Efektivitas Beberapa Isolat Cendawan Entomopatogen *Verticillium lecanii* Zimm. (Viegas) terhadap Telur Hama Pengisap Polong Kedelai

Yusmani Prayogo[1], Teguh Santoso[2], Utomo Kartosuwondo[2], Lisdar I. Sudirman[3], dan Marwoto[4]

[1]*Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor*
[2]*Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor*
[3]*Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor*
Kampus IPB Dramaga
[4]*Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*
Jl. Kendalpayak Malang, Jawa Timur

ABSTRACT. The Effectiveness Entomopatogenic Fungi *Verticillium lecanii*, to Control Pod Sucking Bug (*Riptortus linearis*). *V. lecanii* have some advantages, in that it can infect at various developmental stages of *R. linearis*, i.e. at stage of: egg, nymph, and adult. The aim of the experiment was to evaluate the effectiveness of various *V. lecanii* isolates on egg of the insect. The treatments were arranged in Randomize complete design, using 37 *V. lecanii* isolates with four replicates. Isolates were cultured on Petridis (9.0 diam.) containing *potato dextrose agar* (PDA) media. To obtain 10^7/ml conidia densities, 21 days after inoculation (DAI) the developmental conidia on PDA were added with sterile water and counted using haemocytometer. These suspensions were applied on 100 of one day old eggs. The result showed that all fungi isolates effectively infected the eggs of *R. linearis.* The percentage of infected-eggs which failed to hatch was between 12 to 75%. Among the most effective isolates, four isolates, i.e. VI-JTM11, VI-JM12, and VI-JTM15 was from East Java, and one isolate VI-TB2 was from Lampung. The effective isolates was able to pressure eggs which failed to hatch over 70%. The shorter infection periode of effective fungi on egg, delayed the time of hatching of eggs for 3.3 to 4.5 days. The effective fungus was able to produce conidia over 7 x 10^6/failed hatch egg, and was able to pressure the life of nymph of *R. linearis* instar-II up to 20%. Nymphs of *R. linearis* were not able to develop into adult stage when they were infected by fungi. The research result indicated that, four effective isolates fungi *V. lecanii* can be used as biological agents in controlling soybean pod sucker.

Keywords: Isolate of entomopatogenic fungi, egg, *R. linearis*, *V. lecanii.*

ABSTRAK. *Verticillium lecanii* merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis*. Cendawan tersebut mampu menginfeksi semua stadia *R. linearis,* meliputi stadia imago, nimfa, dan telur. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keefektifan beberapa isolat cendawan *V. lecanii* terhadap telur *R. linearis.* Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap. Sebagai perlakuan adalah 37 isolat cendawan *V. lecanii* dan masing-masing perlakuan diulang empat kali. Setiap isolat cendawan diperbanyak pada media *potato dextrose agar* di dalam cawan Petri. Pada umur 21 hari setelah inokulasi (HSI) diambil konidianya kemudian diencerkan dengan air steril dan dihitung dengan haemocytometer hingga memperoleh kerapatan konidia 10^7/ml. Selanjutnya, setiap suspensi konidia cendawan diaplikasikan pada telur *R. linearis* yang berumur satu hari sebanyak 100 butir/perlakuan. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa semua isolat cendawan *V. lecanii* mampu menginfeksi telur *R. linearis.* Jumlah telur yang tidak menetas akibat infeksi cendawan *V. lecanii* berkisar antara 12-75%. Empat isolat *V. lecanii* yang efektif terhadap telur *R. linearis* adalah VI-JTM11, VI-JTM12, dan VI-JTM15 dari Jawa Timur dan VI-TB2 dari Lampung. Isolat cendawan yang efektif mampu menyebabkan telur *R. linearis* tidak menetas rata-rata di atas 70%, kecuali isolat VI-JTM15 yaitu 69%. Selain itu, periode infeksi *V. lecanii* pada telur lebih pendek dan mampu menunda waktu penetasan telur hingga 3,3-4,5 hari. Isolat yang efektif mampu memproduksi jumlah konidia hingga di atas 7 x 10^6 pada setiap butir telur *R. linearis* yang tidak menetas dan mampu menekan jumlah nimfa II yang hidup hanya 20%. Kemampuan *R. linearis* untuk melangsungkan hidupnya menjadi imago sangat rendah apabila sudah terinfeksi cendawan *V. lecanii.* Dapat disimpulkan bahwa keempat isolat *V. lecanii* yang tergolong efektif mempunyai peluang yang besar untuk dapat digunakan sebagai agens hayati dalam mengendalikan telur *R. linearis.*

Kata kunci: Isolat cendawan entomopatogen, telur, *R. linearis, V. lecanii*

Di Indonesia, produksi kedelai hingga saat ini masih rendah, rata-rata 0,8 t/ha (Puslitbangtan 2005). Salah satu penyebabnya adalah serangan hama. Menurut Tengkano *et al.* (2006), hama pengisap polong *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae) merupakan salah satu hama kedelai yang sangat penting. Kerusakan yang diakibatkan dan luas penyebarannya meliputi hampir di seluruh sentra produksi kedelai di Indonesia (Tengkano *et al.* 2003; Tengkano *et al*. 2005; Tengkano *et al.* 2006). Kehilangan hasil kedelai akibat hama *R. linearis* dapat mencapai 80% apabila tidak dikendalikan (Tengkano *et al.* 1988).

Pengendalian hama pengisap polong kedelai oleh petani masih mengandalkan insektisida kimia (Marwoto *et al.* 1991; Marwoto 1992; Marwoto & Neering 1992). Sementara itu, insektisida kimia yang digunakan umumnya tidak mengikuti dosis anjuran yang tepat, sehingga pengendalian kurang berhasil. Akibatnya, sebagian petani meningkatkan konsentrasi aplikasi (Rauf *et al.* 1994). Meskipun konsentrasi maupun frekuensi aplikasi insektisida sudah ditingkatkan, namun kenyataan di lapangan menunjukkan bahwa hama pengisap polong masih menjadi masalah utama (Tengkano *et al.* 2005 & 2006). Penggunaan insektisida kimia yang berlebihan dan kurang bijaksana akan menimbulkan pengaruh negatif yang tidak diinginkan, seperti resistensi hama sasaran, resurjensi, terbunuhnya musuh alami dan serangga berguna lainnya, serta pencemaran lingkungan (Michaud & Angela 2003; Kannan *et al.* 2004; Galvan *et al.* 2005; Badji *et al.* 2007). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengendalian untuk menekan penggunaan insektisida, yaitu dengan memanfaatkan agens hayati.

Salah satu jenis agens hayati yang sudah diketahui potensinya dalam mengendalikan hama tanaman pangan adalah cendawan entomopatogen (Avery *et al.* 2004; Prayogo 2004; Prayogo *et al*. 2004a; Prayogo *et al.* 2005). Hasil penelitian Prayogo *et al.* (2004a & 2004b) menunjukkan bahwa cendawan *Verticillium lecanii* mampu menginfeksi telur *R. linearis,* sehingga telur yang tidak menetas mencapai 51%. Lebih lanjut dilaporkan bahwa telur yang masih mampu menetas akhirnya tidak dapat melangsungkan hidupnya karena sudah terinfeksi cendawan. Pengendalian hama *R. linearis* pada stadia telur lebih mudah dan tingkat keberhasilannya lebih tinggi dibanding pada stadia larva maupun imago. Oleh karena itu, peluang pengendalian telur dengan cendawan entomopatogen mempunyai prospek yang lebih baik dibanding menggunakan insektisida kimia. Namun, pemanfaatan cendawan entomopatogen di tingkat petani masih lemah. Mereka belum mempunyai pengetahuan yang cukup mengenai cara memperoleh isolat cendawan yang mempunyai keefektifan tinggi dan faktor yang mempengaruhinya.

Keefektifan cendawan entomopatogen sebagai agens hayati dipengaruhi oleh karakter fisiologi isolat cendawan (Varela & Morales 1996), laju pertumbuhan koloni, sporulasi (Bidochka *et al.* 2000; Sun *et al.* 2003), dan daya kecambah konidia (Kassa 2003). Castrillo *et al.* (2003 & 2004) melaporkan bahwa isolat cendawan entomopatogen yang diperoleh dari inang yang sama tetapi berbeda lokasi atau isolat dari inang yang berbeda tetapi diperoleh dari lokasi yang sama mempunyai tingkat virulensi yang berbeda. Untuk memperoleh isolat cendawan entomopatogen yang mempunyai keefektifan tinggi dianjurkan untuk mengeksplorasi berbagai isolat cendawan *V. lecanii* dari berbagai lokasi yang berbeda (Ahmadi *et al.* 2004; Xhen-Xhiang *et al.* 2005). Dengan diperolehnya isolat cendawan *V. lecanii* yang efektif diharapkan pengendalian hama *R. linearis* dapat teratasi, sehingga kehilangan hasil dan biaya pengendalian dapat ditekan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas beberapa isolat cendawan entomopatogen *V. lecanii* terhadap telur hama pengisap polong kedelai *R. linearis.*

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium patologi serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor, dari bulan Maret sampai September 2007. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan adalah 37 isolat cendawan entomopatogen *V. lecanii* yang diperoleh dari sentra produksi kedelai di Indonesia, meliputi Lampung, Sumatera Selatan, Jawa Timur, dan Nusa Tenggara Barat pada tahun 2005 dan 2006. Masing-masing perlakuan diulang empat kali. Tiap isolat cendawan *V. lecanii* diperoleh dengan cara berikut;

Serangga Mati Terinfeksi Cendawan dari Lapangan

Serangga hama meliputi *R. linearis, Nezara viridula, Piezodorus hybneri, Trialeurodes* sp., dan *S. litura* yang mati terinfeksi cendawan dari lapang dibawa ke laboratorium. Tubuh serangga dipotong-potong dengan ukuran ± 0,5 cm, kemudian direndam dengan larutan klorok 0,25% selama 30 detik untuk mematikan cendawan kontaminan. Selanjutnya direndam dalam air steril selama 60 detik, kemudian dikeringkan dengan kertas saring dan ditumbuhkan pada medium *potato dextrose agar* (PDA) atau medium selektif *soybean dextrose yeast agar* (SDYA). Pada umur kurang lebih 7 hari setelah inokulasi (HSI) dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan cendawan diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan kunci determinasi menurut Samson *et al*. (1988).

Pengumpanan (*Insect Bait Methode*)

Serangga hidup *R. linearis* dan *S. litura* yang diambil dari lapang dipaparkan pada contoh tanah yang diambil dari areal pertanaman kedelai kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri, selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator sampai serangga mati. Bangkai serangga yang mati dipotong-potong 0,5 cm, kemudian direndam dalam larutan klorok 0,25% selama 30 detik untuk mematikan cendawan kontaminan. Selanjutnya, potongan tubuh serangga direndam dalam air steril selama 60 detik, kemudian dikeringkan dengan kertas saring, selanjutnya ditumbuhkan pada medium PDA. Setelah terbentuk koloni (7 HSI) dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan cendawan diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan kunci determinasi menurut Samson *et al*. (1988).

Isolasi Cendawan dari Tanah

Tanah diambil dari areal pertanaman kedelai dengan kedalaman kurang lebih 10 cm beserta sisa-sisa tanaman, kemudian dicampur hingga homogen, selanjutnya ditimbang 1 g untuk dilarutkan dengan 9 ml air di dalam tabung reaksi. Setelah itu, diambil 1 ml dengan mikro pipet, kemudian dibuat seri pengenceran bertingkat di dalam tabung reaksi hingga 10^{-4}. Dari masing-masing seri pengenceran diambil 1 ml yang sebelumnya dikocok menggunakan *vortex* selama 30 detik, kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri steril yang diisi media PDA 10 ml. Setelah koloni cendawan terbentuk (7 HSI) dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan cendawan diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan kunci determinasi menurut Samson *et al*. (1988).

Telur *R. linearis* diperoleh dengan cara mengembang-biakkan imago di laboratorium. Imago *R. linearis* diambil dengan *sweep net* dari areal pertanaman kedelai di Probolinggo, Jawa Timur, kemudian dipelihara dalam sangkar yang disungkup dengan kain kasa. Serangga diberi pakan kacang panjang yang sudah terbentuk bijinya dan setiap dua hari pakan diganti dengan kacang yang segar secukupnya. Pada bagian dinding di dalam sangkar diselipkan benang halus berwarna kuning yang berfungsi sebagai penempelan telur yang diletakkan oleh imago betina. Telur yang sudah diletakkan oleh imago dikumpulkan dan untuk uji keefektifan menggunakan telur berumur satu hari.

Setiap isolat cendawan yang sudah teridentifikasi selanjutnya ditumbuhkan pada media PDA. Pada umur 21 HSI, konidia cendawan dikerok dengan kuas halus, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air steril. Setelah itu, suspensi konidia dari masing-masing isolat dihitung di bawah mikroskop dengan *haemocytometer* hingga diperoleh kerapatan konidia 10^7/ml. Setiap suspensi konidia isolat cendawan diaplikasikan pada 100 butir telur *R. linearis* berumur satu hari yang diletakkan di dalam cawan Petri/ulangan. Dosis aplikasi cendawan adalah 2 ml setiap 100 butir telur yang disemprotkan pada seluruh permukaan telur.

Peubah yang diamati adalah (1) jumlah telur yang tidak menetas akibat terinfeksi cendawan *V. lecanii* hingga umur 9 HSI, (2) masa inkubasi cendawan (siklus hidup) *V. lecanii* pada telur *R. linearis* yang dihitung mulai dari waktu aplikasi suspensi konidia pada telur sampai konidia tumbuh membentuk hifa baru dan berkembang mengkolonisasi permukaan telur, (3) periode stadia telur *R. linearis* menetas setelah diaplikasi cendawan *V. lecanii* yang dihitung sejak aplikasi suspensi konidia sampai telur menetas, (4) jumlah nimfa II yang mampu hidup dihitung dari stadia telur, dan (5) jumlah konidia *V. lecanii* yang terbentuk pada setiap telur *R. linearis* yang tidak menetas diencerkan dengan 10 ml air di dalam tabung reaksi, kemudian dikocok menggunakan *vortex* selama 30 detik, selanjutnya dihitung menggunakan haemocyto-meter dengan mikroskup pada pembesaran 100x (Kreutz *et al.* 2004; Posada & Vega 2005).

Semua data yang diperoleh dianalisis menggunakan program MINITAB 14. Setelah itu, apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf nyata 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas Isolat *V. lecanii*

Keefektifan cendawan *V. lecanii* didasarkan atas persentase penetasan telur *R. linearis* 9 hari setelah aplikasi (HSA). Persentase telur yang menetas berkisar antara 12-75% dan nilai tersebut dipengaruhi oleh asal isolat (Tabel 1). Dari 17 isolat *V. lecanii* dari Jawa Timur diperoleh tiga isolat yang menunjukkan keefektifan tertinggi, yaitu Vl-JTM11 dan Vl-JTM12 masing-masing 75% dan 72%. Kedua isolat diperoleh dengan isolasi dari bangkai serangga (*cadaver*) *Spodoptera litura* di Yosowilangun (Lumajang). Satu isolat lainnya, yaitu Vl-JTM15 dengan persentase telur tidak menetas 69% yang diperoleh dengan isolasi dari bangkai serangga *R. linearis* di Muneng (Probolinggo). Empat belas isolat lainnya menunjukkan keefektifan yang lebih rendah dengan jumlah telur yang tidak menetas di bawah 50%.

Isolat *V. lecanii* yang diperoleh dari Sumatera Selatan dan NTB hanya mampu menyebabkan telur *R. linearis* yang tidak menetas di bawah 50%. Satu isolat *V. lecanii* dari Tulang Bawang (Lampung) menunjukkan keefektifan tertinggi, yaitu Vl-TB2 dengan jumlah telur tidak menetas 73%. Isolat cendawan *V. lecanii* yang mempunyai ke-efektifan tertinggi terhadap telur *R. linearis* diperoleh dari bangkai serangga *S. litura*. Isolat yang diperoleh dari bangkai *R. linearis*, meskipun jumlah telur yang tidak menetas cukup tinggi namun masih lebih rendah dibanding isolat yang diperoleh dari bangkai *S. litura.* Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilapor-kan oleh Alavo *et al.* (2004), bahwa isolat *V. lecanii* yang diperoleh dari *Myzus persicae* mampu menyebabkan mortalitas hingga 100% apabila diuji pada serangga yang sama. Namun hasil penelitian Mor *et al.* (1996) dan Ahmadi *et al.* (2004) mengindikasikan bahwa di antara isolat-isolat *V. lecanii* yang diperoleh dari *Bemisia tabaci* menunjukkan virulensi yang berbeda, meskipun diuji pada serangga yang sama. Fenomena ini mengindikasi-kan bahwa virulensi isolat cendawan entomopatogen yang diperoleh dari lapang sangat variatif. Hal ini disebab-kan oleh adanya keragaman intraspesies cendawan.

Keragaman spesies cendawan ditentukan oleh serangga inang dan daerah asal isolat (Inyang *et al.* 1998; Yoon *et al.* 1999; Kim *et al.* 2001; Gaitan *et al.* 2002; Watts 2006). Keragaman genetik yang tinggi dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, Tabel 1. Rata-rata persentase telur *R. linearis* yang tidak menetas akibat terinfeksi cendawan entomopatogen *V. lecanii.*

Isolat	Asal isolat	Lokasi/Tahun	Telur tidak menetas (%)
Vl-JTM1	Tanah	Klabat-1, Banyuwangi 2006	25 ± 11,01 efghi
Vl-JTM2	Tanah	Klabat-2, Banyuwangi 2006	23 ± 10,57 fghi
Vl-JTM3	Tanah	Klabat-3, Banyuwangi 2006	20 ± 13,03 hi
Vl-JTM4	Tanah	Tisnogambar-1, Jember 2006	21 ± 7,40 hi
Vl-JTM5	Tanah	Tisnogambar-2, Jember 2006	35 ± 5,55 def
Vl-JTM6	Tanah	Jambirono-1, Jember 2006	32 ± 5,23 defg
Vl-JTM7	Tanah	Jambirono-2, Jember 2006	27 ± 7,63 efgh
Vl-JTM8	*Spodoptera litura*	Jambirono-3, Jember 2006	37 ± 13,30 cd
Vl-JTM9	*Spodoptera litura*	Jambirono-4, Jember 2006	24 ± 5,23 efghi
Vl-JTM10	*Nezara viridula*	Yosowilangun-1, Lumajang 2006	26 ± 3,70 efgh
Vl-JTM11	*Spodoptera litura*	Yosowilangun-2, Lumajang 2006	75 ± 9,73 a
Vl-JTM12	*Spodoptera litura*	Yosowilangun-3, Lumajang 2006	72 ± 11,71 a
Vl-JTM13	Tanah	Yosowilangun-4, Lumajang 2006	44 ± 10,90 c
Vl-JTM14	Tanah	Muneng-1, Probolinggo 2005	44 ± 8,01 c
Vl-JTM15	*Riptortus linearis*	Muneng-2, Probolinggo 2005	69 ± 12,23 a
Vl-JTM16	*Spodoptera litura*	Muneng-3, Probolinggo 2005	32 ± 9,07 defg
Vl-JTM17	*Trialeurodes* sp.	Karangan, Trenggalek 2005	30 ± 4,78 efgh
Vl-ME1	*Spodoptera litura*	Muara Enim-1, Palembang 2005	49 ± 4,65 b
Vl-ME2	*Nezara viridula*	Muara Enim-2, Palembang 2005	44 ± 6,04 c
Vl-ME3	*Piezodorus hybneri*	Muara Enim-3, Palembang 2005	37 ± 14,30 cd
VI-OK1	Tanah	OKU-1, Palembang 2005	35 ± 7,63 def
VI-OK2	Tanah	OKU-2, Palembang 2005	30 ± 7,70 efgh
VI-LT1	Tanah	Kalirejo-1, Lampung Tengah 2005	22 ± 4,78 ghi
VI-LT2	Tanah	Kalirejo-2, Lampung Tengah 2005	21 ± 7,01 hi
VI-LT3	Tanah	Kalirejo-3, Lampung Tengah 2005	26 ± 7,70 efgh
VI-TB1	*Spodoptera litura*	Tulang Bawang-1, Lampung 2005	19 ± 6,66 hi
VI-TB2	*Spodoptera litura*	Tulang Bawang-2, Lampung 2005	73 ± 10,60 a
VI-TB3	Tanah	Tulang Bawang-3, Lampung 2005	27 ± 3,54 efgh
VI-TB4	Tanah	Tulang Bawang-4, Lampung 2005	28 ± 10,90 efgh
VI-TB5	Tanah	Tulang Bawang-5, Lampung 2005	36 ± 4,28 cde
VI-TB6	*Spodoptera litura*	Tulang Bawang-6, Lampung 2005	32 ± 11,71 defg
Vl-NTB1	Tanah	Kediri-1, Lombok Barat 2006	26 ± 8,81 efgh
Vl-NTB2	Tanah	Kediri-2, Lombok Barat 2006	29 ± 9,63 efgh
Vl-NTB3	Tanah	Ampenan-1, Mataram 2006	25 ± 8,21 efghi
Vl-NTB4	Tanah	Ampenan-2, Mataram 2006	12 ± 5,23 j
Vl-NTB5	Tanah	Ampenan-3, Mataram 2006	23 ± 6,36 fghi
Vl-NTB6	Tanah	Ampenan-4, Mataram 2006	17 ± 6,32 i
Kontrol	Air steril		2 ± 0,46 j

rekombinasi gen, reproduksi seksual dan paraseksual, seleksi, hetero-kariosis, dan migrasi gen dari suatu lokasi ke lokasi lain (McDonald & McDermott 1993; McDonald 1997). Oleh karena itu, untuk memperoleh isolat cendawan entomo-patogen yang mempunyai virulensi tinggi maka dianjurkan mengeksplorasi isolat cendawan yang jumlahnya lebih banyak (Ekesi 2001; Ihara *et al.* 2001; Glare *et al.* 2002; Kreutz *et al.* 2004). Meskipun demikian, isolat cendawan entomopatogen yang sudah menurun kemampuan virulensinya masih dapat ditingkatkan dengan cara menginfeksikan ulang pada serangga inang (Wraight *et al.* 2001; Posada & Vega 2005).

Pengaruh Aplikasi Isolat *V. lecanii* terhadap Lama Stadia Telur

Aplikasi berbagai isolat cendawan *V. lecanii* berpengaruh terhadap lama stadia telur *R. linearis* menetas. Pada umumnya telur *R. linearis* yang terinfeksi cendawan *V. lecanii* akan lebih lambat menetas dibandingkan telur yang tidak terinfeksi (Tabel 2). Menurut Tengkano *et al.* (1992), telur *R. linearis* menetas 6 hari setelah diletakkan (HSD) oleh imago betina. Pada Tabel 2 terlihat bahwa telur *R. linearis* mengalami penundaan menetas. Telur yang menetas paling lambat terinfeksi oleh isolat Vl-JTM3 dan Vl-JTM16. Namun kedua isolat cendawan tersebut hanya mampu menekan telur *R. linearis* yang tidak menetas 20-32% dan nimfa II yang mampu bertahan hidup masih cukup tinggi, berkisar antara 62-71%. Meskipun isolat tersebut mampu memperlambat stadia penetasan telur, tetapi dinilai kurang efektif dalam menekan jumlah telur yang menetas dan peluang nimfa yang akan menjadi imago masih tinggi. Oleh karena itu, populasi imago *R. linearis* nantinya di lapang cukup tinggi sehingga kerusakan terhadap polong kedelai akan masih besar.

Tabel 2. Rata-rata stadia telur *R. linearis* menetas setelah aplikasi, periode infeksi *V. lecanii* pada telur *R. linearis,* jumlah konidia *V. lecanii* pada tiap telur yang tidak menetas, dan jumlah nimfa II yang mampu hidup.

Isolat	Lama stadia telur menetas setelah aplikasi (hari)	Periode infeksi *V. lecanii* pada telur *R. linearis* (hari)*)	Jumlah konidia *V. lecanii*/telur ($x10^6$)	Jumlah nimfa II *R. linearis* hidup (%)
Vl-JTM1	10,25 ± 3,11 abc	6,00 ± 1,67 a	2.675 ± 1,342 hijk	53 ± 5,55 defgh
Vl-JTM2	10,50 ± 2,87 ab	6,00 ± 1,78 a	3.125 ± 1,142 ghijk	61 ± 12,60 cdef
Vl-JTM3	10,75 ± 2,61 a	6,00 ± 1,34 a	1.775 ± 0,231 lmn	71 ± 13,97 bc
Vl-JTM4	10,00 ± 2,12 abc	5,75 ± 0,89 ab	2.050 ± 0,410 jklmn	63 ± 7,15 bcdef
Vl-JTM5	9,75 ± 1,64 bc	5,75 ± 0,54 ab	1.500 ± 0,392 n	46 ± 9,31 gh
Vl-JTM6	10,50 ± 1,87 ab	6,00 ± 0,10 a	2.800 ± 0,744 hijklm	58 ± 3,70 cdefg
Vl-JTM7	10,25 ± 1,36 abc	5,75 ± 0,70 ab	4.225 ± 0,673 cdefg	60 ± 7,40 cdefg
Vl-JTM8	10,00 ± 0,97 abc	5,50 ± 1,22 ab	3.925 ± 0,945 cdefgh	59 ± 10,63 cdefg
Vl-JTM9	10,00 ± 0,78 abc	5,50 ± 1,64 ab	2.250 ± 0,547 jklmn	57 ± 7,63 cdefgh
Vl-JTM10	10,25 ± 0,44 abc	5,50 ± 2,07 ab	2.150 ± 0,652 jklmn	52 ± 5,23 efgh
Vl-JTM11	9,50 ± 1,00 c	5,25 ± 2,60 b	7.150 ± 1,125 ab	18 ± 6,41 i
Vl-JTM12	10,25 ± 0,72 abc	5,25 ± 2,60 b	7.250 ± 0,358 ab	21 ± 5,55 i
Vl-JTM13	10,50 ± 0,97 ab	5,75 ± 1,32 ab	6.450 ± 0,469 b	53 ± 9,73 defgh
Vl-JTM14	10,00 ± 1,50 abc	5,75 ± 2,02 ab	4.950 ± 1,157 cd	50 ± 7,70 fgh
Vl-JTM15	9,75 ± 1,80 bc	5,50 ± 1,63 ab	7.375 ± 0,929 ab	21 ± 4,65 i
Vl-JTM16	10,75 ± 1,80 a	5,75 ± 1,89 ab	4.425 ± 1,028 cdef	62 ± 8,81 bcdef
Vl-JTM17	9,50 ± 2,54 c	5,75 ± 1,77 ab	1.625 ± 0,819 mn	53 ± 6,32 defgh
Vl-ME1	9,50 ± 2,87 c	5,75 ± 1,82 ab	3.000 ± 0,818 ghijkl	43 ± 8,75 h
Vl-ME2	9,50 ± 3,20 c	5,75 ± 1,80 ab	4.550 ± 0,727 cdef	43 ± 1,85 h
Vl-ME3	9,50 ± 3,53 c	5,75 ± 1,81 ab	1.775 ± 0,977 lmn	53 ± 8,00 efgh
VI-OK1	9,50 ± 3,86 c	5,75 ± 1,81 ab	2.700 ± 0,855 hijklm	46 ± 13,69 gh
VI-OK2	9,75 ± 4,10 bc	5,75 ± 1,81 ab	4.550 ± 0,746 cdef	57 ± 10,63 cdefgh
VI-LT1	9,50 ± 4,52 c	5,75 ± 1,81 ab	4.400 ± 0,495 cdef	69 ± 8,21 bc
VI-LT2	9,75 ± 4,76 bc	5,75 ± 1,81 ab	3.600 ± 0,941 efghi	66 ± 6,41 bcde
VI-LT3	9,75 ± 3,15 bc	5,50 ± 1,72 ab	2.550 ± 0,410 ijklmn	66 ± 15,56 bcde
VI-TB1	9,75 ± 3,47 bc	5,75 ± 1,85 ab	2.025 ± 0,681 klmn	71 ± 19,68 bc
VI-TB2	9,50 ± 1,85 c	5,25 ± 2,60 b	7.825 ± 0,681 a	22 ± 12,29 i
VI-TB3	9,75 ± 3,09 bc	5,50 ± 1,64 b	3.775 ± 0,706 defghi	61 ± 7,10 cdef
VI-TB4	9,75 ± 2,43 bc	5,75 ± 1,88 ab	3.025 ± 0,086 ghijkl	65 ± 13,97 bcde
VI-TB5	9,50 ± 2,85 c	5,75 ± 1,78 ab	5.100 ± 2,338 c	50 ± 6,41 fgh
VI-TB6	9,75 ± 3,09 bc	6,00 ± 1,88 a	4.575 ± 0,706 cde	63 ± 6,33 bcdef
Vl-NTB1	9,75 ± 3,42 bc	5,75 ± 1,78 ab	1.900 ± 0,627 klmn	57 ± 4,65 cdefgh
Vl-NTB2	9,50 ± 3,84 c	5,75 ± 1,82 ab	2.600 ± 0,434 ijklmn	57 ± 8,21 cdefgh
Vl-NTB3	9,50 ± 3,18 c	6,00 ± 1,86 a	3.300 ± 1,302 fghij	60 ± 3,02 cdefg
Vl-NTB4	9,50 ± 3,76 c	5,75 ± 1,79 ab	4.400 ± 0,839 cdef	76 ± 10,02 b
Vl-NTB5	9,75 ± 2,18 bc	6,00 ± 1,88 a	2.525 ± 0,886 ijklmn	67 ± 9,25 bcd
Vl-NTB6	9,50 ± 3,19 c	6,00 ± 1,78 a	2.175 ± 0,416 jklmn	59 ± 12,23 cdefg
Kontrol	6,00 ± 0,00 d	-	-	98 ± 0,00 a

*) Period infeksi dihitung mulai dari inokulasi sampai dengan proses penetrasi, infeksi, dan munculnya miselium yang mengkolonisasi pada telur yang tidak menetas umur 9 HSA.

Terdapat 13 isolat *V. lecanii* yang menyebabkan penundaan penetasan telur terpendek hanya 3,5 hari (9,5 HSD), berturut-turut adalah Vl-JTM11, Vl-JTM17, Vl-ME1, Vl-ME2, Vl-ME3, Vl-OK1, Vl-LT1, Vl-TB2, VL-TB5, Vl-NTB2, Vl-NTB3, Vl-NTB4, dan Vl-NTB6. Selisih penundaan stadia telur menetas dari ke-13 isolat tersebut rata-rata 0,75 hari dibanding isolat Vl-JTM3 dan Vl-JTM16. Empat isolat yang mempunyai keefektifan tertinggi dalam menekan jumlah telur yang tidak menetas, yaitu Vl-JTM11, Vl-JTM12, Vl-JTM15 dan Vl-TB2, ternyata hanya isolat Vl-JTM12 yang menyebabkan penundaan penetasan telur paling lambat (10,25 HSD). Ketiga isolat lainnya (Vl-JTM11, Vl-JTM15, dan Vl-TB2) menunjukkan stadia telur yang menetas lebih singkat rata-rata 0,75 hari (9,50; 9,75; dan 9,50 HSD), meskipun ketiga isolat tersebut tidak berbeda nyata dengan isolat Vl-JTM12. Telur yang terinfeksi ketiga isolat *V. lecanii* tersebut menetas lebih cepat, namun nimfa yang sudah terbentuk gagal melangsungkan hidupnya. Hal ini disebabkan karena cendawan sudah menginfeksi jaringan (*tissue*) embrio sehingga nimfa yang terbentuk terkolonisasi oleh cendawan di dalam tubuhnya.

Menurut Gindin *et al.* (2000), aplikasi cendawan *V. lecanii* untuk mengendalikan *Bemisia tabaci* mampu menekan jumlah telur yang tidak menetas hingga mencapai 100%, apabila isolat yang digunakan mempunyai virulensi tinggi. Olivares-Bernabeu dan Lopez-Llorca (2002) juga melaporkan bahwa cendawan *V. lecanii* mampu menginfeksi telur nematoda parasit tanaman *Meloidogyne* spp. dan *Heterodera* spp. hingga 100%.

Dilihat dari penundaan waktu telur menetas maka ada selang waktu keterlambatan 4-5 hari dibandingkan dengan telur yang tidak terinfeksi *V. lecanii.* Gindin *et al.* (2000) melaporkan bahwa telur *B. tabaci* yang terinfeksi *V. lecanii* terlambat menetas 3-4 hari dibanding telur kontrol. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa makin lama penundaan penetasan telur *R. linearis* yang terinfeksi *V. lecanii* berimplikasi positif terhadap tanaman kedelai, khususnya keselamatan biji dari serangan *R. linerais*. Penundaan waktu tersebut akan menyebabkan perkembangan nimfa *R. linearis* tidak sinkron dengan perkembangan polong kedelai sebagai sumber makanan nimfa. Polong kedelai yang terus berkembang secara fisiologis mengakibatkan perubahan biji menjadi lebih keras, sehingga nimfa *R. linearis* yang berhasil hidup akan mengalami kesulitan menusukkan stiletnya guna meng-eksploitasi polong kedelai sebagai sumber makanan yang tersedia. Oleh karena itu, polong dapat terselamat-kan dari serangan nimfa *R. linearis*.

Pengaruh Aplikasi Isolat *V. lecanii* terhadap Individu yang Berhasil Menjadi Nimfa II

Perbedaan asal isolat cendawan *V. lecanii* yang meng-infeksi telur *R. linearis* juga berpengaruh nyata terhadap kelangsungan hidup nimfa II. Jumlah nimfa II yang memiliki kemampuan hidup terendah terjadi pada aplikasi *V. lecanii* isolat Vl-JTM11, hanya 18%, kemudian diikuti oleh isolat Vl-JTM12 dan Vl-JTM15 masing-masing 21%, dan isolat Vl-TB2 22% (Tabel 2). Oleh karena itu, keempat isolat tersebut dapat dikategorikan efektif, karena selain menekan jumlah telur yang menetas juga mampu mempertahankan nimfa II yang akan ber-kembang menjadi imago hanya 20%. Jumlah nimfa II *R. linearis* yang dinilai cukup tinggi (di atas 70%) terjadi pada isolat Vl-JTM3 (71%), Vl-TB1 (71%), dan Vl-NTB4 (76%). Ketiga isolat tersebut kurang efektif terhadap *R. linearis,* karena diperkirakan populasi selanjutnya yang akan berkembang menjadi imago masih tinggi, sehingga kerusakan polong kedelai yang akan terjadi cukup besar.

Pengamatan kelangsungan hidup pada penelitian ini dihentikan pada stadia nimfa II. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan stadia nimfa I dan II paling rentan terhadap aplikasi cendawan entomopatogen (Prayogo *et al.* 2005). Selanjutnya, dilaporkan bahwa *R. linearis* yang berhasil melangsungkan hidupnya menjadi nimfa II mempunyai peluang yang sangat besar untuk berkembang menjadi imago. Dengan demikian, jumlah nimfa II *R. linearis* yang hidup dapat digunakan sebagai tolok ukur untuk memprediksi jumlah imago yang akan hidup lebih lanjut.

Hoddle (1999) melaporkan, cendawan *V. lecanii* mampu menginfeksi *B. argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) pada stadia telur, nimfa, maupun imago. Telur yang sudah terinfeksi cendawan *V. lecanii* kecil kemungkingan untuk dapat menetas menjadi nimfa I, bahkan nimfa yang mampu terbentuk akhirnya tidak dapat melangsungkan hidupnya menjadi nimfa instar II. Gindin *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa cendawan *V. lecanii* yang meng-kolonisasi telur *B. tabaci* sebenarnya sudah menginfeksi jaringan embrio yang ada di dalam telur, sehingga nimfa yang terbentuk tidak dapat melangsungkan hidupnya.

Pengaruh Aplikasi Isolat *V. lecanii* terhadap Periode Infeksi Cendawan Pada Telur *R. linearis*

Periode infeksi cendawan menggambarkan selang waktu yang dibutuhkan masing-masing isolat yang dimulai dari waktu inokulasi, kemudian pembentukan tabung kecambah (*germ tube*), selanjutnya proses penetrasi sampai munculnya miselium dan meng-kolonisasi permukaan telur *R. linearis* yang tidak menetas. Periode infeksi dari suatu patogen di dalam inang ditentukan oleh virulensi patogen, kerentanan inang, dan kondisi lingkungan setempat (Sitch & Jackson 1997; Askary & Brodeur 1999; Benhamou & Brodeur 2000). Semakin rentan inang terhadap suatu patogen semakin pendek waktu yang dibutuhkan patogen untuk proses infeksi yang selanjutnya diikuti dengan kolonisasi (Hajek & Eastburn 2003).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa periode infeksi cendawan *V. lecanii* pada telur *R. linearis* dipengaruhi oleh asal isolat. Periode infeksi cendawan *V. lecanii* pada telur *R. linearis* berkisar antara 5-6 hari (Tabel 2). Periode infeksi *V. lecanii* terpendek terjadi pada isolat Vl-JTM11, Vl-JTM12, Vl-TB2, dan Vl-TB3. Terdapat tiga isolat yang efektif menekan jumlah telur yang tidak menetas, kecuali isolat Vl-JTM15. Namun secara statistik isolat Vl-JTM15 tidak berbeda nyata dengan ketiga isolat. Isolat Vl-TB3 menunjukkan periode infeksi tergolong cepat, namun tidak diimbangi oleh kemampuan yang baik dalam me-nekan jumlah telur yang tidak menetas (Tabel 2). Hal ini ditandai oleh jumlah telur yang mampu menetas relatif tinggi, sehingga tidak dapat dikategorikan efektif karena jumlah nimfa II yang berpeluang menjadi imago masih 61%.

Periode infeksi terpanjang terjadi pada isolat Vl-JTM1, Vl-JTM2, Vl-JTM3, Vl-JTM6, Vl-TB6, Vl-NTB1, Vl-NTB3, dan Vl-NTB4 masing-masing 6 HSI. Isolat yang menunjukkan periode infeksi terpanjang mengindikasikan bahwa jumlah nimfa II yang mampu berkembang menjadi imago relatif tinggi, berkisar antara 53-71%.

Semakin cepat periode infeksi cendawan patogen di dalam inang semakin cepat pula penularan atau penyebaran patogen untuk dapat menyebabkan kolonisasi pada inang (Kuo-Ching *et al.* 2002; Lerche *et al.* 2004; Askary & Yarmand 2007). Menurut Posada dan Vega (2005), isolat entomopatogen yang mempunyai periode infeksi lebih cepat pada serangga inang akan mempunyai produksi konidia dalam jumlah yang lebih banyak, sehingga berperan penting dalam epizootik di alam.

Pengaruh Aplikasi Isolat *V. lecanii* terhadap Jumlah Konidia yang Terbentuk pada tiap Telur *R. linearis*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa asal isolat berpengaruh terhadap jumlah konidia yang terbentuk pada tiap telur *R. linearis* yang menetas (Tabel 2). Jumlah konidia *V. lecanii* terbanyak terjadi pada isolat Vl-TB2, mencapai 7,825 x 10^6/telur. Selanjutnya diikuti oleh isolat Vl-JTM15, Vl-JTM12, dan Vl-JTM11 masing-masing 7,373x10^6, 7,250x10^6, dan 7,150x10^6/telur. Meskipun jumlah konidia terbanyak pada isolat Vl-TB2 namun tidak berbeda nyata dengan jumlah konidia yang terbentuk pada isolat Vl-JTM11, Vl-JTM12, dan Vl-JTM15. Isolat cendawan *V. lecanii* yang mempunyai keefektifan tinggi dalam menghambat stadia telur menetas berkorelasi positif dengan jumlah konidia yang terbentuk pada setiap telur yang tidak menetas. Hal ini terbukti dari jumlah konidia yang terbentuk lebih banyak dibandingkan dengan isolat yang kurang virulen.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa setiap isolat menunjukkan variasi jumlah konidia yang terbentuk meskipun inang yang diinfeksi sama. Karakter isolat cendawan yang mempunyai virulensi tinggi ditandai oleh laju pertumbuhan lebih cepat dan struktur miselium lebih padat, sehingga menghasilkan jumlah konidia yang lebih banyak dibanding isolat yang avirulen. Hasil penelitian Liu *et al.* (2003) menunjukkan bahwa antarisolat cendawan *B. bassiana* yang menginfeksi inang yang sama akan menghasilkan jumlah konidia yang berbeda per unit individu. Hal serupa juga dilaporkan oleh Posada dan Vega (2005), bahwa perbedaan antarisolat cendawan *B. bassiana* yang menginfeksi larva *Hypothenemus hampei* juga akan mempengaruhi produksi konidia yang dihasilkan.

Menurut Junianto dan Sukamto (1995), isolat cendawan entomopatogen yang mampu memproduksi konidia lebih banyak akan cepat pemencarannya. Dengan demikian, akan lebih menguntungkan karena isolat tersebut mampu menimbulkan epizootik dalam waktu yang lebih pendek, sehingga lebih efektif sebagai bioinsektisida dalam pengendalian hama (Varela & Morales 1996; Jenkins *et al.* 1998; Devi *et al.* 2003; Sun *et al.* 2003). Kemampuan cendawan entomopatogen untuk memproduksi konidia mempunyai arti sangat penting karena konidia merupakan propagul infektif bagi cendawan tersebut yang berperan utama sebagai alat untuk pemencaran dan proses infeksi (Lopez-Llorca & Carbonell 1998; Wraight *et al.* 2001; Lerche *et al.* 2004).

KESIMPULAN

1. Empat isolat cendawan *V. lecanii* yang efektif terhadap telur hama pengisap polong kedelai, adalahVl-JTM11, Vl-JTM12, dan Vl-JTM15 dari Jawa Timur, dan isolat Vl-TB2 dari Lampung.
2. Keefektifan isolat cendawan *V. lecanii* terhadap telur *R. linearis* dipengaruhi oleh sumber serangga inang dan lokasi isolat.
3. Isolat yang menunjukkan keefektifan tinggi ditandai oleh kemampuan menekan jumlah telur *R. linearis* yang tidak menetas di atas 70%, kecuali isolat Vl-JTM15 yaitu hanya 69%, masa inkubasi cendawan pada telur *R. linearis* lebih pendek, mampu menghambat waktu penetasan telur *R. linearis* 3,3-4,5 HSI, produksi konidia pada tiap telur lebih banyak, dan mampu menekan jumlah nimfa II *R. linearis*.
4. Isolat Vl-JTM11, Vl-JTM12, Vl-JTM15, dan Vl-TB2 mempunyai peluang yang besar untuk dapat digunakan sebagai agens hayati dalam pengendalian telur hama pengisap polong kedelai *R. linearis*.

SARAN

1. Untuk mendapatkan isolat cendawan *V. lecanii* yang mempunyai keefektifan tinggi dianjurkan pengujian isolat dalam jumlah yang lebih banyak, karena jumlah strain cendawan *V. lecanii* di lapang sangat beragam.
2. Isolat cendawan *V. lecanii* yang baru diperoleh dari lapang (isolat dari serangga mati, pengumpanan serangga, dan dari tanah) sebaiknya diinfeksikan pada serangga inang terlebih dahulu sebelum diuji, untuk menghilangkan faktor yang mempengaruhi viabilitas cendawan lebih lanjut sehingga diketahui potensi isolat sesungguhnya.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmadi, L.B., H. Askary, and A. Ashouri. 2004. Preliminary evaluation of the effectiveness of a *Verticillium lecanii* isolate in the control of trhips tabaci (Thysanoptera: Thripidae). Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 69(3):201-204.

Alavo, T.B.C., H. Sermann, and H. Bochow. 2004. Virulence of strains of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* to Aphids: strain improvement. Journal Archives of Phytopathology and Plant Protection 34(6):379-398.

Askary, H. and J. Brodeur. 1999. Susceptibility of larval stages of aphid parasitoid, Aphidius nigripes to the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. J. Invertebr Pathol 73:129-132.

Askary, H. and H. Yarmand. 2007. Developmen of the entomopathogenic hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts. Eur. J. Entomol. 104:67-72. http://www.eje.cz/scripts/viewabstract.php?abstract=1199 [2 Januari 2007].

Avery, P.B., F. Faul, and M.S.J. Simmonds. 2004. Effect of different photoperiods on the growth, infectivity, and colonization of Trinidadian strains of *Paecilomyces fumosoroseus* on the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* using a glass slide bioassay. Journal of Insect Science 4(38). http://www.scielo.br/ scielo.php?poid =5010390162003000400009 &script= sciarttext. [1 Januari 2007].

Badji, C.A., R.N.C. Guedes, A.A. Silva, A.S. Correa, M.E.L.R. Queiroz, and M. Michereff-Filho. 2007. Non-target impact of deltametrin on soil arthropods of maize fields under conventional and no tillage cultivation. J. of Appl. Entomol. 131(1):50-58.

Benhamou, N. and J. Brodeur. 2000. Evidence for antibiosis and induced hosts defense reactions in the interaction between *Verticillium lecanii* and *Penicillium digitatum* the causal agent of green mold. Phytopathology 90:932-943.

Bidochka, M.J., A.M. Kamp, and J.N.A. deCroos. 2000. Insect pathogenic fungi: from genes to populations. p:171-193. *In*: J.W. Kronstad (*Ed*.). Fungal Pathol, Netherlands; Kluwer Academic Publishers.

Castrillo, L.A., J.D. Vandenberg, and S.P. Wraight. 2003. Strain-specific detection of introduced *Beauveria bassiana* in agricultural fields by use of sequence-characterized amplified region markers. J. Invertebr. Pathol. 82:75-83.

Castrillo, L.A., M.H. Griggs, and J.D. Vandenberg. 2004. Vegetative compatibility groups in indigenous and mass-released strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: likelihood of recombination in the field. J. Invertebr. Pathol. 86:26-37.

Devi, P.S.V., Y.G. Prasad, D.A, Chowdary, L.M, Rao, and K. Balakrishnan. 2003. Identification of virulence isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F.) Samson for management of *Helicoverpa armigera* and *Podoptera litura*. Mycopathologia 156:365-373.

Ekesi, S. 2001. Pathogenicity and antifeedant activity of entomopathogenic hyphomycetes to the cowpea leaf beetle *Ootheca mutabilis* Shalberg. Insect Sci. Applic. 21(1):55-60.

Gaitan, A., A.M. Valderrama, G. Saldarriaga, P. Velez, and A. Bustillo. 2002. Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated with the coffe berry borer Hypothenemus hampei and other insects. Mycol. Res. 106(1):1307-1314.

Galvan, T.L., R.L. Koch, and W.D. Hutchison. 2005. Toxicity of commonly used insecticides in sweet corn and soybean to multicolored asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). J. of Econom. Entomol. 98(3):780-789.

Glare, T.H., C. Placet, T.L. Nelson, and S.D. Reay. 2002. Potential of *Beauveria* and *Metarhizium* as control agents of pinhole borers Platypus spp. New Zeal Plnt. Protec. 53:73-79.

Gindin, G., N.U. Geschtovt, B. Raccah, and I. Barash. 2000. Pathogenicity of *Verticillium lecanii* to different developmental stages of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. Phytoparasitica 28(3):231-242.

Hajek, A.E. and C.C. Eastburn. 2003. Attachment and germination of Entomophaga maimaiga conidia on host and non-host larval cuticle. J Invertebr Pathol 82: 12-22.

Hoddle, M.S. 1999. The Biology and management of silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown ornamentals. http://www.biocontrol.ucr.edu/ bemisia.html# verticillium [5 Januari 2008].

Ihara, F., K. Yaginuma, N. Kobayashi, K. Mishiro, and T. Sato. 2001. Screening of entomopathogenic fungi against the brown-winged green bug *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae). Appl. Entomol. Zool. 36(4):495-500.

Inyang, E.N., T.M. Butt, L. Ibrahim, S.J. Clark, B.J. Pye, A. Beckett, and S. Archer. 1998. The effect of plant growth and topography on the acquisiion of conidia of the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* by larvae of *Phaedon cochlearia*. Mycol. Res. 102:1365-1374.

Jenkins, N.E., G. Heviefo, J. Langewald, A.J. Cherry, and C.J. Lomer. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. Biocontr. News & Inform 19(1):21-31.

Junianto, Y.D. dan S. Sukamto. 1995. Pengaruh suhu dan kelembaban relatif terhadap perkecambahan, pertumbuhan, dan sporulasi beberapa isolat *B. Bassiana*. Pelita Perkebunan 11(2):64-75.

Kannan, M., S. Uthamasamy, and S. Mohan. 2004. Impact of insecticides on sucking pests and natural enemy complex of transgenic cotton. Current Science 86(5):726-729.

Kassa, A. 2003. Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers, and storage pests. [Disertation]. Gotingen: p.72-90. http://wcbdoc.sub.gwdg.de/diss/2003/kassa/kassa.pdf. [5 Maret 2007].

Kim, J.J., M.H. Lee, C.S. Yoon, H.S. Kim, J.K. Yoo, and K.C. Kim. 2001. Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with a fungal pathogen. Food & Fertilizer Technology Center an international Information center for farmers in the Asia Pacific Region. http://www.agnet.org/ library/article/eb502.htm [27/03/2004].

Kreutz, J., O. Vaupel, and G. Zimmermann. 2004. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle in the laboratory under various conditions. J. of Appl. Entomol. (128):384-389.

Kuo-Ching, F., L. Bing-Lan, and T. Yew-Min. 2002. Morphological characterization and germination of aerial and submerged spores of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. J. of Microbiol. and Biotechnol. 18(3):217-224.

Lerche, S., U. Meyer, H. Sermann, and C. Buettner. 2004. Dissemination of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas (Hyphomyecetes: Moniliaceae) in population of Frankliniella occidentalis (Thysanoptera: Thripidae). Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 69(3):195-200.

Liu, H., M. Skinner, M. Brownbridge, and B.L. Parker. 2003. Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug Lygus lineolaris (Hemiptera: Miridae). J. Invertebr. Pathol. 82(3):139-147.

Lopez-Llorca, L.V. and T. Carbonell. 1998. Use of almond mesocarp for production of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. Can. J. Microbiol. 44(9):886-895.

Marwoto, E. Wahyuni, dan K.E. Neering. 1991. Pengelolaan pestisida dalam pengendalian hama kedelai secara terpadu. Monograf Balittan Malang (7):38.

Marwoto. 1992. Masalah pengendalian hama kedelai di tingkat petani. *Dalam*: Marwoto, N. Saleh, Sunardi, A. Winarto (*Eds*.). Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Malang, 8-10 Agustus 1991. Balittan Malang: p.37-43.

Marwoto dan K.E. Neering. 1992. Pengendalian hama kedelai dengan insektisida berdasarkan pemantauan. *Dalam:* Marwoto, N. Saleh, Sunardi, A. Winarto (*Eds*.). Risalah Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai; Malang 8-10 Agustus 1991. Balittan Malang: p.59-65.

McDonald, B.M. and J.M. McDermott. 1993. Population genetic of plant pathogenic fungi, electrophoretic markers given unprecedented precision to analysis of genetic structure of population. Bio Science 43:311-319.

McDonald, B.M. 1997. The population genetic of fungi: tools and techniques. Phytopathology 87:448-453.

Michaud, J.P. and G. Angela. 2003. Sub-lethal effects of a copper sulfate fungicide and development and reproduction in three Coccinellid species. J. Insect Sci. 3(16).

Mor, H., G. Gindin, I.S. Ben-Ze'ev, B. Raccah, N.U. Geschtovt, N. Ajtkhozhina, and I. Barash. 1996. Diversity among isolates of *Verticillium lecanii* as expressed by DNA polymorphism and virulence towards *Bemisia tabaci*. Phytoparasitica 24(2):111-118.

Olivares-Bernabeu, C.M. and L.V. Lopez-Llorca. 2002. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. Review Iberoam Micolology 19:104-110.

Posada, F.J. and F.E. Vega. 2005. A new method to evaluate the biocontrol potential of single spore isolates of fungal entomopathogens. J. Insect Sci. 5(37).

Prayogo, Y. 2004. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell (Araneida: Oxyopidae). [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 51p.

Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2004a. Keefektifan lima jenis cendawan entomopatogen terhadap telur hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae). p:471-479. *Dalam*: A.K. Makarim, Marwoto, M.M. Adie, A.A. Rahmiana, Heriyanto, dan I.K. Tastra (*Eds.*). Pros. Seminar Nasional Hasil Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang, 5 Oktober 2004.

Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2004b. Keefektifan cendawan entomopatogen dalam mengendalikan hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (L.) (Hemiptera: Alydidae) dan dampaknya terhadap predator *Oxyopes javanus* Thorell. Jurnal Penelitian Pertanian 24(2):53-60.

Prayogo, Y., T. Santoso, dan Widodo. 2005. Kerentanan stadia nimfa hama pengisap polong kedelai *Riptortus linearis* (Hemiptera:Alydidae) terhadap jamur entomopatogen *Verticillium lecanii*. J. Agrikultura 16(2):125-132.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. 2005. Meningkatkan kualitas pangan. http://www.pikiran-rakyat.com/cetak /2005 /28/ cakrawala /profil.htm. [16 Maret 2006].

Rauf, A., Triwidodo, dan Widodo. 1994. Penggunaan pestisida oleh petani di tingkat kabupaten di Jawa Barat. Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas dan Kualitas Kedelai Melalui Penerapan PHT Kedelai. Kerjasama Bapenas dengan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang: 1-3.

Samson, R.A., H.C. Evans, and J.P. Latge. 1988. Atlas of entomopatogenic fungi. Prinejerverlag Berlin Heodelberg New York. London. Tokyo. 187p.

Sun, J., J.R. Fuxa, and G. Henderson. 2003. Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in Coptotermes formosanus. J. Invertebr. Pathol. 84(1):38-46.

Sitch, J. C. And C.W. Jackson. 1997. Pre-penetration events affecting host specificity of *Verticillium lecanii*. Mycol. Res. 101:535-541.

Tengkano, W., T. Okada, dan A.M. Tohir. 1988. Pengaruh serangan pengisap polong terhadap daya kecambah benih kedelai. Seminar Hasil Peneliitian Hama Kedelai. Malang 6 Desember 1988.

Tengkano, W., Y. Prayogo, Suharsono, Marwoto, Y. Baliadi, M. Rahaju, Sumartini, dan Purwantoro. 2003. Status hama penyakit kedelai dan musuh alami di lahan kering masam. Laporan Hasil Penelitian Tahun 2003. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang.

Tengkano, W., Supriyatin, Suharsono, Bedjo, Y. Prayogo, dan Purwantoro. 2005. Status hama kedelai dan musuh alaminya di lahan kering masam Propinsi Lampung. Makalah disampaikan pada Lokakarya dan Seminar Nasional Peningkatan Produksi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Mendukung Kemandirian Pangan. Malang, 26-27 Juli 2005.

Tengkano, W., Y. Prayogo, Sri Hardaningsih, M. Rahaju, Bedjo, dan Purwantoro. 2006. Evaluasi status hama penyakit kedelai dan musuh alami sebagai agens hayati untuk pengendalian OPT pada kedelai. Laporan Hasil Penelitian 2006 C-1. Balikabi. Malang.

Varela, A and E. Morales. 1996. Characterization of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence toward the coffee berry Hypothenemus hampei. J. of Invertebr. Pathol. 67:147-152.

Watts, P. 2006. In vitro screening for biopesticides. http://72.14.235.104/search?q =cache:H-o9MKcrGy4J:unesco.biotec.or. th/file%25209. doc+toxin+ from+ verticillium+ lecanii&hl=en&gl=idct=clnk&cd=6 [15 Februari 2007].

Wraight, S.P., M.A. Jackson, and S.L. deKock. 2001. Production, stabilization, and formulation of fungal biocontrol agents. *In*: T.M. Butt, C. Jackson, and N. Magan (*Eds*.). Fungi as Biocontrol Agents. United Kingdom. CABI Publishing. p.253-287.

Yoon, C.S., G.H. Sung, H.S. Park, S.G. Lee, and J.O. Lee. 1999. Potential of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain CS-1 as a biological control agent of Plutella xylostella (Lepidoptera: Yponomeutidae). J. of Appl. Entomol. (123):423-425. http://www.blackwell-synergy.com/ doi/abs /10.1111/ j.1439-0418 [15 Februari 2007].

Zhen-Hiang, L., L. Andre, and H. C. Huang. 2005. Isolation and characterization of chitinases from *Verticillium lecanii*. Canadian J. of Microbiol. 51(12):1045-155.