
**UJI PENGEMBANGAN Spora ENTOMOPATOGEN BUNGA
ENTOMOPATOGEN *Lecanicillium lecanii* MENGGUNAKAN
HAEMOCYTOMETER**

Indah Nuzulul Rohmah^{1*}, Trisnani Alif²

Universitas Billfath

Corresponding Author: indahnuz15@gmail.com¹

Abstract

Lecanicillium lecanii is one type of entomopathogenic fungus that can infect several insects with very variable mortality rates. control solutions using biological agents of entomopathogenic fungi are able to have a good impact and are environmentally friendly. The writing of this study used both primary and secondary data collection methods carried out by observation and quantitative analysis techniques, in the form of observations, explanations of the data obtained, and carrying out the activities related to the spore density test of the entomopathogenic fungus *L. lecanii* using a haemocytometer at PTPH Coordinator Office for Bojonegoro Region. The results of the spore density test of the entomopathogenic fungus *L. lecanii* were 6.05×10^7 , which was carried out using rice solid media and potato liquid media for propagation and calculated using a haemocytometer and observed using a binocular microscope with a magnification of 400 \times . The results of the density test are classified as good quality and able to be applied to plants by farmers to control a pest or Plant Pest Organisms.

Keywords: *Agens hayati; Lecanicillium lecanii; haemocytometer.*

How To Cite: Indah Nuzulul Rohmah & Trisnani Alif. (2021). Uji Pengembangan Spora Entomopatogen Bunga Entomopatogen *Lecanicillium Lecanii* Menggunakan Haemocytometer., 1 (2), pp.143-150.

PENDAHULUAN

Kebijakan pemerintah yang diatur dalam UU No. 12 tahun 1992 tentang sistem budidaya tanaman dan peraturan pemerintah No. 6 tahun 1995 tentang perlindungan tanaman telah menetapkan bahwa kebijakan dasar perlindungan tanaman di Indonesia adalah dengan sistem Pengendalian Hama Terpadu (PHT) yang mana komponen utamanya adalah pengendalian hayati sebagai alternatif pengendalian hama dengan menggunakan mikroorganisme yang sangat spesifik untuk serangga inang, aman bagi lingkungan dan manusia, walaupun pengendaliannya tidak secepat pestisida kimia, akan tetapi pengendalian hama tersebut bersifat berkelanjutan (Ginting et al., 2019).

Cendawan entomopatogen merupakan salah satu agens hayati yang saat ini sedang dikembangkan karena prosesnya yang relatif mudah, harganya yang murah, efektif dalam mengendalikan hama jangka panjang karena mampu berkembang biak di alam, serta dapat tersebar luas setelah bersporulasi pada inang sasaran (Ginting et al., 2019). *L. lecanii* merupakan salah satu jenis cendawan entomopatogen yang memiliki kisaran inang cukup luas dan bersifat kosmopolit sehingga mudah dijumpai di daerah tropis maupun subtropis. Menurut Islam & Omar (2012) dalam sistem PHT, pengendalian secara biologis dengan

menggunakan cendawan entomopatogen memegang peranan penting dalam mengurangi populasi hama atau OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) dan penyakit tanaman secara berkelanjutan (Prayogo, 2014)

Mengingat meningkatnya kekhawatiran publik atas potensi bahaya kesehatan akibat bahan kimiawi maka pengendalian secara kimiawi sebaiknya dihindari karena menimbulkan resistensi, resurgensi hama, resiko keracunan terhadap pengguna, biayanya mahal, dampak negatif terhadap lingkungan misalnya mencemari air, udara, dan produk pertanian sehingga membahayakan kesehatan manusia dan organisme lain yang menguntungkan, termasuk musuh alami seperti predator dan parasitoid, maka dari itu perlunya pengembangan metode alternatif pengendalian hama ramah lingkungan (Ginting et al., 2019). Keberhasilan pengendalian OPT oleh cendawan entomopatogen ditentukan juga oleh kerapatan spora yang diaplikasikan. Kerapatan spora yang dibutuhkan untuk mengendalikan OPT bergantung pada spesies dan populasi hama yang akan dikendalikan (Ginting et al., 2019).

Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui dan menguji kerapatan spora cendawan entomopatogen *L. lecanii* dengan menggunakan *haemocytometer* di Laboratorium Kantor Koordinator Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Wilayah Bojonegoro. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kerapatan spora pada cendawan entomopatogen *L. lecanii* dengan menggunakan *haemocytometer*.

METODE PENELITIAN

Kegiatan ini dilaksanakan pada tanggal 02 Februari sampai dengan 02 Maret 2021 di Kantor Koordinator PTPH Wilayah Bojonegoro yang beralamatkan di Jl. Diponegoro No. 77, Kepatihan, Kec. Bojonegoro, Kab. Bojonegoro, Jawa Timur. Penelitian ini menggunakan teknik observasi yang mana dengan mengamati, mempelajari, menjelaskan, serta melaksanakan tahap-tahap kegiatan yang berhubungan dengan uji kerapatan spora cendawan *L. lecanii* dengan menggunakan *haemocytometer*. Observasi dalam penelitian ini berfungsi untuk memperoleh informasi mengenai kerapatan spora *L. lecanii* yang diuji menggunakan *haemocytometer*, sehingga peneliti dapat mengetahui dengan baik tentang proses uji kerapatan spora cendawan *L. lecanii* dengan menggunakan *haemocytometer*.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipet filler, beaker glass, tabung reaksi, *haemocytometer*, cover glass, mikroskop binokuler, isolat *L. lecanii*, hasil perbanyakan cendawan *L. lecanii* sebagai sampel, air, aquades, aquades steril, alkohol 70%, tisu, ose, media PDA, media padatan beras, media cair kentang, alat fermentor, inkubator, drum plastik berukuran 200 L, alat tulis menulis, handphone, kapas, plastik wrap, bunsen,

stapler, staples, rak tabung reaksi, blender, dan logbook harian,

Pengumpulan data dilakukan melalui beberapa tahap yaitu:

- Tahap peremajaan isolat di media PDA

Isolat cendawan *L. lecanii* yang diperoleh dari Laboratorium Kantor Koordinator PTPH Wilayah Bojonegoro kemudian di streak pada media PDA, lalu di inkubasi minimal 5 hari sampai tumbuh dengan sempurna.

- Tahap inokulasi pada media padatan beras

Hasil inkubasi cendawan *L. lecanii* kemudian diinokulasikan ke media padatan beras sebanyak 5 ulangan, setelah itu diinkubasi minimal 5 hari sampai tumbuh dengan sempurna.

- Tahap perbanyak cendawan *L. lecanii* pada media cair kentang

Hasil inkubasi pada media padatan beras kemudian di blender dengan ditambahkan air sebanyak 1000 mL dan dimasukkan ke drum plastik berukuran 200 L yang sudah berisi 3 kali rebusan air kentang, setelah itu di fermentasi menggunakan alat fermentor selama minimal 7 hari.

- Tahap pengambilan sampel cendawan *L. lecanii* dan pengenceran

Sampel cendawan *L. lecanii* diambil dari hasil fermentasi sejak tanggal 15 Februari 2021 dengan menggunakan alat fermentor di Laboratorium Kantor Koordinator PTPH Bojonegoro, kemudian menyiapkan aquades steril sebanyak 9 ml di tabung reaksi kosong setelah itu diambil sampel cendawan *L. lecanii* sebanyak 1 ml menggunakan suntikan kemudian di homogenkan ke tabung reaksi yang berisi aquades steril dengan cara menyuntikkan secara cepat berulang kali sampai tercampur dengan merata.

- Tahap uji kerapatan spora

Perhitungan kerapatan spora menggunakan alat yang bernama *haemocytometer*, langkah awal yaitu membersihkan *haemocytometer* menggunakan aquades lalu ditutup dengan *cover glass*, setelah itu meneteskan hasil pengenceran di bidang hitung *haemocytometer* melalui celah di bagian kanan dan kiri *cover glass* hingga bidang hitung terisi penuh, tunggu selama 1 menit agar posisi stabil, kemudian diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400×. Setelah terlihat jelas sporanya, maka dilakukan perhitungan jumlah spora,

Teknik analisis data yang digunakan oleh peneliti yaitu teknik analisis kuantitatif, berupa perhitungan menggunakan *haemocytometer*, dibuktikan dengan gambar/foto dokumentasi kegiatan serta penambahan data pendukung dari berbagai literatur.

Adapun data kerapatan spora dianalisis menggunakan rumus Gabriel dan Riyanto (1989) sebagai berikut:

$$C = \frac{t \times d}{n \times 0.25} 10^6$$

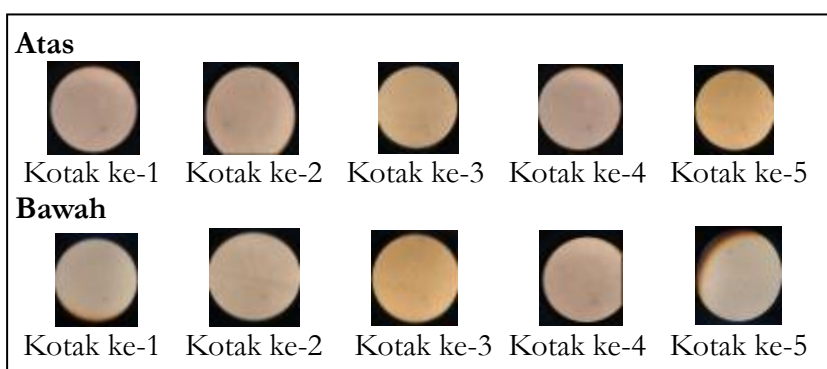
Keterangan:

- C = kerapatan spora per ml larutan.
- t = jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati.
- n = jumlah kotak sampel (5 kotak besar × 16 kotak kecil).
- 0,25 = faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada haemocytometer.
- d = faktor pengenceran bila harus diencerkan (d=1 berarti tidak diencerkan; d=10 berarti diencerkan 1:10).
- 106 = standar kerapatan spora yang baik dilansir dari Direktorat Perlindungan Perkebunan Kementerian Pertanian pada tahun 2014 (F. Rozy Iftaqul, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil perhitungan menggunakan *haemocytometer*

Bidang hitung	Kotak ke-1	Kotak ke-2	Kotak ke-3	Kotak ke-4	Kotak ke-5	Jumlah $\frac{t}{n \times 0.25}$
Atas	21	15	23	35	24	5.9
Bawah	18	16	30	38	22	6.2
Rata-rata						6.05



Gambar 1. Hasil pengamatan pada mikroskop binokuler dengan perbesaran 400×

Hasil uji kerapatan spora cendawan *L. lecanii* dengan menggunakan *haemocytometer* yang diperoleh dari perhitungan dengan rumus:

$$C = \frac{t \times d}{n \times 0.25} 10^6$$

- d = 10¹
- n = 5 kotak besar × 16 kotak kecil
- = 80 × 0.25

$$\begin{aligned}
 &= 20 \\
 &5 \text{ kotak bagian atas pada bidang hitung } \textit{haemocytometer} \\
 &\quad \frac{118}{20} \\
 &= 5.9 \\
 &5 \text{ kotak bagian bawah pada bidang hitung } \textit{haemocytometer} \\
 &\quad \frac{124}{20} \\
 &= 6.2 \\
 C &= \frac{5.9 + 6.2}{2} \times 10^1 \times 10^6 \\
 &= \frac{5.9 + 6.2}{2} 10^7 \\
 &= 6.05 \times 10^7 \text{ cels/ml}
 \end{aligned}$$

Perhitungan kerapatan spora cendawan *L. lecanii* dapat dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* untuk menghitung jumlah sel dengan ukuran 3 um atau lebih besar. Karena jika menghitung jumlah sel yang ukurannya lebih kecil dari 3 um bisa menggunakan *Petroff-Hauser counting chamber* (Mahreni & Suhenri, 2011).

Dari hasil uji kerapatan spora diperoleh 6.05×10^7 cels/ml maka bisa dilakukan pengenceran lagi dengan cara menambahkan aquades karena lebih dari 1×10^7 cels/ml (F. Rozy Iftaql, 2017), dan tergolong memiliki mutu yang baik sesuai dengan standar dari Direktorat Perlindungan Perkebunan Kementrian Pertanian tahun 2014 bahwa mutu formulasi cendawan dikategorikan baik dengan kerapatan spora 1×10^6 cels/ml, dan sudah bisa didistribusikan ke para petani. Dengan demikian tingkat keberhasilan suatu formulasi sebagai agens pengendali hayati dapat dilihat dari kerapatan sporanya (Nurani et al., 2018).

Posada dan Vega (2005) menyatakan bahwa isolat cendawan entomopatogen yang mampu menghasilkan spora lebih banyak akan cepat persebarannya, sehingga akan lebih menguntungkan karena isolat akan mampu menginfeksi dalam kurun waktu yang lebih singkat. Kemudian dari Destiyanti et al. (2007) menyatakan juga bahwa semakin tinggi kerapatan spora, maka mortalitasnya juga akan semakin meningkat karena memungkinkan kontak spora dengan tubuh larva dalam jumlah yang lebih banyak. Keadaan ini memberi peluang yang lebih baik bagi spora untuk menempel, berhasil berkecambah dan berpenetrasi ke dalam tubuh larva (Humairoh et al., 2016).

Dari hasil melihat spora cendawan *L. lecanii* menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran $400 \times$ didapati karakteristik spora yaitu berbentuk oval tanpa warna atau transparan dengan inti sel ditengahnya. Rata-rata dari hasil pengamatan spora tersebut dengan usia 11 hari tergolong pada fase *log* dan pada jumlah spora yang dihasilkan sudah

terbilang banyak, sebagaimana diketahui bahwa mikroorganisme memiliki waktu kultivasi optimal.

Waktu kultivasi optimal pada cendawan ada beberapa fase yaitu fase *lag* merupakan fase pertumbuhan cendawan beradaptasi dengan kondisi lingkungannya, fase ini terjadi pada 3-5 hari. Sedangkan fase *log* yang mana pertumbuhan cendawan terjadi pada hari ke-7 sampai hari ke-14, dalam fase *log* tersebut terjadi peningkatan pada biomassa. Fase stasioner terjadi pada hari ke-15 hingga ke-21 dimana pertumbuhan cendawan relatif tetap, pertumbuhan cendawan seimbang dengan jumlah sel yang mati, pada fase tersebut meskipun karbon sebagai sumber energi atau nutrisi yang penting telah habis digunakan, tidak berarti pertumbuhan berhenti, hal ini dikarenakan terjadinya lisis pada sel yang mati dan digunakan sebagai sumber nutrisi. Saat cendawan memasuki fase terakhir dari pertumbuhan mikroba, yaitu fase kematian setelah hari ke-21 di mana akan terlihat penurunan pada biomassa (Rendowaty et al., 2017).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil perhitungan kerapatan spora cendawan *L. lecanii* yaitu 6.05×10^7 cels/ml, yang dilakukan dengan menggunakan media padatan beras dan media cair kentang untuk perbanyak dan dihitung dengan menggunakan alat *haemocytometer* serta diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400×. Hasil uji kerapatan tersebut tergolong kualitas baik dan mampu untuk diaplikasikan terhadap tanaman oleh para petani untuk pengendalian suatu hama atau OPT. Saran dari peneliti yaitu sebaiknya perlu dilakukan uji viabilitas dan uji keefektifan dengan mengaplikasikan terhadap tanaman yang terserang hama atau OPT untuk melihat hasil yang lebih jelas dan komprehensif dari kerapatan spora cendawan *L. lecanii* yang telah diuji menggunakan *haemocytometer*.

DAFTAR RUJUKAN

- F. Rozy Iftaqul. (2017). *Analisis Kontrol Kualitas dan Penggunaan Produk Agenss Hayati di Lamongan, Jawa Timur*. Skripsi, 53(9), 1689–1699.
- Ginting, S., Santoso, T., Munara, Y., Anwar, R., & Sudirman, L. (2019). "Patogenisitas Cendawan Lecanicillium Sp. Ptn01 Terhadap Penggerek Tongkol Jagung Helicoverpa Armigera (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae)". *Berita Biologi*, 18(1).
- Humairoh, D., Hidayat, M. T., Isnawati, & Prayogo, Y. (2016). "Patogenitas Kombinasi Jenis Cendawan Entomopatogen dan Kerapatan Konidia terhadap Mortalitas Larva Ulat Grayak". 9(1), 1–5.
- Mahreni, & Suhenri, S. (2011). "Kinetika Pertumbuhan Sel Sacharomyces Cerevisiae Dalam Media Tepung Kulit Pisang". *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, 1–6.
- Nurani, A. R., Sudiarta, I. P., & Darmiati, N. N. (2018). "Uji Efektifitas Jamur *Beauveria bassiana* Bals. terhadap Ulat Grayak (Spodoptera litura F .) pada Tanaman Tembakau".

- Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 7(1), 11–23.
- Prayogo, Y. (2014). "Efikasi Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zare & Gams) Untuk Pengendalian Hama Kepik Coklat Pada Kedelai". *Buletin Palawija*, 0(20), 47–61. <https://doi.org/10.21082/bulpalawija.v0n20.2010.p>
- Rendowaty, A., Djamaan, A., & Handayani, D. (2017). "Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*". *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(1), 49.

