

PERTUMBUHAN RADIAL DAN PRODUKSI BIOMASSA CENDAWAN ENTOMOPATOGEN *Beauveria bassiana* PADA BERBAGAI MEDIA

Radial Growth and Biomass Production of Entomopathogenic Fungal Beauveria bassiana on Various Media

Dewi Ramdhania, Achmad dan Noor Farikhah Haneda

Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan, IPB

ABSTRACT

Three different types of solid and liquid media were used to determine radial growth and biomass production of *Beauveria bassiana*. Radial growth in solid media was observed for about 15 day after inoculation by measuring the fungal colony diameter every 24 hours. Maximum average growth is obtained in SDAY media (5.31 cm) followed by PDA (4.79 cm) and MEA (4.21 cm). While SDBY (0.24 g) as the liquid medium used for the biomass production after 4 weeks of incubation obtained the highest biomass followed by MEB (0.19 g) and PDB (0.18 g). The result showed that Sabouraud Dextrose with Yeast Extract is the most suitable medium for *B. bassiana* growth.

Key words : *Beauveria bassiana*, media, radial growth, biomass production

PENDAHULUAN

Untuk mengantisipasi berbagai dampak negatif akibat penggunaan insektisida kimia kini banyak dikembangkan insektisida berbahan aktif agens hayati seperti cendawan entomopatogen. *Beauveria bassiana* merupakan salah satu dari sekian banyak spesies cendawan yang dikembangkan sebagai agens hayati untuk mengendalikan serangga hama. *B. bassiana* memiliki tipe pertumbuhan dimorfik yaitu pada saat tidak ada serangga inang yang spesifik, *B. bassiana* mengalami siklus hidup aseksual (Wan 2003).

Aplikasi *B. bassiana* yang efektif adalah dengan cara menyemprot kanopi tanaman dengan suspensi konidia *B. bassiana* agar terjadi kontak dengan hama sasaran, atau ditaburkan/disemprotkan pada permukaan tanah, atau dicampur dengan tanah atau kompos (Soetopo 2007).

Khashaveh *et al.* (2011) menyatakan bahwa saat ini beberapa formulasi *B. bassiana* tersedia secara komersil dan terdaftar untuk digunakan pada fasilitas penyimpanan. Cendawan entomopatogen dapat digunakan untuk mengendalikan sisa hama pada tempat penyimpanan yang kosong sebelum hasil panen yang baru dimasukkan ke dalam tempat penyimpanan tersebut.

Daya simpan produk agens hayati juga merupakan salah satu hal yang penting untuk dikaji. Faria *et al.* (2012) memodifikasi kemasan produk *B. bassiana* untuk memperpanjang daya simpan konidia pada suhu tinggi.

Sebagaimana organisme lainnya, *B. bassiana* memerlukan nutrisi untuk pertumbuhannya. Mehta *et al.* (2012) mengungkapkan bahwa sumber karbon terbaik untuk memproduksi biomassa *B. bassiana* adalah

fruktosa jika dibandingkan dengan laktosa dan dekstrosa. Sementara Sahayraj (2008) menyatakan bahwa wortel dapat dijadikan media padat yang memproduksi biomassa tertinggi dibandingkan serbuk gergaji dan sekam padi.

Untuk mencapai pertumbuhan optimal *B. bassiana* membutuhkan nutrisi dari media yang sesuai. Hal ini berkaitan dengan perbanyakan isolat secara massal. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan media tumbuh yang paling sesuai untuk memperbanyak isolat *B. bassiana*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan penelitian yang digunakan antara lain isolat *B. bassiana*, PDA (*Potato Dextrose Agar*), *Malt Extract*, SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), *Yeast Extract*, peptone, dextrose, *pure agar*, kentang, aquades, dan antibiotik kloramfenikol. Sedangkan peralatan yang digunakan antara lain cawan petri, botol selai, *laminar air flow*, *autoclave*, dan beberapa peralatan laboratorium lainnya.

Metode

Pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media padat secara in vitro

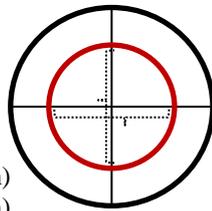
Isolat *B. bassiana* diperoleh dari Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan (BBP2TP) Surabaya. Media tumbuh padat yang digunakan dalam penelitian ini adalah PDA, *Malt Extract Agar* (MEA), dan SDAY (*Sabouraud Dextrose Agar* ditambah *Yeast Extract*).

Metode pengujian pertumbuhan radial koloni dan pertumbuhan biomassa *B. bassiana* mengacu pada Senthamizhlselvan *et al* (2010). Isolat *B. bassiana* berdiameter 8 mm diinokulasikan di tengah masing-masing media yang telah dituang ke cawan petri berukuran 9 cm secara aseptik. Isolat *B. bassiana* diinkubasikan di laboratorium dengan ulangan dilakukan sebanyak 4 kali. Respon pertumbuhan radial dihitung dengan metode mengukur pola pertumbuhan radial yang berupa diameter koloni. Diameter koloni ditentukan dengan cara membuat garis tegak lurus yang melewati sumbu koloni. Batas terluar dari koloni yang merupakan diameter harian ($\emptyset x$ dan $\emptyset y$) ditandai dan diukur setiap hari sampai salah satu cawan petri dipenuhi oleh koloni miselium *B. bassiana*. Rata-rata diameter harian didapatkan dari rumus berikut ini

$$D = \frac{\emptyset x + \emptyset y}{2}$$

Keterangan :

- D : diameter rata-rata (cm)
 $\emptyset x$: diameter pada sumbu x (cm)
 $\emptyset y$: diameter pada sumbu y (cm)



Pertumbuhan Biomassa *B. bassiana* pada Media Cair Secara In Vitro

Media tumbuh cair yang digunakan pada penelitian ini adalah *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Malt Extract Broth* (MEB), dan *Sabouraud Dextrose Broth* ditambah *Yeast Extract* (SDBY). Setiap 50 ml media cair dimasukkan ke dalam botol selai lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Isolat *B. bassiana* berumur 3 bulan dengan diameter 8 mm ditumbuhkan secara aseptik ke dalam botol selai yang berisi media yang sudah steril kemudian diinkubasikan selama 4 minggu (Gambar 1). Ulangan dilakukan sebanyak 7 kali.



Gambar 1 Isolat yang ditumbuhkan pada media cair di botol selai.

Biomasa *B. bassiana* dihitung pada minggu ke empat setelah ditumbuhkan pada media. Miselia *B. bassiana* dipisahkan dari media PDB, MEB, dan SDBY menggunakan kertas saring yang telah diketahui berat keringnya. Kertas saring dan miselia yang tersaring dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu

60°C untuk memperoleh berat kering miselia dan kertas saring, sehingga biomassa *B. bassiana* dapat ditentukan dengan rumus

$$\text{Biomassa (g)} = B2 - B1$$

Keterangan :

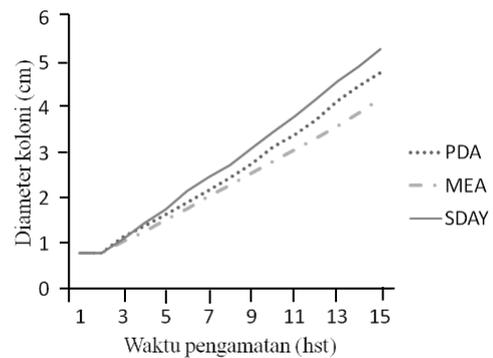
- B2 = Berat kering miselia dan kertas saring (g)
 B1 = Berat kering kertas saring (g).

Analisis Data

Analisis ragam dilakukan terhadap data respon pertumbuhan isolat *B. bassiana* pada berbagai media kultur menggunakan program SAS. Analisis dilakukan pada taraf uji 5% dan jika pengaruh perlakuan bersifat nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media padat secara *in vitro*



Gambar 2 Laju pertumbuhan koloni *B. bassiana* pada media PDA, MEA, dan SDAY selama 15 hari setelah ditumbuhkan.

Data pengukuran koloni *B. bassiana* pada hari ke 15 setelah tanam (hst) pada media PDA, MEA, dan SDAY secara berurutan adalah 4.79 cm, 4.21 cm, dan 5.31 cm (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan penelitian Desyanti (2007) yang mengungkap pertumbuhan radial *B. bassiana* dalam media SDAY selama 15 hst berkisar antara 3.98 cm sampai dengan 5.36 cm.

Desyanti (2007) juga menyatakan bahwa spesies cendawan entomopatogen *B. bassiana* menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan pertumbuhan spesies cendawan entomopatogen lainnya seperti *Fusarium oxysporum* dan *Aspergillus flavus* yang sudah memenuhi cawan petri berukuran 9 cm dalam waktu dua minggu. Data tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian Senthamizhlselvan *et al* (2010) yang mengungkapkan bahwa koloni *B. bassiana* pada media yang mengandung *Sabouraud Dextrose Agar* mengalami pertumbuhan radial yang lebih cepat dibandingkan dengan koloni *B. bassiana* pada media PDA.

Tabel 1 Hasil uji lanjut Duncan pengaruh jenis media padat terhadap pertumbuhan diameter rata-rata *B. bassiana*.

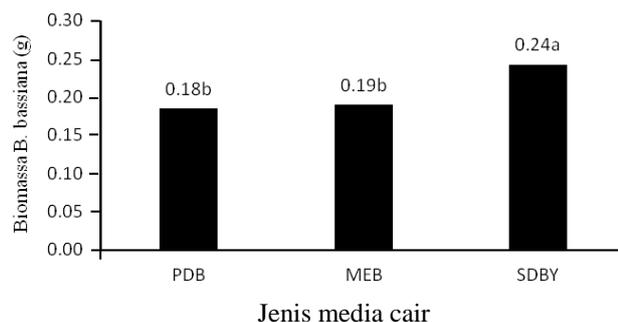
| Jenis Media | Diameter rata-rata (cm)* |
|-------------|--------------------------|
| SDAY | 2.85042 ^a |
| PDA | 2.59125 ^b |
| MEA | 2.34125 ^c |

*Nilai diameter yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada taraf α 0.05 berdasarkan uji jarak berganda Duncan.

Pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media PDA, MEA, dan SDAY selama 15 hst menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar masing-masing media. Pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* yang tercepat diperoleh pada media SDAY yang diikuti oleh media PDA dan MEA (Tabel 1). Dengan demikian dapat diketahui bahwa di antara ketiga media yang dibandingkan, media SDAY mengandung nutrisi yang paling optimal untuk perkembangan radial koloni *B. bassiana* pada media padat secara *in vitro*. Diameter koloni pada substrat yang miskin nutrisi sering terlihat mirip dengan jenis media lain yang lebih kaya nutrisi namun pertumbuhannya terlihat sangat tipis (Kamp *et al* 2002)

Respon Pertumbuhan Biomassa *B. bassiana* pada Media Cair Secara *In Vitro*

Biomassa *B. bassiana* yang diinkubasikan pada media PDB, MEB dan SDBY selama 4 minggu secara berturut-turut adalah 0.18 g, 0.19 g, dan 0.24 g. Sehingga dapat diketahui bahwa biomassa tertinggi diperoleh isolat yang diinkubasikan pada media SDBY, diikuti oleh isolat pada media MEB, dan biomassa yang terendah diperoleh isolat yang diinkubasikan pada media PDB (Gambar 3).



Gambar 3 Biomassa *B. bassiana* pada media PDB, MEB, dan SDBY selama 4 minggu.

Tabel 2 Hasil uji lanjut Duncan pengaruh jenis media cair terhadap produksi biomassa *B. bassiana*.

| Jenis Media | Biomassa (g)* |
|-------------|----------------------|
| SDBY | 0.24286 ^a |
| MEB | 0.19286 ^b |
| PDB | 0.18571 ^b |

*Nilai biomassa yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada taraf α 0.05 berdasarkan uji jarak berganda Duncan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa produksi biomassa *B. bassiana* pada media SDBY berbeda nyata terhadap biomassa *B. bassiana* pada media PDB dan MEB (Tabel 2) sedangkan produksi biomassa *B. bassiana* pada media PDB dan MEB tidak berbeda nyata. Hal ini bertolak belakang dengan pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media padat antara PDA dan MEA yang menunjukkan perbedaan yang nyata.

Namun demikian terdapat korelasi antara nilai biomassa *B. bassiana* pada media tumbuh cair dengan pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media tumbuh padat. Dari kedua tipe media tumbuh tersebut dapat diketahui bahwa media tumbuh cair SDBY menghasilkan biomassa *B. bassiana* terbesar, linear dengan hasil pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* pada media tumbuh padat SDAY yang menunjukkan hasil tercepat. Sehingga media SDBY dan SDAY adalah yang paling sesuai untuk produksi biomassa ataupun pertumbuhan radial koloni *B. bassiana*. Kandungan nutrisi dari media tersebut yang menyebabkan pertumbuhan *B. bassiana* menjadi optimal (Tabel 3). Sharma (2002) dalam Senthamizhlselvan *et al.* (2010) melaporkan bahwa pertumbuhan *B. bassiana* yang baik dengan medium cair Sabouraud mungkin dikarenakan keberadaan pepton sebagai sumber nitrogen.

Tabel 3 Daftar komposisi nutrisi yang terdapat pada masing-masing media tumbuh

| Media | Komposisi | Gram/liter |
|-------|---------------|------------|
| SDAY | Peptone | 2.5 |
| | Dextrose | 10 |
| | Agar | 3.75 |
| MEA | Yeast Extract | 2.5 |
| | Malt Extract | 15 |
| | Agar | 15 |
| PDA | Kentang | 200 |
| | Dextrose | 20 |
| | Agar | 15 |
| SDBY | Peptone | 2.5 |
| | Dextrose | 10 |
| | Yeast Extract | 2.5 |
| MEB | Malt Extract | 15 |
| | PDB | |
| PDB | Kentang | 200 |
| | Dextrose | 20 |

Nitrogen merupakan unsur yang berperan dalam pembentukan molekul protein dan asam nukleat yang salah satu fungsinya adalah sebagai sumber energi, sehingga isolat *B. bassiana* yang ditanam pada media yang lebih banyak mengandung molekul nitrogen memiliki sumber energi yang lebih besar untuk melakukan aktivitas selulernya dalam membentuk sel-sel baru. Selain itu karbon yang merupakan unsur penting sebagai penyusun komponen dinding sel tersedia dalam dextrose. Hasilnya adalah pertumbuhan radial koloni *B. bassiana* lebih cepat dan produksi biomasanya lebih tinggi pada media Sabouraud dibandingkan dengan media lainnya.

KESIMPULAN

Media padat SDAY dan media cair SDBY merupakan media tumbuh yang paling sesuai untuk pertumbuhan dan perbanyakkan cendawan *B. bassiana*.

DAFTAR PUSTAKA

- Desyanti. 2007. Kajian Pengendalian Rayap Tanah *Coptotermes spp.* (Isoptera: Rhinotermitidae) Dengan Menggunakan Cendawan Entomopatogen Isolat Lokal [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Faria M, JH Hotchkiss, SP Wraight. 2012. Application Of Modified Atmosphere Packaging (Gas Flushing And Active Packaging) For Extending The Shelf Life Of *Beauveria bassiana* Conidia At High Temperatures. *Biological Control*. 61:78-88.
- Kamp AM, MJ Bidochka. 2002. *Conidium* Production by Insect Pathogenic Fungi on Commercially Available Agars. *Lett Appl Microbiol* 35:74-77.
- Khashaveh A, Y Ghosta, M H Safaralizadeh, M Ziaee. 2011. The Use Of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* In Assays With Storage Grain Beetles. *J. Agric. Sci. Tech* 13: 35-43.
- Mehta J, Madhulika J, Sudha C, Jishan M, Dilip S, Pawan K, Priyanka G, and Meenu M N. 2012. Impact of Carbon & Nitrogen Sources on The *Trichoderma viride* (Biofungicide) And *Beauveria bassiana* (entomopathogenic fungi). *European Journal of Experimental Biology* 2(6) : 2061-2067.
- Sahayaraj K, SKR Namasivayam. 2008. Mass Production Of Entomopathogenic Fungi Using Agricultural Products And By Products. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (12), pp. 1907-1910.
- Senthamizhlselvan P, J Alice R. P. Sujeetha, C Jeyalakshmi. 2010. Growth, Sporulation and Biomass Production of Native Entomopathogenic Fungal Isolates on A Suitable Medium. *Journal of Biopesticides* 3(2): 466-469.
- Soetopo D dan Iga Indrayani. 2007. Status Teknologi dan Prospek *Beauveria bassiana* Untuk Pengendalian Serangga Hama Tanaman Perkebunan Yang Ramah Lingkungan. *Perspektif*, 6, 29-46.
- Wan H. 2003. Molecular Biology of The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*: Insect-cuticle Degradation Enzymes and Development of A New Selection Marker for Fungal Transformation [Inaugural Dissertation]. Heidelberg: Ruprecht Karls Universitat.