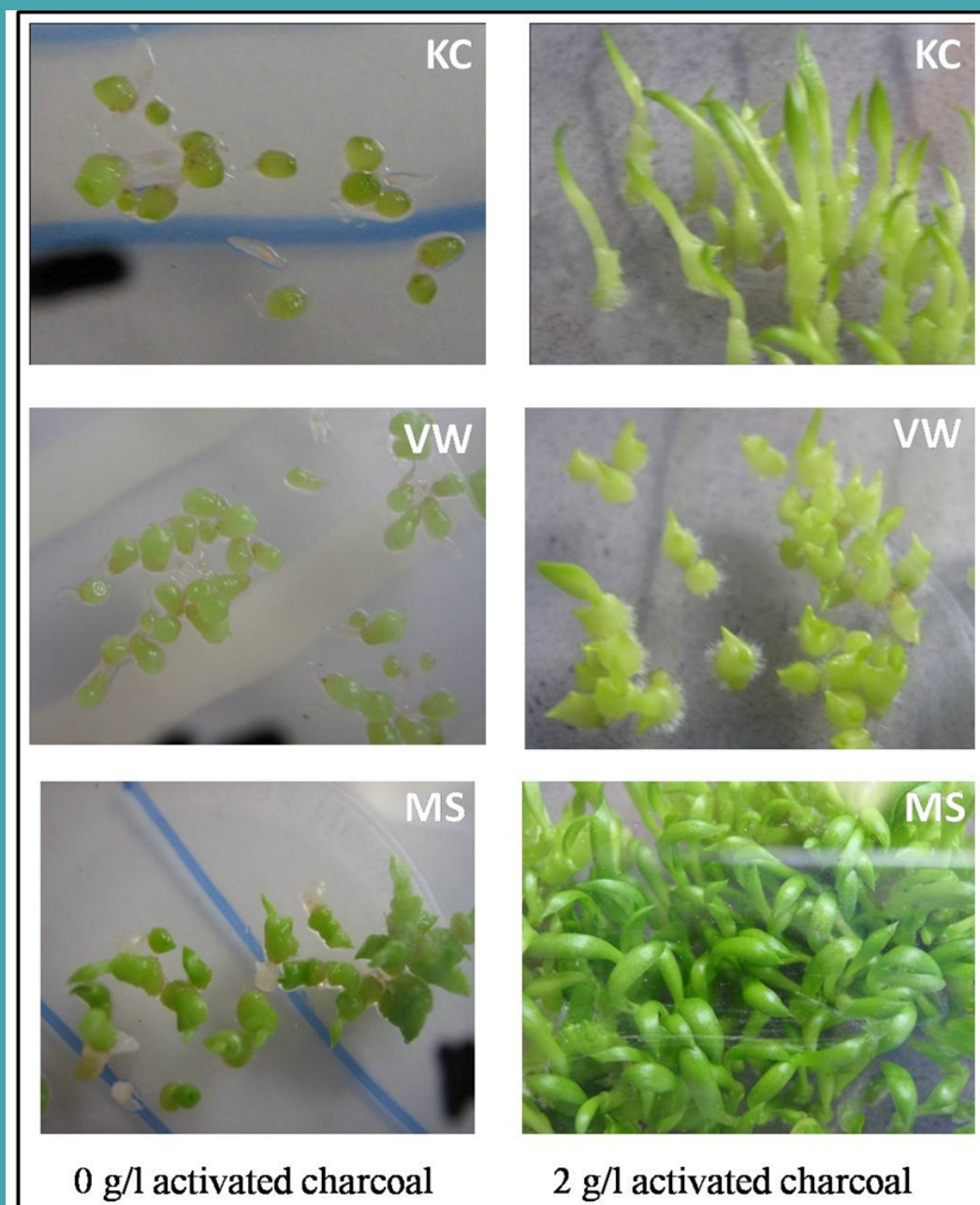


# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



# BERITA BIOLOGI

Vol. 15 No. 1 April 2016

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
No. 636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015

---

## **Tim Redaksi (*Editorial Team*)**

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)  
Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)  
Gono Semiadi  
Atit Kanti  
Ary P. Keim  
Siti Sundari  
Evi Triana  
Kartika Dewi

## **Desain dan Layout (*Design and Layout*)**

Muhamad Ruslan, Fahmi

## **Kesekretariatan (*Secretary*)**

Nira Ariasari, Enok, Budiarjo

## **Alamat (*Address*)**

Pusat Penelitian Biologi-LIPI  
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)  
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,  
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia  
Telepon (021) 8765066 - 8765067  
Faksimili (021) 8765059  
Email: [berita.biologi@mail.lipi.go.id](mailto:berita.biologi@mail.lipi.go.id)  
[jurnalberitabiologi@yahoo.co.id](mailto:jurnalberitabiologi@yahoo.co.id)  
[jurnalberitabiologi@gmail.com](mailto:jurnalberitabiologi@gmail.com)



**ISSN 0126-1754**  
636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015  
Volume 15 Nomor 1, April 2016

# **Berita Biologi**

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

Berita Biologi	Vol.15	No. 1	Hlm. 1-106	Bogor, April 2016	ISSN 0126-1754
----------------	--------	-------	------------	-------------------	----------------

**Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ucapan terima kasih kepada  
Mitra Bebestari nomor ini  
15(1) – April 2016

Dr. Siti Sundari  
Dr. Dono Wahyuno  
Dr. Ary Keim Prihardyanto  
Dr. Ir. Fauzan Ali M. Sc.  
Dr. Edi Mirmanto  
Dr. Heddy Julistiono  
Prof. Dr. I Made Suidiana, M.Sc.  
Prof. Dr. Lazarus Agus Sukanto  
Dr. Nurainas  
Dr. Rudhy Gustiano  
Ir. Titi Juhaeti, M.Sc.

## EKSPLORASI DAN KARAKTERISASI ENTOMOPATOGEN ASAL BERBAGAI INANG DAN LOKASI [Exploration and Characterization of Entomopathogenic from Various Host and Location]

Tri Puji Priyatno<sup>1</sup>, I Made Samudra<sup>1</sup>, Ifa Manzila<sup>1</sup>, Dwi Ningsih Susilowati<sup>1</sup> dan Yadi Suryadi<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia BB Biogen,  
Jl. Tentara Pelajar 3A, 16111  
email: yshid@yahoo.co.uk

### ABSTRACT

Microbial groups of entomopathogenic (fungi and bacteria) had been reported causing insect mortality. The aim of the study was to explore and characterized entomopathogenic from various host and locations. Fungal identification at genus and species level was carried out based on conidial morphology, hyphal growth, conidiophore and colony color; whilst for bacterial identification was based on standard Bergey's manual for determinative bacteria. Sixteen entomopathogenic isolates that consisted of fungal and bacteria have been collected and preserved for further characterization. Of the 16 entomopathogen collected samples, five fungal genera was found *i.e.* *Paecilomyces*; *Metarhizium*, *Beauveria*, *Hirsutella*; and *Cordyceps*. Seven isolates belonging to six fungal isolates, and one bacterial isolate had been identified based upon ITS and 16S rDNA sequences, respectively. We confirmed that 6 fungal isolates belong to species of *Paecilomyces reniformis*, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. anisopliae* var *acidum*, *Hirsutella thomsonii*. One isolate of red pigmented bacteria Sm201102 have been identified was belonging to species *Serratia marcescense*. It was also obtained two fungal isolates from different host (spider and beetle) which confirmed by morphological character belong to *Cordyceps* sp.

**Key words:** entomopathogen, characterization, ITS primer

### ABSTRAK

Kelompok mikroba entomopatogen (jamur dan bakteri) telah dilaporkan dapat menyebabkan kematian serangga. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi dan mengkarakterisasi entomopatogen dari berbagai inang dan lokasi. Identifikasi jamur pada tingkat genus dan spesies dilakukan berdasarkan morfologi konidia, pertumbuhan hifa, bentuk konidiofor dan warna koloni; sementara untuk identifikasi bakteri berdasarkan petunjuk standar penentuan bakteri menurut Bergey. Dari koleksi entomopatogen yang dikumpulkan, sebanyak 16 isolat terdiri dari jamur dan bakteri telah disimpan untuk karakterisasi lebih lanjut. Dari 16 sampel entomopatogen dikumpulkan, ditemukan lima genera jamur yaitu: *Paecilomyces*; *Metarhizium*, *Beauveria*, *Hirsutella*; dan *Cordyceps*. Masing-masing tujuh isolat kelompok jamur, dan satu isolat bakteri telah diidentifikasi berdasarkan urutan DNA ITS dan 16S rDNA. Hasil menunjukkan bahwa dari 6 isolat jamur termasuk dalam spesies: *Paecilomyces reniformis*, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. anisopliae* var *acidum*, *Hirsutella thomsonii*. Satu isolat bakteri berpigmen merah Sm201102 telah diidentifikasi termasuk spesies *Serratia marcescense*. Diperoleh juga dua isolat jamur dari inang yang berbeda (laba-laba dan kumbang), dan telah dikonfirmasi berdasarkan karakter morfologi termasuk dalam *Cordyceps* sp.

**Kata kunci:** entomopatogen, karakterisasi, primer ITS

### PENDAHULUAN

Untuk mendukung program ketahanan pangan nasional melalui upaya pengendalian hama terpadu (PHT), maka gangguan organisme pengganggu tumbuhan seperti hama dan penyakit perlu dikendalikan dengan baik. Mayoritas hama yang menyebabkan gangguan pada seluruh siklus pertumbuhan tanaman adalah kelompok serangga. Serangga mengganggu pertumbuhan tanaman sejak fase benih, fase vegetatif, primordia, pembungaan hingga keseluruhan fase generatif tanaman (Kalshoven, 1981).

Hama dapat menyebabkan kehilangan hasil pertanian setiap tahun. Saat ini, penggunaan agen pengendali hayati asal mikroba untuk pengendalian hama tanaman mengalami kemajuan pesat. Beberapa mikroba dari kelompok bakteri dan fungi dilaporkan dapat menyebabkan kematian serangga atau bersifat

entomopatogenik. Kelompok bakteri entomopatogen yang banyak digunakan diantaranya *Bacillus thuringiensis*, *B. popilliae*, dan *B. lentimorbus*; sedangkan dari kelompok jamur entomopatogen yaitu *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviridae*, *Beauveria bassiana*, *Nomuraea rileyi*, dan *Verticillium lecanii* (Jackson dan Saville, 2000).

Menurut Junianto dan Sulistyowati (2002) dan Sukanto dan Yuliantoro (2006), penelitian untuk eksplorasi entomopatogen sangat bermanfaat antara lain untuk menyeleksi strain-strain baru yang adaptif terhadap perubahan lingkungan, meningkatkan efek mematikan kandidat agen biokontrol melalui rekayasa genetika, dan aplikasi teknologi formulasi mikroba yang lebih virulen untuk mengendalikan serangga hama. Berdasarkan hal tersebut penelitian untuk eksplorasi mikroba dari berbagai daerah di Indonesia yang memiliki potensi entomopatogenik,

khususnya kelompok jamur dan bakteri sangat penting dilakukan (Prayogo, 2006; Soetopo dan Indrayani, 2007). Selain itu upaya koleksi bakteri dan jamur entomopatogenik yang memiliki ciri-ciri potensi yang jelas sebagai agen pengendali hayati sangat diperlukan dalam mengembangkan formulasi tersebut menjadi produk yang bisa dimanfaatkan untuk pengendalian hama secara ekonomis dan efisien (Pereira *et al.*, 2011).

Sistem yang sensitif dan spesifik untuk deteksi dan identifikasi jamur entomopatogen sangat diperlukan agar dapat dimanfaatkan dalam mengevaluasi dan memonitor penyebaran mikroinsektisida dan persistensinya pada lingkungan. Implikasi komersial, seperti identifikasi terhadap isolat jamur terbaru, kualiti kontrol dan perlindungan paten perlu juga dipertimbangkan karena berbagai kelompok peneliti maupun perusahaan juga mengembangkan formulasi dan metode aplikasi yang sama melibatkan penggunaan entomopatogen dalam pengendalian hama.

Penelitian mengenai efek mematikan mikroba entomopatogen telah banyak dilakukan di berbagai tempat di dunia. Beberapa produk komersial asal mikroba entomopatogenik di luar negeri telah banyak dipasarkan, antara lain yang berbahan baku *Verticillium lecanii*, *M. anisopliae*, dan *B. bassiana* (Coping, 1998); sementara agen hayati entomopatogen yang telah diproduksi luas di bidang perkebunan adalah berbasis jamur *M. anisopliae* untuk mengendalikan hama boktor tebu (*Dorysthene* sp.) dan boktor sengon (*Xylocopa festiva*) (Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, 2004). Jamur entomopatogen *Verticillium lecanii* dan *Beauveria bassiana* dilaporkan berpotensi digunakan dalam mengendalikan wereng hijau penyebab virus tungro pada padi (Ladja *et al.*, 2011). Kematian serangga oleh jamur entomopatogen sangat dipengaruhi oleh jumlah konidia, suhu, kelembaban lingkungan dan jenis toksin. Menurut Gillespie (2007) toksin yang dihasilkan oleh jamur entomopatogen berperan penting dalam merusak struktur organik, sehingga terjadi dehidrasi dalam sel tubuh serangga.

Entomopatogen dapat diambil langsung dari serangga yang mati apabila jamur telah bersporulasi. Jamur famili Hypomycetes diambil dari permukaan

bangkai serangga mati (Goettel dan Inglis 1997). Sedangkan jamur dari famili Entomophthorales dapat diperoleh dengan meletakkan serangga yang terinfeksi jamur pada posisi sedemikian rupa sehingga konidia jamur tersebar/tertabur langsung di permukaan media nutrisi (Papierok dan Hajek, 1997). Jika sporulasi dari hifa eksternal belum terbentuk, maka serangga terinfeksi diletakkan dalam cawan petri berisi kertas saring yang dibasahi air, kemudian disporulasikan dalam ruang inkubasi. Bangkai (karkas) serangga yang bersporulasi dipindahkan ke dalam media seleksi yang mengandung antibiotik untuk mengisolasi patogen (Butt *et al.*, 2000; Quesada *et al.*, 2006; Hajek *et al.*, 2008). Beberapa jamur entomopatogen diisolasi secara tidak langsung dengan menggunakan umpan hidup yaitu larva serangga *Galleria* spp. sejenis kumbang yang larvanya hidup di dalam tanah (Flexner dan Belnavis, 1998). Isolasi secara langsung dapat dilakukan dengan melarutkan serangga terinfeksi yang telah dihaluskan ke dalam air, dengan kombinasi media seleksi (Beilharz *et al.*, 1982). Setelah diisolasi, umumnya fungi kelas Hypomycetes langsung disimpan secara *in vitro* dalam berbagai media. Konidia dan miselium disimpan dalam *cryovials* dalam Nitrogen cair, atau dikering-bekukan dan disimpan dalam tabung ampul steril (Humber, 1997).

Kelimpahan serta keragaman spesies mikroba entomopatogen, khususnya kelompok jamur merupakan salah satu hal penting dalam mempertimbangkan pengendalian hayati serangga, oleh karena itu selain pengamatan secara morfologi upaya pengamatan dapat dilakukan pula dengan menggunakan marka molekuler (Tiago *et al.*, 2011). Marka molekuler berdasarkan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) seperti sekuen *Internal Transcribe Spacer* (ITS) banyak digunakan dalam mempelajari keragaman genetik suatu populasi. Adanya perbedaan DNA menunjukkan keragaman genetik dan struktur populasi jamur yang berbeda (Aquino *et al.*, 2003). Mayoritas isolat entomopatogen yang ditemukan tergolong pada spesies *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium lecanii*, *M. anisopliae*. Isolat-isolat tersebut diperoleh inang dan lokasi berbeda (Ladja *et al.*, 2013; Prayogo, 2013; Indriyati, 20016; Hasibuan *et al.*, 2006). Namun, prevalensi jamur entomopatogen lain seperti *Hirsutella* maupun *Cordyceps* jarang

dilaporkan.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan eksplorasi dan karakterisasi entomopatogen (jamur dan bakteri) asal inang dan lokasi yang berbeda serta melakukan upaya identifikasi mikroba entomopatogen secara morfologis maupun molekuler. Kegiatan identifikasi ini merupakan langkah utama dalam usaha pengembangan potensi entomopatogen selanjutnya.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Koleksi, isolasi dan perbanyakan jamur/ bakteri entomopatogen

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi BB Biogen. Pencarian sumber inokulum mikroba entomopatogenik (jamur dan bakteri) dilakukan melalui pengumpulan sampel dari beberapa lokasi di Jawa Barat, dan mengkolleksi berbagai serangga hama dari berbagai macam agroekosistem (pertanian tanaman pangan dan perkebunan) (Tabel 1).

Serangga yang menunjukkan gejala sakit/mati dikumpulkan dari lapangan untuk mendapatkan mikroba entomopatogen. Serangga hasil koleksi dikelompokkan berdasarkan ordo atau familinya, ditempatkan dalam suatu wadah tertutup dan dilakukan seleksi terhadap bangkai serangga. Isolasi serangga yang terserang cendawan pada permukaan tubuh didesinfeksi dengan alkohol 70% dan sodium hipoklorit (NaOCl) masing-masing selama 3 menit, kemudian dengan air steril 3 kali dan dikeringkan dengan kertas absorben steril kemudian dipindahkan ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

Pengamatan terhadap cendawan yang tumbuh dilakukan di bawah mikroskop cahaya. Konidia jamur yang baru dipanen segar dikering-udarkan dan disimpan dalam desikator pada suhu 4°C atau pada suhu ruang. Bakteri entomopatogen yang berpotensi mematikan serangga diisolasi dari sampel serangga. Bakteri merah diisolasi dari wereng batang coklat (WBC) koloni *Cisadane* yang mati dengan gejala tubuh berwarna merah. Serangga tersebut masing-masing berasal dari daerah Sukamandi Sm201102, satu isolat asal Jatisari Sm199805, Jawa Barat; dan satu isolat Sm201105 asal serangga *Bronthispa* dari Manado. Isolasi bakteri dilakukan dengan cara: 1 gr sampel bangkai serangga ditimbang

dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 10 mL NaCl 0.85% pH 6,8, selanjutnya dikocok dengan kuat dengan vorteks selama 5 menit, untuk meratakan penyebaran suspensi. Sebanyak 100 µl suspensi disebar pada cawan petri yang berisi media agar miring Nutrient Agar (NA). Koloni isolat murni bakteri kemudian disimpan pada media agar Luria-Bertani miring (per liter mengandung 10 g tripton, 5 g *yeast extract*, 10 g NaCl dalam 15 g agar) dan diberi nomor isolat sesuai dengan asal sampel, selanjutnya disimpan dalam tabung ampul (-80°C) untuk koleksi jangka panjang (Priyatno *et al*, 2011).

### Identifikasi secara morfologi

Jamur dan bakteri entomopatogen diidentifikasi dengan pendekatan morfologis, fisiologis/biokimia. Prosedur pengamatan secara morfologi untuk kegiatan identifikasi jamur entomopatogen dilakukan berdasarkan panduan baku (Samson *et al.*, 1988; Humber, 1998). Identifikasi sampai pada tingkat genus dan spesies, dilakukan terhadap morfologi konidia, hifa, konidophore dan warna koloni (Alexopoulos & Mins, 1979; Poinar & Thomas, 1984).

Koloni tunggal bakteri berwarna merah dipelihara pada media LB agar miring di dalam tabung reaksi dan diremajakan setiap 2 minggu sekali. Penampilan fenotipik dan reaksi biokimia bakteri diamati 24 jam setelah inkubasi pada suhu 28°C mengacu pada pedoman determinasi bakteri *Bergey's manual for determinative bacteria*.

### Identifikasi jamur/bakteri entomopatogen (dengan sekuen ITS dan 16S rRNA)

Untuk isolat-isolat yang sulit diidentifikasi secara konvensional dilakukan pendekatan molekuler berpedoman pada prosedur St Leger & Joshi (1997). Identifikasi jamur entomopatogen dilakukan berdasarkan sekuen ITS yang terletak antara 18S dan 5.8S serta 5.8S dan 26S. Sekuen ITS diamplifikasi dari genom jamur dengan primer spesifik yang dibuat berdasarkan sekuen ITS dari beberapa genus entomopatogen yang telah teridentifikasi (White *et al.*, 1990). Pasangan primer terdiri dari ITSM-F/R (5'-ACCAGCGGAGGGATCATTAC-3'; 5'-AAGTTCAGCGGGTAGTCCTA-3'); ITSB-F/R (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGGA-3'; 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'); ITSH-F/R (5'-

CTGAGGAGGGATCATTAC-3', 5'-GTATCCCTACCTGATCCGAGG-3'); ITSP-F/R (5'-ACCAGCGGAGGGATCATTAC-3', 5'-TTAAGTTCAGCGGGTATCCC-3'). Identifikasi bakteri mengikuti prosedur amplifikasi 16S rDNA (Sun *et al.*, 2008).

DNA genomik diekstraksi dari miselia jamur entomopatogen yang dibiakan dalam media *potato dextrose yeast extract* (PDYE, 1% yeast extract) selama 7 hari pada kondisi ruangan. Ekstraksi genom dilakukan menurut metode Pitch & Schubert (1993). PCR untuk amplifikasi sekuen ITS dilakukan mengikuti prosedur baku yang dikemukakan oleh Destéfano *et al.*, (2004) sebagai berikut: denaturasi awal pada 95°C 5 menit dilanjutkan dengan 30 putaran (*cycle*) tahap denaturasi pada 95°C untuk

1 menit, *annealing* pada suhu 55°C selama 45 detik, dan tahap pemanjangan (*elongation*) pada suhu 72°C selama 30 detik. Produk PCR dielektroforesis pada 1% gel agarose dan divisualisasi dengan transiluminator UV. Setelah pewarnaan dengan etidium bromida (EtBr), produk PCR selanjutnya disekuensing.

## HASIL

### Identifikasi morfologi dan molekuler jamur entomopatogen

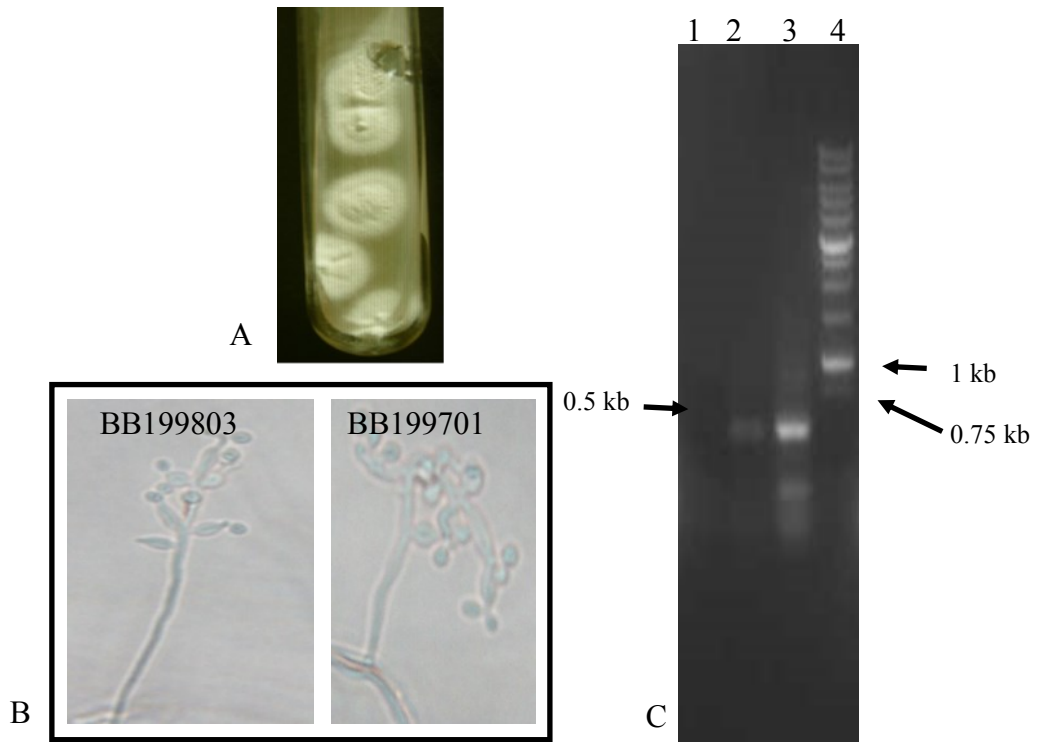
Sebanyak 16 mikroba entomopatogen yang telah dikoleksi masing-masing terdiri dari 13 mikroba kelompok jamur dan 3 bakteri (Tabel 1). Warna masa koloni jamur entomopatogen yang banyak ditemukan dari lapangan adalah berwarna putih kehijau-hijauan.

**Tabel 1.** Isolat entomopatogen dari berbagai inang dan lokasi hasil koleksi dan hasil identifikasinya dengan sekuensing PCR. (*Entomopathogenic isolates collected from various host and locations and their sequencing identification results*)

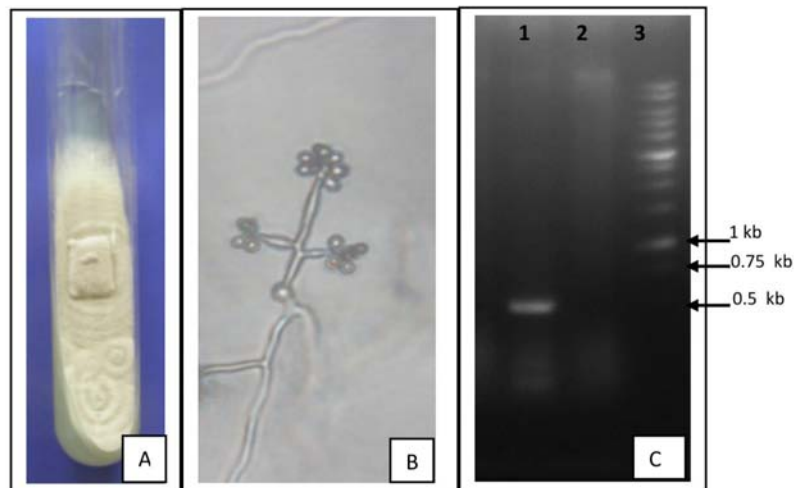
No (No)	Spesies (Species)	Kode isolat (Isolate code)	Asal inang Host (origin)	Asal lokasi (Source location)	Kolektor (collector)	Similaritas max >99% [similarity (>99% max. identity)]	(identitas (>99% max. identity))
1.	<i>Paecilomyces</i> sp	Pf201012	wereng coklat	Cianjur, Jabar	TPP	<i>Paecilomyces reniformis</i> strain Ind.Tett 18S rNA gene	
2.	<i>Beauveria</i> sp	Bb200109	walang sangit	Sukamandi, Jabar	TPP	<i>Beauveria bassiana</i> strain CPR116 18S rRNA gene	
3.	<i>Beauveria</i> sp	Bb199701	kepik hitam	Maros, Sulsel	BSW	BD	
4.	<i>Beauveria</i> sp	Bb199803	Wereng coklat	Jatisari, Jabar	BSW	<i>Beauveria bassiana</i> strain G61 18S rRNA gene	
5.	<i>Metarhizium</i> sp	Ma200209	wereng coklat	Sukamandi, Jabar	TPP	<i>Metarhizium anisopliae</i> strain CP-Oax 18S rNA gene	
6.	<i>Metarhizium</i> sp	Ma201012	wereng coklat	Cianjur, Jabar	TPP	<i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i> strain ICIPE 22 18S rRNA gene	
7.	<i>Metarhizium</i> sp.	Ma199703	kepiding tanah	Jatisari, Jabar	BSW	BD	
8.	<i>Metarhizium</i> sp.	Ma201101	wereng coklat	Bogor, Jabar	TPP	BD	
9.	<i>Hirsutella</i> sp.	Hc201103	wereng coklat	Sukamandi, Jabar	TPP	<i>Hirsutella thomsonii</i> strain S83600/1 18S rRNA gene	
10.	<i>Hirsutella</i> sp.	Hc201105	wereng coklat	Serang, Banten	TPP	BD	
11.	<i>Hirsutella</i> sp.	Hc201104	wereng coklat	Purwakarta, Jabar	TPP	BD	
12.	<i>Cordyceps</i> sp.	C201102	Laba-laba	Cianjur, Jabar	TPP	BD	
13.	<i>Cordyceps</i> sp.	C201108	Uret	Dieng, Jateng	R/TPP	BD	
14.	<i>Serratia</i> sp.	Sm199805	wereng coklat	Jatisari, Jabar	BSW	BD	
15.	<i>Serratia</i> sp.	Sm201102	wereng coklat	Sukamandi, Jabar	TPP	<i>Serratia marcescens</i> 16S rRNA gene no. asesi GU124498, no. asesi HQ154570	
16.	<i>Serratia</i> sp.	Sm201105	<i>Bronthispa</i>	Manado, Sulut	JA	BD	

TPP=Tri Puji Priyatno; BSW= Baskoro Sugeng Wibowo; R= Rostaman; JA= Jelfina Alouw. BD= sudah diidentifikasi secara morfologi, tetapi belum diidentifikasi berdasarkan sekuensing DNA. (TPP=Tri Puji Priyatno; BSW= Baskoro Sugeng Wibowo; R= Rostaman; JA= Jelfina Alouw. BD= has been identified based on morphology, but not identified by DNA sequencing )

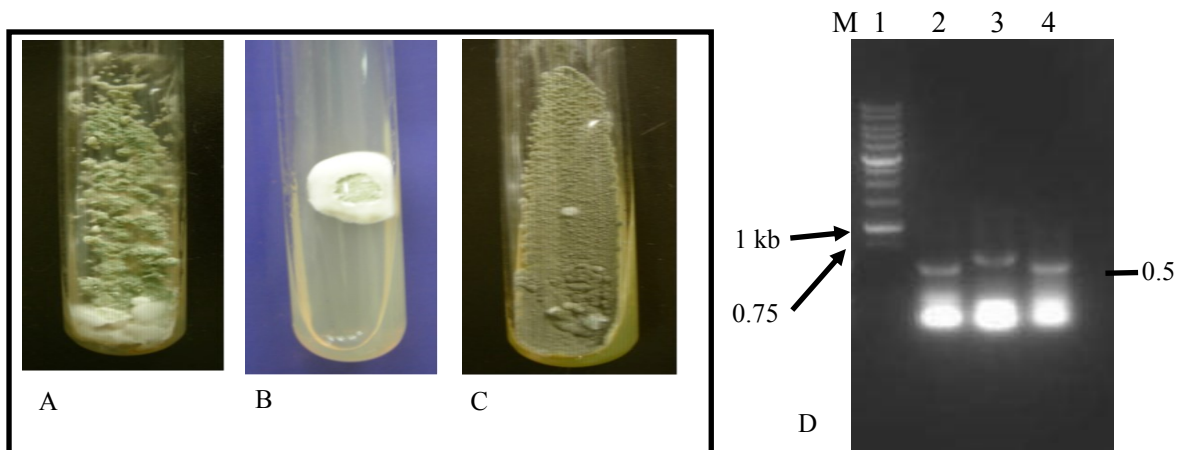




**Gambar 1.** Isolat entomopatogen jamur *Beauveria* pada media PDA miring (A) dan struktur konidia (B). Gel elektroforesis produk PCR hasil amplifikasi ITS genom *Beauveria*. Lajur 1. Isolat BB199701; Lajur 2. Isolat BB199803; Lajur 3. Isolat BB200109; Lajur 4. Marker 1 kb (C). [*Entomopathogenic fungus Beauveria isolates on PDA slant (A) and conidial structures (B) Gel electrophoresis of PCR products from Beauveria ITS genome amplification. lane 1. Isolate BB199701; Lane 2. Isolate BB199803; Lane 3. Isolate BB200109; Lane 4. 1 kb Marker ©*]



**Gambar 2.** Isolat entomopatogen *Paecylomyces* sp. pada media PDA miring (A), Struktur konidia (B) dan produk PCR hasil amplifikasi sekuen ITS (C); Lajur 1. isolat Pf201012, Lajur 2. Isolat Bb199701, lajur 3. Marka 1 kb. [*Entomopathogenic Paecylomyces sp. Isolate on PDA slant (A), conidia structure (B) and the results of PCR products from ITS sequences amplification lane 1; isolate Pf201012, Lane 2. Isolate Bb199701, lane 3. 1 kb Marker (C)*]



**Gambar 3.** Biakan *Metarhizium* pada media PDA miring. A. Isolat Ma200209, B. Isolat Ma201012, dan C. Isolat Ma199703. D. Gel elektroforesis produk PCR hasil amplifikasi ITS genom *Metarhizium*. Lajur M. Marker 1 kb; Lajur 1. Isolat Ma200209; Lajur 2. Isolat Ma199703; Lajur 3. Isolat Ma201012. Lajur 4. kontrol (akuades). [*Metarhizium* cultures on PDA slant. A. Isolate Ma200209, B. Isolate Ma201012, and C. Isolate Ma199703. D. Gel electrophoresis of PCR products from *Metarhizium* ITS genome amplification. Lane M. 1 kb Marker; lane 1. Isolate Ma200209; lane 2. Isolate Ma199703; lane 3. Isolate Ma201012. Lane 4. control (distilled water)].

Hanya satu isolat (Pf201012) yang diperoleh dari sampel wereng coklat asal Cianjur, termasuk dalam *Paecylomyces reniformis*, berdasarkan pengamatan baik secara mikroskopis maupun hasil konfirmasi sekuen DNANYa (Gambar 1).

Sebanyak tiga isolat *Beauveria* Vuillemin yang telah dikoleksi dari tiga inang yang tidak sama dari tiga tempat yang berbeda. Hasil pengamatan morfologi terhadap isolat *Beauveria* dan karakterisasinya secara molekuler menggunakan ITS primer berikut hasil analisa sekuennya ditampilkan pada Gambar 2.

Hasil analisis BLASTN (Tabel 1) menunjukkan bahwa kedua isolat *Beauveria* ini (Bb 1999803 dan Bb 200109) memiliki tingkat kesamaan >99% dibandingkan dengan berbagai database spesies *B. bassiana*. Satu isolat Bb 199701 tidak berhasil diamplifikasi PCR.

Empat isolat *Metarhizium*, Sorokin telah berhasil diisolasi yakni sebanyak 3 isolat, masing-masing diisolasi dari wereng batang coklat, dan satu isolat dari kepinding tanah. Pada pengamatan mikroskopis, konidia *Metarhizium* membentuk rantai panjang silendris berbentuk bulat agak memanjang hialin. Ketiga isolat *Metarhizium* (Ma200209, Ma201012, Ma201101) yang diisolasi dari wereng

batang coklat secara morfologi mempunyai konidia berwarna hijau lebih muda dibanding isolat dari kepinding tanah (Ma199703) (Gambar 3).

Hasil identifikasi molekuler dengan amplifikasi PCR telah dilakukan terhadap tiga isolat *Metarhizium* (Gambar 3), namun hanya 2 isolat saja, yakni isolat Ma 200209 dan Ma 201012 yang dilanjutkan dengan sekuensing untuk memastikan spesiesnya berdasarkan urutan DNANYa. Satu isolat *Metarhizium* (Ma 199703) asal kepinding tanah mempunyai produk amplifikasi >0.5 kb sehingga tidak dilakukan sekuensing; sedangkan satu isolat asal wereng coklat dari Bogor (Ma201101) belum dilakukan karakterisasi secara molekuler. Hasil sekuensing menunjukkan bahwa isolat Ma200209 identik dengan *M. anisopliae*, sedangkan Ma201012 termasuk dalam *M. anisopliae* var *acidum* (Tabel 1).

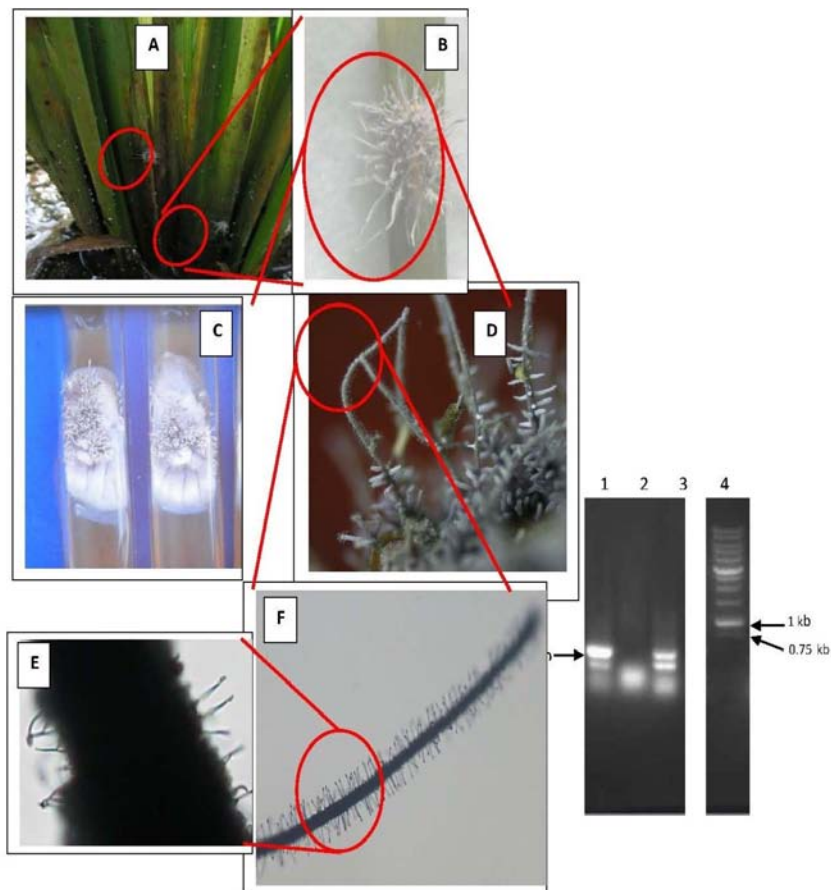
Pengamatan secara morfologi telah diperoleh sebanyak tiga jamur *Hirsutella* sp. dan menunjukkan bahwa hyphae *Hirsutella* muncul pada tubuh inang dengan karakteristik berupa struktur sinemata berukuran panjang seperti bulu-bulu, sedangkan pada media agar berwarna putih (Gambar 4). Produk PCR hasil amplifikasi dengan ITS terhadap ketiga isolat *Hirsutella* (Hc201103, Hc 201105 dan Hc201105) masih menunjukkan variasi ukuran produk (<0.6 kb).

Hanya satu isolat (Hc 201103) yang dilanjutkan dengan sekuensing untuk memastikan spesiesnya. Hasil uji verifikasi terhadap isolat Hc201103 dengan ITS primer dibandingkan dengan database bank gene menunjukkan bahwa identitas isolat tersebut termasuk dalam spesies *Hirsutella thomsonii* (Tabel 1; Gambar 4).

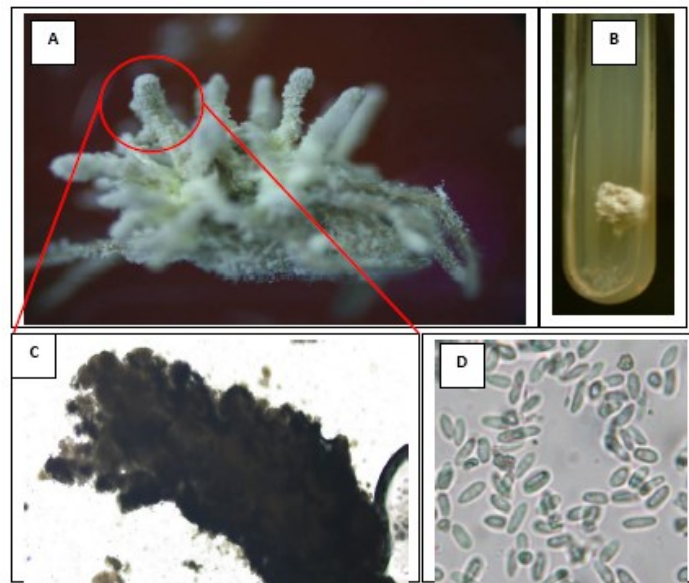
Pada penelitian ini diperoleh hanya dua isolat *Cordyceps* sp yang berhasil dikoleksi yakni isolat C201102 dan C201108. Spesies *Cordyceps* Fries mempunyai nama sinonim: *Ophiocordyceps* Petch dan *Torrubia* Leveille, secara morfologis isolat tersebut identik dengan *Cordyceps* sp yang ditunjukkan

dengan ukuran konidianya pada media serta pembentukan tubuh buah jamur (struktur sinemata) yang jelas pada serangga mati (Gambar 5).

Bakteri entomopatogen berwarna merah (Sm201102) yang diperoleh secara morfologis termasuk ke dalam *Serratia marcescens* yang merupakan bakteri patogenik terhadap wereng batang coklat (WBC). Identifikasi secara molekuler terhadap bakteri merah dilakukan dengan mengamplifikasi sekuens 16S rRNA menggunakan pasangan primer universal 63F dan 1387R. Produk PCR hasil amplifikasi berupa pita tunggal berukuran sekitar 1.3 kb yang sesuai dengan perkiraan (data tidak ditampilkan).



**Gambar 4.** Entomopatogen *Hirsutella* sp. isolat Hc201103 yang menyerang Wereng Coklat (A, B), Biakan pada media PDAY (C), Struktur sinemata (D,E,F). Gel elektroforesis produk PCR hasil amplifikasi ITS genom *Hirsutella*. Lajur 1. Isolat Hc201103; Lajur 2. Isolat Hc201105; Lajur 3. Isolat Hc201104; Lajur 4. Marker 1 kb (G). [*Entomopathogenic Hirsutella* sp. Hc201103 isolate attacking brown planthopper (A, B), cultures on media PDAY (C), Synemata structure (D, E, F). Gel electrophoresis of PCR products from *Hirsutella* ITS genome amplification lane 1. Isolate Hc201103; lane 2. Isolate Hc201105; lane 3. Isolate Hc201104; Lane 4. 1 kb Marker.(G).]



**Gambar 5.** Entomopatogen *Cordyceps* sp. yang menyerang laba-laba (A), Biakan isolat *Cordyceps* sp pada media PDA miring (B), Struktur Sinemata (C), dan Konidia (D). [*Entomopathogenic Cordyceps sp. that attacking spiders* (A), *cultures of Cordyceps sp. isolates on PDA slant* (B), *Synemata Structure* (C), and *Conidia* (D).]

Hasil analisis BLASTN menunjukkan bahwa bakteri merah mempunyai tingkat kesamaan >99% dengan *Serratia* sp. endosymbion wereng batang coklat (no. asesi GU124498) dan *S. marcescens* (no. asesi HQ154570).

## PEMBAHASAN

Pengembangan mikoinsektisida secara komersil, selama proses produksinya memerlukan metode yang peka untuk mengidentifikasi strain jamur yang spesifik untuk meyakinkan kestabilan strain, perlindungan paten dan penggunaan yang aman terhadap lingkungan (Samson *et al.*, 1988). Berbagai kelompok jamur dilaporkan sangat potensial digunakan sebagai mikoinsektisida, meskipun sebagian kecil saja yang telah dikaji dan diidentifikasi pada tingkat molekuler. Pada penelitian ini hasil pengamatan morfologis terhadap beberapa isolat entomopatogen sejalan dengan upaya molekuler dengan amplikasi PCR dan analisis sekuen DNA.

Gen ribosomal terutama daerah ITS dan IGS *spacer* banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan membedakan spesies, taksonomi, filogenetik dan kajian keragaman genetik (Driver *et al.*, 2000; Anderson *et al.*, 2001). Kajian menggunakan sekuen

ITS dilaporkan dapat membedakan antar spesies jamur yang berbeda (Jensen *et al.*, 2001).

Koleksi sampel serangga terserang jamur dan bakteri entomopatogen pada penelitian ini, diperoleh dari beberapa inang dan lokasi di Jawa Barat, dan ditemukan sebanyak lima jenis jamur yang berbeda yaitu *Paecilomyces* sp; *Metarhizium* sp; *Beauveria* sp; *Hirsutella* sp; dan *Cordyceps* sp. Seperti laporan penelitian lainnya, jamur yang paling banyak ditemukan di dunia adalah *Entomophthora* sp., *Aspergillus* sp., *Metarhizium* sp., dan *Beauveria* sp (Hasym dan Azwana, 2007; Chikwenhere dan Vestergaardt, 2005). Di Indonesia jamur entomopatogen yang banyak ditemukan juga antara lain *Paecilomyces* sp dan *Verticillium* sp (Prayogo *et al.*, 2006). Menurut Prayogo (2013) *V. lecanii* banyak diperoleh dari serangga kepik *Riptortus linearis* pada tanaman kedelai di lapangan, dan aplikasi *V. lecanii* di laboratorium efektif dalam mengendalikan penetasan telur kepik tersebut.

Secara morfologi, biakan jamur *Beauveria* pada media PDA mempunyai miselia dan konidia berwarna putih berbentuk agak bulat, hialin lebih besar daripada konidia (Humber, 1998). Biakan yang telah bersporulasi menghasilkan kumpulan konidia

seperti tepung. Konidia secara berselang seling diproduksi di atas konidiofor yang berbentuk seperti botol yang berukuran sekitar 3-6 x 2.5-3.5 mm, sedangkan konidia berbentuk bulat berukuran 2-3 x 2-2.5 mm. Amplifikasi sekuen ITS dengan primer spesifik yang didisain berdasarkan sekuen ITS *Beauveria* yang terdapat dalam GeneBank telah berhasil dilakukan terhadap dua isolat asal walang sangit dan wereng coklat, dan hasilnya dapat dikonfirmasi bahwa *Beauveria* isolat BB200109 dan BB199803 termasuk ke dalam spesies *B. bassiana*. Satu isolat Bb 199701 asal kepik hitam belum teramplifikasi; sehingga diperlukan optimasi dengan menyertakan isolat-isolat lain yang berasal dari kepik hitam.

Hasil pengamatan mikroskopis terhadap jamur *Metarhizium* hasil isolasi pada media agar menunjukkan pertumbuhan miselia *Metarhizium* berwarna putih dan konidia berwarna hijau muda hingga hijau tua (Humber, 1998). Pada penelitian ini diperoleh dua isolat *Metarhizium* yaitu Ma200209 dan Ma201012 yang telah dikonfirmasi masing-masing termasuk dalam *M. anisopliae* dan *M. anisopliae* var. *Acridum*.

Pada pengamatan terhadap beberapa sampel serangga mati juga didapatkan spesies *Hirsutella* sp dan *Cordyceps* sp. Isolat *Hirsutella* sp. Patouillard sinonim: *Desmidiospora* Thaxter; *Synnematium* Speare; *Trichosterigma* Petch; *Troglobiomyces* Pacioni mempunyai konidiofor silendris dengan synemata tegak dengan ciri seperti bulu/rambut kadang-kadang bercabang (Samson, 1988). Pada media agar pertumbuhan jamur sangat lambat namun dapat diamati dengan bentuk synemata yang jelas terlihat pada biakan maupun serangga mati. Satu isolat *Hirsutella* asal wereng coklat yang berhasil dikonfirmasi dengan ITS primer dan sekuensing adalah isolat Hc201103 asal Sukamandi tergolong dalam *H. thomsonii*. Isolat ini potensial digunakan dalam pengendalian wereng coklat, karena di lapangan sudah banyak dijumpai wereng coklat yang terinfeksi jamur *Hirsutella* sp selain *B. bassiana*, dan *M. anisopliae*.

Yang menarik dalam penelitian ini adalah ditemukannya spesies *Cordyceps* sp. dari dua inang dan lokasi yang berbeda yaitu asal laba-laba dan uret, masing-masing diperoleh dari Cianjur, Jawa Barat dan Dieng, Jawa Tengah. Secara morfologis kedua

isolat tergolong *Cordyceps* sp., namun demikian kedua isolat tersebut masih perlu dikonfirmasi sekuen DNANYa. Spora jamur *Cordyceps* sp biasanya tersebar melalui tubuh serangga selama proses serangga makan pada biji-bijian tanaman (Samson *et al.*, 1988). Pada survey penelitian sebelumnya isolat *Cordyceps* sp jarang dijumpai menginfeksi serangga inang, oleh karena itu untuk memastikan potensinya dalam hal perbanyakan dan virulensinya masih perlu dikaji lebih lanjut.

Satu isolat bakteri berwarna merah Sm201102 diperoleh dari serangga wereng coklat yang mati. Bakteri merah merupakan bakteri gram negatif yang bersifat motil. Secara morfologi koloninya berbentuk cembung dan berukuran 1-3 mm pada biakan yang berumur 24 jam setelah inkubasi. Warna merah koloni sudah mulai terlihat pada biakan yang berumur 24 jam, dan semakin merah setelah diinkubasikan lebih 48 jam. Bakteri mampu memfermentasikan semua jenis karbohidrat yang meliputi D-fructose, L-fucose, D-galactose, Gentiobiose, inositol,  $\alpha$ - Maltose, Lactulose, D-lactose, D-mannitol, D-Manose, D-melibiose dan  $\alpha$ -D-glucose, serta semua jenis asam amino, termasuk L-ornithin (Priyatno *et al.*, 2011). Bakteri Sm201102 penghasil pigmen merah (prodigiosin) ini telah diidentifikasi berdasarkan sekuensing 16s rDNA termasuk dalam kelompok spesies *Serratia marcescens* (Priyatno *et al.*, 2011). Isolat Sm 201102 telah diuji patogenisitasnya terhadap wereng coklat dimana isolat ini dapat mengakibatkan kematian 50% wereng coklat dalam waktu > 6 hari pada konsentrasi  $10^7$  sel/ml (Priyatno *et al.*, 2011). Upaya karakterisasi lebih lanjut terhadap isolat bakteri *Serratia* sp. masih perlu dilakukan. Isolat Sm 199805 belum dikarakterisasi baik dalam hal virulensi/patogenisitas maupun sifat biokimianya.

Secara umum upaya identifikasi dan karakterisasi mikroba (termasuk entomopatogen) melalui uji morfologi dan fisiologi masih perlu dilakukan meskipun perlu waktu lebih lama, karena jamur harus direisolasi dan diperbanyak terlebih dahulu pada kondisi tertentu agar bisa diidentifikasi. Hasil identifikasi molekuler di laboratorium, diharapkan mempercepat hasil evaluasi untuk menentukan perlu tidaknya tindakan reevaluasi mikoinsektisida berbasis jamur entomopatogen di lapangan dalam hal persis-

tensinya pada lingkungan. Selain itu, upaya analisis molekuler ini berpeluang digunakan dalam kajian monitoring mikoinsektisida terhadap dampak lingkungan terutama terhadap serangga bukan sasaran.

Penelitian masih perlu dilanjutkan dalam hal konfirmasi sekuensing DNA untuk memastikan spesiesnya, disamping itu upaya koleksi dengan melibatkan banyak inang dan lokasi yang beragam juga masih perlu dilakukan untuk melihat keragaman isolat yang ada pada level spesies. Upaya pencarian keragaman genetik diantara isolat entomopatogen *B. bassiana* asal inang walang sangit asal Situgede, Bogor menunjukkan adanya variasi antar isolat meskipun diperoleh dari satu inang dan lokasi yang sama. Perbedaan terlihat dari adanya mutasi dari beberapa susunan DNANYa (Suryadi *et al.*, 2016, *unpublished*).

## KESIMPULAN

Dari 16 isolat mikroba entomopatogen yang dieksplorasi, sebanyak 13 isolat termasuk kelompok jamur, dan 3 isolat bakteri telah diisolasi. Sebanyak tujuh isolat jamur/bakteri telah diidentifikasi dan dikonfirmasi berdasarkan struktur morfologi dan sekuen DNANYa. Satu isolat termasuk *Paecylomyces reniformis* (Pf 201012), dua isolat tergolong dalam spesies *Beauveria bassiana*, dua isolat termasuk *Metarhizium anisopliae* (Ma200209) dan *M. anisopliae* var *acridum* (Ma 201012), satu isolat termasuk *Hirsutella thomsonii* (Hc201103). Diperoleh dua isolat jamur yang jarang ditemukan prevalensinya di beberapa lokasi/inang, dan kedua isolat ini secara morfologi termasuk *Cordyceps* sp. Satu isolat bakteri merah Sm201102 telah diidentifikasi menggunakan amplifikasi gen 16S rDNA tergolong kedalam kelompok spesies *Serratia marcescens*. Sebanyak 9 isolat lainnya meskipun telah dilakukan upaya identifikasi secara morfologi, namun belum divalidasi/dikonfirmasi berdasarkan urutan DNANYa, sehingga perlu dikarakterisasi lebih lanjut.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai proyek APBN BB Bio-gen No.Proyek.1798.09.011. Disampaikan penghargaan kepada teknisi di lab Biokimia/Mikrobiologi yang telah membantu kelancaran penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson IC, SM Chambers and WGJ Cairney. 2001. ITS-RFLP and ITS sequence diversity in *Pisolithus* from central and eastern Australian sclerophyll forests. *Mycological Research* **11**,1304-1312.
- Aquino de Muro M, S Mehta and D Moore. 2003. The use of amplified fragment length polymorphism for molecular analysis of *Beauveria bassiana* isolates from Kenya and other countries, and their correlation with host and geographical origin. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiology Letters* **229**, 249-257.
- Baverstock J, H Roy, S Clark, P Alderson and J, Pell. 2006. Effect of fungal infection on the reproductive potential of aphids and their progeny. *Journal of Invertebrate Pathology* **91**,136-139.
- Beiharz VC, DG Palberry and HJ Swart. 1982. Dodine: A selective agent for certain soil fungi. *Transactions of the British Mycological Society* **79**, 507-511.
- Butt TM and MS Goettel. 2000. Bioassay of entomogenous fungi. In: *Bioassay of entomopathogenic microbes and nematodes* p:141-195. A Navon, and K.R.S. Ascher. (eds). CABI publishing.
- Chikwenhere GP and S Vestergaardt. 2005. Potential effects of *Beauveria bassiana* (Balsmo) Vuillemin on *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae), a biological control agent of water hyacinth. *Biological Control* **21**, 105 – 110.
- Copping LG. 1998. *The biopesticide manual*, British Crop Protection Council, 1st Ed. 528 pp. Franham, Surrey, UK.
- Destéfano RHR, A Suzete, L Destéfano and CL Messias. 2004. Detection of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* within infected sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Pyralidae) using specific primers. *Genetics and Molecular Biology* **27** (2), 245-252
- Driver F, RJ Milner and JWH Trueman. 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research* **2**,134-150
- Flexner JL and DL Belnavis. 1998. Microbial Insecticides. In: *Biological and biotechnical control of insects and pests*. J. E. Rechcigl and N. A. Rechcigl (eds), 35-62 Agriculture and Environment Series. CRC Press LLC. USA .
- Goettel MS and DG English. 1997. Fungi: Hypomycetes. In: *Manual of techniques in insect pathology*. L.A. Lacey (ed.). 213-249 Academic Press, London.
- Hajek A, J Lund and M Smith. 2008. Reduction in fitness of female Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*) infected with *Metarhizium anisopliae*. *Journal Invertebrate Pathology* **98**,198-205.
- Hasibuan R, N. Christalia FX Susilo, and N. Yasin. 2006. Potential impact of *M. anisopliae* on the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoids *Diaegma semiclausum* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika* **9** (2), 99-108.
- Hasyim A dan Azwana. 2007. Patogenesis isolat *Beauveria bassiana* dalam mengendalikan hama penggerek bonggol pisang *Cosmopolites sordidus* Germar. *Jurnal Hortikultura* **13**(2), 120–130.
- Humber RA. 1997. Fungi: preservation and cultures. In: *Manual of techniques in insect pathology*. Lacey, L.A. (ed.), 269-279 Academic Press, London.
- Humber RA. 1998. Entomopathogenic fungal identification. USDA. 32pp.
- Indriyati. 2006. Virulensi jamur entomopatogen *B. bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) terhadap kutu daun (*Aphis* spp) dan kepik hijau (*Nezara viridula*). *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika* **9** (2), 92-98.
- Jackson TA and DJ Saville. 2000. Bioassay of replicating bacteria against soil dwelling insect pest. In: *Bioassay of entomopathogenic microbes and nematodes*. A Navon, K.R.S Ascher (eds), 73-94 CABI.

- Jensen AB, L Thomsen and J Eilenberg.** 2001. Intraspecific variation and host specificity of *Entomophthora muscae sensu stricto* isolates revealed by random amplified polymorphic DNA, universal primed PCR, PCR-restriction fragment length polymorphism, and conidial morphology. *Journal Invertebrate Pathology* **78**, 251-259.
- Junianto YD dan E Sulistyowati.** 2002. Formulasi agen hayati *Beauveria bassiana* dan uji lapangan pengendalian penggerek buah kopi, *Hypothenemus hampei*. *Pelita Perkebunan* **18(3)**, 129-138.
- Kalshoven LGE.** 1981. The pests of crops in Indonesia. 701 P.T. Ichtar Baru – Van Hoeve Jakarta.
- Ladja FE, T Santoso dan E. Nurhayati.** 2011. Potensi cendawan entomopatogen *V. lecanii* dan *B. bassiana* dalam mengendalikan wereng hijau dan menekan intensitas penyakit tungro. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. **30(2)**, 114-120.
- Lembaga Riset Perkebunan Indonesia.** 2004. Pedoman tarif pelayanan dan harga produk LRPI. 56 Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, Bogor.
- Papierok B and AE Hajek.** 1997. In: *Manual of techniques in insect pathology*. p: 187-212. L.A. Lacey (ed.). Academic Press, London.
- Pereira A, P Casals, AM Salazar and M Gerding.** 2011. Virulence and pre-lethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* on *Pseudococcus viburni* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Chilean Journal of Agriculture Research* **71(4)**, 554-559.
- Pitch U and I Schubert.** 1993. Midiprep method for isolation of DNA from plants with a high content of polyphenolics. *Nucleic Acids Research* **21(4)**, 3328.
- Prayogo Y.** 2006. Upaya mempertahankan keefektifan cendawan entomopatogen untuk mengendalikan hama tanaman pangan. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* **25(2)**, 47-54.
- Prayogo Y.** 2013. Karakterisasi fisiologi cendawan entomopatogen *Lecanicillium lecanii* sebagai calon bahan aktif bioinsektisida untuk pengendalian telur kepik coklat (*R. linearis*) pada kedelai. *Buletin Plasma Nutfah* **19 (1)**, 33-44.
- Priyatno TP, YA Dahliani, Y Suryadi, IM Samudra, DN Susilowati, I Rusmana, BS Wibowo dan C Irwan.** 2011. Identifikasi entomopatogen bakteri merah pada wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens* Stål.). *Jurnal AgroBio-gen* **7(2)**, 85-95.
- Quesada ME, EAA Maranhao, PV García and CS Álvarez.** 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Rialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control* **36**, 274-287.
- Samson RA, HC Evans and JP Latge.** 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-Verlag. 187, Netherlands.
- Soetopo D dan IGAA Indrayani.** 2007. Status teknologi dan prospek *Beauveria bassiana* untuk pengendalian serangga hama tanaman perkebunan yang ramah lingkungan. *Perspektif* **6 (1)**, 29 – 46.
- St. Leger RJ and L Joshi.** 1997. The application of molecular techniques to insect pathology with emphasis on entomopathogenic fungi. In: *Manual of techniques in insect pathology* L.Lacey (Ed.), 367-394 Academic Press, New York.
- Sukanto S dan K Yuliantoro.** 2006. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap viabilitas *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. dalam beberapa pembawa. *Pelita Perkebunan* **22 (1)**, 40-56.
- Sun L, F Qiu, X Zhang, X Dai, X Dong and W Song.** 2008. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16s rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology* **55**, 415-424.
- Tiago PV, MPC Leão, MLA Lima, NT Oliveira and EA Luna-Alves Lima.** 2011. Polymorphism in *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) based on internal transcribed spacer-RFLP, ISSR and intron markers. *Genetics and Molecular Research* **10 (3)**, 1565-1575.
- White TJ, TD Bruns, SB Lee and JW Taylor.** 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal DNA genes. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. D.H Innis, J.J Sninsky, and T.J.White (eds), 315-322 Academic Press, New York.

## Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

**Berita Biologi** adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput, diharuskan menampilkan aspek atau informasi baru.

### Tipe naskah

1. **Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)**  
Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up-to-date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
2. **Komunikasi pendek (*short communication*)**  
Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Hasil dan pembahasan boleh digabung.
3. **Tinjauan kembali (*review*)**  
Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

### Struktur naskah

1. **Bahasa**  
Bahasa yang digunakan adalah bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.
2. **Judul**  
Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah diikuti oleh nama dan alamat surat menyurat penulis. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*).
3. **Abstrak**  
Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam bahasa Inggris merupakan terjemahan dari bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.
4. **Pendahuluan**  
Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Sebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan.
5. **Bahan dan cara kerja**  
Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasi dan apabila ada modifikasi harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan apa yang dimodifikasi.
6. **Hasil**  
Sebutkan hasil-hasil utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada tabel/grafik/diagram atau gambar uraikan hasil yang terpenting dan jangan menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata harus menyebutkan standar deviasi.
7. **Pembahasan**  
Jangan mengulang isi hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan apa arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, bandingkan hasil penelitian ini dengan membuat perbandingan dengan studi terdahulu (bila ada).
8. **Kesimpulan**  
Menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, dan penelitian berikut yang bisa dilakukan.
9. **Ucapan terima kasih**
10. **Daftar pustaka**  
Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses peer review. Apabila harus menyitir dari "Laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan 'unpublished' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers*. Penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

### Format naskah

1. Naskah diketik dengan menggunakan program Word Processor, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.
2. Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan bahasa Indonesia, angka desimal menggunakan koma (,) dan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.
3. Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.
4. Nama takson dan kategori taksonomi merujuk kepada aturan standar termasuk yang diakui. Untuk tumbuhan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICF AFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Sedangkan penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.
5. Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.
6. Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).
7. **Tabel**  
Tabel diberi judul yang singkat dan jelas dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horisontal yang memisahkan judul dan batas bawah.
8. **Gambar**  
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul ditulis secara singkat dan jelas. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi dan terpisah dari badan tulisan atau dalam file yang berbeda.
9. **Daftar Pustaka**  
Sitasi dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata 'dan' atau *et al.* Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata 'and'. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995).
- a. **Jurnal**  
Nama jurnal ditulis lengkap.  
**Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992.** Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.



- b. Buku  
**Kramer P.J. 1983.** *Plant Water Relationship*, 76. Edisi ke-(bila ada). Academic, New York.
- c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.  
**Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995.** Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
- d. Makalah sebagai bagian dari buku  
**Leegood RC and DA Walker. 1993.** Chloroplast and Protoplast. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
- e. Thesis dan skripsi.  
**Keim AP. 2011.** Monograph of the genus *Orania* Zipp. (Arecaceae; Oraniinae). University of Reading, Reading. [PhD. Thesis].
- f. Artikel online.  
Artikel yang diunduh secara online mengikuti format yang berlaku misalnya untuk jurnal, buku atau thesis, serta dituliskan alamat situs sumber dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses *peer review* atau artikel dari laman web yang tidak bisa dipertanggung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.  
**Forest Watch Indonesia [FWI]. 2009.** Potret keadaan hutan Indonesia periode 2000-2009. <http://www.fwi.or.id>. (Diunduh 7 Desember 2012).

#### **Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah**

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah, yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan sedang diterbitkan di tempat lain.

#### **Penelitian yang melibatkan hewan**

Untuk setiap penelitian yang melibatkan hewan sebagai obyek penelitian, maka setiap naskah yang diajukan wajib disertai dengan 'ethical clearance approval' terkait *animal welfare* yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

#### **Lembar ilustrasi sampul**

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah. Oleh karena itu setiap naskah yang ada ilustrasi harap mengirimkan ilustrasi dengan kualitas gambar yang baik disertai keterangan singkat ilustrasi dan nama pembuat ilustrasi.

#### **Proofs**

Naskah *proofs* akan dikirim ke author dan diwajibkan membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah *proofs* harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

#### **Naskah cetak**

Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan reprint. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*.

#### **Pengiriman naskah**

Naskah dikirim dalam bentuk .doc atau .docx.

Alamat kontak: Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI  
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911  
Telp: +61-21-8765067  
Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066  
Email: [jurnalberitabiologi@yahoo.co.id](mailto:jurnalberitabiologi@yahoo.co.id)  
[berita.biologi@mail.lipi.go.id](mailto:berita.biologi@mail.lipi.go.id)

# BERITA BIOLOGI

Vol. 15(1)

Isi (Content)

April 2016

## MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

<b>TEKNOLOGI PENURUNAN KADAR Fe AIR SAWAH PASANG SURUT MELALUI PENGGUNAAN BIOFILTER PURUN TIKUS (<i>Eleocharis dulcis</i>)</b> [Fe Levels Decline Technology of Water Tidal Rice Field Through Purun Tikus ( <i>Eleocharis Dulcis</i> ) Biofilter Usage] <i>Ani Susilawati dan Linda Indrayati</i> .....	1-6
<b>MAKNA NILAI PENTING BUDAYA KEANEKARAGAMAN HAYATI TUMBUHAN BAGI MASYARAKAT DI TAMAN NASIONAL KERINCI SEBLAT DI KABUPATEN KERINCI, PROPINSI JAMBI [The Importance of Cultural Significance Index of Plants Diversity For The Communities Within The Kerinci Seblat National Park, Kerinci Regency, Province of Jambi]</b> <i>Asvic Helida, Ervival A.M.Zuhud, Hardjanto, Y. Purwanto, Agus Hikmat</i> .....	7-15
<b>PENGARUH SALINITAS DAN INOKULAN BAKTERI TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN TERUNG (<i>Solanum melongena</i> L.)</b> [The Effect of Salinity and Bacteria Inoculant on The Growth of Eggplant ( <i>Solanum melongena</i> L.)] <i>Suliasih dan Sri Widawati</i> .....	17-25
<b>KARAKTER RESPIRASI DAN MINERALISASI KARBON ORGANIK PADA SAMPEL TANAH DIKOLEKSI DARI PULAU BANGKA</b> [Respiration and Organic Carbon Mineralization Character in Soil Samples Collected from Bangka Island] <i>Maman Rahmansyah dan Suliasih</i> .....	27-37
<b>POTENSI <i>Rhodococcus pyridinovorans</i> GLB5 SEBAGAI BOKATALIS DALAM KONVERSI SENYAWA METHIL SIANIDA DAN PHENIL SIANIDA</b> (Potential of <i>Rhodococcus pyridinovorans</i> GLB5 as Biocatalistin Methyl and Phenyl Cyanide Conversion) <i>Nunik Sulistinah, Rini Riffiani dan Bambang Sunarko</i> .....	39-48
<b>THE EFFECT OF CULTURE MEDIA AND ACTIVATED CHARCOAL ON ASYMBIOTIC SEED GERMINATION AND SEEDLING DEVELOPMENT OF A THREATENED ORCHID <i>Dendrobium taurulinum</i> J.J. Smith IN VITRO [Pengaruh Media Kultur dan Arang Aktif pada Perkecambahan Biji dan Perkembangan Seedling Anggrek Langka <i>Dendrobium taurulinum</i> J. J. Smith in vitro]</b> <i>Siti Nurfaadilah</i> .....	49-57
<b>STUDI PERTUMBUHAN ANAKAN POHON PADA PETAK PERMANEN DI HUTAN DATARAN RENDAH TAMAN NASIONAL GUNUNG GEDE PANGRANGO [Study of seedling growth at permanent plots in lowland forest of Gunung Gede Pangrango National Park]</b> <i>Siti Sundari</i> .....	59-67
<b>EKSPLORASI DAN KARAKTERISASI ENTOMOPATOGEN ASAL BERBAGAI INANG DAN LOKASI</b> [Exploration and Characterization of Entomopathogenic from Various Host and Location] <i>Tri Puji Priyatno, I Made Samudra, Ifa Manzila, Dwi Ningsih Susilowati dan Yadi Suryadi</i> .....	69-79
<b>RESPON BEBERAPA KULTIVAR PADI SAWAH PADA PENGAIRAN SISTEM GENANGAN DALAM PARIT [Response of Some Rice Cultivars under Soil Saturated Culture]</b> <i>Syamsuddin dan D. Indradewa</i> .....	81-88
<b>LETHAL DISSOLVED OXYGEN AND BLOOD PROPERTIES OF GREY MULLET <i>Mugil cephalus</i> IN SEAWATER AND FRESHWATER</b> [Oksigen Terlarut Letal dan Gambaran Darah Ikan Belanak <i>Mugil cephalus</i> di Air Laut dan Tawar] <i>Vitas Atmadi Prakoso, Ki Tae Kim, Byung Hwa Min, Rudhy Gustiano and Young Jin Chang</i> .....	89-94
<b>EFEKTIVITAS KOMBINASI VAKSIN BAKTERI POLIVALEN DENGAN VAKSIN ANTI GROUPEE SLEEPY DISEASE IRIDOVIRUS (GSDIV) PADA IKAN KERAPU MACAN (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)</b> [The Effectiveness of Polyvalent Bacterial Vaccine combined with Anti Grouper Sleepy Disease Iridovirus (GSDIV)Vaccine in Tiger Grouper ( <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> )] <i>Zafran</i> .....	95-100
<b><u>KOMUNIKASI PENDEK</u></b>	
<b>ETNOBOTANI DAMAR PADA ORANG RIMBA DI TAMAN NASIONAL BUKIT DUABELAS</b> [Ethnobotany Dammar by Orang Rimba in National Park Bukit Duabelas] <i>Rana Rio Andhika, Muhadiono dan Iwan Hilwan</i> .....	101-106