

**PENGARUH PENAMBAHAN KITIN PADA MEDIA PADAT DAN CAIR
TERHADAP VIABILITAS CENDAWAN *Penicillium* sp. serta DAMPAKNYA
TERHADAP MORTALITAS PUPA PENGGEREK BUAH KAKAO,
Conopomorpha cramerella (Snellen).**

**ADDITION EFFECT OF CHITIN ON SOLID AND LIQUID MEDIUM TO
VIABILITY OF FUNGI *Penicillium* sp. AND ITS IMPACT TO PUPAE
MORTALITY COCOA POD BORER, *Conopomorpha cramerella* (Snellen).**

ADE SUGIARTI KUMALASARI



**PROGRAM PASCASARJANA
ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**PENGARUH PENAMBAHAN KITIN PADA MEDIA PADAT DAN CAIR
TERHADAP VIABILITAS CENDAWAN *Penicillium* sp. serta DAMPAKNYA
TERHADAP MORTALITAS PUPA PENGGEREK BUAH KAKAO,
Conopomorpha cramerella (Snellen).**

Tesis

Sebagai Salah satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan

Disusun dan diajukan oleh

ADE SUGIARTI KUMALASARI

**PROGRAM PASCASARJANA
ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

TESIS
PENGARUH PENAMBAHAN KITIN PADA MEDIA PADAT DAN CAIR
TERHADAP VIABILITAS CENDAWAN *Penicillium* sp. serta DAMPAKNYA
TERHADAP MORTALITAS PUPA PENGGEREK BUAH KAKAO,
Conopomorpha cramerella (Snellen).

Disusun dan disajikan oleh
ADE SUGIARTI KUMALASARI
P4100210002

Sebagai Salah satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Menyetujui
Komisi Penasehat

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Prof.Dr.Ir.Nurariaty Agus, M.S
Nip. 19610216 198503 2 001

Prof.Dr.Ir. Itji Diana Daud, M.S
Nip. 19600606 198601 2 001

Mengetahui
Ketua Program Studi

Prof.Dr.Ir.Nurariaty Agus, M.S
Nip. 19610216 198503 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : ADE SUGIARTI KUMALASARI

Nomor Mahasiswa : P4100210002

Program Studi : Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis/disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 23 September 2013

Yang Menyatakan,

ADE SUGIARTI KUMALASARI

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas Berkah, Rahmat dan KaruniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tesis yang berjudul ” **PENGARUH PENAMBAHAN KITIN PADA MEDIA PADAT DAN CAIR TERHADAP VIABILITAS CENDAWAN *Penicillium sp.* serta DAMPAKNYA TERHADAP MORTALITAS PUPA PENGGEREK BUAH KAKAO, *Conopomorpha cramerella* (Snellen).**

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan tesis, namun berkat bantuan berbagai pihak, penelitian dan penyusunan tesis ini dapat diselesaikan. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih dan penghargaan kepada Prof.Dr.Ir.Nurariaty Agus, M.S selaku pembimbing I dan Prof.Dr.Ir. Itji Diana Daud, M.S selaku pembimbing II atas bantuan, bimbingan dan arahan yang telah diberikan pada penulis sejak penyusunan proposal sampai dengan penulisan tesis ini.

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Pertanian dan Ketua Program Studi Magister (S2) Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Pendidikan Magister (S2) di Universitas Hasanuddin.

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Prof.Dr. Ir. Annie P. Saranga, MS, Dr. Ir. Melina, MP dan Dr. Ir. Ade Rosmana atas semua masukan dan koreksi yang diberikan sebagai dosen penguji untuk penyempurnaan tesis ini.

Kepada analis Bapak Ardan dan Kamaruddin dan seluruh staf Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan yang banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian, disampaikan terimakasih, dan kepada kedua orangtua penulis Ayahanda Agus Hasanie dan Ibunda Murti Absari yang dengan penuh kasih sayang telah membesarkan dan mendidik serta senantiasa mendoakan penulis agar menjadi anak yang saleh, berbakti kepada orangtua dan menjadi kebanggaan keluarga.

Kepada Saudara - saudaraku yang dengan penuh kasih sayang, kesabaran dan kesetiaan mendampingi penulis, mendoakan serta memotivasi untuk penyelesaian studi, penulis menyampaikan rasa terimakasih yang tak terhingga, demikian pula kepada Prabowo Lestari, Darwisa Tomme, Asman, Yumarto, Rahmawati, Nur Afraha Rauf atas bantuan dan dukungannya.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak sempat disebutkan satu persatu, penulis menyampaikan terima kasih. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi pembaca sebagai bahan informasi

Makassar, 23 September 2013

Ade Sugiarti Kumalasari

ABSTRAK

ADE SUGIARTI KUMALASARI. Pengaruh Penambahan Kitin Pada Media Padat dan Cair Terhadap Viabilitas Cendawan *Penicillium* sp. serta Dampaknya terhadap Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao *C.cramerella* (Snellen). (dibimbing oleh Nurariaty Agus dan Itji Diana Daud).

Penelitian ini bertujuan (1) Mengetahui pengaruh penambahan kitin pada cendawan *Penicillium* sp. (2). Mengetahui pengaruh penambahan kitin terhadap mortalitas pupa penggerek buah kakao *C. Cramerella* di Laboratorium. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Jurusan hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Hasanuddin, Makassar yang berlangsung mulai Mei sampai Desember 2012.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Cendawan *Penicillium* sp. baik yang diberi kitin maupun tanpa kitin mulai berkecambah pada waktu 12 jam setelah aplikasi sampai 24 jam. Persentase perkecambahan spora *Penicillium* sp lebih tinggi jika diberi kitin (83,26%) dibandingkan tanpa kitin (59,36%) pada awal pengamatan.

Kata kunci : Cendawan *Penicillium* sp. Viabilitas Spora, Mortalitas pupa

ABSTRACT

ADE SUGIARTI KUMALASARI. Addition Effect of Chitin on Solid and Liquid Medium to Viability of Fungi *Penicillium* sp. And Its Impact to Pupae Mortality Cocoa Pod Borer, *Conopomorpha cramerella* (Snellen). (Supervised by Nurariaty Agus and Itji Diana Daud).

This research aimed to (1) Determine the effect of addition chitin on fungus *Penicillium* sp. (2). Know the effect to mortality of pupae pod borer in Laboratory. This research was conducted Laboratory of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Department of Plant Pest and Disease Hasanuddin University, Makassar, from May to December 2012.

The results showed that the fungus *Penicillium* sp. given both chitin and without chitin began to germinate at 12 hours after application until the 24 hours. Percentage *Penicillium* sp spore germination is higher when given chitin (83.26%) than without chitin (59.36%) at the beginning of the observation.

Keywords: Fungus *Penicillium* sp. Spore viability, pupae mortality

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Kegunaan Penelitian	6
E. Hipotesis	6
F. Kerangka Pikir Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Hama Penggerek Buah Kakao (<i>C. cramerella</i> Snellen)	8
B. Siklus Hidup	10
C. Gejala Serangan	12
D. Pengendalian	14
E. Cendawan Entomopatogen	18
E.1 Cendawan <i>Penicillium</i>	20
F. Kitin	23

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian	27
B. Metode Penelitian	27
1. Persiapan Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	27
2. Persiapan Media	27
3. Produksi Kitin	29
4. Pengujian – Pengujian	29
Viabilitas <i>Penicillium</i> sp.	29
Pertumbuhan Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	30
5. Patogenitas Cendawan	31

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Viabilitas Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	33
4.2 Pertumbuhan Koloni <i>Penicillium</i> sp.	34
4.3 Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao (<i>C. Cramerella</i>)	35

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan	40
Saran	40

DAFTAR PUSTAKA	41
-----------------------------	----

LAMPIRAN	46
-----------------------	----

Teks

Nomor		Halaman
1.	Kerangka Pikir Penelitian	7
2.	Imago Betina Penggerek Buah Kakao (<i>C. cramerella</i>)	12
3.	Gejala Serangan Penggerek Buah Kakao (<i>C. cramerella</i>)	14
4.	Konidia dan Konidiofor Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	21
5.	Rata – rata Viabilitas Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	33

Lampiran

1.	Viabilitas Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	46
2.	Jumlah Spora Cendawan <i>Penicillium</i> sp.	46
3.	Berat Basah dan Berat Kering Spora Cendawan <i>Penicillium</i> sp.....	47
4.	Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao setelah Aplikasi	47

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Rata – rata Jumlah Spora, Berat Basah, dan Berat Kering	34
2. Rata-rata Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao	35

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kakao merupakan salah satu komoditas andalan perkebunan yang peranannya cukup penting bagi perekonomian nasional, khususnya sebagai penyedia lapangan kerja, sumber pendapatan dan devisa negara. Di samping itu kakao juga berperan dalam mendorong pengembangan wilayah dan pengembangan agroindustri. Perkebunan kakao di Indonesia mengalami perkembangan pesat dalam kurun waktu 20 tahun terakhir dan pada tahun 2002 areal perkebunan kakao Indonesia tercatat seluas 914.051 ha. Perkebunan kakao tersebut sebagianbesar (87,4%) dikelola oleh rakyat dan selebihnya 6,0% perkebunan besar negara serta 6,7% perkebunan besar swasta (Suparno, 2004).

Dari segi kualitas, kakao Indonesia tidak kalah dengan kakao dunia. Bila dilakukan fermentasi dengan baik dapat mencapai cita rasa setara dengan kakao berasal dari Ghana dan keunggulan kakao Indonesia tidak mudah meleleh. Sejalan dengan keunggulan tersebut, peluang pasar kakao Indonesia cukup terbuka baik ekspor maupun kebutuhan dalam negeri. Dengan kata lain, potensi untuk menggunakan industri kakao sebagai salah satu pendorong pertumbuhan dan distribusi pendapatan cukup terbuka (Susanto, 2004).

Meskipun demikian, agribisnis kakao Indonesia masih menghadapi berbagai masalah kompleks antara lain produktivitas kebun masih rendah akibat serangan Hama Penggerek Buah Kakao (PBK), mutu produk masih rendah serta masih belum optimalnya pengembangan produk hilir kakao. Hal ini menjadi suatu tantangan sekaligus peluang bagi para investor untuk mengembangkan usaha dan meraih nilai tambah yang lebih besar dari agribisnis kakao (Susanto, 2004).

Indonesia berhasil menempatkan diri sebagai produsen kakao terbesar kedua dunia setelah Pantai Gading pada tahun 2002, walaupun kembali tergeser ke posisi ketiga oleh Ghana pada tahun 2003. Tergesernya posisi Indonesia tersebut salah satunya disebabkan oleh makin mengganasnya serangan hama PBK *Conopomorpha cramerella* Snellen yang dapat menurunkan produksi mencapai 80-100%. Kerusakan yang ditimbulkan oleh larva PBK berupa kerusakan pada biji yaitu biji menjadi keriput, timbul warna gelap pada kulit biji, biji saling melekat dan ukuran biji kecil (Anonim,2004).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengendalikan hama PBK seperti eradikasi, kondomisasi, panen sering, pemangkasan, sanitasi, dan pemupukan, serta menggunakan pestisida (Suparno 2004). Saat ini pengendalian dengan menggunakan agens hayati menjadi sangat antusias dilakukan oleh berbagai kalangan. Penggunaan agens hayati cendawan entomopatogen merupakan suatu upaya untuk mengurangi pestisida sintetik

yang selama ini banyak menyebabkan masalah lingkungan, dan diharapkan dapat menjadi solusi disamping dapat menggali potensi sumber daya hayati local yang diperkirakan keberadaannya berlimpah di alam Indonesia

Beberapa hasil penelitian telah berhasil mengembangkan cendawan, bakteri atau virus entomopatogen yang dapat mematikan stadia tertentu dari hama. Entomopatogen menyebabkan serangga sakit karena efek infeksi, parasitisme dan atau *toxaemia* (Lacey dan Brooks, 1997).

Hasil penelitian Sulistyowati (2002), di Maluku menunjukkan adanya cendawan entomopatogen pada Penggerek Buah kakao (PBK) seperti *Beauveria bassiana* Vuill., *Spicaria* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., *Acrostalagmus* sp., dan *Penicillium* sp. Sementara itu di Sulawesi Selatan, Nurariaty (2006) melaporkan bahwa cendawan entomopatogen yang ditemukan pada pupa PBK adalah *B. bassiana*, *Aspergillus* sp., *Gliocephalis* sp., *Fusarium* sp., dan *Penicillium* sp. Hasil penelitian Anni, Nurariaty dan Saranga (2006) menunjukkan bahwa media yang terbaik untuk perkembangan cendawan *Penicillium* sp. adalah media PDA dan CYA yang menunjukkan laju perkembangan yang cepat, sedangkan viabilitas *Penicillium* sp. yang tertinggi pada media CYA sebesar 90,5%. Sementara itu, Nurariaty dan Raodah (2010) melaporkan bahwa cendawan *Penicillium* sp. dengan konsentrasi 10^6 yang dikembangkan dari media PDA dapat menyebabkan mortalitas pupa PBK sebesar 100% dalam waktu 216 jam, dari media beras dan ampas kelapa sebesar 93,33% dalam waktu 192 jam, serta

80% dari media jagung dan media kombinasi ampas kedelai+serbuk gergaji+dedak dalam waktu 120 jam.

Untuk aplikasi cendawan tersebut pada pupa PBK, maka dibutuhkan beberapa bahan penambah antara lain kitin. Kitin merupakan polimer karbohidrat yang terbentuk melalui ikatan β (1-4) antara monomer-monomer *N*-acetylglucosamine. Kitosan yang merupakan senyawa turunan kitin mempunyai lebih banyak keunggulan bila ditinjau dari segi ekonomi maupun aplikasinya. Sumber utama yang dapat digunakan untuk pengembangan lebih lanjut adalah kitin dari jenis udang-udangan dan kepiting (Subadiyasa, 1997).

Kitosan umumnya dibuat dari limbah hasil industri perikanan, seperti udang dan kepiting, yaitu dari bagian kepala dan kulit. Kitosan berkerja sebagai racun perut, sehingga dapat mengganggu sistem pencernaan hama dan secara perlahan akan mematikan hama. Kitosan selain ramah terhadap lingkungan, bahan baku limbah golongan crustacea khususnya rajungan juga mudah didapatkan sehingga sumber daya lokal yang selama ini dimiliki dapat dimanfaatkan sebagai pengganti bahan kimia (Zakiah, *et al.*, 2007)

Pada serangga, kitinase berperan mendegradasi kutikel dinding sel sebagai rangkaian dari proses morfogenesis. Pelepasan kitinase oleh serangga dilakukan pada kondisi dan waktu yang tepat, serta diatur secara hormonal. Hanya ketika benar-benar dibutuhkan enzim ini baru dikeluarkan. Fenomena ini mengindikasikan bahwa kitinase bersifat detrimental

(mematikan) terhadap serangga, sehingga membuka peluang pemanfaatan kitinase dalam mengendalikan hama (Leger *et al*, 1996; Barboza-Corona *et al*, 2003).

Aplikasi kitinase dalam pengendalian serangga hama melalui kloning gen tersebut ke tanaman telah banyak dilaporkan (Leger *et al*, 1996; Barboza-Corona *et al*, 2003), namun penggunaannya dalam menekan hama tebu masih sangat sedikit. Penelitian Downing *et al* (2000) menunjukkan bahwa kloning gen kitinase dari *Serratia marcescens* ke bakteri yang hidup pada daun tebu (*Pseudomonas aeruginosa*) mampu menekan hama penggerek batang, *Eldana saccharina*. Kitinase bakteri dilaporkan pula oleh Regev *et al* (1996) bersinergi dengan endotoksin dari *Bacillus thuringiensis* dalam menekan larva *Spodoptera littoralis* pada tanaman tebu.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu diadakan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh kitin terhadap cendawan *Penicillium* sp. dalam bentuk padat dan cair dan dampaknya terhadap mortalitas pupa penggerek buah kakao *C. cramerella* di laboratorium.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh penambahan kitin pada cendawan *Penicillium* sp.
2. Bagaimana pengaruh penambahan kitin terhadap media Padat dan cair serta pengaruhnya terhadap viabilitas dan mortalitas pupa penggerek buah kakao *C. cramerella* di laboratorium.

C. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh cendawan *Penicillium* sp. dengan adanya penambahan kitin pada media PDA dan cair.
2. Mengetahui pengaruh penambahan kitin terhadap media PDA dan cair serta pengaruhnya terhadap viabilitas dan mortalitas pupa penggerek buah kakao *C. cramerella* di laboratorium.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini diharapkan :

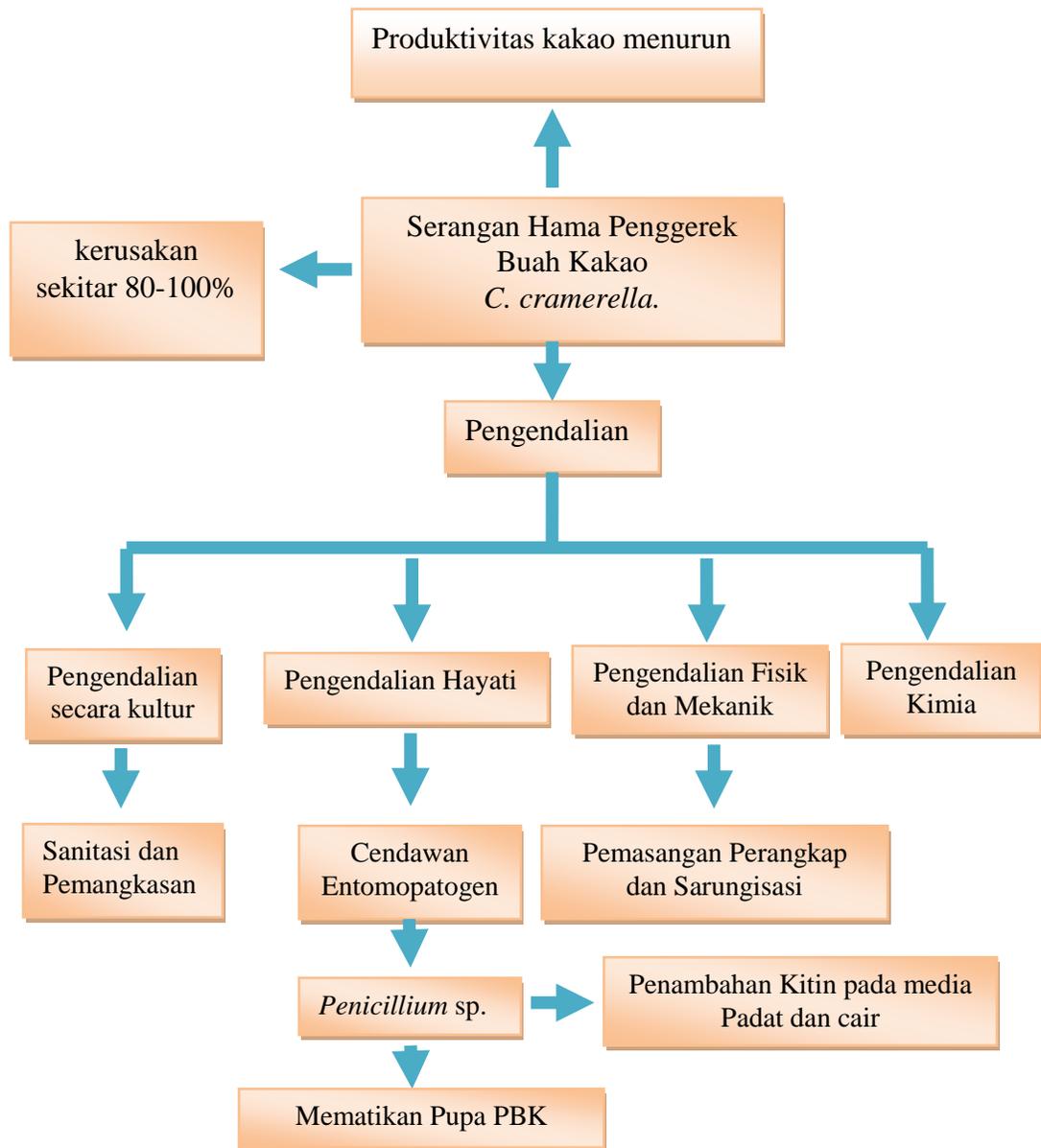
1. Secara akademis, hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat yang berarti terhadap pengembangan IPTEK di bidang pertanian khususnya dalam mengendalikan hama tanaman secara hayati.
2. Cendawan *Penicillium* sp. dengan penambahan kitin dapat mematikan pupa penggerek buah kakao *C. Cramerella*.

E. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian ini sebagai berikut :

1. Penambahan kitin pada media dalam bentuk padat dan cair dapat mempengaruhi cendawan *Penicillium* sp.
2. Penambahan kitin dapat meningkatkan peran cendawan *Penicillium* sp. dalam mematikan pupa penggerek buah kakao *C. Cramerella*.

F. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hama Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha Cramerella* Snellen)

Menurut Kalshoven (1981) hama penggerek buah kakao (*C.cramerella*) sebelumnya dikenal dengan nama *Acrocercops cramerella* Snellen tergolong dalam : Kingdom : animalia, Filum: Arthropoda, Kelas: Insekta, Ordo: Lepidoptera, Famili: Gracillaridae, Genus: Conopomorpha, Spesies : *Cramerella*.

Penyebaran hama PBK ke berbagai daerah di Indonesia sejalan dengan penyebaran klon-klon DR dari Jawa Tengah. Keberadaan hama PBK saat ini, dilaporkan telah terdapat di Papua, Maluku, Sulawesi, Kalimantan Timur, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu, Riau dan Pulau Jawa. Keberadaan PBK di Sumatera disebabkan daerah tersebut berdekatan dengan daerah serangan PBK di negara bagian Malaka, Johor, Negeri Sembilan dan Pahang (Malaysia). Mengingat transportasi antara kedua daratan tersebut cukup lancar, peluang PBK masuk ke Sumatera Utara cukup besar. Demikian pula untuk propinsi-propinsi di Kalimantan, peluang daerah tersebut tertular hama PBK dari Serawak dan Sabah yang letaknya berdekatan juga cukup tinggi (Atmawinata, 1993).

Ditinjau dari letak geografisnya, PBK dari serangan di Malaysia berpeluang masuk ke Sumatera Utara dan Kalimantan sedangkan yang dari

daerah serangan di Filipina Selatan berpeluang masuk ke Sulawesi Utara. Hal ini memberi pemahaman bahwa sekali PBK masuk ke suatu pertanaman kakao, maka serangga akan tetap tinggal di tempat tersebut dan populasinya akan tetap berfluktuasi pada tingkat yang menimbulkan kerusakan buah (Wiryadiputra, Sulistyowati, dan Prawoto, 1994).

Timbulnya hama PBK di berbagai daerah di Indonesia diduga berkaitan dengan introduksi bahan tanaman kakao (buah dan bibit) dari daerah sumber hama PBK ke dalam pertanaman yang telah berproduksi dalam rangka perluasan areal tanam (Wardoyo, 1981). Hal ini pernah terjadi di Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah hanya dalam waktu 23 tahun setelah diintroduksi bibit kakao dari Malaysia ke Kasimbar dan sekitarnya pantai timur Donggala, ternyata areal pertanaman kakao di wilayah tersebut terserang hama PBK (Wiryadiputra *et. al.*, 1994).

Serangan *C. cramerella* di Sulawesi Selatan terdeteksi pertama kali pada bulan Oktober 1995 dengan luasan serangan 96 Ha. Sejak ditemukannya *C. cramerella* di Kabupaten Luwu pada tahun 1995, hama tersebut cepat meluas. Pada tahun 2000 sudah mencapai 103.900 Ha. dalam waktu setahun berikutnya bertambah kurang dari 30.000 Ha, sehingga pada tahun 2001 mencapai 134. 982 Ha atau telah meluas lebih dari 50 % areal pertanaman kakao di Sulawesi Selatan (Salahuddin, 2003).

B. Siklus Hidup

Hama PBK melalui beberapa stadium perkembangan yaitu telur, larva, pupa dan imago. Perkembangan dari telur sampai menjadi imago diperlukan waktu sekitar 26 - 35 hari dan rata-rata 28 hari (Anonim, 2004). Stadium telur 6-9 hari, larva 15-18 hari, pupa 6-8 hari, dan lama hidup imago 3-7 hari (Suparno, 1999), dan menurut Siregar, Riyadi dan Nuraeni, (2000) stadium telur selama 7 hari, larva 16 hari, dan pupa 7 hari. Siklus hidup dari telur sampai imago 27-34 hari.

Imago betina meletakkan telur pada permukaan buah kakao terutama pada alur kulit buah. Menurut Roepke (1992 dalam Wardoyo, 1980) imago *C. cramerella* meletakkan telurnya satu persatu pada permukaan buah kakao.

Telur berbentuk oval dan berwarna kuning orange pada saat baru diletakkan (Depraba, 2002). Bentuknya bulat panjang berukuran 0,30-0,45 mm. Stadium telur 6-9 hari (Susanto, 2004).

Setelah telur menetas maka akan keluar larva dengan ukuran sekitar 1,2 cm dan berwarna ungu muda hingga putih (Bennu, 2006), sedangkan menurut Suparno (1999) larva berwarna kekuningan dengan ukuran 1 mm keluar dari telur setelah 6-7 hari. Selanjutnya menurut Anshari (2000) larva pada stadium awal (instar I) berwarna putih transparan dan larva instar terakhir (menjelang prapupa) berwarna kuning tua. Larva *C. cramerella* terdiri dari 5 instar (Alba *et al.*, 1985). Stadium larva *C. cramerella* antara 3-4 hari

pada instar I dan II, 3-5 hari pada instar III dan IV dan 3-6 hari pada instar V. Stadium larva 14-18 hari.

Setelah 15-18 hari di dalam buah, larva yang mencapai ukuran 10-11 mm dan berwarna hijau pucat membentuk fase prapupa. Tubuh prapupa berwarna kuning pucat hingga kuning kehijauan, berukuran 10,4 mm, dan lebar 2,3 mm (Suparno, 1999). Pupa berwarna kecoklatan dengan ukuran 7-8 mm dan lebar 1 mm.

Menurut Alba *et al.*, (1985), pupa *C. cramerella* berwarna kuning kehijauan dan berada dalam kokon yang terbuat dari benang-benang sutera yang keluar dari mulutnya berwarna cokelat muda. Pupa *C. cramerella* berwarna cokelat dengan ukuran 6-7 mm x 1,0 – 1,5 mm (Suparno, 1999) yang berada dalam kokon yang berbentuk bulat telur dengan ukuran 6,9 x 13 x 18 mm (Anonim, 2004), namun menurut Bennu (2006), pupa berwarna abu-abu gelap dengan ukuran 8 mm.

Imago *C. cramerella* memiliki panjang tubuh 7 mm dan lebar 2 mm, sayap depan berwarna hitam bergaris putih, pada setiap ujungnya terdapat bintik kuning dan sayap belakang berwarna hitam (Gambar 2) dengan antena yang panjang serta runcing (Bennu, 2006). Perkembangan *C. cramerella* sejak telur sampai stadium dewasa memerlukan waktu 27-33 hari (Wardoyo, 1994).



Gambar 2. Imago hama penggerek buah kakao (*C. cramerella*)
(Sumber www.plantwise.org)

Serangga aktif pada malam hari termasuk aktivitas kawin dan bertelur antara jam 18.00 – 20.30. Pada siang hari biasanya berlindung di tempat lembab dan tidak terkena sinar matahari. Daya terbangnya pun tidak terlalu tinggi namun mudah terbawa oleh angin. Serangga dewasa ini sendiri hanya berumur 5-7 hari, setelah bertelur serangga akan mati (Bennu, 2006).

C. Gejala Serangan

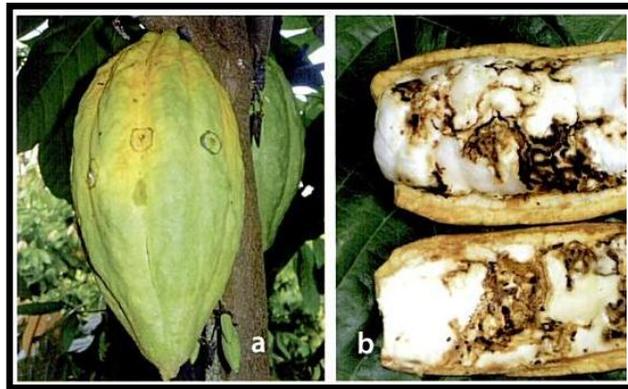
Kerusakan yang ditimbulkan oleh larva *C. cramerella* berupa rusaknya biji, mengeriputnya biji dan timbulnya warna gelap pada kulit biji. Imago *C. cramerella* meletakkan telurnya pada buah kakao yang berukuran panjang lebih besar dari 5 cm (Anshari, 2000). Telur diletakkan satu persatu pada alur buah kakao. Telur yang menetas menjadi larva tersebut akan bergerak dan mulai membuat lubang ke dalam kulit selanjutnya masuk ke dalam buah kakao. Lubang gerekkan berada tepat di bawah tempat meletakkan telur.

Selanjutnya akan menggerak daging buah diantara biji dan plasenta (Suparno, 1999).

Pada buah muda yang terserang gejala tampak pada permukaan kulitnya bercak-bercak besar berwarna kuning. Jika buah yang menunjukkan gejala tersebut dibelah, tampak alur sepanjang plasenta ke biji berwarna coklat akibat serangan larva, sedangkan daging buahnya masih tetap berwarna putih. Pada serangan berat, bagian dalam buah berwarna coklat kehitaman. Apabila buah muda terserang, masih dapat berkembang menjadi buah dewasa namun pada permukaan kulit luar buah tampak besar berwarna kuning, sedangkan bagian lainnya tetap berwarna hijau atau merah tergantung jenis kakaonya. Jika buah tersebut dibelah akan terlihat jalur-jalur gerakan larva dan daging buah berwarna kecoklatan, pertumbuhan biji terganggu, dan biji melekat satu sama lainnya. Jika buah terserang *C. cramerella* maka buah menjadi kering dan pulp mengeras (Suparno, 1999).

Pada buah yang menjelang matang dan pada klon kakao dengan kulit buah berwarna merah, gejala serangan tampak ada bercak-bercak berwarna orange, apabila buah menjelang matang dengan kulit berwarna hijau, akan tampak bercak berwarna kuning hingga orange. Jika buah tersebut dipetik terasa berat dan apabila diguncang tidak terdengar adanya gerakan biji (Siregar *et al.*, 2000).

Apabila buah tersebut dibelah maka terlihat daging buah berwarna cokelat kehitaman sampai hitam, biji saling melekat dan apabila diproses lebih lanjut biji akan menjadi keriput karena biji tidak berisi sempurna (Anonim, 2004). Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3.(a). Gejala serangan penggerek buah kakao (*C. cramerella*)
(b). Biji saling melekat dan berwarna hitam (Sumber www.plantwise.org)

D. Pengendalian

Beberapa pengendalian yang bisa dilakukan untuk mencegah serangan hama penggerek buah kakao *C. cramerella* yaitu :

Penen sering adalah melakukan panen buah kakao yang telah memperlihatkan siap panen (warna kekuningan atau buah kakao tua). Panen awal ini diharapkan akan memperpendek masa perkembangan larva PBK di buah kakao. Untuk menurunkan jumlah PBK, sebaiknya semua buah yang sudah masak atau masak awal di panen seminggu sekali. Cara ini menghindari perpanjangan perkembangan atau daur hidup PBK di kebun (Hidayana,dkk., 2002).

Sanitasi diperlukan untuk mematika, maka PBK yang ada di dalam buah yang sudah panen. Jika tidak dimatikan, PBK tersebut dapat berkembangbiak dan menyerang buah yang masih ada di pohon. Sanitasi dilakukan dengan cara membersihkan areal kebun dari daun-daun kering, tanaman tidak sehat, ranting kering, kulit buah maupun gulma yang ada disekitar tanaman. Keadaan ini akan menciptakan suatu kondisi yang tidak sesuai dengan lingkungan untuk perkembangbiakan hama PBK (Hase, 2006). Setelah buah dipanen seluruhnya dibelah, kulit buah dimasukkan ke dalam lubang dan ditutup dengan tanah atau dengan plastik untuk membunuh larva yang masih ada atau hidup pada buah. Jika tidak segera dikerjakan simpanlah buah dalam karung plastik yang diikat rapat. Cara tersebut mencegah PBK keluar dan menyerang buah yang belum masak di pohon (Hidayana, dkk., 2002).

Pemangkasan adalah pemotongan cabang atau ranting tanaman serta tanaman naungan agar tanaman kakao tidak terlalu rimbun. Tanaman kakao yang terlalu rimbun, mengakibatkan kelembaban cukup tinggi sehingga baik untuk perkembangbiakan serangga hama PBK. Pemangkasan diharapkan masuknya sinar matahari di antara tanaman kakao sekitar 60%. Pemangkasan berfungsi untuk mengatur tajuk tanaman, sehingga kanopinya tidak terlalu rindang. Kondisi kanopi yang rindang sangat kondusif bagi pertumbuhan hama PBK. Salah satu kelemahan hama PBK adalah tidak menyukai sinar matahari langsung, sehingga bila dilakukan pemangkasan

yang sering dan teratur akan dapat menekan populasi karena pendistribusian sinar matahari pada bagian tanaman maupun areal kebun menjadi merata (Hase, 2006).

Ketersediaan unsur hara berkaitan erat dengan pertumbuhan dan produktifitas yang optimal, maka pengendalian hama bisa dilakukan dengan cara memberikan pupuk yang cukup. Terpenuhinya unsur hara yang dibutuhkan tanaman akan memperlancar proses metabolisme tanaman. Lancarnya proses tersebut akan mempercepat masakny buah, sehingga akan mengurangi tingkat kerusakan buah dan memungkinkan frekuensi panen lebih sering. Disamping itu, pertumbuhan tanaman yang optimal akan mempengaruhi daya tahan tanaman terhadap serangan hama PBK meskipun pengaruhnya tidak begitu besar (Hase, 2006). Dampak utama pemupukan terhadap tanaman kakao adalah merangsang pertumbuhan yang baik. Dampak ini meningkatkan ketahanan kakao terhadap serangan PBK. Proses pemupukan yang benar dengan memperhatikan dosis, jenis, cara, waktu, dan tempat (Hidayana, dkk., 2002).

Sistem rampasan dilakukan dengan cara merampas atau memetik semua buah kakao yang ada dipohon agar siklus hidup PBK terputus. Menurut Susanto (2004), tujuan sistem rampasan adalah menghilangkan sumber hama atau menekan populasi serangga untuk sementara waktu, sebab dengan cara ini hama tidak memperoleh makanan. Dengan demikian PBK itu hanya terbang sekitar tanaman tanpa bisa menemukan tempat untuk

meletakkan telur. Akhirnya PBK itu akan mati tanpa bisa meninggalkan keturunan. Adapun saat yang tepat untuk melakukan perampasan adalah setelah panen raya (Hase, 2006).

Sarungisasi adalah memberikan selubung perlindungan terhadap buah kakao. Selubungnya dapat menggunakan kantong plastik yang ujung bagian atasnya diikatkan pada tangkai buah, sedangkan ujung buah tetap terbuka. Dengan penyelubungan buah tersebut, hama tidak bisa meletakkan telurnya pada kulit buah sehingga buah akan terhindar dari gerakan larva (Hase, 2006). Kondomisasi merupakan salah satu metode baru yang paling efektif dan efisien di dalam pengendalian hama PBK serta dapat meningkatkan mutu serta kesuburan buah kakao. Kondomisasi dilakukan dengan memasang plastik selubung pada buah kakao secara satu persatu dengan menggunakan plastik transparan pada buah yang berukuran antara 2-3 bulan atau panjang buah telah mencapai 5-8 cm (Salahuddin, 2003).

Pengendalian dengan menggunakan musuh-musuh alami sangat berperan dalam mengatur populasi PBK di lapangan, seperti pelepasan parasitoid, entomopatogen dan predator. Hal ini didasari dari penelitian yang dilakukan oleh Nurariaty (2006) bahwa hasil identifikasi cendawan yang ditemukan menginfeksi pupa PBK yaitu terdapat tiga jenis, masing-masing *Beauveria bassiana* Vuill., *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. Hal tersebut didasarkan pada ciri-ciri morfologi cendawan yang telah dimurnikan setelah diisolasi dari pupa PBK yang mati. Pupa PBK yang terinfeksi oleh cendawan

Penicillium sp. nampak berwarna kehijauan. Konidiofornya hialin yang ber dinding kasar atau halus. Ketiga jenis cendawan entomopatogen mampu menginfeksi pupa PBK karena adanya toksin yang dihasilkan oleh masing-masing cendawan.

E. Cendawan Entomopatogen

Cendawan entomopatogen merupakan salah satu jenis bioinsektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama tanaman. Diketahui terdapat enam kelompok mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai bioinsektisida adalah Cendawan, bakteri, virus, nematoda, protozoa, dan rickettsia (Tanada dan Kaya 1993). Empat kelompok pertama merupakan jenis yang sering digunakan dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan (Kaaya, Mwangi, Ouna, 1996., Prayogo dan Tengkan, 2004).

Mekanisme infeksi cendawan Entomopatogen

Mekanisme infeksi cendawan entomopatogen dapat digolongkan menjadi empat tahapan etologi penyakit serangga yang disebabkan oleh cendawan. Tahap pertama adalah inokulasi, yaitu kontak antara propagul cendawan dengan tubuh serangga. Propagul cendawan entomopatogen berupa konidia karena merupakan cendawan yang berkembang baik secara tidak sempurna. Dalam proses ini, senyawa mukopolisakarida memegang peranan sangat penting. Tahap kedua adalah proses penempelan dan perkecambahan propagul cendawan pada integumen serangga. Kelembaban udara yang tinggi dan bahkan kadang-kadang air diperlukan untuk

perkecambahan propagul cendawan. Cendawan pada tahap ini dapat memanfaatkan senyawa-senyawa yang terdapat pada integumen (Ferron, 1985).

Tahap ketiga yaitu penetrasi dan invasi. Cendawan dalam melakukan penetrasi menembus integumen dapat membentuk tabung kecambah (appresorium) (Bidochka, Kamp, dan Decroos, 2000). Titik penetrasi sangat dipengaruhi oleh konfigurasi morfologi integumen. Penembusan dilakukan secara mekanis atau kimiawi dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Tahap keempat yaitu destruksi pada titik penetrasi dan terbentuknya blastospora yang kemudian beredar ke dalam hemolimfa dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang jaringan lainnya (Strack, 2003). Pada umumnya serangga sudah mati sebelum proliferasi blastospora.

Serangga juga mengembangkan sistem pertahanan diri dengan cara fagositosis atau enkapsulasi dengan membentuk granuloma. Pada waktu serangga mati, fase perkembangan saprofit cendawan dimulai dengan penyerangan jaringan dan berakhir dengan pembentukan organ reproduksi. Pada umumnya semua jaringan dan cairan tubuh serangga habis digunakan oleh cendawan, sehingga serangga mati dengan tubuh yang mengeras seperti mumi. Pertumbuhan cendawan diikuti dengan pengeluaran pigmen atau toksin yang dapat melindungi serangga dari serangan mikroorganisme lain terutama bakteri. Tidak selalu cendawan tumbuh ke luar menembus integumen serangga. Apabila keadaan kurang mendukung, perkembangan

saprofit hanya berlangsung di dalam jasad serangga tanpa ke luar menembus integumen. Dalam hal ini cendawan membentuk struktur khusus untuk dapat bertahan, yaitu arthrospora (Ferron, 1985).

Hasil penelitian Sulistyowati (2002), di Maluku menunjukkan adanya cendawan entomopatogen pada PBK seperti *Beauveria bassiana* Vuill., *Spicaria* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., *Acrostalagmus* sp., dan *Penicillium* sp. Sementara itu di Sulawesi Selatan, Nurariaty (2006) melaporkan bahwa cendawan entomopatogen yang ditemukan pada pupa PBK adalah *B. bassiana*, *Aspergillus* sp., *Gliocephalis* sp., *Fusarium* sp., dan *Penicillium* sp. dan telah dilaporkan bahwa secara alami peranan cendawan-cendawan tersebut masih rendah.

E.1 Cendawan *Penicillium* sp.

Penicillium sp. termasuk golongan cendawan Ascomycetes yang sangat penting di alam serta bermanfaat untuk produksi makanan dan obat-obatan. Cendawan tersebut menghasilkan penisilin, sebuah molekul yang digunakan sebagai antibiotik, yang dapat membunuh atau menghentikan pertumbuhan beberapa jenis bakteri di dalam tubuh

Konidia dari *Penicillium* sp. terlihat jelas pada pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya. Konidia berbentuk bulat dan bersinar (mengkilap) (Gambar 4).



Gambar 4. Konidia dan konidiofor cendawan *Penicillium sp.* (Sumber : Foto Ade Sugiarti, 2012).

Penicillium sp. menghasilkan senyawa metabolit, yang dapat mematikan serangga. Beberapa senyawa metabolit yang bersifat toksin adalah ochratoxin A, brevianamide A, penicilic acid dan citrinin. Senyawa – senyawa tersebut dapat mematikan *Drosophila melanogaster* dan *Spodoptera littoralis* (Peterson *et al.* 1987).

Sebelum cendawan tersebut diaplikasikan pada pertanaman kakao untuk mengendalikan hama PBK, namun sebelumnya perlu dilakukan perbanyakan di laboratorium . Di ketahui terdapat berbagai media berupa media cair maupun media padat. Berbagai jenis media padat yang selama ini diketahui sebagai media tumbuh cendawan tersebut adalah media jagung manis atau jagung lokal + gula 1% yang dapat menghasilkan jumlah konidia dan persentase daya kecambah konidia yang lebih tinggi dibandingkan dengan media lain (Prayogo dan Tengkan, 2004).

Media tumbuh cendawan lain menurut Widayat dan Rayati (1993), adalah media yang mengandung nitrogen dari unsur organik dan paling

banyak digunakan untuk menumbuhkan *Metarhizium anisopliae*. Media sebagai bahan pembawa (*bearer*) spora seperti agar dapat menyediakan hara yang cukup dan sangat dibutuhkan untuk pembentukan konidia cendawan entomopatogen.

Media padat untuk perbanyak cendawan dengan campuran ampas kedelai + serbuk gergaji + dedak merupakan media yang paling efektif untuk pertumbuhan *Trichoderma* sp. dan *Penicillium* sp, karena memiliki kerapatan spora yang tinggi yaitu sebesar $9,07 \times 10^6$ spora/ml (Warsini, 2005).

Media padat lain yang dapat dimanfaatkan untuk perbanyak cendawan yaitu ampas kelapa memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi terutama protein. Hal ini menyebabkan ampas kelapa berpotensi untuk diolah menjadi pakan. Salah satu cara yang dapat dipergunakan untuk mengolah ampas kelapa menjadi pakan adalah dengan fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan spora *Aspergillus niger*. Proses fermentasi dilakukan secara bertahap, yaitu dengan fermentasi aerob kemudian dilanjutkan dengan fermentasi anaerob (proses enzimatis). Hasil analisa menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar protein ampas kelapa setelah fermentasi dari 11,35% menjadi 26,09% atau sebesar 130% dan penurunan kadar lemak sebesar 11,39%. (Miskiyah dkk, 2006). Nurariaty dan Raodah (2010) mengemukakan bahwa media padat seperti ampas kelapa lebih baik untuk pertumbuhan cendawan *Penicillium* sp. dibandingkan dengan media beras, jagung dan kombinasi ampas kedelai+serbuk gergaji+dedak.

Dalam rangka aplikasi cendawan pada pupa PBK, maka diperlukan suatu formulasi yang tepat seperti bentuk tepung dan cair. Demikian pula halnya dengan pemberian bahan penambah seperti kitin.

F. Kitin.

Secara kimia kitin adalah molekul besar (polimer). Senyawa ini tidak dapat disintesis secara kimia dan tersusun oleh satuan molekul N-asetil-D-glukosamin. Kalau bagian asetil ini dibuang, maka kita akan memperoleh kitosan. Struktur ini memiliki fungsi yang lebih bervariasi beberapa contoh aplikasi kitin dan kitosan dalam bidang nutrisi (suplemen dan sumber serat), pangan (*nutraceutical*, flavor, pembentuk tekstur, emulsifier, penjernih minuman), medis (mengobati luka, *contact lens*, membran untuk dialisis darah, antitumor), kesehatan kulit dan rambut (krim pelembab, *hair care product*), lingkungan dan pertanian (penjernih air, menyimpan benih, fertiliser dan fungisida) lain-lain (proses finishing kertas dan menyerap warna pada produk cat) (Suhartono, 2006).

Kitosan merupakan produk hasil turunan kitin dengan rumus Nasetil-D-Glukosamin, merupakan polimer kationik yang mempunyai jumlah monomer sekitar 2000-3000 monomer dan tidak toksik. Kitosan diproduksi dengan proses deasetilasi lapisan kitin yang terdapat di cangkang hewan crustaceae (udang-udangan) seperti udang, lobster, dan kepiting. Kulit kepiting mengandung protein (15,60-23,90%), kalsium karbonat (53,70-

78,40%) dan kitin (18,70-32,20%). Hal ini tergantung pada jenis kepiting tempat hidupnya. Kandungan kitin dalam kulit udang lebih sedikit dari kulit kepiting tetapi kulit udang lebih mudah didapatkan dan tersedia dalam jumlah yang lebih banyak sebagai limbah (Widodo, 2009).

Kitosan sebagai polimer film dari karbohidrat lainnya, memiliki sifat selektif *permeable* terhadap gas-gas CO₂ dan O₂, tetapi kurang mampu menghambat perpindahan air. Pelapis yang tersusun dari polisakarida dan turunannya hanya sedikit menahan penguapan air, tetapi efektif untuk mengontrol difusi dari berbagai gas (Nisperroscarriedo 1995 dalam Herjanti 1997).

Di bidang pertanian, kitosan bukan hanya mampu membentuk lapisan tipis permeabel terhadap gas sehingga dilaporkan mampu menghambat pemasakan buah, tetapi juga dilaporkan mampu berfungsi sebagai biofungisida. Karena peran gandanya ini, dan diklaim 100% aman bagi kesehatan, perannya di bidang pertanian menjadi semakin populer. Walaupun demikian, informasi ilmiah tentang penggunaannya sebagai pelapis buah (fruit coating) pada buah-buah tropis sulit diperoleh (Widodo, 2009). Dalam industri pangan, kitin dan kitosan bermanfaat sebagai pengawet dan penstabil warna produk.

Pada serangga, kitinase berperan mendegradasi dinding sel sebagai rangkaian dari proses morfogenesis. Pelepasan kitinase oleh serangga dilakukan pada kondisi dan waktu yang tepat, serta diatur secara hormonal.

Hanya ketika benar-benar dibutuhkan enzim ini baru dikeluarkan. Fenomena ini mengindikasikan bahwa kitinase bersifat detrimental (mematikan) terhadap serangga, sehingga membuka peluang pemanfaatan kitinase dalam mengendalikan hama.

Aplikasi kitinase dalam pengendalian serangga hama melalui kloning gen tersebut ke tanaman telah banyak dilaporkan (Leger et al, 1996; Barboza-Corona et al, 2003), namun penggunaannya dalam menekan hama tebu masih sangat sedikit. Penelitian Downing et al (2000) menunjukkan bahwa kloning gen kitinase dari *Serratia marcescens* ke bakteri yang hidup pada daun tebu (*Pseudomonas aeruginosa*) mampu menekan hama penggerek batang, *Eldana saccharina*. Kitinase bakteri dilaporkan pula oleh Regev , (1996) bersinergi dengan endotoksin dari *B. thuringiensis* dalam menekan larva *Spodoptera littoralis* pada tebu. Secara umum efektivitas pengendalian hama tanaman menggunakan gen kitinase yang introduksi masih relatif rendah. Hal ini diduga akibat pemilihan kitinase yang tidak sesuai dengan kitin yang akan dijadikan target degradasi. Secara alami, kitinase dan kitin sangat bervariasi lebar. Dalam famili yang sama kitinase memiliki spesifikasi terhadap substrat yang berlainan dan mode of action yang berbeda, sesuai dengan kebutuhan masing-masing organisme serta variasi bentuk-bentuk kitin di alam. Kitin bervariasi dalam derajat kristalinitas, panjang rantai polimer, derajat deasetilasi, dan ikatan kovalen dengan senyawa lain. Oleh karena itu, introduksi gen kitinase kedalam tanaman

harus didahului oleh pemilihan kitinase yang memiliki aktivitas tinggi terhadap target, serta memiliki karakteristik yang sesuai dengan kondisi inang. Untuk keperluan pengendalian hama penggerek pucuk tebu, dibutuhkan kitinase yang mampu mendegradasi kutikel atau sistem pencernaan penggerek, optimum bekerja pada pH alkalin (pH pencernaan penggerek), inducible (diinduksi oleh perlakuan supaya bersifat selektif), dan tahan terhadap kadar gula tinggi.

Kitinase merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam entomopatogenisitas. Berbagai riset melaporkan bahwa inisiasi invasi patogen terhadap serangga melibatkan kitinase. Enzim ini dipakai oleh bakteri dan fungi dalam menyerang serangga, dengan cara mendegradasi kitin pada kutikel dan membrane pencernaan. Fungi entomopatogenik seperti *Beauveria bassiana*, *Metharizium anisoplae* and *Verticillium lecanii* adalah agen biokontrol yang bisa menekan hama tebu seperti uret, boktor, apid, dll. Pemanfaatan kitinase dari fungi-fungi ini secara langsung ke tanah dilaporkan bisa mengurangi serangan hama (Harman *et al*, 2002).

Menurut Ghaouth (1991) dan Ramadhan (2010) kitosan adalah salah satu bahan yang bisa digunakan untuk pelapisan buah, yang merupakan polisakarida berasal dari limbah kulit udang, kepiting, dan yang termasuk ke dalam Crustaceae. Kitosan merupakan suatu senyawa poli (N-amino-2 deoksi β -D-glukopiranos) atau glukosamin hasil deasetilasi kitin/poli (N-asetil-2 amino-2-deoksi β - D-glukopiranos) yang diproduksi dalam jumlah

besar di alam. Selain itu, digunakan untuk memperpanjang umur simpan buah stroberi. Pemberian lapisan tipis pada permukaan buah untuk menghambat keluarnya gas, uap air dan menghindari kontak dengan oksigen, sehingga proses pemasakan dan pencoklatan buah dapat diperlambat, merupakan salah satu upaya yang dapat diterapkan. Lapisan yang ditambahkan di permukaan buah ini tidak berbahaya dan dapat ikut dikonsumsi bersama buah.

BAB III

BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Jurusan hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Hasanuddin, Makassar yang berlangsung mulai Mei sampai Desember 2012.

B. Metode penelitian

1. Persiapan Cendawan *Penicillium* sp.

Isolat *Penicillium* sp. diisolasi dari kadafer pupa PBK yang terinfeksi oleh cendawan yang di dapat dari hasil ekspolarasi di Kab. Polmas, Sulawesi Selatan. Koleksi *Penicillium* sp.(Nurariaty, 2006) kemudian dibuat biakan murninya pada media PDA, kemudian diinfeksi kembali pada pupa PBK, untuk mempertahankan virulensinya. Setelah didapat biakan murninya kemudian diperbanyak lagi pada media PDA, yang selanjutnya digunakan untuk pengujian-pengujian selanjutnya.

2. Persiapan Media

Komposisi media padat yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

a. PDA (Potato Dextrose Agar)

Kentang sebanyak 200 gram dipotong-potong dadu kemudian dimasak dengan aquades hingga mendidih, kemudian ekstrak dipisahkan dengan kentang melalui penyaringan. Selanjutnya ekstrak tersebut

dicampur dengan agar-agar sebanyak 17 gram dan gula sebanyak 20 gram dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan kembali hingga mendidih. Tutup erlenmeyer dengan aluminium foil lalu diautoclave selama 15 menit.

b. Media Beras

Media perbanyakan yang digunakan adalah beras yang telah direndam selama 1 x 24 Jam. Setelah direndam, beras lalu ditiriskan. Beras tersebut kemudian dimasukkan dalam kantong plastik tahan steril sebanyak 100 gram lalu disterilisasi dalam autoclave dengan suhu 120⁰C, tekanan 1 atm selama 120 menit. Selanjutnya media tersebut didinginkan, kemudian dari isolat cendawan *Penicillium* sp. dipindahkan sebanyak 5 potong dengan menggunakan korbahrer kedalam media beras steril dan diinkubasikan pada suhu kamar.

c. Media Cair (Potato Dexrose)

Kentang sebanyak 200 gram dipotong-potong dadu kemudian dimasak dengan aquades hingga mendidih, kemudian ekstrak dipisahkan dengan kentang melalui penyaringan. Selanjutnya ekstrak tersebut dicampur dengan gula sebanyak 20 gram dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan kembali hingga mendidih. Tutup erlenmeyer dengan aluminium foil lalu diautoclave selama 15 menit.

3. Produksi Kitin

Cangkang kepiting dibersihkan, dikeringkan, dan ditepungkan sampai halus dengan menggunakan mortal dan di blender sampai halus. Selanjutnya cangkang yang halus kemudian disaring, setelah disaring lalu dikeringkan pada oven suhu 50-55 °C selama 24 jam. Produk yang diperoleh disebut kitin, berupa tepung berwarna putih kemerahan (Gambar Lampiran 1). Kitin ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan pada masing – masing erlenmeyer ukuran 100 ml yang berisi media cair. Setelah itu masukkan cendawan *Penicillium* sp. sebanyak masing – masing 1 buah yang telah dikockborer.

4. Pengujian – Pengujian

Pelakuannya adalah sebagai berikut::

- P0₁ = *Penicillium* sp. + PDA
- P0₂ = *Penicillium* sp. + Beras
- P0₃ = *Penicillium* sp. (Cair)
- P1 = *Penicillium* sp. + PDA + Kitin
- P2 = *Penicillium* sp. + Beras + Kitin
- P3 = *Penicillium* sp. + Kitin

1. Viabilitas *Penicillium* sp.

Untuk menghitung viabilitas *Penicillium* sp. dilakukan dengan menyiapkan tiga buah kaca preparat yang masing – masing ditempatkan pada tutup cawan petri yang dilapisi kertas saring steril yang lembab.

Kaca preparat kemudian ditetesi agar-agar cair dengan pipet, setelah membeku koloni *Penicillium* sp. pada cawan petri dari media PDA dan media PDA yang dicampurkan kitin ditempatkan terbalik diatas tutup cawan petridish tersebut. Hal tersebut di ulang sebanyak tiga kali. Setelah 12 jam kaca preparat tersebut di amati di bawah mikroskop. Perkecambahan konidia dihitung dengan rumus :

$$G = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

dengan :

G = Germinasi (% keambah)

a = Jumlah konidia berkeambah

b = Jumlah konidia tidak berkeambah

2. Pertumbuhan Cendawan *Penicillium* sp.

Cendawan *Penicillium* sp. ditumbuhkan pada media PDA dapat dilihat pada Gambar Lampiran 3. Setelah cendawan tersebut tumbuh, kemudian dikockborer. Cendawan *Penicillium* sp. yang telah dikoch borror sebanyak 1 buah dimasukkan masing – masing kedalam erlenmeyer ukuran 100 ml yang berisi media cair tanpa kitin dan media cair yang diberi kitin kemudian di shaker. Dan masing-masing diulang sebanyak 3 kali (Gambar Lampiran 3). Kemudian diamati pertumbuhannya mulai hari

ke 3, 6, 9 dan 12 hari. Dengan cara menghitung jumlah spora/ml, menimbang berat (g) dan berat kering (g).

Setelah menimbang berat basah dan berat kering cendawan *Penicillium* sp Dilakukan pengenceran pada masing-masing perlakuan untuk mendapatkan konsentrasi 10^6 . Sebelum mendapatkan konsentrasi 10^6 , terlebih dahulu menghitung jumlah spora per ml dengan menggunakan haemositometer di bawah mikroskop. Jumlah spora dihitung dengan rumus:

$$S = \frac{t}{N \times 0,25} \times 10^6$$

dengan:

t = Jumlah spora pada kotak yang diamati

N = Jumlah kotak yang diamati pada haemositometer

0,25 = Volume suspensi spora dalam haemositometer

10^6 = Konstanta

3. Patogenitas Cendawan

Setelah menghitung jumlah spora dan mendapatkan beberapa konsentrasi, maka dilakukan pengujian patogenitas yang diketahui dengan menghitung mortalitas pupa PBK. Terlebih dahulu menyiapkan pupa sebanyak 7 ekor ke cawan petridish yang dialasi kertas saring dengan tiga ulangan, lalu disemprotkan sebanyak 1 ml cairan dari masing-masing perlakuan. Hal tersebut dibiarkan hingga 24 jam. Setelah

24 jam dilakukan pengamatan jumlah pupa yang mati dan persentase mortalitasnya hingga semua pupa mati. Pengamatan dilakukan setiap hari, lalu dihitung mortalitasnya melalui rumus:

$$M = \frac{a}{b} \times 100\%$$

dengan:

M = Mortalitas pupa PBK

a = Jumlah pupa yang terinfeksi / mati

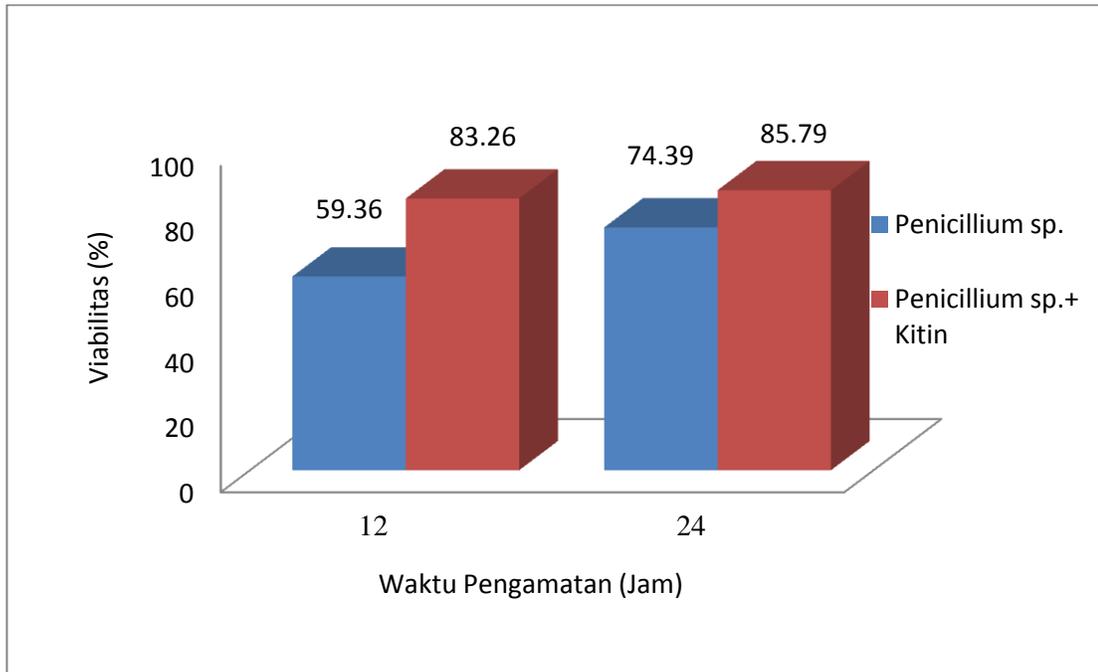
b = Jumlah pupa yang diamati

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), jika berbeda nyata selanjutnya di uji BNT.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN
HASIL

4.1 Viabilitas Cendawan *Penicillium* sp.

Hasil pengamatan viabilitas cendawan *Penicillium* sp. dengan perlakuan di beri kitin dan tanpa kitin dapat dilihat pada Tabel Lampiran 1 sedangkan rata – ratanya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Rata – rata Viabilitas Cendawan *Penicillium* sp.

Pada Gambar 5 terlihat bahwa cendawan *Penicillium* sp. baik yang diberi kitin maupun tanpa kitin mulai berkecambah pada waktu 12 – 24 jam

setelah aplikasi, cendawan yang diberi kitin pada waktu 24 jam pertumbuhan konidianya sudah maksimal.

Viabilitas *Penicillium* sp lebih tinggi jika diberi kitin (83,26%) dibandingkan tanpa kitin (59,36%) pada awal pengamatan, demikian pula pada pengamatan berikutnya.

4.2 Pertumbuhan Koloni *Penicillium* sp.

Pertumbuhan cendawan *Penicillium* sp. diketahui dari jumlah spora dan berat basah serta berat keringnya. Jumlah spora selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel Lampiran 2, sedangkan berat kering dan berat basahnya dapat dilihat pada Tabel Lampiran 3. Rata – rata jumlah spora, berat basah dan berat kering dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata- rata Jumlah Spora, Berat Basah dan Berat Kering

Parameter Pengamatan	Perlakuan	Pengamatan (hari) ke -			
		3	6	9	12
jumlah spora (konidia/ml)	<i>Penicillium</i> sp.	1.59×10^5	4.99×10^5	0.48×10^6	0.24×10^6
	<i>Penicillium</i> sp. + kitin	3.48×10^6	4.59×10^6	14.34×10^7	10.9×10^7
berat basah (g)	<i>Penicillium</i> sp.	4.17	4.01	4.81	5.35
	<i>Penicillium</i> sp. + kitin	8.12	8.81	9.17	9.61
berat kering (g)	<i>Penicillium</i> sp.	4.10	4.27	4.66	4.99
	<i>Penicillium</i> sp. + kitin	5.46	5.70	6.21	6.65

Pada Tabel 2 terlihat bahwa jumlah spora *Penicillium* sp. lebih banyak jika diberi kitin dibanding tanpa kitin yaitu masing – masing 3.48×10^6 dan 1.59×10^5 konidia/ml pada hari ketiga. Demikian halnya dengan berat basah dan berat kering konidia. Jumlah spora, berat basah dan berat kering cenderung meningkat terus seiring dengan lamanya waktu pengamatan.

4.3 Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao (*C. cramerella*).

Hasil pengamatan mortalitas pupa PBK dilihat pada Tabel Lampiran 4 sedangkan rata – ratanya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata – rata Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao (*C. cramerella*) per hari

Perlakuan	Mortalitas Pada Hari Ke - (%)			
	1	2	3	4
<i>Penicillium</i> sp. + PDA (P01)	0.0	4.8 ^b	19.0 ^b	33.3 ^b
<i>Penicillium</i> sp. Beras (P02)	0.0	0.0 ^c	4.8 ^b	14.3 ^b
<i>Penicillium</i> sp. (Cair) (P03)	0.0	0.0 ^c	0.0 ^b	19.0 ^b
<i>Penicillium</i> sp. PDA +Kitin (P1)	0.0	14.3 ^a	47.6 ^a	81.0 ^a
<i>Penicillium</i> sp. Beras + Kitin (P2)	0.0	0.0 ^c	19.0 ^b	38.1 ^b
<i>Penicillium</i> sp. + Kitin (P3)	0.0	0.0 ^c	9.5 ^b	23.8 ^b

Ket. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT

Pada Tabel 3 terlihat bahwa mortalitas pupa mulai terjadi pada hari kedua yakni pada perlakuan P01 dan P1, sedangkan P02, P2 dan P3 kematian pupa PBK terjadi pada hari ketiga serta P03 pada hari keempat. Mortalitas pupa PBK paling tinggi terjadi pada perlakuan P1 kemudian P2, P01 dan P02, lalu P3 dan paling rendah P03.

Analisis sidik ragam (Tabel Lampiran 5 – 11) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara keenam perlakuan. Hasil Uji BNT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan sejak awal pengamatan hingga akhir pengamatan.

PEMBAHASAN

Cendawan *Penicillium* sp. baik yang diberi kitin maupun tanpa kitin mulai berkecambah pada waktu 12 – 24 jam setelah aplikasi, cendawan yang diberi kitin pada waktu 24 jam pertumbuhan konidianya sudah maksimal. Viabilitas *Penicillium* sp. lebih tinggi jika diberi kitin (83,26%) dibandingkan tanpa kitin (59,36) pada awal pengamatan, demikian pula pada pengamatan berikutnya. Hal ini menunjukkan bahwa Kitosan memiliki sifat *biodegradable* dan biokompatibel, tidak mengandung racun dan banyak digunakan dalam industri. Kitosan dan turunannya merupakan antimikroba alami dan beberapa studi telah membuktikan kemampuan kitosan sebagai antimikroba. Secara umum mekanisme penghambatan senyawa antimikroba diklasifikasikan menjadi 3 yaitu: (1) interaksi dengan merusak membran sel, (2) inaktivasi enzim-enzim dan (3) perusakan bahan-bahan genetic mikroba (Coma *et al.* 2002). Menurut Thatte (2004) sifat kitosan sebagai antimikroba dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya sumber kitosan, derajat deasetilasi (DD) kitosan, unit monomer kitosan, mikroba uji, pH media tumbuh mikroba dan kondisi lingkungan (kadar air, nutrisi yang dibutuhkan mikroba).

Jumlah spora *Penicillium* sp. lebih banyak jika diberi kitin dibanding tanpa kitin yaitu masing – masing 3.48×10^6 dan 1.59×10^5 konidia/ml pada hari ketiga. Demikian halnya dengan berat basah dan berat kering konidia. Jumlah spora, berat basah dan berat kering cenderung meningkat terus

seiring dengan lamanya waktu pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa nutrisi yang terkandung pada *Penicillium* sp. yang diberi kitin sesuai dengan viabilitas *Penicillium* sp. viabilitas yang tinggi sangat menentukan keefektifan suatu cendawan entomopatogen (Prayogo dan Tengkan, 2002).

Mortalitas serangga sangat ditentukan oleh kerapatan konidia cendawan entomopatogen yang diaplikasikan (Baehaki dan Noviyanti 1993; Haryanta *et al.* 1993; Nurdin *et al.* 1993; Widayat dan Rayati 1993b). Kerapatan konidia yang optimal untuk mengendalikan hama bergantung pada jenis serangga yang akan dikendalikan.

Neves dan Alves (2004) menyatakan bahwa waktu kematian serangga dipengaruhi oleh dosis aplikasi dan virulensi dari masing–masing isolat. Tingkat patogenisitas cendawan patogen untuk dapat menyebabkan penyakit ditentukan oleh berbagai faktor, termasuk oleh sifat fisiologi dari inang seperti mekanisme pertahanan dari inang dan sifat fisiologi dari cendawan seperti faktor viabilitas, laju pertumbuhan, kemampuan bersporulasi dan metabolisme sekunder yang dihasilkan yaitu berupa kemampuan menghasilkan enzim dan toxin serta pengaruh lingkungan (Butt *et al.* 2001).

Hal lainnya tentang patogenisitas spesies cendawan diduga terkait dengan kemampuan menghasilkan enzim dan mycotoxins selama berjalannya proses infeksi pada serangga seperti pada saat kontak dengan kutikula dan di dalam hemocoel (Tanada & Kaya 1993). Hal ini terlihat pada perilaku serangga yang terinfeksi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan maka dapat disimpulkan bahwa Jumlah spora *Penicillium* sp. lebih banyak jika diberi kitin dibanding tanpa kitin yaitu masing – masing 3.48×10^6 dan 1.59×10^5 konidia/ml pada hari ketiga. *Penicillium* sp. yang ditambahkan kitin pada media PDA dapat mematikan pupa PBK sebesar 95,2 % pada perlakuan P1. dan berpengaruh terhadap pertumbuhan konidia cendawan.

5.2 Saran

Perlu diadakan penelitian selanjutnya mengenai aplikasi cendawan *penicillium* sp. pada pertanaman kakao dan identifikasi karakteristik morfologi dan strain dari cendawan *Penicillium* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Alba, M.C. Salvador; T.C. Galbizo; dan E. Thomas. 1985. Additional Information on The Biology of *Acrocercrops cramerella* Snellen (Lepidoptera : Gracillaridae) In The Phippiness. Philip. Ent. 6(3) : 243 - 253
- Anonim, 2004. Pengusaha dituntut atasi PBK. Fajar, 10 September 2007. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/p3212025.pdf>
- Anshari A., 2000. Karakteristik Tanaman Kakao yang Resisten Terhadap Penggerek Buah Kakao *Conopomorpha cramerella* Snellen. Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
- Atmawinata, O. 1993. Hama Penggerek Buah Kakao (PBK), Suatu Ancaman Terhadap Kelestarian Perkebunan Kakao di Indonesia. Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao (15) : 15
- Baehaki, S.E. dan Noviyanti. 1993. Pengaruh Umur Biakan *Metarhizium anisopliae* Strain Lokal Sukamandi Terhadap Perkembangan Wereng Coklat. hlm.113–124. Dalam E. Martono, E. Mahrub, N.S. Putra, dan Y. Trisetyawati (Ed.). Simposium Patologi Serangga I. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993.
- Barboza-Corona JE, Nieto-Mazzocco E, Velazquez-Robledo R, Salcedo-Hernandez R, Bautista M, Jimenez B, Ibarra JE. 2003. Cloning, sequencing, and expression of the chitinase gene *chiA74* from *Bacillus thuringiensis*. Appl Environ Microbiol 69: 1023-1029.
- Bennu H., 2006. Hama Penggerek Buah Kakao *Conopomorpha cramerella* Snellen dan Pengendaliannya.
- Bidochka, M.J., A.M. Kamp, and J.N.A. Decroos. 2000. Insect Pathogenic Fungi : From genes to populations. Fungal Pathol, 171-193.
- Butt, T.M.; Jackson, C.; Magan, N. 2001. *Fungi as Biocontrol Agents: progress, problems and potential*. United Kingdom: CABI Publishing.
- Depparaba, 2002. Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella* Snellen) dan Penanggulangannya. Jurnal Litbang Pertanian 21 (2) 2002. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan.

- Downing KJ, Lelie G, Thomson JA. 2000. Biocontrol of the sugarcane borer *Eldana saccharina* by expression of the *Bacillus thuringiensis cry1Ac* and *Serratia marcescens chiA* genes in sugarcane-associated bacteria. *Appl Environ Microbiol* 66: 2804-2810.
- Ferron, P. 1985. Fungal control. *Comprehensive Insect Physiology. Biochem Pharmacol.* (12) : 313-346.
- Ghaout, A.E., Aul, J., Ponampalan, R. 1991. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science* 56 (6).
- Hase, B., 2006. Hama Penggerek Buah Kakao dan Metode Pengendaliannya. <http://www.Tanindo.Com/abdi>. 12 hal. Makassar.
- Harman GE, Broadway RM, Tronsmo A, dan Lorito M. 2002. US Patent No. 5,173,419. Purified chitinases and use thereof.
- Hindayana, D., Judawi, D. Priharyanto, D., Luther, G. C., Mangan, J., Untung, K., Sianturi, M., Watnodirharjo, M., Mundy, P., Riyatno, 2002. Musuh Alami, Hama dan Penyakit Tanaman kakao. Proyek Pengendalian Hama Terpadu dan Perkebunan Rakyat. Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan Departemen Pertanian, Jakarta.
- Kaaya, G.P., E.N. Mwangi, and E.A. Ouna. 1996. Prospects for biological control of livestock ticks *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum* using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* (67): 15-20.
- Kalshoven L.G.E. 1981. *The Pest of Crops In Indonesia*. PT Ichtar Baru Van Hoeve, Jakarta.
- Lacey L A, Brooks W M. 1997. Initial handling and diagnosis of diseased insects. Di dalam Lacey LA editor. *Biological Techniques. Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press. Hlm 1 – 15
- Leger RJST, Joshi L, Bidochka MJ, Rizzo NW, Roberts DW. 1996. Characterization and ultrastructural localization of chitinases from *Metharizium anisopliae*, *M. flavoviride* and *Bauveria bassiana* during fungal invasion of a host (*Manduca sexta*) cuticle. *Appl Environ Microbiol* 62: 907-912.

- Miskiyah., Mulyawati., dan Haliza., 2006. Pemanfaatan Ampas Kelapa Limbah Pengolahan Murni Menjadi Pakan. Bogor.
- Neves, P.M.O.J.; Alves, S.B. 2004. External events related to the infection process of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of the Neotropical Entomol 33(1): 051-056.
- Nurnasari, E., 2009. Pemanfaatan Senyawa Kimia Alami Sebagai Alternatif Pengendalian Hama Tanaman. http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/kimia_pangan/pemanfaatan-senyawa-kimia-alami-sebagai-alternatif-pengendalian-hama-tanaman diakses pada Kamis, 08 Maret 2012.
- Nurariaty Agus, 2006. Identifikasi Cendawan Entomopatogen dan Peranannya Sebagai Agens Hayati Pupa Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella* Snellen) (Lepidoptera : Gracillariidae) Dipertanaman Kakao (*Theobroma Cacao* L.). Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurariaty A. dan Raodah. 2010. Viabilitas dan Patogenitas Cendawan *Penicillium* sp. pada berbagai media sebagai pengendali pupa Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella*) Snellen (Lepidoptera : Gracillariidae). Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Prayogo, Y. dan W. Tengkonon., 2004. Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Daya Kecambah, Sporulasi dan Virulensi *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin Isolat Kandalprayak Pada Larva *Spodoptera litura*. SAINTEKS. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian. (9)4: 233-242.
- Peterson, R.R.M. Simmond. M.S. J and Blaney. W.M. 1987. Mycotoxic effect of characterized extracts of *Penicillium* isolates and purified secondary including metabolites (including mycotoxin) on *Drosophila melanogaster* and *Spodoptera littoralis* J. *Invertebr. Pathol.* 50. 124-133
- Regev A, Keller M, Strizhov N, Sneh B, Prudovsky E, Chet I, Ginzberg I, Koncz- Kalman Z, Koncz C, Schell J, Zilberstein A. 1996. Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* endotoxin and a bacterial

endochitinase against *Spodoptera littoralis* larvae. Appl Environ Microbiol 62: 3582-3586.

Salahuddin, A., 2003. Tangkis Hama PBK, Jurnal Soppeng. <http://www.jurnalcelebes.com/view.php/>

Sigh, K. 1991. An Illustrated Manual on Identification of some Seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their Mycotoxin.

Siregar, T., Riyadi dan Nuraeni. 2000. Budidaya, Pengelolaan dan Pemasaran Coklat. Penebar Swadaya. Jakarta.

Strack, B.H. 2003. Biological control of termites by the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. http://www.utoronto.com/forest/termite/metani_1.htm [30 Januari 2013].

Subadiyasa, 1997. Proses Kitin dan Kitosan. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/22595/4/Chapter%20II.pdf> diakses tanggal 12 Agustus 2012. Universitas Sumatra Barat.

Suhartono, 2006. Kegunaan Kitin dan Kitosan. Teknologi Pangan dan Agroindustri, Volume 1 Nomor 10. Jurusan Ilmu Pangan Universitas Pertanian Bogor. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/pangan/ipb/Kitin%20dan%20kitosan.pdf

Sulistyowati E dan Y.D. Junianto, 2002. Inventaris Musuh Alami Hama Penggerek Buah Kakao (PBK) *Conopomorpha cramerella* Snellen Di Propinsi Maluku, Pelita Perkebunan II (2). 86-89.

Suparno T. 1999. Pengendalian infestasi Hama Baru Penggerek Buah Kakao *Conopomorpha cramerella* Snellen. Perkebunan kakao di PT Pamorganda, Bengkulu Utara.

Suparno T. 2004. Konsep Penanggulangan *Conopomorpha cramerella* Snellen di Provinsi Bengkulu. Seminar Penanggulangan OPT. Disbun Dati I Bengkulu.

Susanto, F.X. 2004. Tanaman Kakao Budidaya dan Pengolahan Hasil. Kanisius. Yogyakarta.

- Tanada, Y., and H.K. Kaya, 1993. Insect Pathology. Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publ, San Diego, New York, London.
- Wardoyo, 1981. The Cocoa Podborer A Major Hindrance To Cocoa Development. Indonesian Agriculture Research development Journal, (2) : 1-4.
- Wardoyo, 1994. Strategi Penggerek Buah Kakao di Indonesia. Kanisius. Yogyakarta.
- Warsini, W., 2005. Pengaruh Media Perbanyakan (Ampas kedelai, Serbuk Gergaji dan Dedak Padi) Terhadap Pertumbuhan Jamur Antagonis (*Trichoderma* sp. dan *Penicillium* sp.). Universitas Padjajaran.
- Widayat, W. dan D.J.Rayati. 1993. Hasil Penelitian Jamur Entomopatogenik Lokal dan Prospek Penggunaannya sebagai Insektisida Hayati. Hal 61-74. Dalam E.Martono, E.Mahrub, N.S.Putra, dan Y.Trisetyawati (Ed). Simposium Patologi Serangga I. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 12-13 Oktober 1993.
- Widodo, 2009. Pengolahan Kitin dan Kitosan. Teknologi Pangan dan Agroindustri, Volume 1 Nomor 10. Universitas Sumatra Utara. Sumatra Utara.
<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/22595/4/Chapter%20II.pdf> diakses tanggal 12 Agustus 2012.
- Wiryaputra, S. Endang Sulistyowati, dan A. A. Prawoto. 1994. Teknik Pengendalian Hama Penggerek Buah Kakao *Conopomorpha cramerella* (Snellen). Porosiding Lokakarya Penanggulangan Hama Penggerek Buah Kakao (PBK) di Indonesia. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao. Jember, 08 Februari 1994. Hlm. 37-53
- Zakiah, et al. 2007. Pengolahan Kitin dan Kitosan. Teknologi Pangan dan Agroindustri, Volume 1 Nomor 10. Universitas Sumatra Utara. Sumatra Utara.
<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/22595/4/Chapter%20II.pdf> diakses tanggal 12 Agustus 2012.

LAMPIRAN – LAMPIRAN

Tabel Lampiran 1 Viabilitas Cendawan *Penicillium* sp.

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan (Jam) ke -	
		12	24
<i>Penicillium</i> sp.	1	70	79.63
	2	40.54	79.41
	3	69.77	72.5
	4	57.14	66
	Rata-rata	59.36	74.39
<i>Penicillium</i> sp. + Kitin	1	87.5	82.76
	2	86.11	94
	3	84.91	86.76
	4	74.51	79.63
Rata-rata		83.26	85.79

Tabel Lampiran 2. Jumlah Spora Cendawan *Penicillium* sp.

Perlakuan	Ulangan	Jumlah Spora (Hari ke-)			
		3	6	9	12
Penicillium + Kitin	1	2.11×10^6	3.14×10^6	23.14×10^7	8.44×10^7
	2	4.22×10^6	4.52×10^6	9.72×10^7	12.52×10^7
	3	4.12×10^6	6.12×10^6	10.17×10^7	11.82×10^7
	Rata2	3.48×10^6	4.59×10^6	14.34×10^7	10.92×10^7
Penicillium Tanpa Kitin	1	1.33×10^5	6.17×10^5	0.11×10^6	0.31×10^6
	2	2.13×10^5	4.27×10^5	0.14×10^6	0.11×10^6
	3	1.33×10^5	4.53×10^5	0.21×10^6	0.31×10^6
	Rata2	1.59×10^5	4.99×10^5	0.48×10^6	0.24×10^6

Tabel Lampiran 3. Berat Basah dan Berat Kering Spora Cendawan *Penicillium* sp.

Perlakuan	Ulangan	Hari Ke-							
		Berat Basah (g)				Berat Kering (g)			
		3	6	9	12	3	6	9	12
Penicillium + Kitin	1	4.21	5.2	5.37	6.56	3.02	3.55	3.65	3.42
	2	5.01	5.37	6.12	4.95	4.85	4.01	4.37	4.02
	3	15.13	15.87	16.01	17.31	14.1	13.01	12.01	11.21
	Rata-rata	8.12	8.81	9.17	9.61	7.32	6.86	6.68	6.22
Penicillium Tanpa Kitin	1	4.96	4.12	5.97	6.52	4.05	4.02	3.21	3.13
	2	2.89	2.97	3.23	3.71	1.97	1.13	1.03	0.65
	3	4.67	4.93	5.23	5.82	3.53	2.67	2.57	2.47
	Rata-rata	4.17	4.01	4.81	5.35	3.18	2.61	2.27	2.08

Tabel Lampiran 4. Mortalitas Pupa Penggerek Buah Kakao setelah Aplikasi

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari ke -							Rata-Rata
		I	II	III	IV	V	VI	VII	
PO1	1	0.00	0.00	14.29	28.57	42.86	57.14	57.14	28.57
	2	0.00	0.00	0.00	0.00	14.29	28.57	28.57	10.20
	3	0.00	14.29	42.86	71.43	85.71	85.71	85.71	55.10
Rata-rata		0.00	4.76	19.05	33.33	47.62	57.14	57.14	31.29
PO2	1	0.00	0.00	14.29	0.00	42.86	57.14	71.43	26.53
	2	0.00	0.00	0.00	28.57	57.14	85.71	85.71	36.73
	3	0.00	0.00	0.00	14.29	42.86	71.43	85.71	30.61
Rata-rata		0.00	0.00	4.76	14.29	47.62	71.43	80.95	31.29
PO3	1	0.00	0.00	0.00	14.29	14.29	14.29	14.29	8.16
	2	0.00	0.00	0.00	28.57	28.57	28.57	28.57	16.33
	3	0.00	0.00	0.00	14.29	14.29	14.29	14.29	8.16
Rata-rata		0.00	0.00	0.00	19.05	19.05	19.05	19.05	10.88
P1	1	0.00	14.29	42.86	71.43	100.00	100.00	100.00	61.22
	2	0.00	14.29	42.86	71.43	85.71	85.71	85.71	55.10
	3	0.00	14.29	57.14	100.00	100.00	100.00	100.00	67.35
Rata2		0.00	14.29	47.62	80.95	95.24	95.24	95.24	61.22

P2	1	0.00	0.00	14.29	28.57	57.14	71.43	85.71	36.73
	2	0.00	0.00	14.29	28.57	42.86	57.14	71.43	30.61
	3	0.00	0.00	28.57	57.14	71.43	85.71	100.00	48.98
Rata - rata		0.00	0.00	19.05	38.10	57.14	71.43	85.71	38.78
P3	1	0.00	0.00	14.29	42.86	57.14	71.43	71.43	36.73
	2	0.00	0.00	14.29	14.29	28.57	28.57	28.57	16.33
	3	0.00	0.00	0.00	14.29	28.57	28.57	28.57	14.29
Rata-rata		0.00	0.00	9.52	23.81	38.10	42.86	42.86	22.45

Tabel Lampiran 5a. Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 1

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
P01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Jumlah	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Tabel Lampiran 5b. Sidik Ragam Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 1

SK	db	JK	KT	F. HIT	F. Tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	5	0	0	tn	3.11	5.06
Acak	12	0	0			
Total	17	0				

FK 0

KK 0

Tabel Lampiran 6a. Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 2

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
P01	0.00	0.00	14.29	14.29	4.76
P02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P1	14.29	14.29	14.29	42.86	14.29
P2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Jumlah	14.29	14.29	28.57	57.14	19.05

Tabel Lampiran 6b. Sidik Ragam Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 2

SK	db	JK	KT	F. HIT	F. Tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	5	498.8662	99.773243	8.8**	3.11	5.06
Acak	12	136.0544	11.337868			
Total	17	634.9206				

FK 181.429

KK 0.17 %

Tabel Lampiran 7a. Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 3

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
P01	14.29	0.00	42.86	57.14	19.05
P02	14.29	0.00	0.00	14.29	4.76
P03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P1	42.86	42.86	57.14	142.86	47.62
P2	14.29	14.29	28.57	57.14	19.05
P3	14.29	14.29	0.00	28.57	9.52
Jumlah	100.00	71.43	128.57	300.00	100.00

Tabel Lampiran 7b. Sidik Ragam Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 3

SK	db	JK	KT	F. HIT	F. Tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	5	4319.728	863.94558	6.93**	3.11	5.06
Acak	12	1496.599	124.71655			
Total	17	5816.327				

FK 5000

KK 0.11%

Tabel Lampiran 8a. Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 4

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
P01	28.57143	0.00	71.43	100.00	33.33
P02	0.00	28.57	14.29	42.86	14.29
P03	14.29	28.57	14.29	57.14	19.05
P1	71.43	71.43	100.00	242.86	80.95
P2	28.57	28.57	57.14	114.29	38.10
P3	42.86	14.29	14.29	71.43	23.81
Jumlah	185.71	171.43	271.43	628.57	209.52

Tabel Lampiran 8b. Sidik Ragam Mortalitas Pupa PBK pada Hari ke 4

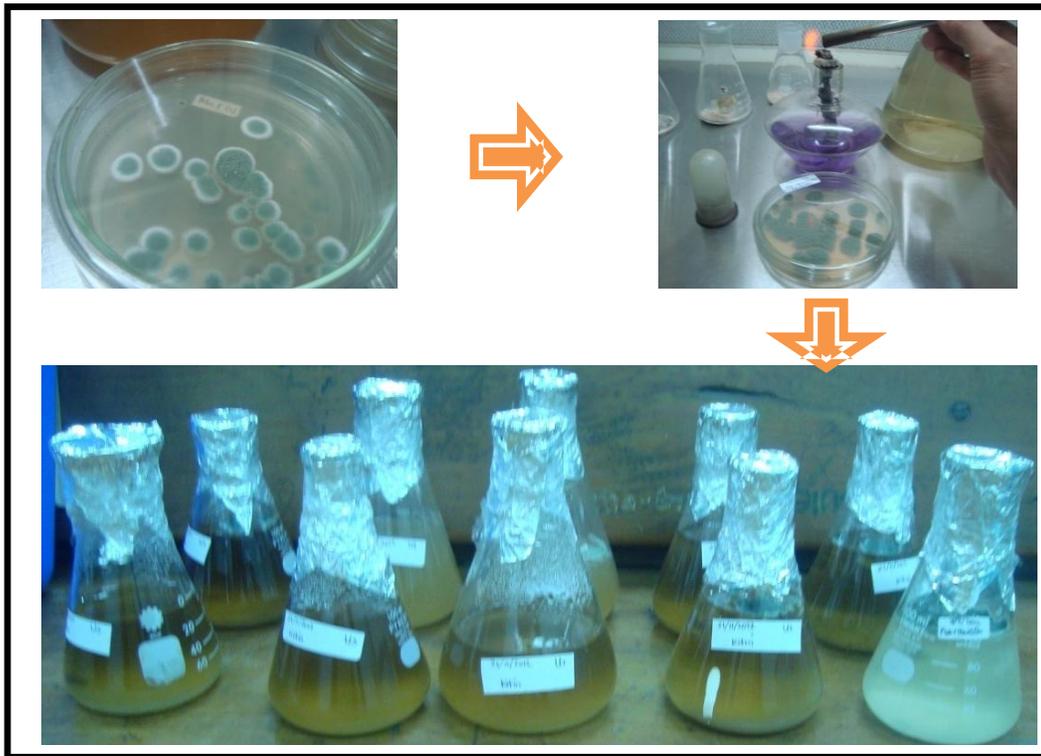
SK	db	JK	KT	F. HIT	F. Tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	5	8798.186	1759.64	4.43**	3.11	5.06
Acak	12	4761.905	396.83			
Total	17	13560.09				

FK 21950.11

KK 0.095%



Gambar Lampiran 1. Teknik memperoleh kitin kepiting



Gambar Lampiran 2. Proses Pertumbuhan Cendawan *Penicillium* sp. pada media cair yang diberi kitin dan tanpa kitin.



Gambar Lampiran 3. *Penicillium* sp. ditumbuhkan pada beberapa kombinasi media (a). (*Penicillium* sp + PDA), (b). *Penicillium* sp. PDA + kitin, (c) *Penicillium* sp. + Beras (d) *Penicillium* sp. + Beras + kitin, (e). *Penicillium* sp. + kitin (Cair), (f). *Penicillium* sp. (cair).