



Eksplorasi dan Uji Potensi Penghambatan antara *Metharizium anisopliae* dan *Trichoderma* dari Lahan Hortikultura

Sutarman

Abstract: Exploration to obtain *Metharizium anisopliae* and *Trichoderma* is a demand for location-specific pesticide active ingredient needs. This study aims to obtain *M. anisopliae* and *Trichoderma* isolates from soil samples of armyworm endemic fields, determine the potential for mutual inhibition, and the effect of protecting the health of kale and Kailan. Isolation and morphological identification of biological agents was carried out. The inhibition test was carried out between the two isolated fungi. The final stage was the application of this biological agent fungus to kale and kailan plantations. The results of the application test were analyzed by t-test level of 5%. Isolation and morphological identification results obtained isolates *M. anisopliae* Ma-05 and *Trichoderma* sp. Tc-06. Co-cultivation boosted the growth of this entomopathogenic fungus by $24.1 \pm 6.7\%$ and decreased by $2.4 \pm 1.9\%$ at 24 and 96 hours after inoculation, respectively. The application of entomopathogenic fungi protects the growth of kale and kailan plants. Both biological agents have the potential to be used for plant protection in endemic fields of armyworm disturbance.

Instansi Penulis

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia, 61271

Kata kunci:

exploration, *Metharizium anisopliae*, *Trichoderma*, in vitro test.

Singkatan

PDA-c: Potato Dextrose Agar -chloramphenicol

Korespondensi

Sutarman

sutarman@umsida.ac.id

(Program studi Agroteknologi)

(Universitas Muhammadiyah Sidoarjo)

(Jl. Raya Gelam 200, Candi-Sidoarjo. Indonesia)

Riwayat artikel

Dikirim: 18/4/2023; Diterima: 7/10/2023;

Direvisi: 7/10/2023; Diterbitkan: 8/2/2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.30595/agritech.v25i2.17391>

Agritech: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian

Diterbitkan oleh

Fakultas Pertanian dan Perikanan Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Gedung J, Lt.3, Kampus 1, Jl. KH. Ahmad Dahlan, Dusun III, Dukuhwaluh,
Kec. Kembaran, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53182, Telp. (0281)
636751

Pendahuluan

Penggunaan insektisida untuk pengendalian hama ulat sering mengalami kegagalan. Hama ulat *plutella* misalnya menjadi resisten terhadap insektisida berbahan beta-cyfluthrin, lambda-cyhalothrin, permethrin, dan chlorantraniliprol (Prabaningrum *et al.*, 2016) yang hingga saat ini masih banyak digunakan di berbagai pertanaman. Dampak lebih lanjut selain kegagalan panen, bahan aktif insektisida dapat membahayakan kesehatan petani dan

konsumen, mikroorganisme non target serta berdampak pada pencemaran lingkungan baik itu tanah dan air (Yuantari, Widianarko & Sunoko, 2015).

Salah satu cara untuk meminimalisir penggunaan insektisida kimia adalah dengan memanfaatkan agen hayati sebagai bahan aktif untuk mengendalikan serangga hama khususnya fase ulat melalui karakteristik patogenisitas terhadap larva serangga. Fungi *Metarhizium anisopliae* yang merupakan satu dari sekian banyak fungi entomopatogen yang terdapat di tanah yang ketika menginfeksi larva akan menyebabkan kerusakan, mengakibatkan berkurangnya nafsu makan ulat dan akhirnya mati (Tobing, Marheni & Hasanuddin, 2015) yang berefek menurunkan populasi ulat menjadi rendah.

Fakta yang tidak dapat dipungkiri adalah bahwa isolat-isolat fungi entomopatogenik termasuk *M. anisopliae* belum tentu efektif mengendalikan hama ulat yang sama pada tempat berbeda (Cai *et al.*, 2022). Untuk itu perlu senantiasa dicari isolat baru bagi tujuan untuk pengendalian hama ulat yang memanfaatkan fungi jenis ini. Dengan demikian kegiatan eksplorasi *M. anisopliae* untuk mendapatkan isolat spesifik lokasi menjadi sangat penting (Chai *et al.*, 2023) bagi perguruan tinggi dan unit teknis lembaga-lembaga penelitian yang memiliki laboratorium hama dan penyakit tanaman dan bioteknologi pertanian agar dapat melayani petani di berbagai wilayah dengan karakteristik fisik dan bioekologi yang berbeda-beda.

Propagul fungi entomopatogenik agar mudah diaplikasikan terlebih dahulu diformulasi (Chintkuntlawar *et al.*, 2015) yang biasanya dalam bentuk padatan yang dapat disuspensikan dengan air untuk disemprotkan ke permukaan daun di mana ulat akan memakannya. Sementara itu ulat grayak yang aktif menggerek daun di malam hari, biasanya pada siang hari bersembunyi ke dalam tanah di sekitar perakaran. Di lain pihak curah hujan dapat mengancam terucinya propagul fungi yang sudah disemprotkan sehingga akan mengancam efektivitas aplikasi melalui penyemprotan tajuk [Rasool, Kang, Mandal, 2021]. Untuk itu diperlukan modifikasi cara aplikasi, yaitu aplikasi propagul fungi entomopatogenik yang dilakukan di siang hari bukan dalam bentuk penyemprotan tajuk tetapi diberikan seperti pemupukan atau sebagai soil treatment yang ditematkan di sekitar akar beberapa sentimeter di bawah permukaan tanah sekitar akar. Dengan cara ini diharapkan larva ulat grayak dan hama ulat lainnya yang biasa bersembunyi di dalam tanah dapat kontak dengan intensitas yang lebih tinggi dengan tubuh ulat, sehingga efektivitasnya diharapkan lebih meningkat.

Di lain pihak dalam tanah dan di sekitar perakaran tanaman ditemukan berbagai mikroba termasuk jamur *Trichoderma* yang merupakan salah satu jamur yang menguntungkan dengan membantu tanaman dalam pertumbuhannya. Salah satu karakter jamur ini adalah kemampuannya menghasilkan enzim selulolitik dan kitinolitik secara ekstraselular (Saravanakumar *et al.*, 2016) yang berpotensi dapat merusak dinding sel jamur. Fungi ini telah terbukti menekan kehidupan berbagai jenis fungi dalam spektrum yang luas (Thambugala *et al.*, 2020). Dengan demikian gangguan atau kerusakan secara enzimatik oleh *Trichoderma* terhadap *M. anisopliae* dapat terjadi dan berpotensi menghambat kerja jamur entomopatogen ini. Untuk itu diperlukan pula pengujian sejauh mana *Trichoderma* yang secara indigen berada di lingkungan tanah dan rizosfer tanaman budidaya dapat mempengaruhi aktivitas jamur *M. anisopliae* yang akan diaplikasikan sebagai biopestisida di dalam tanah di sekitar perakaran.

Penelitian ini bersifat sebagai dasar bagi upaya pemanfaatan sumberdaya alam indigen dalam mempersiapkan bahan aktif insektisida untuk mengantisipasi potensi serangan hama ulat. Oleh karenanya penelitian ini didahului oleh tahap kegiatan eksplorasi yang bertujuan untuk mendapatkan isolat *M. anisopliae* potensial efektif. Selanjutnya isolat temuan itu perlu diuji responsnya terhadap *Trichoderma* indigenus yang merupakan jenis fungi yang banyak dilaporkan efektif mengendalikan patogen tular tanah di samping membantu pertumbuhan tanaman.

Metode

Isolasi dan Determinasi *Metarrhizium* dan *Trichoderma*

Untuk mendapatkan isolat *Metarrhizium*, pertama-tama dilakukan tahap *baiting* yaitu memasukan ulat grayak ke dalam wadah lalu diisi dengan sampel tanah yang diambil dari lokasi pertanaman sayuran di Seloliman-Mojkerto. Teknik ini bertujuan untuk menginduksi spora fungi siap untuk berkecambah dan menginfeksi larva. Selanjutnya wadah ditutup dengan kain hitam dan disimpan di tempat gelap dan wadah disemprot untuk membuatnya lembab selama sekitar satu minggu akhirnya didapatkan cendawan entomopatogen *Metarrhizium* dari serangga. Tahap berikutnya, menggoreskan ujung jarum ose yang tajam ke permukaan tubuh larva. Propagul fungi yang terbawa di ujung jarum ose tersebut dioleskan ke tengah-tengah permukaan media PDA-c; setelah ditutup rapat, cawan diinkubasi selama 10 hari. Jika masih terdapat kontaminan, maka dilakukan isolasi hifa jamur dan menempatkan propagul murni ke media PDA-c dalam cawan petridi yang baru. Miselium murni selanjutnya siap diamati di bawah mikroskop untuk mengetahui bentuk dan ukuran spora dan hifa jamur; selanjutnya dilakukan determinasi dan memperbandingkan dengan berbagai referensi untuk memastikan bahwa fungi tersebut adalah *M. Anipsoliae*. Biakan murni fungi ini selanjutnya siap digunakan untuk uji *in vitro*.

Untuk isolasi fungi *Trichoderma* dari lahan yang sama, diambil sebanyak 5 gram dari sampel tanah dan dituangkan ke dalam beaker glas, kemudian dituangkan air destilat hingga 500 ml dan diaduk hingga merata. Setelah dilakukan pengenceran mulai dari 10^{-4} , dicuplik sebanyak 1 ml dengan menggunakan jarum *syringe* dan disemprotkan di cawan yang sudah bersi PDA-chloramphenicol padat. Kemudian diinkubasi selama 48 jam. Koloni hijau yang muncul segera diisolasi dengan menumbuhkannya pada media PDA-c yang baru. Biakan isolate *Trichoderma* umur dua minggu dicuplik propagulnya dan ditempatkan pada obyek glass untuk diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 400 kali. Struktur mikroskopis yang teramati yaitu percabangan hifa, fialid, konidiofor, dan konidiaspora dibandingkan dengan deskripsi dan kunci determinasi yang diberikan oleh Gams dan Bissett (2002).

Uji daya hambat (*in vitro*)

Pengujian daya hambat *Trichoderma* sp. terhadap *M. anisopliae* kandidat agensia bioinsektisida dilakukan dengan metode *dual culture* dengan menempatkan propagul berukuran 5 mm *Trichoderma* dan *M. anisopliae* secara berhadapan yang masing-masing berjarak 25 mm dari tepi cawan petri. Sebagai *mono culture* adalah dengan menumbuhkan propagul *M. anisopliae* dari biakan yang sama secara sendiri di tengah-tengah cawan petri. Secara keseluruhan posisi penempatan propagul jamur secara

skematis diperlihatkan pada Gambar 1 (Sutarman *et al.*, 2021). Selama periode inkubasi dilakukan pengamatan pertumbuhan jari-jari koloni setiap 24 jam dimulai hari ke dua hingga kontrol memenuhi cawan petri. Pengujian diulang empat kali.

Untuk menghitung presentase penghambatan dengan menggunakan rumus (1) (Wachid & Sutarmanto, 2019):

$$DH = \frac{(r-a)100\%}{r} \dots\dots\dots (1)$$

dengan ketentuan: DH = Persentase penghambatan pertumbuhan, r = jejari pertumbuhan koloni *M. anisopliae* pada media *monoculture*, dan a = jejari pertumbuhan koloni *M. anisopliae* pada media dalam *dual culture*.

Tabel 1 Kriteria tingkat serangan hama *Grayak* pada tanaman kailan dan kale

No.	Kriteria tanaman (daun)	Skor
1	Tanaman sehat, tidak ada daun yang dirusak oleh ulat	0
2	Sekitar 10-20 % luas daun hilang dimakan dan/atau dirusak oleh ulat	1
3	Sekitar >20-40% luas daun hilang dimakan dan/atau dirusak oleh ulat	2
4	Sekitar antara 40-70% luas daun hilang dimakan dan/atau dirusak oleh ulat	3
5	Lebih dari 70% luas daun hilang dimakan dan/atau dirusak oleh ulat atau tanaman mengalami kematian	4

indigenus lahan pengujian efektivitas terhadap *M. anisopliae* dihitung rata-rata dan simpangannya untuk memperlihatkan kekuatan hambatannya.

Uji Efektivitas di Lapang

Dalam uji efektivitas di lapang digunakan dua macam tanaman sawi-sawian yang diuji yaitu: kale dan kailan. Masing-masing tanaman ditanam dengan menggunakan jarak tanam 20 x 15 cm. Masing-masing tanaman ditanam pada blok yang berbeda dengan jarak 60 cm. Kepada masing-masing tanaman diaplikasikan biopestisida secara *soil treatment* yang diberikan pada awal pertanaman dengan menempatkannya pada sekitar bibit tanam yang sudah ditanam. Dosis yang digunakan adalah 50 gram per tanaman dengan kepadatan populasi fungi agen hayati *M. anisopliae*. 10^7 CFU.gr⁻¹. Untuk pengujian terhadap tiap jenis tanaman ini digunakan 8 satuan percobaan yang diberi biopestisida secara *soil treatment* dan 8 satuan percobaan tanpa diberi biopestisida. Semua satuan percobaan ditentukan secara acak. Variabel yang diamati dalam pengujian ini adalah tingkat kerusakan tanaman yang berhasil diselamatkan oleh aplikasi formula *M. anisopliae* secara *soil treatment* yaitu dengan menempatkan formula ke dalam tanah sekitar perakaran di mana ulat bersembunyi siang hari ketika tidak aktif makan.

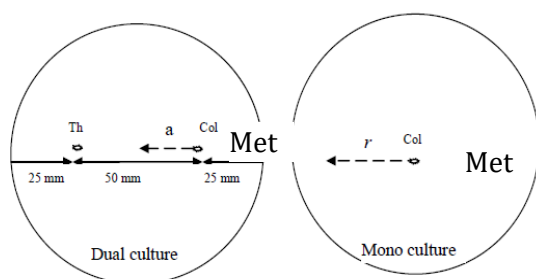
Untuk menentukan tingkat kerusakan, maka dilakukan dilakukan skoring sesuai kriteria seperti tertera pada Tabel 1.

Hasil

Hasil Isolasi *Metarrhizium* dan *Trichoderma*

Hasil dan identifikasi secara morfologi isolat fungi entomopatogenik dan *Trichoderma* diperlihatkan pada Tabel 2. Selanjutnya Isolat hasil eksplorasi ini menjadi koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo (LMB-UMSIDA).

Secara morfologi baik dari penampilan koloni dan penyebaran miselium, bentuk dan ukuran hifa serta bentuk dan ukuran spora adalah *M. anisopliae*. Sebagai koleksi Laboratorium LMB-UMSIDA diberi kode Ma-05. Koloni berwarna hijau kecoklatan dengan bagian tepinya nampak warna putih kecoklatan. Hifa hialin memiliki sekat dan bercabang-cabang dengan diameter rata-rata $2,34 \pm 0,29 \mu\text{m}$ dan spora hialin dengan ukuran rata-rata $6,13 \pm 0,97 \times 2,39 \pm 0,52 \mu\text{m}$. Isolat *Trichoderma* yang diperoleh memiliki karakter penting morfologinya yaitu fialid dengan panjang $7,73 \pm 0,69 \mu\text{m}$ dan spora dengan rata-rata diameter $2,72 \pm 0,34 \mu\text{m}$ ini belum cukup informasi untuk menentukan spesiesnya. Secara morfologi berdasarkan dimensi spora dan hifa ada kemiripan dengan *T. Harzianum* (Gams & Bissett, 2002).



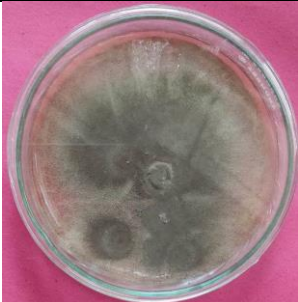
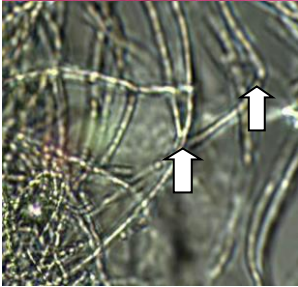
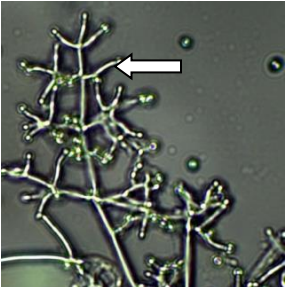
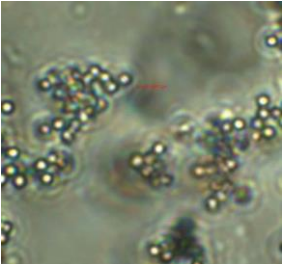
Gambar 1. Penempatan propagul dalam uji daya hambat *Trichoderma* indigenus lahan tanaman kale dan kailan terhadap *M. anisopliae* Th: *Trichoderma*, Met: *M. Anisopliae*

Analisis data

Untuk kegiatan eksplorasi data yang diperoleh berupa deskripsi koloni di media PDA serta morfologi dan dimensi propagul isolat fungi entomopatogen (*M. anisopliae*). Data hasil pengukuran daya hambat (%) fungi *Trichoderma*

Tabel 2

Karakter morfologi isolat *Metarrhizium* dan *Trichoderma* yang diidolasi dari lahan pertanian sayur organik

<i>M. anisopliae</i>	<i>Trichoderma</i> sp.
	
Koloni berwarna hijau kecoklatan,	Koloni berwarna hijau dengan pola khas pertumbuhan miselium yang bergelombang
	
hifa bersekat (panah kanan) dan bercabang (panah kiri) berukuran rata-rata $2,34 \pm 0,29 \mu\text{m}$	miselium dengan hifa bersekat dan bercabang, fialid (tanda panah) berukuran rata-rata $7,731 \pm 0,69 \mu\text{m}$
	
Spora hialin berbentuk batang dengan ukuran rata-rata $6,13 \pm 0,97 \times 2,39 \pm 0,52 \mu\text{m}$	Spora hialin berbentuk membulat/oval dengan diameter rata-rata $2,72 \pm 0,34 \mu\text{m}$

Tabel 3

Rata-rata pertumbuhan koloni dan penghambatan *Trichoderma* terhadap *M. anisopliae*

Penumbuhan isolat	Jari-jari pertumbuhan koloni			
	24 JSI	48 JSI	72 JSI	96 JSI
<i>M. anisopliae</i> dual culture	$12,7 \pm 1,2$	$21,3 \pm 1,2$	$26,7 \pm 1,5$	$34,3 \pm 0,6$
<i>M. anisopliae</i> monokultur	$18,0 \pm 1,2$	$25,3 \pm 6,7$	$30,2 \pm 0,4$	$35,2 \pm 0,3$
Penghambatan (%)	(-) $24,1 \pm 6,7$	(-) $15,8 \pm 4,7$	(-) $11,6 \pm 4,8$	(-) $2,4 \pm 1,9$

Hasil Uji In Vitro.

Berdasarkan hasil uji in vitro di antara kedua isolat, diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Sejak 24 jam setelah inokulasi (JSI) hingga akhir pengamatan (96 JSI) tampak tidak terdapat penghambatan. Persentase penghambatan bertanda negatif (-) mulai dari $21,1 \pm 6,7$ hingga $2,4 \pm 1,9\%$. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas bersama antara *M. anisopliae* dan *Trichoderma* telah mendorong pertumbuhan fungi entomopatogen ini.

Hasil Uji Lapang

Hasil *t*-test memperlihatkan bahwa pemberian secara soil tretament *M. anisopliae* berbeda sangat nyata ($p < 0,05$) dalam menurunkan indeks kerusakan tanaman kailan seperti diperlihatkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil *t*-test pengaruh aplikasi *M. Anisopliae* sebagai *soil treatment* terhadap indeks kerusakan (0-5) yang disebabkan oleh ulat grayak pada tanaman kailan dan kale

	Kailan	Kale
Mean on control	$2,87 \pm 0,41$	$2,75 \pm 0,21$
Mean on <i>M. Anisopliae</i>	$1,63 \pm 1,13$	$1,50 \pm 0,86$
t Stat	2,853	3,416
P(T<=t)	0,014	0,004

Note: n: 16, degree of freedom 14

Pembahasan

Kisaran ukuran propagul mikroskopis *M. anisopliae* yang diperoleh seperti ditunjukkan pada gambar di Tabel 1, sesuai dengan dimensi dan bentuk isolate fungi

entomopatogeni ini yang dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Lapinangga & da Lope, 2016; Risdiyanti, Widayati & Suryaminarsih, 2022; Sopialena, Sahid & Hutajulu, 2022). Sementara itu karakter morfologi dan dimensi fialid isolat *Trichoderma* yang diperoleh dengan panjang $7,73 \pm 0,69 \mu\text{m}$ dan spora dengan rata-rata diameter $2,72 \pm 0,34 \mu\text{m}$ ini tampaknya belum cukup informasi untuk menentukan spesiesnya. Meskipun berdasarkan dimensi sopra dan hifa ada kemiripan dengan *T. harzianum*, namun memerlukan pembuktian khususnya yang bersifat non konvensional. Oleh karenanya isolat ini dideterminasi sebagai *Trichoderma* sp. dengan kode koleksi Tc-06 Pada penelitian Sutarman *et al.* (2021), isolat *Trichoderma* yang mirip dengan *T. harzinum* dan *T. koninggii* ternyata berdasarkan hasil identifikasi berbasis marka molekular dan hasil analisis filogenetiknya diketahui sebagai *T. eseprellum*. Dengan demikian pembuktian spesies kedua isolat ini perlu dilanjutkan dengan menggunakan marka molekular melalui serangkaian multiplikasi potongan DNA melalui PCR hingga pemeriksaan sekuen nukleotida yang dicocokkan dengan Gen Bank yang diperoleh dari NCBI (2022) hingga penentuan filogenetiknya (Kumar *et al.*, 2018).

Penumbuhan bersama kedua macam fungi agen hayati ini tidak menunjukkan adanya penghambatan satu sama lain (Tabel 3). Di lahan uji potesi adanya sinergitas di antara kedua macam agen hayati ini ditunjukkan indikasinya pada respons tanaman berupa rerata skor gejala lebih kecil dibandingkan tanpa aplikasi fungi entomopatogen (Tabel 4). Aktivitas mikroba yang menguntungkan bagi tanaman pada umumnya akan terdorong oleh adanya aktivitas *Trichoderma* di sekitar perakaran tanaman (Asghar & Kataoka, 2021), yang dalam hal ini secara indigen berada di rhizosfer tanaman. *Trichoderma* di rhizosfer akan memberikan manfaat secara fisiologis dan biokimia bagi tanaman (Sood *et al.*, 2020), menghasilkan enzim. yang dapat mendegradasi bahan organik dan menghasilkan nutrisi (Oyeleye & Norm, 2018; Miftahurrohmat & Sutarman, 2020) dan menghasilkan beberapa senyawa yang dapat merangsang pertumbuhan (Shang, Liu & Xu, 2020; Silvia & Sutarman 2021). Secara in vitro peran tersebut dapat ditunjukkan pada hasil uji in vitro ini. Di lain pihak adanya kecenderungan dorongan pertumbuhan yang makin mengecil sejak 24 hingga 96 JSI menindikasikan adanya peran senyawa ekstraselular lain yang dihasilkan *Trichoderma* yang dapat menghambat fungi entomopatogen dalam percobaan ini. *Trichoderma* menghasilkan enzim selulase dan kitinase (Buysens *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2018) yang dapat menyebabkan instabilitas dinding sel jamur, mengingat dinding sel jamur diantaranya tersusun dari senyawa kitin.

Dari hasil dari uji lapang ini (Tabel 4) sejalan dengan hasil uji daya hambat yang menunjukkan tidak adanya penghambatan yang berarti *Trichoderma* terhadap *M. anipsolie*. Aktivitas fungi entomopatogen yang diberikan ke dalam tanah di sekitar perakaran tanaman efektif menekan hama ulat yang bersembunyi di dalam tanah pada siang hari yang dibuktikan dengan skor penampilan kesehatan tanaman yang tinggi pada perlakuan yang diberikan formula fungi entomopatogen. *Trichoderma* bahkan mendorong pertumbuhan *M. anipsoliae* selama periode inkubasi secara in vitro dengan level peningkatan pertumbuhan pada 24 dan 48 jam setelah inokulasi (Tabel 4). Hasil penelitian yang dilakukan Li *et al.* (2022) menunjukkan bahwa aktivitas *Trichoderma* dapat mendorong pertumbuhan mikroorganisme menguntungkan di dalam tanah. Fungi *Metarrhizium* termasuk dari beberapa genus fungi menguntungkan yang tidak memunculkan hubungan saling menghambat dengan *Trichoderma* (Youssef *et al.*, 2019). Sementara itu secara in vitro *T. esperellum* mendorong pertumbuhan *M. anipsolie* (Sutarman *et al.*, 2022). Dengan didukung oleh hasil uji t yang membuktikan pada aplikasi *M. anipsoliae* rerata skor penampilan tanaman yang lebih tinggi, maka diduga fungi entomopatogen ini menghambat ulat daun yang berlindung di dalam tanah sekaligus memberi perlindungan bagi kesehatan tanaman sayuran kailan dan kale.

Kesimpulan

Hasil identifikasi secara morfologi terhadap isolat yang terpilih dari hasil isolasi terhadap fungi yang diperoleh dari tanah lahan pertanian hortikultur diketahui sebagai *Metarrhizium anipsoliae* dengan kode koleksi Ma-05. Persentase penghambatan mulai dari 24 hingga 96 jam setelah inokulasi berturut-turut adalah (-) $24,1 \pm 6,7$, (-) $15,8 \pm 4,7$, (-) $11,6 \pm 4,8$, dan (-) $2,4 \pm 1,9\%$. Penumbuhan bersama secara in vitro ini telah mendorong peningkatan pertumbuhan *M. anipsoliae*. Aplikasi fungi entomopatogen melindungi pertumbuhan tanaman kale dan kailan pada lahan yang secara indigenus sebagai habitat *Trichoderma* sp. Tc-06 dan secara endemik mendapat gangguan ulat grayak.

Daftar Pustaka

Prabaningrum, L., Uhan, T. S., Nurwahidah, U., Karmin, K., Pangan, B.P.T., Hendra, A., & Pangan, B.P.T. (2016). Resistensi *Plutella xylostella* terhadap insektisida yang umum digunakan oleh petani kubis di Sulawesi Selatan. J. Hort. 23(2):164-173

- Yuantari, M.G.C., Widianarko. B., & Sunoko, H.R. (2015). Analisis risiko paparan pestisida terhadap kesehatan petani. *Kemas*.10(2) :239-245
- Tobing, S.S.L., Marheni, & Hasanuddin. (2015). Uji efektivitas *Metarhizium anisopliae* Metch. dan *Beauveria bassiana* Bals. terhadap ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) pada tanaman kedelai (*Glycine max* L.) di rumah kaca. *Agroekoteknologi*. 1 (4) : 1659-1665
- Chintkuntlawar, P.S., Pramanik, A., Solanki, R. & Rathod, A. (2015). *Metarhizium anisopliae*: New trend entomopathogenic fungus for management of sucking pests in vegetable crops. *Popular Kheti*. 1 (3): 98-101
- Cai, N., Liu, R., Yan, D., Zhang, N., Zhu, K., Zhang, D., Nong, X., Tu, X., Zhang, Z., & Wang, G.J. (2022). Bioinformatics analysis and functional characterization of the CFEM proteins of *Metarhizium anisopliae*. *Fungi (Basel)*. 8(7):661. doi: 10.3390/jof8070661
- Cai, N., Nong X., Liu, R., McNeill, M.R., Wang, G., Zhang, Z., & Tu, X. (2023). The Conserved cysteine-rich secretory protein MaCFEM85 interacts with MsWAK16 to activate plant defenses. *Int J Mol Sci*. 24(4):4037. doi: 10.3390/ijms24044037
- Rasool, R., Kang, B.K., & Mandal, K. (2021). Validation of QuEChERS method coupled with LC-MS/MS for determination of thiamethoxam and its metabolites in wheat and soil. *J AOAC Int*. 104(5):1282-1288. doi: 10.1093/jaoacint/qsab053
- Saravanakumar, K., Yu, C, Dou, K., Wang, M., Li, Y., & Chen, J. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum. *Biol. Control*. 94: 37–46
- Thambugala, K.M., Daranagama, D.A., Phillips, A.J.L., Kannangara, S.D., & Promputtha, I. (2020). Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Front Cell Infect Microbiol*. 10:604923. doi: 10.3389/fcimb.2020.604923. eCollection 2020
- Gams, W., & Bissett, J. (2002). Morphology and identification of *Trichoderma*. In: Kubicek CP & Harman GE (Eds.). *Trichoderma and Gliocladium*, Volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics. pp. 3–34. Taylor & Francis Ltd. London
- Sutarman, Miftahurrohmat, A., Nurmalasari, I.R., & Prihatinigrum, A.E. (2021). In vitro evaluation of the inhibitory power of *Trichoderma harzianum* against pathogens that cause anthracnose in Chili. *Journal of Physics: Conference Series* 1764(2021)012026. doi:10.1088/1742-6596/1764/1/012026
- Wachid, A., &Sutarman. (2019) Inhibitory power test of two *Trichoderma* isolates in in vitro way againsts *Fusarium oxysporum* the cause of red chili stem rot. *J. Phys.: Conf. Ser.* 1232 012020 <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1232/1/012020>
- Lapinangga, N.J., & da Lopez, Y.F. (2016). Efektivitas cendawan entomopatogen isolat lokal terhadap hama kumbang ubi jalar *Cylas formicarius* Fabricus. *Partner*, 21(2): 317-327
- Risdiyanti, R.L., Widayati, W., & Suryaminarsih, P. (2022). Exploration and identification of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in corn plants in Sebandung Village, Sukorejo, Pasuruan. Seminar Nasional Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur 2021. NST Proceedings. pages 8-13. doi: 10.11594/nstp.2022.2002
- Sopialena, Sahid, A., & Hutajulu, J. (2022). Efektivitas jamur *Metarhizium anisoplae* dan *Beauveria bassiana* Bals lokal dan komersial terhadap hama kutu daun (*Aphis craccivora* C.L. Koch) pada tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.). *Jurnal Agrifor* 21(1): 1412-6885
- Sutarman, Jalaluddin, A.K., Li’aini, A.S., & Prihatinigrum, A.E. (2021). Characterizations of *Trichoderma* sp. and its effect on *Ralstonia solanacearum* of tobacco seedlings. *J. HPT Tropika*. 21(1): 8-19. <https://doi.org/10.23960/jhptt.1218-19>
- [NCBI] National Center for Biotechnology Infomation. 2022. Basic logical alignment search tool. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>. Diakes 19 April 2022
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547-1549
- Asghar, W., & Kataoka, R. (2021). Effect of co-application of *Trichoderma* spp. with organic composts on plant growth enhancement, soil enzymes and fungal community in soil. *Arch Microbiol*. 203(7):4281-4291. doi: 10.1007/s00203-021-02413-4
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M.S., Ramakrishnan, M., Landi, M., & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: the “secrets” of a multitaled biocontrol agent. *Plants*. 9(6): 1-25 762. doi:10.3390/plants9060762
- Oyeleye, A.A. & Norm, Y.M. (2018). Chitinase: diversity, limitations, and trends in engineering for suitable applications. *Bioscience reports* 38(4), BSR2018032300
- Miftahurrohmat, A., &Sutarman. (2020). Utilization of *Trichoderma* sp. and *Pseudomonas fluorescens* as biofertilizer in shade-resistant soybean. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 821: 12002
- Shang, J., Liu, B., & Xu, Z. (2020). Efficacy of *Trichoderma asperellum* TC01 against anthracnose and growth promotion of *Camellia sinensis* seedlings. *Biol. Control*.

- pp. 143, 104205.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964419307066>
- Silvia, M., & Sutarman 2021. Application of *Trichoderma* as an alternative to the use of sulfuric acid pesticides in the control of *Diplodia disease* on pomelo citrus. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 819 012007. doi: 10.1088/1755-1315/819/1/012007
- Buysens, C., César, V., Ferrais F., De Boulois, H.D., & Declerck, S. (2016). Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. *Appl. Soil Ecol.* 105: 137–143
- Singh, A., Shukla, N., Kabadwal, B.C., Tewari, A.K., & Kumar, J. (2018). Review on plant-*Trichoderma*-pathogen interaction. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(02): 2382–2397
- Li, M., Song, Z., Li, Z., Qiao, R., Zhang, P., Ding, C., Xie, J., Chen, Y., & Guo, H. (2022). Populus root exudates are associated with rhizosphere microbial communities and symbiotic patterns. *Front Microbiol.* (2022) 13:1042944. doi: 10.3389/fmicb.2022.1042944
- Youssef, F.S., Ashour, M.L., Singab, A.N.B., & Wink, M. (2019). [A Comprehensive review of bioactive peptides from marine fungi and their biological significance.](#) *Mar Drugs.* 29;17(10):559. doi: 10.3390/md17100559
- Sutarman, Prihatiningrum, A.E., & Miftahuurohmat, A. (2022). Fungistatic effect of *Ipomea carnea* extract and *Trichoderma esperellum* against various fungal biological agents. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 1012 012046. doi:10.1088/1755-1315/1012/1/012046**