

Uji Toksisitas Jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap Hama Ulat Krop Kubis *Crociodolomia binotalis* Zell.

Siska Agustina Pertiwi¹ dan Nanang Tri Haryadi²

¹Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, 68121

E-mail: siska.agustinap97@gmail.com

² Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, 68121

E-mail: haryadi.nt@unej.ac.id

Abstract— Cabbage head caterpillar *Crociodolomia binotalis* Zell. caused up to 79.81% damage to cabbage plants. *Metarhizium anisopliae* is an entomopathogenic fungus that is often used for pest control in the field because it is toxic to various phases of insect life. This study aimed to determine the toxicity ability of the fungus *Metarhizium anisopliae* in controlling the population of the cabbage head caterpillar *Crociodolomia binotalis* Zell. in the laboratory. The research was conducted at the Laboratory of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember. The study used a Completely Randomized Design with 5 treatments and 4 replications in order to obtain 20 experimental units. The treatments used in this study were as follows: A = Control (aquadest); B = density 10^4 conidia/ml; C = density 10^5 conidia/ml; D = 10^6 conidia/ml; and E = 10^7 conidia/ml. The results showed that in the laboratory test the density of the fungus *Metarhizium anisopliae* 10^7 conidia/ml caused the highest mortality of 92.50%, while the lowest mortality percentage was 22.50% in the treatment of 10^4 conidia/ml on 7 days of observation. The results of the LT_{50} calculation showed that the most effective density was 10^6 conidia/ml with an LT_{50} value on the 4th day. The most effective density of *Metarhizium anisopliae*, 10^6 conidia/ml, was recommended for use in population control of the cabbage head caterpillar *Crociodolomia binotalis* Zell. because it is capable of causing the death of 50% of the population of *Crociodolomia binotalis* Zell. with the fastest time of about 4 days.

Keywords— *Crociodolomia binotalis* Zell.; cabbage; *Metarhizium anisopliae*; mortality.

I. PENDAHULUAN

Salah satu hama penting tanaman famili *Brassicaceae* adalah *Crociodolomia binotalis* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) karena bersifat fitofag dan dapat menyebabkan kerusakan hingga 79,81% pada tanaman kubis. Kerusakan terjadi pada bagian daun dan krop kubis berupa lubang-lubang hingga menembus ke lapisan krop bagian dalam serta berdampak pada penurunan kualitas sehingga hama ini disebut ulat krop kubis (Sastrosiswojo dkk, 2005; Kristanto dkk, 2013). Menurut Rahmawati (2012) *Crociodolomia binotalis* Zell. juga mempunyai nama lain yaitu ulat jantung kubis karena menyerang pada titik tumbuh tanaman hingga menyebabkan kerusakan, gagal panen dan kematian tanaman.

Jamur genus *Metarhizium* paling umum digunakan dalam proses pengendalian hama pertanian di lapang (Permadi dkk, 2019). Nuraida dan Hasyim (2009) telah menemukan beberapa jenis genus jamur di area pertanaman kubis dengan metode isolasi salah satunya *Metarhizium*. Jamur yang ditemukan pada vegetasi tertentu lebih potensial untuk mengendalikan hama diatas vegetasi tersebut dibandingkan dengan jamur yang diisolasi dari lahan lain.

Yunizar dkk (2018) menyebutkan jamur *M. anisopliae* dilaporkan sebagai jamur entomopatogen potensial sebagai APH karena disebut toksik pada berbagai tingkat perkembangan serangga mulai dari telur, larva, pupa dan imago. Ahmad (2004) menyatakan bahwa jamur *M. anisopliae* memiliki peran yang cukup luas sebagai agen pengendali hayati, utamanya jenis arthropoda. Sifat *M. anisopliae* juga dilaporkan tidak membahayakan kesehatan manusia sehingga aman digunakan oleh petani sebagai alternatif pengganti pestisida sintetik di lapang.

Jamur ini melemahkan inangnya dengan metode infeksi. Proses infeksi diawali dengan penetrasi melalui kutikula serangga, bisa secara mekanis atau memanfaatkan kerja toksin (Hasyim dkk, 2016). Mekanisme infeksi jamur *M. anisopliae* dalam disebutkan oleh Permadi dkk (2019) bisa melalui kontak langsung dengan kutikula atau termakan serangga. Halawa *et al.*, (2019) menambahkan bahwa konidia yang berhasil melakukan penetrasi akan berkecambah dan menginvasi tubuh serangga. Gustiana dkk (2019) menyebutkan bahwa infeksi jamur *M. anisopliae* akan menyebabkan gejala dehidrasi pada tubuh serangga terinfeksi.

Jamur *M. anisopliae* menghasilkan enzim lipase untuk membantu proses degradasi epikutikula serangga, pembentukan lipase membutuhkan nutrisi berupa karbon dan nitrogen dari media tumbuh jamur ini. Enzim protease juga dihasilkan untuk memecah protein pada lapisan prokutikula, dan enzim kitin bertanggung jawab terhadap berbagai fungsi fisiologis (Mondal *et al.*, 2016). Enzim-enzim ini dihasilkan setelah konidia berhasil berkecambah untuk membantu proses penetrasi ke dalam tubuh serangga (San Aw & Hue, 2017). Menurut Tiago, *et al.* (2014) hifa akan membentuk koloni di haemocoel setelah berhasil melakukan

penetrasi. Selanjutnya terbentuk blastospora. Terbentuknya blastospora ini kemudian akan beredar ke dalam hemolimfa dan membentuk hifa sekunder untuk menyerang berbagai organ dalam dan jaringan serangga inang. Hifa kemudian muncul dari tubuh serangga dan memproduksi konidia infeksi untuk disebarluaskan serta digunakan untuk menyerang serangga lain.

Aktivitas pengendalian oleh *M. anisopliae* dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi kerapatan yang diaplikasikan. Konsentrasi *M. anisopliae* terbaik pada kerapatan 10^7 dan 10^8 konidia/ml dapat mengendalikan larva *C. pavonana* mencapai 100% selama 7 hari pengamatan (Nuraida dkk, 2022). Berdasarkan uraian diatas, tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui kemampuan toksisitas jamur *Metarhizium anisopliae* dalam mengendalikan populasi hama ulat krop kubis *Crociodolomia binotalis* Zell. di laboratorium.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian uji toksisitas jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap hama ulat krop kubis *Crociodolomia binotalis* Zell. dilaksanakan pada bulan September sampai November 2021 di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kotak perbanyakan ulat, kotak perlakuan, *hand sprayer*, gelas ukur, plastik perbanyakan jamur, timbangan, mikroskop, spatula, *vortex*, *cutter*, dan alat tulis. Adapun bahan yang digunakan seperti isolat jamur *Metarhizium anisopliae* dari koleksi LPHPTPH Tanggul Jember, beras jagung, akuades, alkohol, larva *Crociodolomia binotalis* Zell. instar III, daun kubis, dan kertas label.

B. Rancangan Percobaan

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan perlakuan yang digunakan sebagai berikut: A = Kontrol, akuades; B = kerapatan 10^4 konidia/ml; C = kerapatan 10^5 konidia/ml; D = kerapatan 10^6 konidia/ml; dan E = kerapatan 10^7 konidia/ml. masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga diperoleh 20 unit perlakuan. Setiap unit percobaan berisi 10 ekor larva *C. binotalis* Zell.

C. Prosedur Penelitian

Persiapan Larva Uji. Larva *C. binotalis* Zell. dikoleksi dari areal pertanaman sawi di Kecamatan Sukorambi dan areal pertanaman kubis di Kecamatan Ambulu, Jember. Metode yang dilakukan untuk mengumpulkan larva dengan *hand collection* yaitu menangkap larva menggunakan tangan secara langsung dan dimasukkan ke dalam kotak plastik yang telah diberi lubang respirasi. Pengadaan larva juga diperoleh dari tempat *rearing* PT. Petrokimia Kayaku Gresik dan Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi) Malang.

Persiapan Kotak Perlakuan. Kotak perlakuan berukuran 450 ml yang bagian permukaan atasnya dilubangi dan ditutup menggunakan kain kasa yang dilekatkan menggunakan lem tembak. Lubang dibuat untuk menjaga sirkulasi udara didalam kotak perlakuan tetap baik dan nyaman bagi larva uji.

Penyediaan Jamur *M. anisopliae*. Persiapan suspensi jamur *M. anisopliae* dilakukan dengan perbanyakan isolat pada media beras jagung, diinkubasi selama 14 hari, setelah 14 hari kemudian diambil 10 gram untuk dilarutkan dengan akuades hingga 100 ml kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* dan diencerkan secara bertingkat untuk mendapatkan kerapatan yang diinginkan. Langkah yang dilakukan untuk menghitung kerapatan yaitu meneteskan 1 ml suspensi cair jamur *M. anisopliae* diatas permukaan hemositometer kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400X untuk dihitung konidia yang tertangkap oleh optik. Selanjutnya dihitung kerapatan konidia menggunakan rumus Gabriel & Riyatno (1989) sebagai berikut:

$$C = \frac{t}{n \times 0,25} \times 100\%$$

- C : Kerapatan konidia per ml larutan (konidia/ml)
 t : Jumlah total konidia dalam kotak sampel yang diamati
 n : Jumlah kotak sampel (5 kotak besar $\times$ 16 kotak kecil)
 0,25 : faktor koreksi pada *haemocytometer*

Uji Pendahuluan. Untuk mencari rentang konsentrasi kerapatan jamur *M. anisopliae* yang dapat menyebabkan mortalitas sebesar 5-95% selama pemaparan dalam waktu tertentu. Selang konsentrasi ini diperoleh dari penghitungan nilai LC pada aplikasi SPSS 26.0 dengan melihat LC_5 , LC_{50} dan LC_{95} sebagai pertimbangan penentuan dosis perlakuan pada uji toksisitas utama. Hasil uji pendahuluan kemudian dipilih 4 taraf perlakuan yang digunakan dalam penelitian uji toksisitas *M. anisopliae* terhadap larva *C. binotalis* Zell. Yaitu $10^4 - 10^7$ konidia/ml.

Metode Pengujian. Teknik penyemprotan dipilih dalam metode pengujian jamur *M. anisopliae* terhadap larva *C. binotalis* Zell. karena membantu konidia jamur dapat melakukan kontak langsung pada kutikula larva uji. Penyemprotan dilakukan 1x selama pengamatan. Waktu yang digunakan dalam pengamatan selama 7 hari.

Variabel Pengamatan. Pengamatan berupa mortalitas larva yang disebabkan oleh kontak langsung antara tubuh larva *C. binotalis* Zell. Dan konidia jamur *M. anisopliae* melalui cara pengaplikasian berupa penyempotan atau kontak langsung. Data mortalitas kemudian dihitung menggunakan rumus persentase mortalitas Rusdy (2009) berikut:

$$M = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

M = Persentase mortalitas larva

A = Jumlah larva yang mati

B = Total populasi larva uji

Data mortalitas juga dihitung untuk mengetahui nilai LC_{50} dan LT_{50} guna menentukan dosis efektif yang mampu menyebabkan kematian 50% hama dari total populasi uji dan waktu paling efisien pada masing-masing kerapatan yang diaplikasikan.

Analisis Data. Teknik analisis data dilakukan dengan analisis ANOVA pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan DMRT bila menunjukkan ada beda nyata. Nilai LC_{50} dan LT_{50} dianalisis menggunakan analisis probit pada aplikasi SPSS 26.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Mortalitas *C. binotalis* Zell.

Hasil ANOVA terhadap mortalitas larva *C. binotalis* Zell. memberikan pengaruh berbeda nyata yaitu dibuktikan dengan persentase mortalitas larva selama pengamatan 7 hari (Tabel 1). Persentase kematian pada masing-masing perlakuan berbeda dan semakin hari semakin tinggi. Mortalitas tertinggi pada hari ke-7 oleh perlakuan 10^7 konidia/ml sebesar 92,50% dan terendah oleh perlakuan 10^4 konidia/ml sebesar 22,50%. Perlakuan kontrol menyebabkan persentase mortalitas sebesar 0,00 %. Perbedaan ini sesuai dengan pernyataan Hastuti dkk (2017) semakin tinggi kerapatan jamur yang diaplikasikan maka semakin banyak konidia yang menempel pada integumen serangga sehingga semakin tinggi keefektifan jamur *M. anisopliae* dalam menginfeksi tubuh serangga uji. Dalam menentukan kerapatan jamur yang paling baik dalam pengaplikasian Prayogo dkk (2005) menyebut bahwa kerapatan konidia optimal yang dibutuhkan untuk mengendalikan setiap serangga hama berbeda, bergantung pada jenis serangga sasaran yang akan dikendalikan. Nuraida dkk (2022) menggunakan kerapatan 10^7 - 10^8 konidia/ml untuk mengendalikan larva *C. pavonana* dengan persentase mortalitas mencapai 100% dalam 7 hari. Hal ini kemudian menjadi salah satu dasar pertimbangan dalam penentuan perlakuan yang digunakan.

Tabel 1. Persentase mortalitas larva *C. binotalis* Zell.

Perlakuan	hsa						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol	0,00	0,00d	0,00c	0,00c	0,00d	0,00e	0,00e
10^4 konidia/ml	0,00	5,00cd	7,50c	10,00c	15,00c	17,50d	22,50d
10^5 konidia/ml	0,00	10,00bc	22,50b	27,50b	32,50b	37,50c	40,00c
10^6 konidia/ml	2,50	17,50ab	37,50a	52,50a	55,00a	60,00b	60,00b
10^7 konidia/ml	2,50	22,50a	40,00a	45,00a	57,50a	80,00a	92,50a
Sig.	0,573	0,001	0,000	0,036	0,026	0,001	0,003

Keterangan: Angka yang diikuti notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMRT. Baris sig. berisi nilai p. value apabila $< 0,05$ berbeda nyata.

Waktu kematian larva uji yang disebabkan oleh masing-masing perlakuan memiliki perbedaan. Perbedaan waktu kematian serangga disebabkan kemampuan jamur yang berbeda-beda dalam menginfeksi serangga. Athifa dkk (2018) menyebut terdapat beberapa enzim dan senyawa toksin yang dihasilkan *M. anisopliae*. San Aw & Hue (2017) menjelaskan enzim-enzim yang dihasilkan *M. anisopliae* secara spesifik untuk mendukung proses infeksi berupa lipase, kitinase dan protoase yang bekerja mendegradasi kutikula untuk mendukung keberhasilan proses penetrasi dan pemanfaatan nutrisi pada hemocoel. Senyawa toksin juga dihasilkan, terutama destruksin A dan E yang bersifat insektisida.

B. Nilai LC_{50} dan LT_{50}

Analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} menggunakan data mortalitas. Nilai LC_{50} yang diperoleh dari hasil perhitungan analisis probit SPSS 26.0 secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai LC_{50} uji toksisitas jamur *M. anisopliae*

Waktu (hsa)	Nilai LC_{50}
7	10^6 konidia/ml

Lama waktu pemaparan jamur *M. anisopliae* mempengaruhi nilai LC_{50} karena semakin lama pemaparan jamur *M. anisopliae* maka nilai LC_{50} semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu pemaparan jamur *M. anisopliae*,

konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan 50% populasi larva *C. binotalis* Zell. semakin kecil. Yuningsih & Widyaningrum (2014) menyatakan bahwa konsentrasi inokulum *M. anisopliae* mempengaruhi waktu infeksi serangga *O. rhinoceros*. Selain konsentrasi inokulum, viabilitas konidia juga mempengaruhi lama infeksi. Viabilitas konidia merupakan awal stadia pertumbuhan jamur sebelum melakukan penetrasi ke integumen serangga.

Tabel 3. Nilai LT_{50} uji toksisitas pada berbagai perlakuan	
Kerapatan Jamur <i>M. anisopliae</i>	Lethal Time (Hari)
10^4 konidia/ml	17,4
10^5 konidia/ml	8,1
10^6 konidia/ml	4,6
10^7 konidia/ml	3,7

Berdasarkan data Badan Standarisasi Nasional (2014) untuk nilai LT_{50} terhadap patogenesitas jamur *M. anisopliae* sebesar ≤ 4 hari dengan nilai LC_{50} sebesar $\geq 10^6$ konidia/ml. Hal ini mendukung hasil dari penelitian ini yaitu nilai LC_{50} sebesar 10^6 konidia/ml mampu menyebabkan kematian larva uji sebesar 52,50% dari total populasi pada hari ke-4 pengamatan (Tabel 1). Dari hasil perhitungan nilai LC dan LT serta perbandingan terhadap data BSN maka kerapatan jamur *M. anisopliae* 10^6 konidia/ml memiliki tingkat patogenesitas yang tinggi terhadap larva *C. binotalis* Zell. sehingga efektif untuk direkomendasikan pada pengaplikasian di lapang.

Selama pengamatan setelah pengaplikasian jamur *M. anisopliae*, ditemukan larva *C. binotalis* Zell. yang sakit dan bergerak lambat. Menurut Olombrada *et al.* (2017) jamur *M. anisopliae* menghasilkan ribotoksin yang memiliki efek jera makan bagi serangga sehingga serangga yang terinfeksi akan mengurangi aktivitas makannya. Ribotoksin juga menyebabkan sitotoksitas dengan memecah protein pada tubuh inang dan dimanfaatkan dalam proses metabolisme jamur. Sayuthi *et al.* (2017) menjelaskan bahwa *M. anisopliae* efektif dalam mengendalikan hama *N. viridula* dengan gejala infeksi berupa gerakan lambat, lemah, tidak makan, dan menempel pada daun atau kotak perlakuan. Selanjutnya, tubuh keras atau kaku.



Gambar 1. Morfologi *C. binotalis* Zell. (a) Tubuh larva tanpa perlakuan, (b) Warna kutikula menjadi gelap akibat terinfeksi jamur *M. anisopliae*, (c) Mumifikasi, (d) Mikosis

Tanda ulat krop kubis telah terpapar jamur *M. anisopliae* yaitu akan mengalami perubahan tekstur kulit yang awalnya kenyal segar menjadi mengkerut, kemudian mengalami perubahan warna (melanisasi) dari hijau segar menjadi pucat hingga coklat kehitaman (Gambar 1b). Berdasarkan penelitian Tobing dkk (2015) tubuh *S. litura* yang terinfeksi jamur *M. anisopliae* menimbulkan gejala integumen mengkerut sehingga tubuh menjadi lebih kecil dan mengeras. Butt *et al.* (2001) menyebut bentuk yang menjadi karakter dari reaksi infeksi *M. anisopliae* adalah tubuh larva mengeras, kaku, dan berubah warna menjadi coklat gelap.

Pengamatan hari ke-4 ditemukan tubuh larva yang mulai ditumbuhi hifa berwarna putih pada bagian tepi tubuhnya. Pada pengamatan hari ke-7 mulai tumbuh miselium menutupi tubuh larva uji yang awalnya berwarna putih kemudian berubah menjadi hijau tua dengan konidia diujungnya (Gambar 1d). Larva uji yang ditumbuhi miselium hanya 1 dan ditemukan pada perlakuan 10^7 konidia/ml. Menurut Nisfuriah & Nunilawati (2020) menyebut ada 3 gejala serangga yang terinfeksi jamur entomopatogen yaitu ditumbuhi miselia putih, ditumbuhi miselia kuning kehijauan dan tidak ditumbuhi miselia. Huang *et al.* (2021) permukaan tubuh serangga ditumbuhi hifa putih yang ujungnya terdapat konidia berwarna hijau tua mulai 3-5 hsa menjadi tanda penting terjadinya proses infeksi.

Setelah kematian serangga, tubuh akan ditumbuhi miselium. Ekstrusi miselium pada tubuh serangga yang mati mulai terjadi antara 96 dan 120 jam setelah inokulasi, terutama di daerah intersegmental dan daerah lain yang kutikularnya telah terdegradasi sempurna. Proses konidiogenesis terjadi antara 96 dan 120 jam setelah inokulasi sehingga muncul konidia berwarna hijau pada tubuh serangga yang mati (Sanjaya *et al.*, 2013). Jamur *M. anisopliae* sebagai jamur entomopatogen akan melanjutkan hidupnya dalam fase saprofit setelah inangnya mati (Khreb, 2014). Daya kecambah konidia menjadi awal dari fase pertumbuhan sebelum melakukan penetrasi ke integumen serangga uji. Faktor pendukung proses infeksi oleh jamur entomopatogen dipengaruhi oleh lingkungan dan proses ganti kulit pada serangga uji (*moulting*) (Prayogo dkk, 2005). Hal ini menjadi dasar pemilihan instar III sebagai objek pengujian karena menurut Prayogo & Tengkan (2002b) larva instar III adalah larva dengan persentase ganti kulit tertinggi dibandingkan dengan instar lainnya selama fase hidupnya. Faktor lain yang mempengaruhi pemilihan instar III sebagai larva uji disebutkan oleh Nuraida dkk (2022) bahwa pada fase ini aktivitas larva sangat membahayakan tanaman karena mulai menyebar dan menyerang titik tumbuh tanaman kubis.

Tubuh larva *C. binotalis* Zell. pada pengamatan hari ke-7 ditemukan tubuh larva yang mengering dan mengeras (Gambar 1c). Hal ini diduga akibat dari aktivitas jamur *M. anisopliae* yang memanfaatkan kandungan didalam tubuh larva untuk mendukung siklus hidupnya. San Aw & Hue (2017) menjelaskan bahwa konidia jamur *M. anisopliae* juga membutuhkan glukosa untuk memproduksi energi untuk membentuk koloni yang dipasok oleh trehalose pada hemolimfa inang. Kebutuhan glukosa ini diperoleh dari inang sebagai media tumbuhnya. Selain kebutuhan glukosa, Mondal *et al.* (2016) menyebut jamur *M. anisopliae* mengekspresikan protein didalam tubuh inang untuk mendukung proses metabolismenya. Enzim protease yang terbentuk bertugas memecah protein terlarut menjadi asam amino untuk menyediakan nutrisi bagi jamur entomopatogen.

IV. KESIMPULAN

Kerapatan jamur *M. anisopliae* paling efektif untuk mengendalikan larva *C. binotalis* Zell. yaitu 10^6 konidia/ml karena memiliki patogenitas yang cukup tinggi dan hasil perhitungan nilai LT_{50} diperoleh waktu yang dibutuhkan untuk mematikan sebesar 50% total populasi larva uji yaitu 4 hari sesuai dengan data Badan Standarisasi Nasional yang direkomendasikan. Hasil penelitian kerapatan 10^6 konidia/ml berhasil mematikan 52,50% dari total populasi larva uji *C. binotalis* Zell. pada hari ke-4 pengamatan. Dari kesimpulan tersebut, diharapkan dilakukan kajian selanjutnya dengan menggunakan larva instar I dan II untuk mengetahui toksisitas jamur *M. anisopliae* terhadap larva *C. binotalis* Zell. pada fase instar berbeda.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R. Z. (2004). *Cendawan Metarhizium anisopliae sebagai pengendali hayati ektoparasit caplak dan tungau pada ternak*. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Athifa, S., Anwar, S., dan Kristanto, B. A. (2018). Pengaruh keragaman jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap mortalitas larva hama *Oryctes rhinoceros* dan *Lepidoptera stigma*. *Agro Complex*, 2(2), 120-127.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2014). SNI 8027. 2: 2014. Agens Pengendali Hayati (APH) – Bagian 2: *Metarhizium anisopliae*. Badan Standarisasi Nasional: Jakarta
- Butt, T.M., C. Jackson, & N. Magan. (2001). *Fungi as biocontrol agents*. CABI Publishing.
- Gabriel, B., & Riyatno, P. (1989). *Metarhizium anisopliae (Meetsch) Sor. taksonomi, patologi, produksi dan aplikasinya*. Proyek Pengembangan Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian, Jakarta.
- Gustiana, D., Hidayat, C. & Setiati, Y. (2019). Pengendalian *Plutella xylostella* dengan *Metarhizium anisopliae* dalam mengurangi intensitas kerusakan dan mempertahankan hasil kubis. *Agroscript*, 1(1), 21-28.
- Halawa, B., Azwana, & Panggabean, E. L. (2019). Sensitivity of larva *Spodoptera litura* against the density of spores of fungi *Metarhizium anisopliae* on the onion plant red (*Allium cepa*) in the laboratory. *Budapest International Research in Exact Sciences (BirEx) Journal*, 1(1), 35-41.
- Hastuti, D., Rusbana, T. B., & Hidayatullah, D. N. (2017). Pengaruh lama penyimpanan jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap mortalitas ulat grayak *Spodoptera litura* F. di laboratorium. *Agroekotek*, 9(1), 17-27.
- Hasyim, A., Setiawati, W., Hudayya, A. & Luthfy. (2016). Sinergisme jamur entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dengan insektisida kimia untuk meningkatkan mortalitas ulat bawang *Spodoptera exigua*. *Hort*, 26(2), 257-266.
- Huang, P., Yao, J., Lin, Y. & Yu, D. (2021). Pathogenic characteristics and infection-related genes of *Metarhizium anisopliae* FM-03 infecting *Planococcus lilacinus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 169, 437-448.
- Khreb W. A. A. (2004). Virulence bio-assay efficiency of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the biological control of *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and the 1st instar larvae. *J. Basic & Appl. Sci.*, 8(3), 313-323.

- Kristanto, S. P., Sutjipto, & Soekarno. (2013). Pengendalian hama pada tanaman kubis dengan sistem tanam tumpangsari. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1), 7-9.
- Mondal, S., Bakshi, S., Koris, A., & Vatai, G. (2016). Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18, 85-99.
- Nisfuriyah, L. & Nunilahwati, H. (2020). Uji pertumbuhan koloni jamur entomopatogen dari pertanaman kacang panjang (*Vigna Sinensis* L.) pada serangga umpan. *Journal of Global Sustainable Agriculture (JGSA)*, 1(1), Edisi 1, 9-13.
- Nuraida & Hasyim, A. (2009). Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi jamur entomopatogen dari rizosfir pertanaman kubis. *J. Hort*, 19(4), 419-432.
- Nuraida, Hutagaol, D., & Hariani, F. (2022). *Monograf Persistensi dan Transmisi Isolat Jamur Entomopatogen Metarhizium anisopliae: Pengendalian Hama Kubis Crocidolomia pavonana Fabricius*. Medan: Guepedia.
- Olombrada, M., Medina, P., Budia, F., Gavilanes, J. G., Martinez del Pozo, A. & Garcia Ortega, L. (2017). Characterization of a new toxin from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*: the ribotoxin anisoplin. *Biol. Chem.*, 398(1), 135-142.
- Permadi, M. A., Lubis, R. A. & Siregar, I. K. (2019). Studi keragaman cendawan entomopatogen dari berbagai rizosfer tanaman hortikultura di kota Padangsidimpuan. *Penelitian dan Pembelajaran MIPA*, 4(1), 1-9.
- Prayogo, Y. & Tengkan, W. (2002b). Pengaruh umur larva *Spodoptera litura* terhadap efektivitas *Metarhizium anisopliae* isolat Kendalpayak. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*, (19)3, 70-76.
- Prayogo, Y., Tengkan, W. & Marwanto. (2005). Prospek cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk mengendalikan ulat grayak *Spodoptera litura* pada tanaman kedelai. *Litbang Pertanian*, 24(1), 19-26.
- Rahmawati, R. (2012). *Cepat & Tepat Berantas Hama & Penyakit Tanaman*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Rusdy, A. (2009). Efektivitas ekstrak nimba dalam pengendalian ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) pada tanaman selada. *Florateg*, 4, 41-54.
- San Aw, K. M., & Hue, S. M. (2017). Mode of infection of *Metarhizium* spp. fungus and their potential as biological control agents. *J. Fungi*, 3(30), 1-20.
- Sanjaya, Y., Ocampo, V.R. & Caoili, B. L. (2013). Infection process of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* in the *Tetranychus kanzawai* (Kishida) (Tetranychidae: Acarina). *Agrivita*, 35(1), 64-73.
- Sastrosiswojo, S., Uhan, T. S. & Sutarya, R. (2005). *Penerapan teknologi pht pada tanaman kubis*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Sayuthi, M., Hasnah, Rusdy, A. & Alwi. (2020). The effectiveness of the fungus *Metarhizium anisopliae* as a biocontrol agent against the *Nezara viridula* pest in the province of Aceh. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 12(2), 27-32.
- Tiago, P. V., Oliveira, N. T. & Lima, E. A. de L. A. (2014). Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. *Ciência Rural*, Santa Maria, 44(4), p. 645-651.
- 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. *Agroteknologi*, 4(1), 1659-1665.
- Yuningsih & Widyaningrum, T. (2014). Uji patogenitas konidia jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap mortalitas larva *Oryctes rhinoceros* sebagai bahan ajar biologi SMA kelas X. *JUPEMASI-PBIO*, 1(1), 53-59.
- Yunizar, N., Rahmawati & Kustiati. (2018). Patogenesitas isolat jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap lalat rumah *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Protobiont*, 7(3), 77-82.