

# Metode Isolasi Jamur Patogen Serangga (*Aschersonia placenta*) Menggunakan Media Water Agar dan Potato Sucrose Agar

NI MADE SAVITA RASJMAN

I PUTU SUDIARTA<sup>\*)</sup>

TRISNA AGUNG PHABIOLA

GUSTI NGURAH ALIT SUSANTA WIRYA

I PUTU WIRYA SUPUTRA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali

<sup>\*)</sup>Email: putusudiarta@unud.ac.id

## ABSTRACT

### Isolation Method of Insect Pathogenic Fungi (*Aschersonia placenta*) using Water Agar Media and Potato Sucrose Agar

Bali Province is one of the provinces that is famous for its superior agricultural commodities. One of the leading agricultural commodities is citrus. The production of citrus fruits in Bali Province in 2020 is 4,903,341 quintals based on data from the Central Statistics Agency for Bali Province 2021. However, in some citrus-producing areas, citrus fruit production has decreased compared to the previous year. The decline in citrus fruit production is caused by several factors, one of which is the attack of whitefly pests. Whitefly pests can be controlled by utilizing the insect pathogenic fungus *Aschersonia placenta*. This study aims to determine the isolation method of insect pathogenic fungi *Aschersonia placenta* using water agar media and potato sucrose agar. The study began with sampling, isolated the fungus and identifying the fungus by morphological characteristics. The results of this study showed that isolation method of *A. placenta* using water agar media and potato sucrose agar effective for multiply the fungus.

*Keywords: Aschersonia placenta, Whitefly, Growth Media, Citrus fruit*

## 1. Pendahuluan

### 1.1. Latar Belakang

Provinsi Bali adalah salah satu provinsi di Indonesia yang terkenal akan berbagai keindahan dan kekayaan alamnya. Selain dikenal karena keindahan alamnya, Provinsi Bali juga terkenal akan beberapa komoditas pertanian unggulannya. Salah satu komoditas pertanian unggulan tersebut adalah jeruk. Berdasarkan data Badan

Pusat Statistik Provinsi Bali dalam publikasi tahunannya yang berjudul “Provinsi Bali dalam Angka 2021” menunjukkan bahwa produksi jeruk merupakan produksi buah-buahan tertinggi di Provinsi Bali yaitu sebesar 4.903.341 kuintal pada tahun 2020. Namun pada beberapa daerah penghasil jeruk, produksi buah jeruk mengalami penurunan dibandingkan tahun sebelumnya, Penurunan produksi buah jeruk ini disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah serangan hama dan penyakit tanaman.

Salah satu hama utama dalam budidaya tanaman jeruk adalah hama kutu kebul (*Paraleyrodes minei*). Kutu kebul adalah serangga polifag yang memiliki distribusi inang yang luas dan tersebar pada daerah tropis dan subtropis. Kutu kebul dapat merusak tanaman secara langsung dan tidak langsung. Pada umumnya di Indonesia, pengendalian hama kutu kebul pada tanaman jeruk masih menggunakan pestisida kimia sintetik. Penggunaan pestisida kimia menyebabkan penempelan residu kimia pada buah jeruk yang mengakibatkan buah jeruk tidak aman untuk dikonsumsi. Selain itu pengendalian menggunakan pestisida kimiawi tidak ramah lingkungan (Sumiati dan Julianto, 2017).

Untuk meminimalisir dampak negatif dari pestisida kimia, diperlukan cara pengendalian lain yang ramah lingkungan. Salah satu pengendalian hama kutu kebul yang ramah lingkungan adalah dengan menggunakan jamur entomopatogen. Jamur entomopatogen yang diketahui dapat mengendalikan hama kutu kebul pada tanaman jeruk adalah jamur patogen serangga *Aschersonia placenta* yang dilaporkan muncul pertama kali di Kabupaten Bangli hingga Kabupaten Gianyar pada tahun 2014.

Melihat besarnya potensi dari *A. placenta* dalam mengendalikan hama kutu kebul, maka diperlukan informasi mengenai metode isolasi jamur *A. placenta* yang efektif sehingga jamur *A. placenta* ini dapat dikembangkan dan dimanfaatkan dengan optimal.

## **2. Metode Penelitian**

### **2.1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tanaman Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana dan Laboratorium Karantina Tumbuhan Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar. Pengambilan sampel jamur dilakukan di Desa Sekaan, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli dan Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Agustus 2021 sampai dengan Desember 2021.

### **2.2. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, cawan petri (*petidrish*), mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *laminar air flow*, erlenmeyer, jarum ose, *beaker glass*, tabung reaksi, pinset, tisu, kertas label, *autoclave*, kantung plastik, lampu bunsen, pisau, penggaris, kompor, sendok, alat tulis, kamera, oven, *scalpel*, vortek, *haemocytometer*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, alkohol 70%, alkohol 95%, media *Potato Sucrose Agar*, air, agar, *chloramphenicol*, jamur patogen *Aschersonia placenta*.

### **2.3. Pelaksanaan Penelitian**

#### **2.3.1. Pengambilan Sampel**

Sampel jamur yang dipilih merupakan daun jeruk dengan jumlah kutu kebul yang terserang jamur *A. placenta* cukup banyak dan daun jeruk yang dipilih adalah daun yang sebisa mungkin tidak ditumbuhi jamur lainnya.

#### **2.3.2. Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini dicuci bersih kemudian dikeringkan. Selanjutnya dibungkus dengan kertas dan aluminum foil lalu disterilisasi. Sterilisasi alat dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

#### **2.3.3. Isolasi Jamur *A. placenta***

Sampel jamur yang telah diambil dari lapangan selanjutnya diisolasi di Laboratorium Ilmu Penyakit Tanaman. Metode yang digunakan dalam isolasi jamur ini adalah metode Liu dan Hodge (2005).

Pertama, kutu kebul yang terinfeksi jamur *A. placenta* disterilisasi dengan alkohol 70% selama beberapa detik, kemudian dibilas dengan aquades steril. Kedua, sampel yang telah disterilkan diteteskan aquades steril sampai beberapa saat, kemudian konidia yang menyebar tersebut dipindahkan dengan jarum ose steril pada media water agar yang telah diberi antibiotik *chloramphenicol* 250 mg/l. Inkubasikan biakan selama 5-6 hari dalam suhu 23° C dan konidia *Aschersonia placenta* yang telah berkecambah dipindahkan ke media PSA.

#### **2.3.4. Identifikasi Morfologi *A. placenta***

Setelah diperoleh biakan murni *Aschersonia placenta* tahap selanjutnya adalah identifikasi secara morfologi dengan melihat bentuk konidia, karakter biakan pada PSA, dan bentuk stroma mengikuti prosedur Liu dkk., (2006) dan identifikasi morfologi yang telah dilakukan oleh Sudiarta dkk (2019) pada jamur patogen serangga *Aschersonia placenta* di Provinsi Bali. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa jamur yang dibiakkan adalah jamur *Aschersonia placenta* dan bukan jamur lainnya. Ciri khas yang dimiliki oleh biakan *Aschersonia placenta* pada media PSA adalah biakan akan menghasilkan masa konidia berwarna kuning di umur 21 hari atau lebih (Liu dkk., 2006).

#### **2.3.5. Pembuatan Media Water Agar (WA)**

Metode yang digunakan dalam membuat media WA dilakukan berdasarkan Atlas (2010). Campurkan 20 gram agar dan antibiotik *chloramphenicol* sebanyak 250

mg, lalu tambahkan aquades hingga volumenya mencapai 1000 ml. Panaskan larutan sambil diaduk hingga larutan homogen. Selanjutnya tuang larutan ke dalam Erlenmeyer dan sterilkan ke dalam *autoclave* pada tekanan 2 atm selama 15 menit dan suhu 121°C.

#### 2.3.6. *Pembuatan Media Potato Sucrose Agar (PSA)*

Metode yang digunakan dalam membuat media PSA dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chowdary dan Balaji pada tahun 2006. Kentang yang telah dikupas dan dipotong dadu sebanyak 200 gr direbus dalam 500 ml aquades sampai kentang melunak selama sekitar 20 menit lalu disaring. Lalu masukkan sukrosa dan agar secara bertahap masing-masing sebanyak 20 gr sambil terus diaduk lalu ditambahkan antibiotik *chloramphenicol* sebanyak 250 mg. Rebus kembali dan tambahkan aquades hingga larutan media mencapai 1 liter. Sterilisasi media menggunakan *autoclave*. Setelah disterilisasi, tuang media tersebut ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak  $\pm 10$  ml, lalu biarkan mengeras.

### 2.4. *Pengamatan*

Pengamatan biakan jamur patogen *A. placenta* di dalam media dilakukan untuk mendapatkan data kondisi jamur secara makroskopis yaitu pertumbuhan luas koloni jamur pada media PSA.

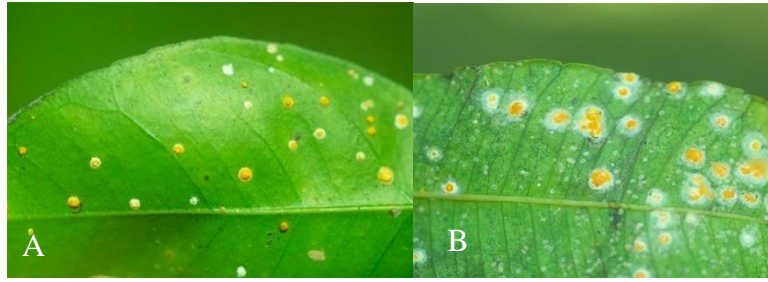
#### 2.4.1. *Luas Koloni*

Pengamatan pertumbuhan radial luas permukaan jamur dilakukan menggunakan fitur “Area” pada mikroskop Nikon SMZ 25. Pengamatan dan perhitungan luas koloni jamur diamati mulai hari ke 4 hingga hari ke 21 setelah inokulasi di Laboratorium Karantina Tumbuhan Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. *Pengambilan Sampel Jamur*

Pengambilan sampel jamur patogen serangga *A. placenta* diambil di 2 tempat yang berbeda yaitu di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar dan di Desa Sekaan, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. Sampel tersebut diambil dari nimfa kutu kebul terinfeksi yang ditemukan pada tanaman jeruk di daerah tersebut dan pada umumnya nimfa kutu kebul yang terinfeksi *A. placenta* terdapat pada bagian bawah permukaan daun tanaman jeruk. Karakteristik jamur patogen serangga di kedua tempat tersebut memiliki karakteristik khas yang sama, yaitu memiliki massa konidia berwarna kuning sampai oranye, bentuk stroma seksual yang cenderung datar dan sedikit cembung. Ciri jamur patogen serangga *A. placenta* yang ditemukan di lapangan sesuai dengan ciri khas yang dideskripsikan oleh Suputra (2016).

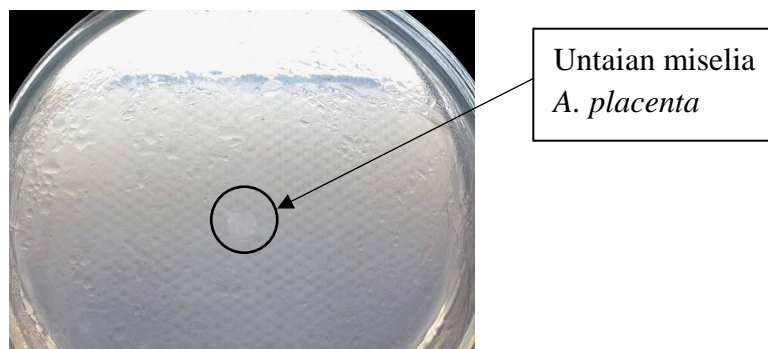


Gambar 1. Perbandingan jamur patogen serangga *A. placenta* di lapangan. (A) *A. placenta* di Desa Kerta, (B) *A. placenta* di Desa Sekaan.

### 3.2. Isolasi Jamur Patogen Serangga

Biakan murni *A. placenta* pada media PSA didapatkan dari hasil pengisolasian terhadap jamur patogen serangga *A. placenta*. Metode isolasi Liu dan Hodge (2005) merupakan metode yang umum digunakan dalam pengisolasian jamur patogen serangga *Aschersonia* sp. Metode isolasi ini memiliki sedikit perbedaan dari metode isolasi pada umumnya. Perbedaan tersebut adalah penggunaan media *water agar* sebagai media perkecambahan konidia *A. placenta*.

Media *water agar* digunakan sebagai media perkecambahan konidia bertujuan untuk memastikan bahwa konidia *A. placenta* yang akan diperbanyak nantinya merupakan konidia yang dapat tumbuh sehingga keberhasilan isolasi *A. placenta* akan semakin tinggi. Selain itu metode ini digunakan untuk meminimalisir kemungkinan tumbuhnya kontaminan atau mikroba tidak dikehendaki lainnya. Setelah 5-6 hari masa inkubasi pada suhu 23°C terlihat untaian-untaian miselia berwarna putih yang telah tumbuh pada media *water agar*. Terlihatnya untaian-untaian miselia tersebut menandakan bahwa konidia *A. placenta* telah berkecambah (Suputra, 2016).



Gambar 2. Miselia *A. placenta* yang tumbuh pada media *water agar*

Setelah didapatkan konidia *A. placenta* yang telah berkecambah seperti yang tersaji pada gambar 3.3 tahap selanjutnya adalah memindahkan biakan *A. placenta* ke media PSA yang telah diberikan antibiotik (*chloramphenicol* 250 mg/l) menggunakan jarum ose steril. Kemudian biakan *A. placenta* diinkubasikan selama minimal 21 hari pada suhu 23°C. Menurut Liu dkk (2006) *A. placenta* pada umumnya akan membentuk

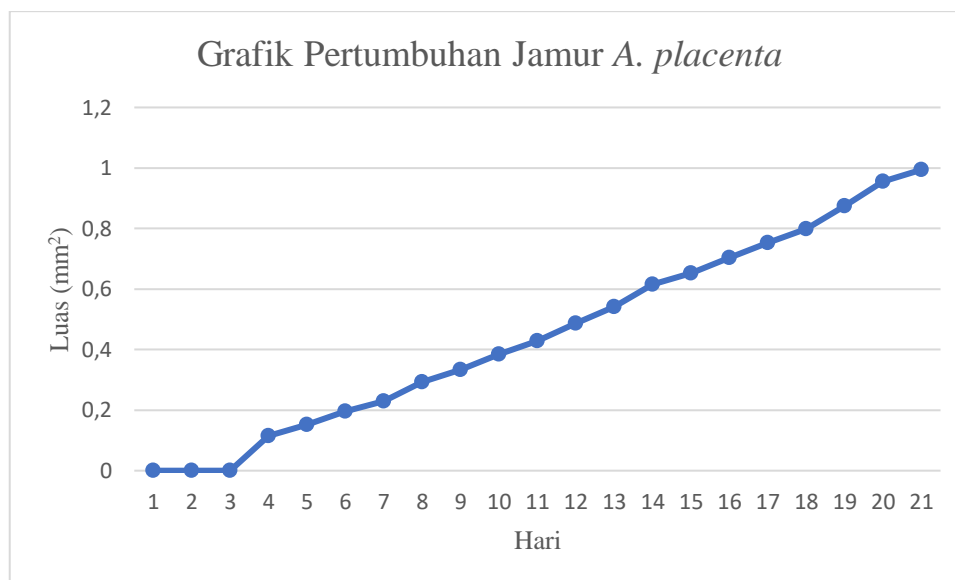
masa konidia dalam kurun waktu 21 hari setelah dipindahkan pada media PSA. Waktu inkubasi *A. placenta* cenderung lebih panjang dikarenakan *A. placenta* tumbuh sangat lambat pada media buatan (Suputra, 2016).



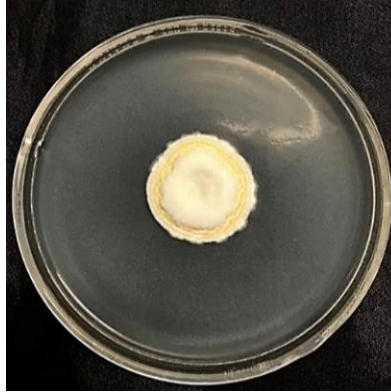
Gambar 3. Konidia *A. placenta* yang telah berkecambah pada media *water agar*

### 3.3. *Pertumbuhan Jamur A. placenta pada Media PSA*

Setelah berumur 21 hari, biakan *A. placenta* yang telah tumbuh pada media PSA memperlihatkan masa konidia berwarna kuning yang merupakan ciri khas dari jamur patogen serangga *A. placenta*. Grafik pertumbuhan jamur *A. placenta* pada media PSA yang dilihat dari luas koloni jamur tersaji pada gambar 4. Terlihatnya masa konidia berwarna kuning ini merupakan ciri khas utama dalam keberhasilan isolasi *A. placenta*, apabila setelah berumur 21 hari biakan belum menampilkan masa konidia berwarna kuning maka biakan tersebut diragukan sebagai biakan *A. placenta*.



Gambar 4. Grafik pertumbuhan luas koloni jamur *A. placenta* sampai hari ke-21

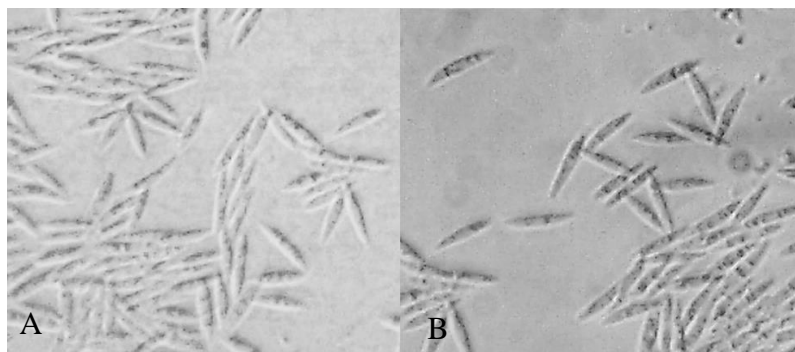


Gambar 5. Biakan *A. placenta* berumur 21 hari pada media PSA

### 3.4. Konfirmasi Jamur *A. placenta* menggunakan Ciri Morfologi

Konfirmasi jamur *A. placenta* dilakukan untuk mengetahui secara pasti bahwa jamur tersebut merupakan penyebab terjadinya infeksi pada nimfa kutu kebul dan untuk mencocokkan karakteristik jamur secara morfologi apabila berasosiasi dengan nimfa kutu kebul, oleh karena itu dilakukan pengujian asosiasi biakan *A. placenta* dengan nimfa kutu kebul.

Gejala infeksi *A. placenta* pada nimfa kutu kebul terlihat dalam kurun waktu 3 minggu setelah perlakuan penyemprotan. Nimfa kutu kebul yang terinfeksi jamur *A. placenta* pada tanaman sancang menunjukkan karakteristik khas yang sama dengan nimfa kutu kebul yang terinfeksi di lapangan yaitu memiliki masa konidia berwarna kuning kejinggaan, setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis, dilanjutkan dengan melihat dan membandingkan konidia jamur pada nimfa kutu kebul tanaman sancang dengan konidia jamur yang diidentifikasi pertama kali menggunakan mikroskop. Terlihat bentuk konidia jamur pada nimfa kutu kebul tanaman sancang serupa dengan konidia jamur pada nimfa kutu kebul tanaman jeruk yang pertama kali diidentifikasi yaitu berbentuk fusoid seperti yang tersaji pada gambar 6. Persamaan bentuk konidia ini menunjukkan bahwa jamur yang diisolasi dan disemprotkan ke nimfa kutu kebul tanaman sancang merupakan jamur *A. placenta*.



Gambar 6. Perbandingan bentuk konidia jamur *A. placenta*. (A) Konidia jamur *A. placenta* dari nimfa kutu kebul tanaman sancang, (B) Konidia jamur *A. placenta* pada media PSA

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode isolasi menggunakan media *Water Agar* (WA) dan *Potato Sucrose Agar* (PSA) efektif untuk mengembangbiakkan jamur patogen serangga *Aschersonia placenta*.

#### Daftar Pustaka

- Atlas, M. R. 2010. Handbook of Microbiological Media (Fourth Edition). CRC Press.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2021. Provinsi Bali Dalam Angka 2021. Bali.
- Chowdary and N. Balaji. 2006. Studies on Root ROT Disease of Mulberry (*Morus* spp.) and Its Management with Special Reference to The Antagonistic Microbes. In: Department of Botany. Karnataka, India: University of Mysore, p. 159
- Liu, M., P. Chaverri, K. T. Hodge. 2006. A Taxonomic Revision of The Insect Biocontrol Fungus *Aschersonia aleyrodis*, Its Allies with With Stromata and Their Hypocrella
- Meekes, E. T. M. 2001. Entomopathogenic Fungi Against Whiteflies: Tritrophic interactions between *Aschersonia* species, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia argentifolii*, and glasshouse crops. Wageningen University.
- Meekes E. T. M., J. J. Fransen, J. C. van-Lenteren. 2002. Pathogenicity of *Aschersonia* spp. against Whiteflies *Bemisia argentifolii* and *Trialeurodes vaporariorum*. Journal of Invertebrate Pathology 81:1-11.
- Sudiarta, P., I. P. W. Suputra, and G. N. A. S. Wirya. 2019. New Report of Insect Pathogenic Fungi (*Aschersonia* sp.) of Citrus Whitefly (*Dialeurodes* sp.) in Bali Indonesia. Jomard Publishing. Research in: Agricultural & Veterinary Sciences 3(1): 22-27
- Sumiati, A., dan R. P. D. Julianto. 2017. Analisis Residu Pestisida pada Jeruk Manis di Kecamatan Dau, Malang. Buana Sain, 17(1): 19-24
- Suputra, I. P. W. 2016. Identifikasi Morfologi dan Persentase Serangan di Lapangan Jamur Patogen Serangga *Aschersonia* sp. yang Menginfeksi Kutu Kebul (*Dialeurodes citri* AshmeadI pada Tanaman Jeruk (*Citrus nobilis* Tan.). Skripsi Sarjana. Fakultas Pertanian. Universitas Udayana. Bali.