

## **Metode Isolasi Jamur Patogen Serangga (*Aschersonia Placenta*) Dengan Menggunakan Media *Potato Sucrose Agar* (PSA)**

### **Isolation Methods Of Insect Pathogen Fungus (*Aschersonia Placenta*) Using *Potato Sucrose Agar* (PSA) Media**

Ni Nyoman Putri Sartika Wangi<sup>1</sup>, I Putu Sudiarta<sup>2\*</sup>), Ketut Ayu Yuliadhi<sup>1</sup>

<sup>2</sup>Master of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Udayana University. Postgraduate Building, Jl. Panglima Besar Sudirman Denpasar, 80232, Bali, Indonesia

<sup>1</sup>Bachelor of Agroecotechnology, Faculty of Agriculture, Udayana University. Agroecotechnology Building, Jl. Panglima Besar Sudirman Denpasar, 80232, Bali, Indonesia

\*email: putusudiarta@unud.ac.id

#### **ABSTRAK**

Metode Isolasi Jamur Patogen Serangga (*Aschersonia plasenta*) menggunakan Media *Potato Sukrose Agar* (PSA). Budidaya jeruk merupakan salah satu komoditas buah unggulan di Bali. Budidaya jeruk sering mengalami kendala, salah satunya adalah hama serangga dan penyakit tanaman. Hama yang sering menyerang adalah kutu kebul. Kutu kebul menyebabkan kerusakan secara langsung atau tidak langsung. Secara langsung mengakibatkan daun tanaman kerdil karena kutu kebul menghisap pucuk dan daun muda. Secara tidak langsung, kutu kebul telah dilaporkan sebagai vektor berbagai penyakit yang disebabkan oleh virus. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan upaya pengendalian, salah satunya dengan menggunakan pengendalian hayati terhadap jamur patogen serangga. Jamur patogen yang ditemukan berasosiasi dengan kutu kebul adalah *plasenta Aschersonia*. Patogen serangga *A. plasenta* secara alami ada di alam dan berpotensi sebagai agen pengendali hayati, namun diperlukan penanganan khusus dalam pemanfaatannya. Salah satu perlakuan tersebut adalah isolasi jamur dari lapangan untuk budidaya massal di laboratorium. Metode isolasi menggunakan *Potato Sukrose Agar* (PSA) merupakan yang terbaik dari keempat metode isolasi yang dilakukan. Caranya adalah sebagai berikut: stroma jamur dibilas dengan akuades steril, alkohol 70%, kemudian dibilas lagi dengan akuades steril sebelum ditanam pada media PSA.

**Kata kunci:** Kutu Kebul, Patogen Serangga, Pengendalian Hayati, *Plasenta Aschersonia*

#### **ABSTRACT**

Isolation Method of Insect Pathogenic Fungus (*Aschersonia placenta*) using *Potato Sucrose Agar* (PSA) Media. Cultivating oranges is one of the main fruit commodities in Bali. Citrus cultivation often experiences problems, one of which is insect pests and plant diseases. Pests that often attack are whitefly. Whiteflies cause damage directly or indirectly. It directly results in stunted plant leaves because the whitefly sucks on the young shoots and leaves. Indirectly, the whitefly has been reported as a vector of various diseases caused by viruses. Based on this, it is necessary to control efforts, one of which is by using biological control of insect pathogenic fungi. The pathogenic fungus found in association with the citrus whitefly is *A. schersonia placenta*. The insect pathogen *A. placenta* naturally exists in nature and has potential as a biological control agent, however special handling is required in its utilization. One such treatment is the isolation of the fungus from the field for mass cultivation in the laboratory. Isolation method using *Potato Sucrose Agar* (PSA) was the best, of the four isolation methods performed. The method is detailed as follows: the fungal stroma is rinsed with sterile distilled water, with 70% alcohol, then rinsed again with sterile distilled water before being planted in PSA media.

**Key words:** Citrus Whitefly, Insect Pathogen, Biological Control, *Aschersonia placenta*

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang memiliki sumber daya alam yang beragam dan melimpah. Kekayaan alam Indonesia menyebabkan Indonesia memiliki hasil komoditi pertanian yang beragam khususnya komoditi hortikultura. Salah satu komoditi hortikultura tersebut adalah jeruk. Jeruk merupakan salah satu tanaman hortikultura yang bernilai ekonomi tinggi dan memiliki prospek pengembangan pasar yang cerah sehingga sangat baik untuk dibudidayakan (Marini, 2020; Riantari *et al.*, 2016). Salah satu provinsi dengan jumlah produksi jeruk terbesar di Indonesia adalah Provinsi Bali. Data Badan Pusat Statistik (BPS) Provinsi Bali, (2023) menyatakan bahwa produksi jeruk merupakan salah satu produksi buah-buahan tertinggi di Provinsi Bali yaitu sebesar 1.369.730kw pada tahun 2022. Namun pada beberapa sentra produksi buah jeruk di Provinsi Bali, produksi jeruk justru mengalami penurunan hasil. Pengembangan jeruk di Bali masih sering mengalami penurunan hasil yang disebabkan oleh serangan hama dan penyakit tanaman.

Hasil penelitian Syafitri *et al.*, (2017) menyatakan bahwa persentase serangan hama jenis kutu pada tanaman jeruk sangat tinggi dan beragam sehingga dapat diartikan bahwa hama jenis kutu merupakan salah satu hama utama pada tanaman jeruk. Kutu kebul merupakan salah satu hama utama dalam budidaya tanaman jeruk. Pengendalian kutu kebul di Indonesia masih sering menggunakan pestisida kimia sintetik. Penggunaan

bahan kimia dalam jangka waktu yang panjang akan menimbulkan residu pada tanaman termasuk buah dan pencemaran lingkungan (Sumiati & Julianto, 2017).

Dengan adanya dampak negatif dari insektisida kimia maka perlu adanya alternatif pengendalian hama kutu kebul yang ramah lingkungan. Salah satunya adalah pengendalian secara hayati dengan memanfaatkan musuh alami dari hama kutu kebul. Salah satu musuh alami dari kutu kebul yang dapat dimanfaatkan adalah jamur entomopatogen (Merthaningsih *et al.*, 2020). Jamur entomopatogen adalah jamur yang memiliki kemampuan untuk menginfeksi dan membunuh serangga. Diketahui bahwa jamur ini hidup, tumbuh, dan berkembang dengan mengambil nutrisi dari inang/serangga yang diinfeksi sehingga inang tersebut terganggu metabolismenya dan kemudian akan mati (Qiu *et al.*, 2013; Svedese *et al.*, 2013). Jamur entomopatogen yang menginfeksi kutu kebul yang ditemukan di beberapa sentra produksi jeruk di Bali adalah jamur *Aschersonia placenta* yang telah dilaporkan pada awal tahun 2014 (Sudiarta *et al.*, 2019). Di negara lain *A. placenta* juga dilaporkan mampu mengendalikan kutu kebul dan serangga lainnya (Pramono & Purnomo, 2019; Sikder *et al.*, 2019; Homrahud *et al.*, 2016). Konsep pengendalian dengan jamur patogen serangga merupakan salah satu upaya pengendalian yang sangat mendukung pertanian organik maupun pertanian berkelanjutan.

*Aschersonia placenta* sangat potensi dikembangkan karena mampu

menyerang kutu kebul secara alami di lapangan, namun dalam isolasinya memiliki kendala, salah satunya adalah kontaminasi pada saat isolasi tersebut. Berdasarkan permasalahan tersebut diperlukan informasi mengenai metode isolasi jamur *A. placenta* yang tepat agar jamur tersebut dapat dibiakan secara murni. Tujuan penelitian tersebut adalah untuk mencari metode isolasi terbaik jamur patogen serangga *A. placenta*. Metode isolasi tersebut merupakan metode awal untuk menyiapkan bahan baku untuk tahan penelitian selanjutnya, misal: identifikasi morfologi, identifikasi molekuler maupun membiakan jamur secara masal di laboratorium. Biakan murni tersebut akan menjadi sumber bahan baku dalam memanfaatkan jamur tersebut sebagai agen pengendali hayati untuk mendukung pengendalian ramah lingkungan dan menunjang pertanian berkelanjutan.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian tersebut dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Pengambilan sampel jamur dilakukan di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan September 2022 sampai dengan Januari 2023. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, cawan petri (*petridish*), tabung reaksi, erlenmeyer, *beaker glass*, jarum suntik, *laminar air flow*, pinset, tisu, kertas label, *autoclave*, lampu bunsen, kantung plastik, kompor,

sendok, alat tulis, kamera, gunting, *object glass*, *cover glass*, mikroskop. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, gula (sukrosa), kentang, agar, alkohol 70%, alkohol 95%, *chloramphenicol*, jamur patogen *A. placenta*.

Sampel yang diambil merupakan daun jeruk yang memiliki jumlah kutu kebul dengan serangan jamur *A. placenta* cukup banyak dan sebisa mungkin tidak ditumbuhi jamur lainnya. Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir kemudian dikeringkan. Selanjutnya, alat-alat dibungkus dan ditutup dengan aluminium foil dan sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan media *Potato Sucrose Agar* (PSA) dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan sebelumnya oleh Rasjman et al., (2022) kupas kentang lalu cuci bersih dan potong dadu kentang sebanyak 200 g. Rebus kentang dalam 500ml aquades hingga melunak kurang lebih selama 20 menit lalu disaring. Tambahkan aquades hingga larutan mencapai 1l, lalu larutan kentang dipanaskan dengan 20g gula dan 20g agar secara bertahap menggunakan api sedang sambil terus diaduk lalu ditambahkan antibiotik *chloramphenicol* 250mg. Tuang media ke dalam erlenmeyer dan sterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada tekanan 2 atm dan suhu 121°C.

Pembuatan media *Water Agar* dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Rasjman et al., (2022) Pertama, campurkan 1 laquades dengan

20g agar, lalu tambahkan antibiotik *chloramphenicol* sebanyak 250 mg. Kedua, panaskan larutan pada api sedang sambil diaduk hingga larutan WA homogen. Tuang larutan ke dalam erlenmeyer steril lalu sterilkan larutan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C.

Sampel segar jamur *A. placenta* diisolasi dan dibiakan dengan media:

A : Media WA + stroma *A. placenta*

B : Media WA + daun yang terdapat stroma *A. Placenta*

C : Media PSA + stroma *A. placenta*

D: Media PSA + daun yang terdapat stroma *A. placenta*

Langkah-langkah penelitian yang dilakukan adalah: pertama, sampel daun dicelupkan pada aquades untuk membersihkan kotoran pada sampel lalu sterilisasi dengan cara dicelupkan pada alkohol 70% selama beberapa detik kemudian bilas kembali dengan aquades. Kedua, sampel yang telah steril dicelupkan dan direndam dalam aquades selama beberapa saat. Tunggu hingga beberapa saat, kemudian congkel lalupindahkan stroma jamur dengan menggunakan jarum suntik steril pada media PSA dan WA. Ketiga, sampel daun yang telah steril digunting menjadi lebih kecil lalu letakan pada media PSA dan WA. Tutup cawan petri lalu segel dengan menggunakan plastik wrap. Kemudian, biakan pada media PSA diinkubasi selama 21 hari pada suhu 23. Setelah biakan murni jamur *A. placenta* telah diperoleh, selanjutnya adalah identifikasi jamur

secara morfologi dengan mengikuti prosedur dan identifikasi morfologi yang telah dilakukan oleh Sudiarta *et al.*, (2019) dengan melihat bentuk konidia, karakter biakan pada media PSA, dan bentuk stroma jamur *A. placenta*. Identifikasi ini dilakukan untuk memastikan bahwa jamur yang dibiakan merupakan jamur patogen serangga *A. placenta* dan bukan jamur jenis lainnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Metode Isolasi Jamur *Aschersonia placenta* dari lapangan

Pengambilan sampel jamur *Aschersonia placenta* diambil di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. Sampel yang diambil merupakan sampel dengan ciri jamur pathogen serangga *A. placenta* yang sesuai dengan ciri khas yang dideskripsikan oleh Suputra, (2016) jamur patogen serangga di Desa Kerta memiliki karakteristik khas, yaitu memiliki massa konidia berwarna oranye sampai oranye kekuningan, bentuk stroma seksual yang cenderung datar dan sedikit cembung (Gambar 1). Nimfa yang terserang dan yang sehat akan sangat berbeda, serangga sehat akan jelas dan tanpa infeksi (Gambar 1A) dan nimfa yang terserang akan sepenuhnya terselimuti oleh miselia jamur (Gambar 1 B,C). Sampel diambil dari bagian daun tanaman jeruk yang terdapat nimfa kutu kebul terinfeksi jamur *A. placenta*, umumnya ditemukan pada bagian bawah permukaan daun tanaman jeruk.

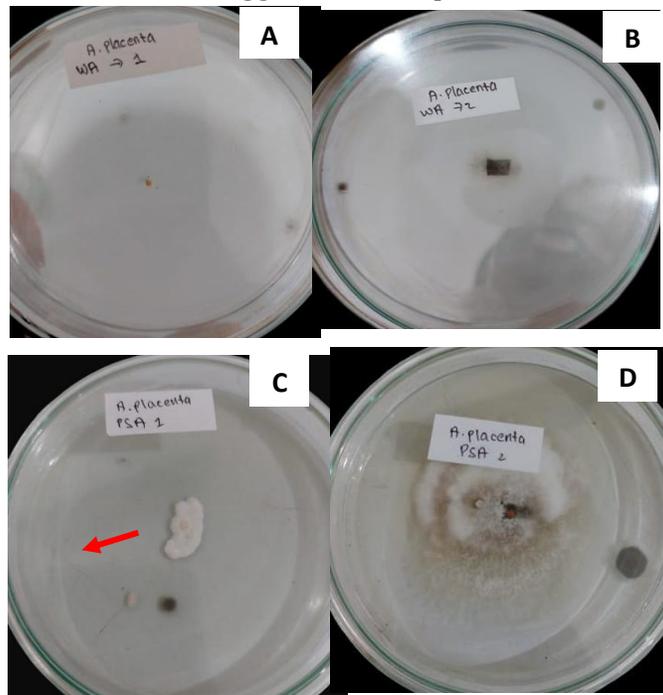
Sudiarta: Metode Isolasi Jamur Patogen Serangga (*Aschersonia Placenta*)



Gambar 1. Perbedaan ninfa yang sehat dan terinfeksi oleh *Aschersonia placenta*. A. Ninfa sehat (ditunjukkan dengan anak panah); B,C. Stroma jamur patogen serangga *A. placenta* (ninja yang terinfeksi jamur) pada daun jeruk (ditunjukkan dengan anak panah)

Pengisolasian jamur patogen serangga *A. placenta* dilakukan untuk mendapatkan biakan murni jamur *A. placenta* pada media buatan. Media WA digunakan sebagai media perkecambahan jamur *A. placenta* yang bertujuan untuk memastikan bahwa konidia yang akan diperbanyak merupakan konidia jamur yang mampu tumbuh sehingga

keberhasilan dalam isolasi semakin tinggi. Media PSA digunakan untuk mempercepat proses isolasi jamur *A. placenta* karena memiliki nutrisi berupa sumber karbon yang sesuai dengan kebutuhan hidup jamur *A. placenta*. Metode ini dikembangkan sebagai perbaikan media sebelumnya yang dilaporkan oleh Rasjman *et al.*, (2022)



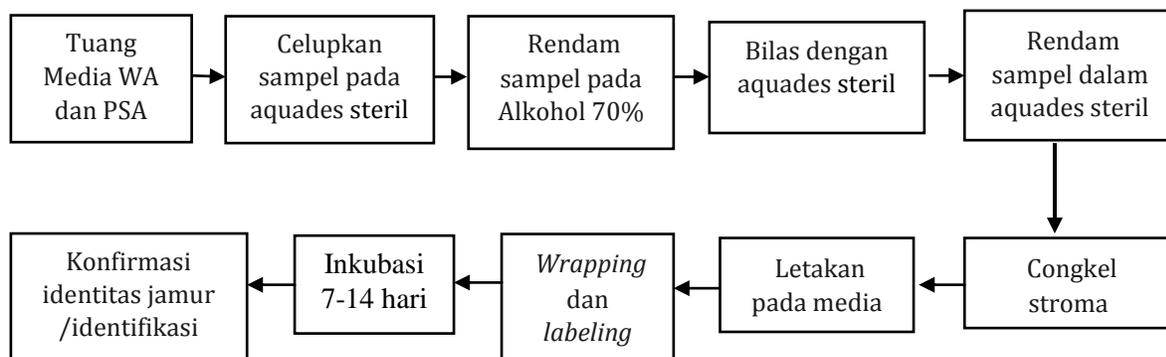
Gambar 3. Biakan jamur *Aschersonia placenta* pada hari ke-7 setelah inokulasi. A. WA+ stroma; B. WA+ daun beserta stroma; C. PSA+ stroma; D. PSA+ daun beserta stroma.

Biakan jamur *A. placenta* dapat tumbuh baik dengan kontaminan yang sedikit pada media PSA yang ditanami satu stroma jamur *A. placenta* pada hari ke-7 (Gambar 3C), sedangkan pada media WA jamur *A. placenta* tidak dapat tumbuh dengan baik (Gambar 3A), begitu pula stroma yang berisi daun tanaman juga tidak bisa tumbuh baik pada media WA maupun PSA (Gambar 3 B,D). Menurut Sari et al., (2018) pengaruh nutrisi media sangat menentukan pertumbuhan jamur patogen serangga *Metarhizium*, salah satunya dengan penambahan tepung jangkrik. Jamur *A. placenta* dapat tumbuh dengan cepat pada media PSA karena pada media tersebut terdapat nutrisi berupa karbon untuk pertumbuhan jamur patogen serangga. Kemampuan jamur patogen serangga dalam menginfeksi

serangga inang dipengaruhi oleh nutrisi yang terkandung pada media (Hamzah & Sutikno, 2016; Qiu et al., 2013). Sterilisasi sampel yang dilakukan secara optimal mampu meminimalisir kontaminan pada biakan jamur *A. placenta*. Biakan jamur *A. placenta* selanjutnya dimurnikan dan diinkubasi selama 21 hari hingga mendapat biakan murni jamur *A. placenta* (Gambar 4). Alur dari metode isolasi *A. placenta* pada media PSA diawali dari pengambilan sampel, pencucian sampel stroma dari lapangan menggunakan aquades steril kemudian dilanjutkan dengan pencelupan dengan alkohol 70%, dan dibilas kembali dengan aquades steril sebelum stroma ditanaman pada media PSA (Gambar 5).



Gambar 4. Biakan murni *Aschersonia placentae* berumur 21 hari setelah inokulasi pada media PSA



Gambar 5. Alur metode isolasi jamur pathogen serangga *Aschersonia placentae* pada media PSA

## Identifikasi Morfologi Jamur

### *Aschersonia placenta*

Identifikasi jamur *Aschersonia placenta* dilakukan untuk mengkonfirmasi secara pasti bahwa jamur yang dibiakan merupakan jamur patogen serangga *A. placenta*. Secara makroskopis biakan jamur *A. placenta* memiliki masa konidia berwarna kuning hingga oranye pada

umur 21 hari dan bentuk koloni menyebar dengan warna putih hingga putih kekuningan. Secara mikroskopis biakan jamur *A. placenta* memiliki konidia berbentuk fusoid. Karakteristik jamur patogen serangga *A. placenta* yang ditemukan sesuai dengan karakteristik yang dideskripsikan oleh Sudiarta et al., (2019) (Gambar 6).



Gambar 6. Konidia jamur *Aschersonia placenta* pada media PSA.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode isolasi menggunakan media PSA dengan menanam stroma jamur *Aschersonia placenta* secara langsung setelah dicuci dengan aquades steril dan alcohol 70% efektif untuk mengisolasi jamur patogen serangga *Aschersonia placenta* dari lapangan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Udayana atas pendanaan yang telah diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik (BPS) Provinsi Bali. (2023). *Provinsi Bali Dalam Angka 2023*.
- Hamzah, S., & Sutikno, A. (2016). Pengaruh media perbanyakan jamur entomopatogen *Cordyceos militaris* fries lokal terhadap larva *Oryctes rhinoceros* L. di Laboratorium. *J. Agrotek. Trop*, 5(2), 77–83.
- Homrahud, D., Uraichuen, S., & Attathom, T. (2016). Cultivation of *Aschersonia placenta* Berkeley and Broom and its efficacy for controlling *Parlatoria ziziphi* (Lucas) (Hemiptera: Diaspididae). *Agriculture and Natural Resources*, 50(3), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.06.005>
- Marini, S. (2020). *Prospek Pengembangan Usaha Tani Jeruk Sebagai Pendukung*

- Desa Wisata Di Desa Gadingkulon Kecamatan Dau. Universitas Tribhuwana Tungadewi. Malang.*
- Merthaningsih, N. P., Sudiarta, I. P., & Wirya, G. N. A. S. (2020). Identification of Citrus Whitefly, Host of Entomopathogenic Fungi (*Aschersonia Placenta*) in Bali Indonesia. *International Journal of Biosciences and Biotechnology*, 7(2), 57.  
<https://doi.org/10.24843/ijbb.2020.v07.i02.p01>
- Pramono, B. S., & Purnomo, H. (2019). Patogenisitas Jamur Entomopatogen *Aschersonia* sp. Sebagai Pengendalian Hama Kutu Sisik *Citricola* Coccus *pseudomagnoliarium* (Kuw.) (Homoptera : Coccidae) Pada Tanaman Jeruk. *Jurnal Pengendalian Hayati*, 2(1), 17.  
<https://doi.org/10.19184/jph.v2i1.17135>
- Qiu, J., Song, F., Qiu, Y., Li, X., & Guan, X. (2013). Optimization of the medium composition of a biphasic production system for mycelial growth and spore production of *Aschersonia placenta* using response surface methodology. *Journal of Invertebrate Pathology*, 112(2), 108–115.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.10.010>
- Rasjman, N. M. S., Sudiarta, I. P., Phabiola, T. A., Wirya, G. N. A. S., & Suputra, I. P. W. (2022). Metode Isolasi Jamur Patogen Serangga ( *Aschersonia placenta* ) Menggunakan Media Water Agar dan Potato Sucrose Agar. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 11(2), 208–215.  
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/JAT/article/view/86788/44537>
- Riantari, N., Widyantara, I., & Sarjana, I. (2016). Prospek Pengembangan Usahatani Jeruk Siam Di Desa Pupuan Kecamatan Tegallalang Kabupaten Gianyar. *E-Journal Agribisnis Dan Agrowisata (Journal of Agribusiness and Agritourism)*, 4(4), 250–258.  
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/JA/article/view/17408/11438>
- Sari, D., Oetari, A., & Sjamsuridzal, W. (2018). Cricket powder in the growth medium provides nutrition for the insect-pathogenic fungus *Metarhizium majus* UICC 295. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Current Progress in Mathematics and Sciences 2017 (ISCPMS2017) AIP Conf. Proc. 2023, 2023(01)*, 1–5.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1063/1.5064147>
- Sikder, M. M., Mallik, M. R. I., & Alam, N. (2019). Identification and in vitro Growth Characteristics of Entomopathogenic fungus-*Aschersonia* sp. in Bangladesh. *Advances in Zoology and Botany*, 7(1), 11–18.  
<https://doi.org/10.13189/azb.2019.070102>
- Sudiarta, I. P., Suputra, I. P. W., & Wirya, G. N. A. . (2019). New Report of Insect Pathogenic Fungi ( *Aschersonia* sp .) of Citrus Whitefly ( *Dialeurodes* sp. ) in Bali Indonesia. *Research in: Agricultural & Veterinary Sciences*, 3(1), 22–27.  
[http://jomardpublishing.com/UploadFiles/Files/journals/RV/V3N1/Sudiarta et al.pdf](http://jomardpublishing.com/UploadFiles/Files/journals/RV/V3N1/Sudiarta%20et%20al.pdf)
- Sumiati, A., & Julianto, R. P. . (2017). Analisis residu pestisida pada jeruk

manis di kecamatan dau, malang.  
*Buana Sains*, 17(1), 19–24.  
<https://jurnal.unitri.ac.id/index.php/buanasains/article/view/574/574>

Suputra, I. P. W. (2016). *Identifikasi Morfologi dan Persentase Serangan di Lapang Jamur Patogen Serangga Aschersonia sp. yang Menginfeksi Kutu Kebul (Dialeurodes citri Ashmead) pada Tanaman Jeruk (Citrus nobilis Tan.)* [Universitas Udayana].  
<https://erepo.unud.ac.id/id/eprint/8973/>

Svedese, V. M. ., Tiago, P. V. ., Bezerra, J. D. ., Paiva, P. ., Lima, E. ., & Porto, A. . (2013). Pathogenicity of Beauveria bassiana and production of cuticle-degrading enzymes in the presence of Diatraea saccharalis cuticle. *African Journal of Biotechnology*, 12(46), 6491–6497.  
<https://doi.org/10.5897/ajb2013.11972>

Syafitri, D. ., Fauzana, H., & Salbiah, D. (2017). Kelimpahan Hama Kutu Pada Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) di Desa Kuok Kecamatan Kuok Kabupaten Kampar Provinsi Riau. *JOM Faperta*, 4(1), 1–11.  
<https://media.neliti.com/media/publications/201874-none.pdf>