

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pestisida sintetis digunakan secara luas dalam pertanian untuk mengendalikan hama dan penyakit tanaman, namun penggunaannya dapat berdampak pada organisme non-target, termasuk entomopatogen dan lingkungan. Pengendalian yang dilakukan oleh petani masih menggunakan fungisida sintetis, penggunaannya menjadi pengendali utama karena dapat mengendalikan hama dan penyakit secara cepat dan efektif (Suprpta, 2003). Entomopatogen seperti *Beauveria bassiana*, *metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, dan *Fusarium* sp. memainkan peran penting dalam pengendalian hayati hama serangga, penggunaan pestisida nabati bisa mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan relatif lebih aman (Salaki & Pelealu, 2019). Penting untuk memahami efek toksisitas fungisida terhadap entomopatogen dalam memastikan strategi pengendalian hama dan penyakit tanaman yang lebih efektif dan berkelanjutan pada sektor pertanian.

Penggunaan entomopatogen dalam pengendalian hayati memiliki keuntungan karena bersifat ramah lingkungan dan dapat mengurangi ketergantungan pada pestisida sintetis. Keberhasilan cendawan entomopatogen juga sangat bergantung pada kondisi lingkungan dan interaksi dengan bahan kimia lainnya, seperti fungisida. Memahami interaksi ini sangat penting untuk memastikan manfaat dari entomopatogen dalam keberhasilan pengendalian hayati. Cendawan entomopatogen *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, dan *Fusarium* merupakan jenis cendawan entomopatogen yang banyak dikembangkan sebagaiagens hayati untuk mengendalikan berbagai jenis hama dan penyakit tumbuhan (Herlinda et al., 2006). Keberhasilan Pengendalian hayati menggunakan cendawan entomopatogen memberikan banyak keuntungan seperti memiliki toksin sehingga menyebabkan kematian hama tanaman dan tidak menyebabkan resistensi pada serangga sasaran, serta mengurangi kerusakan pada lingkungan (Ngatimin et al., 2020). Selain itu cendawan entomopatogen juga menghasilkan metabolit sekunder yang efektif menekan intensitas penyakit yang disebabkan oleh patogen tular tanah (Listiyowati et al., 2023).

Salah satu aspek penting dalam pengembangan pengendalian hayati berbasis cendawan entomopatogen adalah pemahaman terhadap jenis yang dominan dan persebarannya di lapangan. Di antara berbagai jenis entomopatogen, *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dilaporkan sebagai spesies yang paling umum ditemukan dan paling banyak digunakan dalam pengendalian hama secara biologis. Kedua spesies cendawan ini memiliki kemampuan adaptasi yang luas terhadap berbagai kondisi lingkungan dan telah terbukti efektif dalam menginfeksi berbagai jenis serangga hama pada tanaman pertanian seperti kedelai, jagung, cabai, dan padi (Nurmansyah et al., 2016).

B. bassiana dapat ditemukan secara alami di tanah maupun permukaan daun tanaman yang telah terinfeksi, sedangkan *M. anisopliae* cenderung tersebar luas di tanah sebagai habitat utama dan diketahui mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang ekstrem (Fandiyah & Suryani, 2018). Cendawan *V. lecanii* umumnya ditemukan pada lingkungan yang lembap, dengan populasi alami lebih terbatas dibandingkan *B. bassiana* dan *M. anisopliae*, namun efektif terhadap serangga hama penghisap seperti kutu daun dan wereng (Fitriani & Puspitasari, 2020). Sementara itu, meskipun *Fusarium* sp. dikenal sebagai cendawan patogen tanaman, beberapa strainnya juga menunjukkan potensi

sebagai entomopatogen dan antipatogen tular tanah, meskipun penyebarannya di alam masih terbatas dan perlu seleksi isolat yang lebih cermat (Listyowati et al., 2023). Pemahaman terhadap dominansi dan distribusi alami entomopatogen ini sangat penting sebagai dasar dalam menentukan strategi pengendalian yang sesuai, terutama dalam mempertimbangkan interaksinya dengan aplikasi fungisida di lapangan. Penyesuaian dengan kondisi ekologi lokal akan membantu meningkatkan keberhasilan penggunaan agens hayati dalam sistem pengelolaan hama terpadu yang berkelanjutan. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi aplikasi cendawan entomopatogen di lapangan, salah satunya yaitu aplikasi fungisida. Pengaplikasian cendawan entomopatogen dapat dilakukan bersamaan dengan pengaplikasian fungisida yang sesuai dosis dan jenis tertentu sehingga dapat meningkatkan efektivitas dalam mengendalikan organisme pengganggu tanaman. Kombinasi antara cendawan entomopatogen dan fungisida dapat dilakukan dengan metode pencampuran dan terbukti efektif untuk mengendalikan berbagai jenis opt (Fauziah & Rohdiana, 2016).

Pengaplikasian cendawan entomopatogen dan fungisida secara bersamaan harus dilakukan secara tepat dan sesuai, perlunya pengembangan strategi pengendalian hama yang dapat mempertimbangkan kompatibilitas antara fungisida dan cendawan entomopatogen, kombinasi penggunaan fungisida yang tidak kompatibel dapat menghambat seluruh fungsi cendawan entomopatogen sehingga dapat mengganggu sistem pengelolaan terpadu (Jhonson et al., 2020). Hasyim et al. (2016) dalam penelitiannya menyatakan bahwa penggunaan fungisida ini perlu disesuaikan untuk memaksimalkan efektifitas entomopatogen dalam pengendalian hayati. Cendawan entomopatogen digunakan sebagai agens pengendalian hayati, dan juga dapat berinteraksi secara positif dengan fungisida tertentu. Pemilihan fungisida dan entomopatogen ini perlu dilakukan dengan sesuai untuk memastikan keberhasilan dalam pengendalian hama dan penyakit. Cendawan entomopatogen dan interaksinya dengan fungisida tertentu juga dapat menjadi agens hayati yang sangat efektif untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman dengan mempertimbangkan secara hati-hati untuk memastikan ke efektifitasnya dalam pengendalian (Hasyim et al., 2016). Perlunya pemilihan fungisida yang baik akan mempengaruhi keberhasilan dalam interaksi terhadap entomopatogen diketahui beberapa fungisida dapat mengurangi viabilitas spora dan menghambat pertumbuhan entomopatogen sehingga diperlukan riset dan percobaan untuk mendapatkan hasil positif, kompatibilitas merupakan kemampuan pencampuran pestisida yang berbeda tanpa interaksi dan perubahan fisik kimia yang dapat merubah efek biologisnya (Abdullah, 2019).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik melakukan pengujian untuk mengetahui efek toksisitas beberapa jenis pestisida sintetik terhadap empat jenis cendawan entomopatogen *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. Lecanii*, dan *Fusarium* sp. secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi penting mengenai kompatibilitas antara fungisida dan entomopatogen, yang akan berguna dalam merancang strategi pengendalian yang lebih efektif. Dengan demikian, pengelolaan hama dan penyakit tanaman dapat dilakukan dengan cara yang lebih ramah terhadap lingkungan dan berkelanjutan.

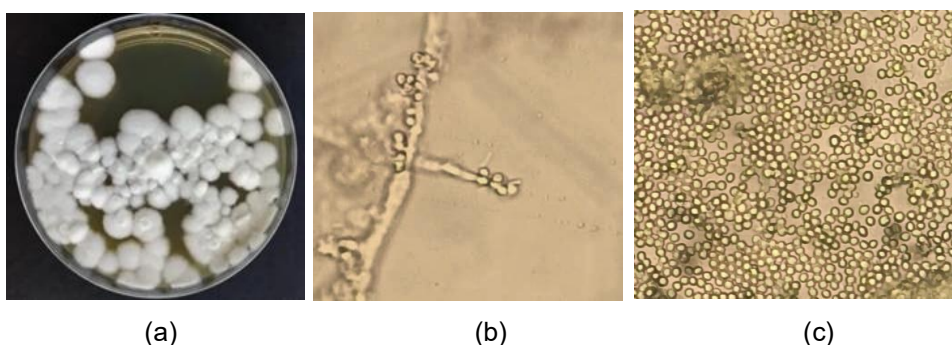
1.2 Landasan Teori

1.2.1 *Beauveria bassiana*

Cendawan entomopatogen *B. bassiana*, adalah anggota keluarga Clavicipitaceae, divisi Ascomycota, kelas Sordariomycetes, dan ordo Hypocreales. Cendawan ini bersidat toksik kesemua tahap kehidupan serangga, termasuk ordo Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera, Diptera, dan Hymenoptera.

Cendawan entomopatogen *B. bassiana* merupakan agen biokontrol yang potensial terhadap 700 spesies serangga dan digunakan dalam pengelolaan hama terpadu karena menjadi bio-pestisida yang sangat efektif dalam pengendalian di beberapa jenis tanaman yang berbeda (Hirapara et al., 2023).

Karakteristik fisik isolat *B. bassiana* termasuk koloni bertekstur halus putih yang tetap memiliki warna yang sama saat koloni tumbuh. Spora aseksual *B. bassiana* berwarna putih hingga kekuningan yang diangkut oleh septum panjang zigzag dan filamen transparan. Diameter hifa berkisar dari 2,5 μm hingga 25 μm (Fitrah et al., 2020). Konidia berbentuk hyaline, bulat hingga oval, bersel tunggal, dan memiliki konidia di ujung setiap konidiofor yang ukurannya berkisar antara 2 hingga 3 μm . Hifa hyaline, septat, bercabang *B. bassiana* berukuran antara 1,5 hingga 2,1 μm . Benang putih halus membentuk miselium, yang berubah menjadi kuning pucat saat matang. Kisaran suhu ideal untuk pertumbuhan *B. bassiana* adalah 15–30°C (Syamsulhadi et al., 2023).



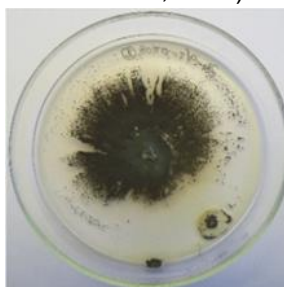
Gambar 1. Koloni cendawan entomopatogen *B. bassiana* isolation. A) Morfologi koloni *B. bassiana*; B) Konidiaspora; C) Konidia. (Sumber: Embrapa Amapa, 2017) dan (Wahjono et al., 2024).

1.2.2 *Metarhizium anisopliae*

M. anisopliae dapat mempengaruhi epizootik alami, penggunaan insektisida atau fungisida yang kompatibel dalam kombinasi dengan agen mikroba tersebut sehingga menjadi potensi yang maksimal untuk pengendalian yang ramah lingkungan (Udayababu et al., 2012). Spesies cendawan *M. anisopliae* secara genetik fleksibel pada tingkat fisiologis dan ekologis, mudah beradaptasi dengan perubahan heterogenitas nutrisi, pergantian inang, dan virulensi, dan terkait dengan riwayat kehidupan seksual dan spesiasi mereka, mereka memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dan beradaptasi dengan berbagai lingkungan (Bintang et al., 2015).

Diketahui bahwa cendawan ini secara alami menangkal hama serangga. *M. anisopliae* memiliki potensi untuk menjadi agen pengendalian hayati yang kuat (Hirsch & Grund, 2010). *M. anisopliae* merupakan cendawan entomopatogen yang penting dalam perannya sebagai agen pengendali alami berbagai organisme pengganggu tanaman, dalam pengendalian hama terpadu pengendalian dengan cendawan ini menjadi faktor penting dalam mengurangi populasi opt (Parjene et al., 2020).

Miselium *M. anisopliae* terdiri dari hischeli bercabang, putih hingga hijau kekayungan. Hifa ini dapat berkembang biak dengan cepat dan menghasilkan jaringan tebal. Konidia konidia, spora aseksual yang diproduksi oleh *M. anisopliae*, berbentuk bulat atau oval dan berkisar warnanya dari hijau hingga coklat. Spora ini memiliki permukaan yang halus hingga berbulu dan sering terjadi dalam kelompok. Struktur transpor konidia konidiafor biasanya tipis dan beragam. Banyak media kultur dapat mendukung pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*, yang sering menunjukkan koloni berbulu yang tumbuh cepat (Sari & Rosmeita, 2020).



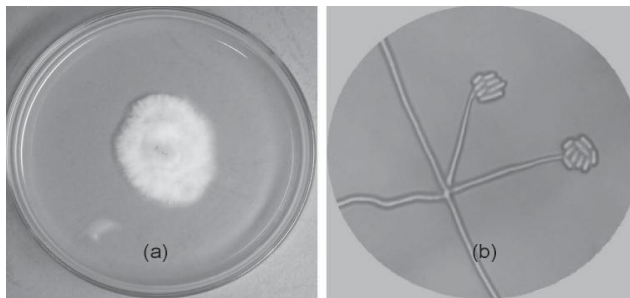
Gambar 2. Koloni cendawan *Metarhizium anisopliae*
(Sumber: Bharathi et al., 2022)

1.2.3 *Verticillium lecanii*

Cendawan entomopatogenik dengan potensi signifikan untuk pengendalian hama biologis adalah *V. lecanii*. cendawan ini membantu mengendalikan populasi hama secara alami dengan menginfeksi berbagai serangga, terutama hama penghisap seperti kutu daun dan lalat buah. Spora *V. lecanii* menempel pada tubuh inang untuk menginfeksi serangga. Setelah perkecambahan, spora menghasilkan enzim yang menurunkan kitin di kerangka ramah lingkungan serangga, memungkinkan mereka memasuki jaringannya. Karena degradasi internal dan pembentukan racun, proliferasi jamur dalam tubuh inang mengakibatkan kematian (Prayogo, 2009).

Konidia yang diproduksi oleh *V. lecanii* berbentuk bulat atau lonjong dan berkisar ukurannya antara 2 hingga 4 μm . Konidia biasanya muncul dalam kelompok atau rantai. Hifa tembus cahaya, septat, dan berdiameter antara 3 hingga 5 μm . Di permukaan inang, hifa dapat berkembang biak dan dengan cepat menghasilkan spora (Feng et al., 2002).

Dalam media kultur, koloni *V. lecanii* biasanya tampak putih hingga hijau kekuningan, dengan perkembangan yang cepat (Shinde et al., 2010). Permukaan koloni mungkin berbulu atau halus tergantung pada kondisi perkembangan. Suhu antara 20 dan 30 derajat Celcius sangat ideal untuk pertumbuhan cendawan ini, yang memengaruhi penampilan dan hasil koloni. Jamur ini memulai siklus hidupnya dengan menginfeksi inang dengan spora, yang kemudian berkembang menjadi hifa dan akhirnya menghasilkan lebih banyak spora baik di dalam atau di luar tubuh inang. Reproduksi cepat dan difusi yang efektif dimungkinkan oleh teknik ini.



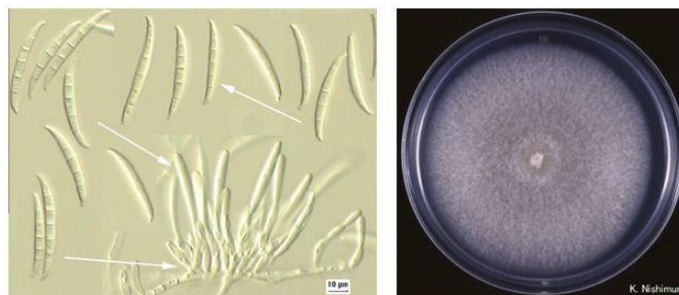
Gambar 3. Koloni cendawan *Verticillium lecanii*
(Sumber: Prayogo, 2009)

1.2.4 *Fusarium* sp.

Cendawan *Fusarium* sp. merupakan salah satu patogen penyebab penyakit pada tanaman yang dapat menyerang tanaman dalam berbagai fase pertumbuhan. Karakteristik *Fusarium* sp. yaitu hifa memiliki diameter antara 3 dan 10 μm . menghasilkan konidia yang berukuran 3-5 x 10-30 μm dan berkisar dari silinder hingga fusiform. Konidia biasanya berkembang pada sporodochia (Leslie et al., 2003).

Mikrosklera dan makrosklera, yang berfungsi sebagai organ reproduksi dan penyimpanan, juga diproduksi oleh spesies tertentu. Koloni *Fusarium* warnanya dari putih, merah muda hingga ungu, tergantung pada media kulturnya. Tumbuh dengan cepat dan, pada suhu ideal (20-30 ° C), dapat mencapai diameter penuh dalam 3-7 hari. Tambingsila dan hidayat (2015) menyatakan bahwa *Fusarium* sp. dapat berperan sebagai agens pengendali hayati yang efektif dalam pengendalian hama pada tanaman, *Fusarium* sp. mortalitas tinggi pada organisme pengganggu tanaman.

Fusarium sp memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati pada organisme pengganggu tanaman yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengendalikan opt yang lebih ramah untuk lingkungan dan manusia, karena dapat mengurangi atau meminimalisir penggunaan pestisida sintetik dalam pertanian, yang tentunya harus digunakan secara tepat dan sesuai hingga memberikan hasil yang efektif.



Gambar 4. Koloni cendawan *Fusarium* sp.
(Sumber: apsnet.org; pf.chiba-u.ac.jp)

1.2.5 Fungisida

Untuk mengurangi organisme pengganggu tanaman (OPT) dan meningkatkan hasil pertanian, fungisida memberikan peran penting dalam pertanian modern (Dadang, 2006). Penyakit tanaman yang disebabkan oleh bakteri dan cendawan dapat diatasi dengan berbagai pestisida, termasuk bakterisida dan fungisida. Misalnya, Copcide 77WP aktif dalam tembaga hidroksida, yang digunakan untuk mengendalikan antraknosa dan penyakit bercak daun pada tanaman cabai, sedangkan Trivia 75WP, yang mengandung propineb dan fluopicolilid, efisien dalam mengelola infeksi padi.

Namun, baik lingkungan maupun kesehatan manusia terganggu jika fungisida digunakan secara tidak benar. Paparan fungisida dapat menyebabkan masalah sistem saraf, ketidaknyamanan kulit, dan bahkan peningkatan risiko kanker. Selain itu, penggunaan pestisida yang berlebihan dapat membahayakan makhluk non-target termasuk serangga penyerbuk dan hama predator alami, serta berkontribusi pada penurunan keanekaragaman hayati (Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2012). Oleh karena itu, sangat penting untuk memahami sifat, kelebihan, dan bahaya dari segala jenis fungisida yang diterapkan dalam pertanian. Selain menawarkan saran untuk penggunaan yang aman dan efektif, penelitian ini bermaksud untuk menilai kemanjuran dan efek fungisida dengan bahan aktif berikut terhadap kesehatan manusia dan lingkungan: benomil, propineb+fluopikolid, mankozeb, sulfur, tembaga hidroksida, heksakonazol, tembaga oksida, dan tefonat-metil.

Efisiensi pengendalian opt dapat terpengaruh ketika cendawan entomopatogenik seperti *Fusarium* sp., *B. bassiana*, *V. lecanii*, dan *M. anisopliae* dicampur dengan fungisida. Sementara beberapa kombinasi mungkin tidak kompatibel atau bahkan mengurangi efisiensi cendawan entomopatogen, kombinasi lain dapat meningkatkan kematian opt, menurut beberapa penelitian. Sangat penting untuk diingat bahwa sejumlah variabel, seperti jenis pestisida, dosis, spesies hama target, dan kondisi lingkungan, dapat memengaruhi seberapa baik fungisida bekerja dengan cendawan entomopatogen. Oleh karena itu, untuk menjamin keefektifan kombinasi dan keamanan penggunaan, tes kompatibilitas tertentu harus dilakukan sebelum aplikasi.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh fungisida terpilih terhadap pertumbuhan koloni, daya hambat pertumbuhan koloni, kepadatan spora, tingkat resistensi dan sporulasi cendawan entomopatogen: *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, dan *Fusarium* sp., sehingga dapat diketahui kombinasi fungisida dan entomopatogen yang dapat digunakan dengan efektif dalam pengendalian organisme pengganggu tanaman secara terpadu.

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan wawasan penting bagi petani dan peneliti. Informasi yang diperoleh dapat membantu dalam merancang strategi pengendalian opt yang lebih ramah lingkungan, serta memilih produk fungisida yang tidak merugikan organisme pengendali alami.

1.4 Hipotesis

Terdapat perbedaan tingkat toksisitas antara berbagai jenis fungisida terhadap cendawan entomopatogen *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, dan *Fusarium* sp.

BAB II METODOLOGI

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman dan Laboratorium Hubungan Serangga dan Penyakit Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin Makassar, Penelitian ini dimulai September sampai Desember 2024.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain mikroskop, kapas, pipet tetes, *Laminar Air Flow*, cawan Petri, Erlenmeyer, *hemocytometer*, pipet mikron, spatula, Bunsen, autoklaf, tabung reaksi, korek api, timbangan analitik, *aluminium foil*, kantong plastik, batang pengaduk, sprayer, dan kuas.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain biakan murni cendawan entomopatogen *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, *Fusarium* sp., yang diperoleh dari Laboratorium Hubungan Serangga dan Penyakit Tanaman, beberapa jenis fungisida, kentang, gula, agar-agar, alkohol 70%, spiritus, dan akuades steril.

2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dalam faktorial dengan menggunakan 2 faktor dan 2 ulangan. Faktor Pertama adalah empat jenis entomopatogen (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, *Fusarium* sp.), faktor kedua adalah delapan jenis Fungisida dan tanpa Fungisida sebagai kontrol. Dengan perlakuan dosis (mL atau g/L air) yang berdasarkan dosis anjuran, dan 0x sebagai kontrol (cukup 1 kontrol untuk setiap prengujian) (dimana x: konsentrasi anjuran). Sehingga terdapat kombinasi perlakuan dimana diulang sebanyak 3 kali. Adapun perlakuan yang akan diberikan yaitu konsentrasi dari masing-masing pestisida adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Perlakuan Bahan Aktif dan Dosis Fungisida yang digunakan

Fungisida	Bahan Aktif	Dosis Anjuran	Satuan
Benomil 50 WP	Benomil	2	g/l
Trivia 73 WP	Propineb + Fluopikolid	1,5	g/l
Dithane 45 WP	Mankozeb	3	g/l
Pemulus 80 WG	Sulfur	3	g/l
Copside 77 WP	Tembaga Hidroksida	2	g/l
Heksa 50 SC	Heksakonazol	2	ml/l
Nordox 56 WP	Tembaga Oksida	1	g/l
Topsin M 70 WP	Tiofanat-Metil	2	g/l

2.4 Persiapan Penelitian

2.4.1 Pembuatan Media PDA

Kentang dikupas kemudian dicuci bersih lalu dipotong dadu sebanyak 200 gram, kemudian masak dengan aquades sebanyak 1000 ml diatas *hot plate* hingga mendidih. Setelah mendidih, dipisahkan ekstrak dan kentang dengan cara disaring. Selanjutnya, ekstrak yang tadi dicampur dengan agar-agar 17 gram dan gula 20 gram di dalam Erlenmeyer lalu ditambah chloramphenicol 500 gram yang bertujuan agar tidak terjadi kontaminasi bakteri dalam Erlenmeyer kemudian homogenkan. Tutup erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan wrapping kemudian diautoklaf selama 2 jam pada suhu 121°C. Kemudian media PDA siap untuk dituang pada cawan petri.

2.4.2 Persiapan dan Perbanyakan Isolat

Perbanyakan isolat cendawan entomopatogen (*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, dan *Fusarium* sp.) dilaksanakan di Laboratorium dengan menggunakan *Laminar Air Flow* serta alat dan bahan yang steril. Media PDA yang telah dipersiapkan dituangkan ke dalam cawan petri hingga mencapai ketinggian 1-2 cm hingga mengeras. Setelah PDA mengeras isolat cendawan diambil dengan menggunakan *cork borer* dan *spatula* steril lalu dipindahkan ke cawan petri yang berisi PDA dengan kondisi spora yang menempel pada permukaan spora, cawan petri yang telah diinokulasi isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii*, dan *Fusarium* sp. kemudian diinkubasi pada suhu optimal dengan pencahayaan tidak langsung. Selama periode inkubasi pertumbuhan koloni diamati secara berkala untuk memastikan tidak adanya kontaminasi dari mikroorganisme lain.

2.4.3 Pencampuran media dengan pestisida

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) disterilkan dalam autoklaf di 121°C selama 15 menit. Ketika suhu media mencapai 50–60°C, dosis pestisida yang diukur secara tepat ditambahkan. Konsentrasi pestisida selanjutnya dalam medium diperoleh dengan pengenceran. Pestisida yang diujikan adalah fungisida dan insektisida, dengan metode peracunan medium tumbuh. Konsentrasi bahan aktif dibuat dengan mencampurkan suspensi pestisida ke dalam medium PDA dengan takaran sesuai konsentrasi yang diujikan. Sebanyak 1 ml suspensi fungisida dari masing-masing konsentrasi dan 9 ml PDA cair yang hangat dengan suhu 40–45 °C dituangkan ke dalam cawan petri, lalu dihomogenkan dengan cara menggoyangkan cawan petri dan diamkan hingga padat. Media PDA yang digunakan sebagai kontrol adalah media PDA yang hanya ditambahkan air steril sebanyak 1 ml tanpa fungisida.

Isolat entomopatogen disimpan pada media PDA yang telah dicampur pestisida (fungisida) sesuai perlakuan. Kemudian diinkubasi selama 15 hari dalam suhu ruangan (25°C). Pengamatan dilakukan setiap 3 hari atau selama 72 jam hingga 5 kali pengamatan untuk menghitung diameter koloni.

2.5 Parameter Pengamatan

2.5.1 Diameter Koloni

Pengamatan koloni dilakukan setiap 72 jam sekali, dengan cara membuat garis melintang pada bagian bawah cawan petri untuk membantu pengukuran diameter koloni biakan cendawan yang diinokulasikan. Pengukuran diameter koloni dilakukan dengan menghitung diameter cendawan dari empat garis kemudian dirata-ratakan. Perhitungan diameter koloni cendawan juga dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Maharta et al., 2013):

$$D = \frac{d1 + d2}{2}$$

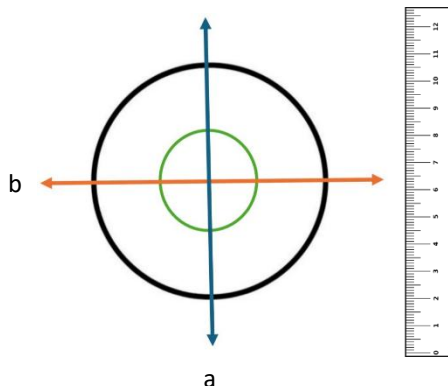
D: Rata-rata diameter koloni jamur

d1 : Panjang diameter koloni secara vertikal

d2 : Panjang diameter koloni secara horizontal

Ket: a: Menghitung Secara Vertikal

b: Menghitung Secara Horizontal



Gambar 5. Pengukuran Pertumbuhan Diameter Koloni Isolat Cendawan Entomopatogen.

2.5.2 Daya Hambat Pertumbuhan Koloni

Tingkat Hambatan Relatif (THR) diameter koloni dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$D = \frac{d1-d2}{d1} \times 100\%$$

d1 : diameter koloni patogen uji pada kontrol

d2 : diameter koloni pada perlakuan

2.5.3 Kerapatan Spora

Perhitungan kerapatan spora dari jamur Entomopatogen dilakukan dengan membuat suspensi, yaitu 10 ml aquades steril ditambahkan pada media biakan jamur Entomopatogen di cawan dan diambil dengan menggunakan jarum ose untuk melepaskan konidianya dari media tumbuh. Jumlah konidia per mililiter dihitung menggunakan *haemocytometer*. Rumus yang digunakan untuk menghitung konsentrasi konidia per mililiter menurut Prasetyowati (2003) sebagai berikut :

$$K = \frac{T \times d}{n \times 0,25} \times 10^6 \text{ konidia/ml}$$

K = jumlah konidia/ml larutan

T = total spora dalam semua kotak

- d = faktor pengenceran
 n = jumlah semua kotak yang dihitung
 0,25 = faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada *haemocytometer*

2.5.4 Daya Hambat Sporulasi

$$KK = \frac{K1-K2}{K1} \times 100\%$$

K1 : konsentrasi konidia pada kontrol

K2 : konsentrasi konidia pada perlakuan

Tingkat resistensi Entomopatogen terhadap bahan aktif fungisida ditentukan berdasarkan nilai THR yaitu (Abidin et al., 2017) :

THR > 90% : Sangat sensitif (SS)

75% < THR ≤ 90% : Sensitif (S)

60% < THR ≤ 75% : Resisten sedang (RS)

40% < THR ≤ 60% : Resisten (R)

THR ≤ 40% : Sangat resisten (SR)

2.6 Analisis Data

Data akan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Jika terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan, maka rata-rata perlakuan akan dibandingkan dengan menggunakan Uji *Duncan* dengan taraf kepercayaan 0,05. Analisis data dilakukan dengan menggunakan software RStudio.