



**PAPER – OPEN ACCESS**

# Toksisitas Metabolit Skunder Penicillium Sp. Pada Berbagai Mediakultur Untuk Mengendalikan Spodoptera Sp. In Vitro

Author : Eko Muri Sanjaya  
DOI : 10.32734/anr.v1i1.132  
Electronic ISSN : 2654-7023  
Print ISSN : 2654-7015

*Volume 1 Issue 2 – 2018 TALENTA Conference Series: Agricultural & Natural Resources (ANR)*



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



# Toksisitas Metabolit Skunder *Penicillium* Sp. Pada Berbagai Mediakultur Untuk Mengendalikan *Spodoptera* Sp. *In Vitro*

Eko Muri Sanjaya<sup>a</sup>, M Cyccu Tobing<sup>a</sup>, Lisnawita<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesia

itamuis@yahoo.com

## Abstrak

Penelitian untuk mengetahui toksisitas metabolit skunder *Penicillium* sp. pada berbagai media kultur yang akan digunakan untuk mengendalikan *Spodoptera* sp. in vitro telah dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara pada bulan Januari – Agustus 2016. Berbagai media biakan *Penicillium* sp. yaitu Potato Dextrose Agar (Kontrol), Sabouraud Dextrose Agar, D0C2, Czapek Dox Agar, dan tepung yang dibuat dari tubuh *Spodoptera* sp. telah digunakan. Hasil penelitian menunjukkan media tepung yang dibuat dari tubuh *Spodoptera* sp. memiliki toksisitas tertinggi dengan persentase mortalitas 100% pada pengamatan jam ke enam. Lt50 didapat pada 3,545 jam.

**Kata Kunci:** *Spodoptera* sp.; *Penicillium* sp. metabolik skunder; media kultur; USU Seminar;

## 1. Pendahuluan

Ulat grayak (*Spodoptera* sp.) merupakan hama utama pemakan daun pada tanaman pangan, perkebunan dan hortikultura. Di Indonesia hama ini merusak 112 jenis tanaman antara lain : tembakau sebesar 30 %, kedelai 80%, sawi 90%, kubis 98%, kacang tanah 30%, kentang 60% cabai 53% dan sayuran lainnya sebesar 34%. Serangan terberat *Spodoptera* sp. terdapat pada instar 3 dan 4 serta pada instar 6 hama ini dapat menyerang tulang daun hingga tangkai daun menyebabkan tanaman menjadi botak dan mati [3].

Berbagai upaya yang dilakukan untuk mengendalikan hama ini antara lain: pemakaian insektisida kimia dapat menekan sebesar 30-70% [1] dan pemakaian insektisida nabati dapat menekan 20-30% [4] pada pertanaman tembakau. Agens hayati yang sering digunakan untuk mengendalikan hama ini antara lain: *Beauveria bassiana*, *Entomophthora* spp., *Metarizium* spp., *Aspergillus* sp. dapat membunuh *Spodoptera* sp. sebesar 50-78% pada skala laboratorium dan 35-50% pada lahan pertanian [5]. Berbagai cara telah dilakukan untuk meningkatkan virulensi berbagai cendawan entomopatogen namun suhu udara dan keadaan tanah adalah faktor pembatas perkembangan cendawan entomopatogen. Cendawan entomopatogen hidup optimal pada kisaran suhu 18-25°C namun suhu dataran rendah 3 tahun belakangan ini mencapai 35-38°C.

Cendawan entomopatogen yang dapat bertahan pada suhu ekstrim adalah cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. Suhu pertumbuhan kapang tersebut adalah 20-80°C [6][7] dan dapat tumbuh pada kisaran pH antara 2-9 [8]. Cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. [9] telah dilaporkan menginfeksi ulat grayak pada tanaman kedelai di Jawa Timur. Sementara itu, Nurriaty [10] menemukan cendawan *Penicillium* sp. juga menginfeksi penggerek buah kakao dan *Spodoptera* sp. [2] di Sulawesi.

Efektivitas dan toksisitas pertumbuhan cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. sangat bergantung pada jenis medium yang digunakan. Media yang dipakai untuk menumbuhkan cendawan entomopatogen sangat menentukan laju pembentukan koloni dan jumlah konidia selama pertumbuhan. Jumlah konidia akan menentukan keefektifan cendawan entomopatogen dalam mengendalikan serangga [11]. Adanya perbedaan sporulasi atau jumlah konidia yang dihasilkan oleh masing-masing substrat terkait dengan banyak atau sedikitnya kandungan nutrisi yang terdapat pada medium.

Medium yang sering digunakan untuk menumbuhkan *Penicillium* sp. entomopatogen antara lain : medium kultur umum kompleks mikroorganisme PDA (Potato Dextrose Agar) medium ini sering digunakan untuk mengisolasi khamir, molds, actinomycetes dan bakteri [12]. Medium diperkaya seperti SDA (Sabouroud `s Dextrose Agar) merupakan medium kaya nutrisi untuk menstimulasi pertumbuhan optimum cendawan dermatofungi yang menyerang integument mahluk hidup [13]. Medium spesifik cendawan udara seperti CDA (Czapek Dox Agar) merupakan medium spesifik kultur *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Paecilomyces* [14]. Medium diferensial cendawan entomopatogen D0C2 [15]. Substrat tubuh *Spodoptera* sp. yang telah ditepungkan guna menumbuhkan cendawan dalam keadaan virulensi tinggi (obligat).

Berbagai jenis medium memiliki komposisi yang berbeda sehingga menunjukkan pertumbuhan dan virulensi yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut maka dianggap perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui penggunaan media yang paling berpotensi menghasilkan virulensi yang tinggi sebagai media perbanyakan cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. dan paling efektif mengendalikan serangga hama *Spodoptera* sp. di laboratorium.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara pada bulan Januari – Agustus 2016.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non-faktorial dengan perlakuan perbedaan medium biakan *Penicillium* sp. yang terdiri atas 5 medium yaitu: M<sub>0</sub> = PDA (Kontrol), M<sub>1</sub> = SDA (Sabouraud Dextrose Agar), M<sub>2</sub> = D0C2, M<sub>3</sub> = CDA (Czapek Dox Agar) dan M<sub>4</sub> = Tepung tubuh *Spodoptera* sp. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Data dianalisa menggunakan SPSS 21, terhadap data yang berbeda nyata dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan (UJGD) taraf 5 %.

### 2.1. Pelaksanaan Penelitian

#### 2.1.1. Perbanyakan Isolat *Penicillium* sp.

*Penicillium* sp. diisolasi dari S. litura yang terinfeksi *Penicillium* sp. di lapangan, selanjutnya *Spodoptera* sp. dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, dimasukkan ke dalam beker glass 150 ml. *Spodoptera* sp. yang telah bersih kemudian direndam dengan NaOCl 5% selama 1 menit kemudian dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya *Spodoptera* sp. direndam dengan alkohol 95% selama 1 menit dan dibilas dengan akuades.

Setelah itu *Spodoptera* sp. direndam dengan akuades steril selama 15 menit sebanyak dua kali. Eksplorasi cendawan *Penicillium* sp. dengan cara menggerus *Spodoptera* sp. di dalam mortar. Air gerusan *Spodoptera* sp. digoreskan pada media PDA dan diamati pertumbuhan cendawan *Penicillium* sp. selama 7 hari dan dilakukan permurnian isolat.

### 2.1.2. Perbanyakkan *Spodoptera* sp.

Larva *Spodoptera* sp. diperbanyak dengan cara dibiakkan di laboratorium. Telur *Spodoptera* sp. yang berasal dari lapangan pada berbagai pertanaman kedelai dikumpulkan. Telur kemudian di sterilisasi dengan formalin 0,005% selama 3 detik dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi pakan buatan (Gupta et al., 2004)

*Spodoptera* sp. yang digunakan adalah instar 3, kemudian diintroduksi sebanyak 10 larva/toples yang berlapiskan kapas lembab dan pakan sesuai dengan masing-masing perlakuan. Di Laboratorium Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.

Perbanyakkan cendawan *Penicillium* sp. dilakukan pada berbagai medium berdasarkan perlakuan kemudian cendawan diambil 5 cobebor dan dimasukkan kedalam medium cair sesuai medium perlakuan.

### 2.1.3. Penyediaan Kultur Metabolit *Penicillium* sp.

Kultur metabolit skunder *Penicillium* dilakukan dengan proses fermentasi *Penicillium* yang diambil sebelumnya dipindahkan ke dalam 5 ml medium sesuai perlakuan. Kemudian dihomogenkan menggunakan tube stirrer hingga mencapai kerapatan  $1 \times 10^8$  propagul/ ml. Suspensi koloni jamur tersebut kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dipindahkan ke dalam tabung Eppendorf yang telah berisi 9 ml medium sesuai perlakuan. Eppendorf yang telah berisi suspensi jamur kemudian diinkubasi selama 30 hari pada suhu 30°C dan kecepatan 130 rpm. Setelah 30 hari, medium yang telah berisi suspensi jamur kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil dengan menggunakan mikro pipet steril dan dimasukkan kedalam vial steril. Supernatan tersebut yang akan digunakan sebagai uji peyemprotan pada pakan *Spodoptera* sp.

## 2.2. Peubah Amatan

Peubah amatan terdiri atas tiga jenis yaitu mortalitas terhadap ulat grayak yang mati dilakukan setiap hari setelah satu hari aplikasi hingga 14 hari setelah introduksi. Persentase mortalitas dilakukan dengan menghitung larva yang mati dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{n}{N} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan : P = Mortalitas (%) ; n = Jumlah *Spodoptera* sp. Mati; N = Jumlah seluruh *Spodoptera* sp. (Laoh et al., 2003).

Lethal Time 50 %. Waktu kematian serangga uji dalam penelitian ini dihitung menggunakan LT50 yang bertujuan untuk melihat berapa lama waktu yang diperlukan untuk membunuh 50% jumlah serangga uji. LT 50 dihitung dengan SAS-SAT pada SAS 6.12 (SAS Institut, 1992).

Pengamatan pada tubuh *Spodoptera* sp. yang telah terserang *Penicillium* sp. dilakukan dengan cara dibedah tubuh *Spodoptera* sp. yang terinfeksi menggunakan pisau scalpel secara melintang untuk melihat tubuh bagian dalam *Spodoptera* sp. yang terserang menggunakan mikroskop stereo dengan pembesaran 40 kali. Kemudian dilihat sejauh mana serangan cendawan *Penicillium* sp. menyerang tubuh *Spodoptera* sp.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Mortalitas Harian Larva *Spodoptera* sp. (%)

Hasil pengamatan terhadap mortalitas harian larva *Spodoptera* sp. dengan perlakuan berbagai medium kultur matabolit skunder *Penicillium* sp. yang berbeda menunjukkan fluktuasi terhadap kematian larva *Spodoptera* sp. Persentase mortalitas harian larva *Spodoptera* sp. dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mortalitas *Spodoptera* sp. 1-10 jsa (jam setelah aplikasi) di laboratorium

Perlakuan	rekapitulasi mortalitas <i>Spodoptera</i> sp 1-10 JSA Jam setelah pengamatan
-----------	---

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	0	0b	0b	0	0e	0e	0d	0c	0c	0c
Pottato Dextrose Broth (PDB)	0	7a	27a	30	30d	33d	73c	80b	83b	83b
Czapek Dox Agar (CDA)	0	10a	30a	50	60b	70c	90b	90ab	90ab	90ab
Sabouroud's Dextrose Agar (SDA)	0	10a	30a	50	60b	80b	90b	90ab	90ab	90ab
DOC2	0	10a	30a	50	53c	80b	90b	90ab	90ab	90ab
Ekstrak Tubuh <i>Spodoptera</i> sp.	0	10a	30a	50	80a	100a	100a	100a	100a	100a

Keterangan : Angka yang diikuti notasi huruf yang sama pada tabel yang sama tidak berbeda nyata pada uji jarak Duncan 5 %.

Tabel 1 menjelaskan fluktuasi mortalitas harian yang berbeda-beda setiap hari. Pada jam pertama terlihat belum adanya pengaruh pemberian metabolit terhadap mortalitas larva. Pada jam ke 2 dan 3 metabolit skunder *Penicillium* sp. yang di kulturkan pada berbagai medium menunjukkan adanya mortalitas larva sebesar 10% namun nilai ini tidak berbeda nyata jika dibandingkan antar perlakuan namun keseluruhan perlakuan memiliki beda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Pada jam ke 4 keseluruhan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata dan pada jam ke 5 mortalitas tertinggi terdapat pada medium ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. yaitu sebesar 80% diikuti oleh perlakuan CDA dan SDA sebesar 50 %, DOC 53%, PDB 30% dan kontrol 0 %. Pada jam ke 6 ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. sebesar 100%, diikuti DOC dan SDA 80%, CDA 70% dan PDB 33% dan terendah terdapat pada perlakuan kontrol. Pada jam ke 7 ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. memiliki mortalitas 100% diikuti DOC, SDA, CDA sebesar 90%, PDB 73% dan terendah terdapat pada perlakuan kontrol. Pada pengamatan 8, 9 dan 10 memiliki mortalitas yang sama yaitu ekstrak tubuh 100%, DOC, CDA, SDA memiliki nilai mortalitas 90%, PDB 80% dan terendah pada perlakuan kontrol.

Nilai mortalitas *Spodoptera* sp. tertinggi konstan terdapat pada komposisi medium ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. hal ini dikarenakan medium ekstrak tubuh mengandung senyawa paling kompleks dalam susunan protein lemak dan senyawa mineral yang berasal dari *Spodoptera* itu sendiri. Jamur yang di kulturkan pada medium ini akan mengabsorpsi substansi yang paling menyamai dengan tubuh serangga uji. Hal ini lah yang menyebabkan toksisitas metabolik menjadi sangat meningkat. Hal yang sama juga dinyatakan tubuh *Spodoptera* sp. mengandung senyawa utama sebagai substrat obligat pada cendawan entomopatogen. tubuh *Spodoptera* sp. mengandung protein, polyphenol, hydrocarbon, fatty acid, ester, khitin dan tannin (Clarkson & Charnely, 1996).

Medium terbaik kedua dalam menghasilkan toksisitas terhadap *Spodoptera* sp. adalah medium DOC, SDA, CDA. Medium ini dilaporkan mengandung komposisi karbohidrat dan protein yang tinggi sebagai bahan yang digunakan untuk menghasilkan nutrient sebagai perangsang metabolik skunder. DOC2-4 merupakan medium diferensial selektif untuk cendawan entomopatogen. Medium ini mengandung senyawa bersifat racun terhadap cendawan saprofitik. Medium ini mengandung beberapa fungisida (seperti oxgall, tembaga sulfat, tembaga (II) klorida (CuCl<sub>2</sub>), benomyl dan dodine) dan antibiotik (seperti cholramphenicol, tetracycline dan streptomisin). Media selektif [15];[18]-[23] CDA (Czapek Dox Agar) merupakan medium spesifik kultur *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Paecilomyces* (Thom & Church, 1926). Medium kultur ini mengandung sukrosa sebagai sumber karbon sendiri dan nitrat sebagai sumber nitrogen sendiri .

Sabouraud (diucapkan Sah - bu - Ro ') media agar diperkaya dikembangkan oleh dokter kulit Perancis Raymond JA Sabouraud pada akhir 1800 untuk mendukung pertumbuhan jamur yang menyebabkan infeksi pada kulit, rambut , atau kuku , secara kolektif disebut sebagai dermatofit [13]. Glukosa merupakan senyawa sumber karbohidrat pada biakan jamur Agar berfungsi sebagai pematat pada substrat yang telah di homogenkan [12]. PDB memiliki mortalitas terbaik ke 3, dikarenakan medium ini memiliki kandungan protein yang sangat sedikit namun tinggi karbohidrat yang merangsang pertumbuhan hifa jamur dan menghambat pembentukan toksin. PDB Merupakan media umum kompleks dan media diferensiasi untuk pertumbuhan jamur serta yeast sehingga sering digunakan sebagai uji untuk menentukan jumlah jamur dan yeast dengan menumbuhkan mikroba pada permukaan sehingga akan membentuk koloni yang dapat dilihat dan dihitung. Selain itu PDB (Potato Dextrose Broth) juga digunakan untuk pertumbuhan, isolasi dan enumerasi dari kapang serta khamir pada bahan makanan dan bahan lainnya [16]. Pati ekstrak kentang setiap 100 g mengandung energi 85 kal, air 77,8 g, protein 2g, lemak 0,2g, karbohidrat 19,1g, mineral 1g, kalsium 11mg, fosfor 56 mg, besi

0,7mg, thiamine 0,11mg, asam askorbat 17 mg (Nio, 1992) berfungsi sebagai sumber nitrogen dan vitamin bagi cendawan. Dekstrosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) berbeda dengan gula yang di konsumsi, dekstrosa merupakan wujud murni gula yang berasal dari sumber alami langka merupakan wujud lain dari L-glukosa. Dextrosa berfungsi sebagai sumber karbon bagi cendawan. Agar berfungsi sebagai pematid pada substrat yang telah di homogenkan. Tingginya kadar karbohidrat menyebabkan meningkatkan laju vegetatif jamur dan menghambat pembentukan metabolik skunder [12].

### 3.2. Lethal time 50 (LT50). (Jam)

Hasil penelitian menunjukkan waktu kematian tercepat terdapat pada perlakuan medium tubuh *Spodoptera* sp. dengan waktu 3,545 jam, diikuti perlakuan DOC sebesar 4,121 jam, kemudian SDA dan CDA memiliki waktu kematian yang sama yaitu 4,138 dan terendah terdapat pada perlakuan PDB yaitu 5,66 jam (Tabel 2).

Tabel 2. LT 50 Metabolit skunder *Penicillium* sp. pada berbagai medium terhadap *Spodoptera* sp.

Perlakuan	Lt50 (Jam)	Kisaran	
		Terendah	Tertinggi
Control	0	0	0
Pottato Dextrose Broth (PDB)	5,66	4,588	7,159
Czapek Dox Agar (CDA)	4,138	3,295	4,922
Sabouroud` s Dextrose Agar (SDA)	4,138	3,295	4,922
DOC2	4,121	3,289	4,892
Ekstrak Tubuh <i>Spodoptera</i> sp.	3,545	2,984	4,066

Hal ini disebabkan medium tubuh *Spodoptera* sp. mengandung makro dan mikronutrient penting yang tidak terdapat pada medium uji yang lainnya. Senyawa ini membentuk ikatan yang sistemik pada jamur yang dibiakkan pada medium ini dan merangsang cendawan biakan untuk dapat beradaptasi dengan medium ini. Hal ini mempermudah jamur untuk dapat mencerna medium ini dan meningkatkan toksisitasnya terhadap nutrisi medium dan menyebabkan jamur mengalami kondisi obligat. Perubahan system biokimia jamur pun merangsang cendawan untuk menghasilkan metabolik skunder yang toksisitasnya tinggi untuk dapat membunuh *Spodoptera* sp. uji pada waktu tercepat. Hal yang sama juga dinyatakan Clarkson & Charnely, 1996 yang menyatakan Perubahan system biokimia jamur pun merangsang cendawan untuk menghasilkan metabolik skunder yang toksisitasnya tinggi untuk dapat membunuh *spodoptera* uji pada waktu tercepat. Hal ini berkorelasi positif terhadap substrat dan host yang diuji.

Medium DOC2 merupakan medium selektif entomopatogen. Medium ini akan menghambat pertumbuhan cendawan keperiode vegetative dengan senyawa tembaga di dalamnya. Sehingga toksin akan segera dihasilkan pada metabolisme skunder. Namun medium ini tidak meningkatkan selektifitas obligat jamur sehingga waktu kematian dibawah medium ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. Hal yang sama juga dinyatakan Beilhartz *et al.*, 1982; Chase *et al.*, 1986; Keller *et al.*, 2003; Mark & Douglas, 1997; Meyling & Eilenberg 2006; Shimazu & Sato, 1996; Shimazu *et al.*, 2002 dodine dan CuCl telah dievaluasikarena lebih efektif untuk isolasi cendawan entomopatogen dari tanah dan menghambat priode vegetative dan merangsang eksudat kimia [19] [15].

Medium SDA dan CDA memiliki nilai yang sama dikarenakan medium ini kaya nutrisi jamur dermatofit. Rangsangan ini menyebabkan jamur hanya memparasit namun tidak menghasilkan toksin pada sel. hal yang sama juga dinyatakan Thom & Church, 1926 yang menyatakan kedua medium tersebut digunakan untuk isolasi jamur dermatofit manusia yang merangsang pamparasitan sel namun tidak merangsang jamur masuk ke fase kimiawi penghasil toksin.

PDB memiliki waktu kematian terendah dikarenakan medium ini merupakan medium umum isilasi mikroba termasuk jamur dan bakteri. Medium ini kaya karbohidrat dan sedikit protein sehingga jamur akan terangsang untuk membentuk hifa dan sedikit toksin. Hal yang sama juga dinyatakan Nio, 1992 Potato Dextrose Broth juga digunakan untuk pertumbuhan, isolasi dan enumerasi dari kapang serta amir pada bahan makanan dan bahan lainnya [16]. Pati ekstrak kentang setiap 100 g mengandung energi 85 kal, air 77,8 g, protein 2g, lemak 0,2g, karbohidrat

19,1g, mineral 1g, kalsium 11mg, fosfor 56 mg, besi 0,7mg, thiamine 0,1 mg, asam askorbat 17 mg (Nio, 1992) berfungsi sebagai sumber nitrogen dan vitamin bagi cendawan. Dekstrosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) berbeda dengan gula yang di konsumsi,dekstrosa merupakan wujud murni gula yang berasal dari sumber alami langka merupakan wujud lain dari L-gulkosa. Dextrosa berfungsi sebagai komber karbon bagi cendawan. Agar berfungsi sebagai pematat pada substrat yang telah di homogenkan. Tingginya kadar karbohidrat menyebabkan meningkatkan laju vegetatif jamur dan menghambat pembentukan metabolik skunder. Senyawa pada medium ini akan merangsang vegetative jamur dan menghambat pembentukan metabolit skunder [13].

#### 4. Kesimpulan

Media tepung yang dibuat dari tubuh *Spodoptera* sp. memiliki toksisitas tertinggi dengan persentase mortalitas 100% pada pengamatan jam ke enam.  $L_{150}$  didapat pada 3,545 jam.

#### Referensi

- [1] Amir AM. 2009. Pemantauan resistensi hama tembakau terhadap insektisida. Balai penelitian tanaman tembakau dan serat Malang. *J. Ilmiah Tan. Tembakau* 8(3):376–380 pp.
- [2] Anaisie, PV, Y Eziah & EO Owusu. 2011. The potential of indigenous entomopathogenic fungi for the management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: yponomeutidae) in Ghana. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics*. 1(10) pp. 275-281 pp.
- [3] Hasnah, Husni, & Ade F. 2012. Pengaruh ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap mortalitas ulat grayak *Spodoptera litura* F.J. *Floritek*.7: 115 – 124 pp.
- [4] Tohir. 2010. Teknik ekstraksi dan aplikasi beberapa pestisida nabati untuk menurunkan palatabilitas ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di Laboratorium. *Buletin Teknik Pertanian*. 15(1): 37–40 pp.
- [5] Pasaru F, Alam A, Tutik K, Mahfudz, & Shahabuddin. 2014. Prospective of Entomopathogenic Fungi Associated with *Helopeltis* Spp. (Hemipter : Miridae) on Cacao Plantation. *Int.J.Curr.Res.Aca.Rev*.2014 ; 2(11) : 227 -234 pp.
- [6] Nwodo Chinedu S, C Obinna Nwinyi & VI Okochi. 2008. Properties of Endoglucanase of *Penicillium chrysogenum* PCL 501. *Australian J. of Basic and Applied Sciences*. 2 (3): 738-746 pp.
- [7] Kathiresan K& S Manivannan. 2006. Cellulase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated from Coastal Mangrove Rhizosphere Soil. *Research Journal of Microbiology*. 1 (5): 438-442pp.
- [8] Sindhu Raveendran, Nair Gopalan Suprabha & Shankar Shashidhar. 2011. Media Engineering For The Production Of Cellulase From *Penicillium* Species (SBSS 30) Under Solid State Fermentation. *Research Article, Biotechnol. Bioinf. Bioeng*. 343-349pp.
- [9] Prayogo Y, Tengkan W& Suharsono. 2002. Jamur Entomopatogen pada *Spodoptera litura* dan *Helicoverpa armigera*. Prosiding Seminar Teknologi Inovatif Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian Mendukung Ketahanan Pangan Balitkabi. 25-26 Juli 2002. Malang.
- [10] Nurariaty. 2006. Identifikasi Cendawan Entomopatogen dan Perannya sebagai Agen Hayati Pupa Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella* snellen) (Lepidoptera:Gracillariidae) di Pertanaman Kakao. *Buletin Penelitian Seri Hayati* . 9 (2) : 94-180pp.
- [11] Widayat W& DJ Rayati. 1993. Hasilpenelitian jamur entomopatogenik local dan prospek penggunaannya sebagaiinsektisida hayati. hlm. 61–74. Dalam E Martono, E Mahrub, NS Putra, & Y Trisetyawati (Eds.). Simposium PatologiSerangga I. Universitas Gadjah Mada,Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993.
- [12] Koch R. 1818. Zur Untersuchung von Pathogenen Organismen, Mitthdungen uus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. 1(1):1-48pp.
- [13] Sabouraud R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite destrichophytons de l'homme. *Ann. Dermatol. Syphil*. 3:10611087.
- [14] Thom C& Church MB. 1926. The Aspergilli, Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- [15] Shimazu M & Sato H. 1996. Media for selective isolation of anentomogenous fungus, *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Appl Entomol Zool* .31, 291-298.
- [16] Fardiaz S., 1989. Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta IPB.Bogor.
- [17] Laoh J. 2003. Kerentanan Larva *Spodoptera litura* F. terhadap Virus NuklearPolyhedrosis. Universitas Riau. Pekanbaru. *J. Natur Indonesia* 5(2):145-151pp.
- [18] Beilharz VC, Parberry DG & Swart HJ .1982. Dodine: A selective agent for certain soil fungi. *Trans Br Mycol Soc* 79, 507-511pp.
- [19] Chase AR, Osborne LS &Ferguson VM .1986. Selective isolation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and*Metarhizium anisopliae* from an artificial potting medium.*Flo Entol* 69, 285-292pp.
- [20] Keller SP, Kessler P, Schweizer C .2003. Distribution of insectpathogenic soil fungi in Switzerland with special referenceto *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*.*Biocontrol* 48, 307-319pp.
- [21] Mark SG, Douglas GI .1997.Fungi: Hyphomycetes. In: LaceyL, ed. Manual of Techniques in Insect Pathology. San Diego,California: Academic Press, London, 53-185pp.

- [22] Meyling NV & Eilenberg J .2006. Isolation and characterisationof *Beauveria bassiana* isolates from phylloplanes of hedgerow vegetation. Mycological Research 110, 188-195pp.
- [23] Shimazu M, Sato H & Maehara N .2002. Density of the ento-mopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in forest air and soil. *Appl Entomol Zool* 37(1), 19-26pp.