99 ± 0,22
P2: Kitosan (Chitosan) 2 mg/ml	4,17 ± 0,37 bc	4,02 ± 0,21
P3: Kitosan (Chitosan) 3 mg/ml	4,58 ± 0,28 ab	4,06 ± 0,26
P4: Kitosan (Chitosan) 4 mg/ml	4,67 ± 0,20 ab	4,17 ± 0,35
P5: Kitosan (Chitosan) 5 mg/ml	4,75 ± 0,25 a	4,58 ± 0,20
Signifikan (<i>p</i> -value)	0,03	0,59

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan *multiple range test* (DMRT) 5%. (*Numbers followed by the same letter in the same column show no significant difference in the Duncan multiple range test (DMRT) 5%*).

Prayogo et al. (2017), menunjukkan bahwa penambahan kitin meningkatkan viabilitas konidia *B. bassiana* sebesar 10%. Akan tetapi, semakin tinggi konsentrasi kitin yang ditambahkan pada media PDA akan menurunkan viabilitas konidia *B. bassiana*. Hal tersebut diduga terjadi akibat penumpukan kitosan yang terlalu banyak sehingga membuat cendawan *B. bassiana* tidak mampu mendegradasi kitosan. Kondisi tersebut menyebabkan pertumbuhan *B. bassiana* terhambat.

Guerrero et al. (2010b), menyatakan bahwa penambahan kitosan pada media tumbuh cendawan *B. bassiana* dapat memicu cendawan untuk menghasilkan enzim kitinase. Enzim kitinase digunakan untuk mendegradasi kitin pada bagian tubuh serangga. Hal tersebut tentunya mempengaruhi waktu kematian serangga uji dan banyaknya serangga uji yang mati. Menurut penelitian Nandita (2017), nimfa instar I dan instar II dari *Riptortus linearis* (Linnaeus) lebih rentan dibandingkan dengan nimfa yang lebih tua. Kerentanan nimfa muda diduga karena lapisan integumennya lebih tipis sehingga mempercepat proses infeksi cendawan *B. bassiana*.

Tingginya mortalitas pada perlakuan P1 nimfa dan imago diduga terjadi karena pengaruh dari penambahan kitosan yang menyebabkan aktivitas enzim kitinase yang tinggi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rachmawaty (2009), yang menyatakan bahwa terdapat hubungan antara aktivitas enzim kitinase dan tingkat mortalitas serangga uji. Mortalitas tertinggi (86%) terjadi pada serangga uji yang diaplikasi dengan isolat

B. bassiana yang menghasilkan aktivitas enzim kitinase tertinggi (7,15 unit/ml). Begitu juga pada mortalitas terendah (73%) terjadi pada serangga uji yang diaplikasi dengan cendawan *B. bassiana* dengan aktivitas enzim kitinase terendah (6,32 unit/ml). Hal tersebut juga menunjukkan bahwa penambahan kitosan 1 mg/ml mampu meningkatkan virulensi cendawan *B. bassiana* dalam menginfeksi dan berkembang dalam tubuh serangga. Cendawan *B. bassiana* mampu menyebabkan mumifikasi pada tubuh serangga sehingga nantinya dapat menyebarkan konidia yang akan menempel dan menginfeksi pada serangga lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penambahan kitosan pada media tumbuh *B. bassiana* berpengaruh terhadap pertumbuhan, perkembangan, dan virulensi *B. bassiana*. Konsentrasi kitosan yang tepat untuk ditambahkan pada media tumbuh *B. bassiana*, yaitu sebesar 1 mg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepala Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember dan Kepala Laboratorium PHPTPH, Tanggul, Jember.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai Besar Penelitian Tanaman Padi [BBPADI]. 2015. *Hama Walang Sangit dan Pengendaliannya*. Jakarta: Balitbangtan Kementerian Pertanian. DOI: <https://doi.org/10.3958/059.040.0402>.
- Balse. 1985. *Field Trial Manual*. Ciba. Geigy. Switzerland.
- Castillo JAT, Garcia SRS, Villalon ML, Avila GCGM, Olivo AM, Soria FAR. 2015. Evaluation of biochemical components from *Pterophylla beltrani* (Bolivar & Bolivar) (Orthoptera: Tettigoniidae): A forest pest from Northeastern Mexico. *Entomologist* 40:741–751.
- Effendy TA, Septiadi R, Salim A, Mazid A. 2010. Jamur entomopatogen asal tanah lebak di Sumatera Selatan dan potensinya sebagai agens hayati walang sangit (*Leptocoris oratorius* F.). *HPT Tropika* 10:154–161. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.210154-161>.
- Guerrero JP, Jansson HB, Salinas J, Llorca LVL. 2007. Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Applied Microbiology* 104: 541–553.
- Guerrero JP, Jimenez JAL, Berna AJP, Huang IC, Jansson HB, Salinas J, Villalain J, Read ND, Llorca LVL. 2010a. Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular Microbiology* 75:1021–1032. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.07039.x>.
- Guerrero JP, Larriba E, Agullo BG, Jansson HB, Salinas J, Llorca LVL. 2010b. Chitosan increases conidiation in fungal pathogens of invertebrates. *Applied microbiology Biotechnology* 87:2237–2245. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2693-1>.
- Ihsani SL, Widyastuti CR. 2015. Sintesis biokagulan berbasis kitosan dari kulit udang untuk pengolahan air sungai yang tercemar limbah industri jamu dengan kandungan padatan tersuspensi tinggi. *Bahan Alam Terbarukan* 4:66–70. DOI: <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i2.3700>.
- Llorca LVL. 2017. Role of *B. bassiana* on plant defence, biocontrol and insect behaviour modification. *Plant Pathology* 1:1–35.
- Mohammadbeigi A. 2013. Virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) passaged through artificial media and an insect host *Uvarovistia zebra* (Orthoptera: Tettigonidae). *Agriculture and Crop Science* 6:1147–1152.
- Nandita MA. 2017. *Pengaruh Media Pertumbuhan Terhadap Virulensi Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin pada Riptortus linearis L. (Hemiptera: Alydidae)*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Prayogo Y, Afandi A, Puspitarini RD, Rachmawati RQ. 2017. Penambahan senyawa kitin untuk meningkatkan virulensi cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* dalam membunuh serangga hama. *Buletin Palawija* 15:32–44.
- Purnama H, Hidayati N, Setyowati E. 2015. Pengembangan produksi pestisida alami dari *Beauveria bassiana* dan *Trichoderma* sp. menuju pertanian organik. *Warta* 18:1–9. DOI: <https://doi.org/10.23917/warta.v18i1.1161>.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian [Pusdatin Pertanian]. 2019. *Buletin Konsumsi Pangan*. Jakarta: Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Rachmawaty. 2009. Komparasi enzim kitinase dari *Beauveria bassiana* galur lokal Sulawesi Selatan terhadap mortalitas ulat grayak (*Spodoptera litura*). *Bionature* 10:60–64.
- Risal. 2017. *Uji Efikasi Cendawan Entomopatogen Beauveria bassiana (Bals.) Vuil. terhadap Mortalitas Wereng Hijau Nephrotettix virescens (Distant) pada Tanaman Padi (Oryza Sativa L)*. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Rohman FL, Saputro TB, Prayogo Y. 2017. Pengaruh penambahan senyawa berbasis kitin terhadap pertumbuhan cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Sains dan Seni ITS* 6:13–16. DOI: <https://doi.org/10.12962/j23373520.v6i2.23827>.
- Triasih U, Agustina D, Wuryantini S. 2019. Uji berbagai bahan pembawa terhadap viabilitas dan kerapatan konidia pada beberapa biopestisida cair jamur entomopatogen. *Agronida* 5:12–20.
- Winarsi, Aini SN, Apriyadi R. 2018. Determinasi pengaruh populasi walang sangit (*Leptocoris oratorius* Fabricius) terhadap hasil gabah padi sawah di Desa Kimak, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka. *Agrosaintek* 2:6–14. DOI: <https://doi.org/10.12962/j23373520.v6i2.23827>.
- Zhakaria M. 2016. Efektivitas *Beaveria bassiana* sebagai agens pengendali hayati hama walang sangit *Leptocoris oratorius* Fabricius di Laboratorium. *Digital Repository Universitas Jember* 1:11–46.