



Hubungan antara *Zea mays* L., *Ostrinia furnacalis* (Lep.: Pyralidae) dan *Beauveria bassiana* Vuill.

ITJI DIANA DAUD

Jurusan HPT, Fakultas Pertanian Universitas Hasanudin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makasar

(diterima Oktober 2004, disetujui April 2005)

ABSTRACT

Connection between *Zea Mays* L., *Ostrinia furnacalis* (Lep.: Pyralidae) and *Beauveria bassiana* Vuill. The entomopatogen fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo), is obtained in the tissue of corn plant through submersion of seed in cinidia 10^{10} /ml. Tissue observation showed that hifa *B. bassiana* appears when the plant attain the age of three weeks and when it reaches six weeks *B. bassiana* appears in all sample plants. Hifa obtained in parenchyma tissue passively without causing illness to the mother plant. The appearance of *B. bassiana* is remained until the 12th weeks of the plant. Bio test of plant which contain the endofit of *B. bassiana* showed the percentage of tested insect mortality is 64%. The observation showed that the corn plant can still produce the toxin of beauverisin.

KEY WORDS: *Beauveria bassiana*, *Ostrinia furnacalis*, *Zea mays*, Endofit, Beauverisin.

PENDAHULUAN

Cendawan *Beauveria bassiana* merupakan cendawan entomopatogen, efektif untuk mengendalikan serangga *Darna catenata* (Daud, 1995), *Helicoverpha armigera* (Daud et al., 1997), *Captotermes* spp. (Tikupadang dan Saranga, 1999) serta *Ostrinia furnacalis* (Soenartiningih, 1996; Daud dan Besse, 1998).

Keefektifan *B. bassiana* dalam mengendalikan *O. furnacalis* di lapang memberikan satu kemungkinan bahwa cendawan ini bersifat endofit, karena niche *O. furnacalis* berbeda dengan hama lainnya seperti yang disebut diatas yaitu hidup dalam batang dengan meng-gerek jaringan batang jagung. Dalam hal ini cendawan berpenetrasi pada akar tanam-

an dan ditranslokasikan secara sistematis ke seluruh jaringan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Bahan Cendawan *Beauveria bassiana* diperoleh dari koleksi Itji Diana Daud yang berasal dari *Ostrinia furnacalis*. Cendawan ini dikulturkan pada medium jagung giling dalam botol dengan diameter 6 cm dan tinggi 11 cm selama 2 minggu. Spora cendawan untuk perlakuan benih diperoleh dengan cara menambahkan akuades pada kultur cendawan dan kemudian disentrifugasi. Suspensi spora diambil dan ditetaskan pada Haemotometer untuk penghitungan.

Bahan Tanaman

Benih jagung varietas semar direndam dalam suspensi spora 10^{10} /ml selama 24 jam. Benih ini ditanam dalam polibag yang diisi 10 kg campuran tanah, pasir dan pupuk kandang yang telah distelirisasi. Setelah tanaman berumur 1 minggu daun, batang dan akar diambil untuk diamati keberadaan *B. bassiana*

Metode Pelaksanaan :

1. Metode deteksi keberadaan *B. bassiana* pada jaringan tanaman (Tabel 1).

2. Uji Bio

Untuk mengetahui pengaruh *B. bassiana* yang berada dalam jaringan tanaman terhadap monokotil larva *O. furnacalis* maka dilakukan uji bio

Uji bio ini dilakukan dengan menggunakan varietas semar sebanyak 5 tanaman diinfertasi dengan larva sebanyak 5 ekor, lalu tanaman di sungkup selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap banyaknya larva yang mati.

Rumus perhitungan mortalitas

$$P = \frac{T-H}{T} \times 100\%$$

T = Jumlah Larva yang diuji

H = Jumlah larva yang hidup

P = Jumlah larva yang mati

3. Pengamatan Toksin dengan kromatograf TLC untuk mengetahui senyawa

yang dihasilkan seperti beauverisin selama *B. bassiana* berada dalam jaringan akar, daun dan batang jagung, ekstraksi jaringan tanaman yang mengandung *B. bassiana*, larutan beauverisin, ekstraksi jaringan tanaman tanpa *B. bassiana* dan ekstraksi miselium *B. bassiana*, dilakukan revelasi pada plat kromatografi dan revelasi tersebut dilakukan dengan perendaman plat kromatografi pada larutan kloroform ditambah etil asetat dalam tabung revelasi.

Hasil revelasi diuji secara biologis dengan menyemprot suspensi *Gliocladium* sp. Inkubasi dilakukan selama 7 hari. Nilai Rf dihitung menggunakan rumus:

$$Rf = \frac{x-x_i}{x}$$

x = jarak yang ditempuh oleh larutan pembawa dari titik start hingga titik akhir.

x_i = Jarak antara titik star dengan f reaksi penghambatan yang terbentuk.

Rf = Revelasi dari berat molekul yang terbentuk

HASIL DAN PEMBAHASAN

B. bassiana yang berada dalam suspensi konidia dengan konsentrasi 10^{10} /ml dapat beradhesi pada permukaan benih jagung, berkecambah dan berpenetrasi pada permukaan serta tumbuh

Tabel 1. Metode deteksi keberadaan *B. bassiana* pada jaringan tanaman.

Metode	Bagian Tanaman	Pustaka
Pewarnaan	Batang dan biji	White <i>et al.</i> , 1993
Fiksasi	Biji	White <i>et al.</i> , 1993
Pewarnaan	Daun dan akar	Keogh <i>et al.</i> , 1980

secara interseluler. Untuk mengetahui perkembangan lebih jauh dan persistensi *B. bassiana* dalam jaringan tanaman, benih jagung yang telah direndam dalam suspensi konidia *B. bassiana* ditanam pada tanah steril dan dibiarkan tumbuh. Keberadaan cendawan *B. bassiana* diamati mulai tanaman berumur 1 minggu dengan mengambil contoh jaringan akar, batang dan daun.

Pada jaringan akar, hifa *B. bassiana* mulai tampak sejak tanaman berumur 3 minggu pada semua perlakuan waktu perendaman biji. Persentase keberadaan dalam jaringan akar ini dari seluruh contoh yang diamati untuk perlakuan perendaman biji selama 24 jam (T1), dan perendaman biji selama 36 jam (T2) masing-masing mencapai 50% sedangkan perlakuan perendaman biji selama 48 jam (T3) mencapai 70%. Pengamatan minggu ke-4, persentase keberadaan *B. bassiana* pada tanaman contoh untuk semua perlakuan mencapai 50%. Pengamatan minggu ke-5 keberadaan *B. bassiana* pada T1 dan T2 sebanyak 70%

sedangkan pada T3 sebanyak 100%. Pengamatan minggu ke-6 jaringan akar pada semua tanaman contoh (100%) telah memperlihatkan keberadaan cendawan tersebut dan hal ini diamati sampai minggu ke-12. Cendawan tersebut tidak ditemukan pada jaringan akar tanaman kontrol (Tabel 2).

Pada jaringan batang, hifa *B. bassiana* mulai nampak sejak tanaman berumur 3 minggu pada semua perlakuan perendaman (T1, T2 dan T3) dengan persentase keberadaan pada tanaman contoh untuk perlakuan T1 mencapai 50% sedangkan perlakuan T2 dan T3 mencapai 70%. Pada pengamatan minggu ke-4 dan ke-5 persentase keberadaan *B. bassiana* pada tanaman contoh untuk semua perlakuan mencapai 75%. Pengamatan minggu ke-6 pada jaringan batang untuk semua tanaman contoh (100%) telah memperlihatkan keberadaan *B. bassiana*. Sebaliknya pengamatan pada kontrol dan minggu 1 sampai minggu ke-12 tidak ditemuka *B. bassiana* pada jaringan batang (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase Tanaman Contoh Yang Mengandung *B. bassiana* Dalam Jaringan Setelah Perlakuan Perendaman Biji.

Lama perendaman bagian tanaman	Keberadaan (%) <i>B. bassiana</i> sampai minggu ke-10 tanaman									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Akar	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T1	0	0	50	50	70	100	100	100	100
	T2	0	0	50	50	70	100	100	100	100
	T3	0	0	70	50	100	100	100	100	100
Batang	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T1	0	0	50	70	70	100	100	100	100
	T2	0	0	70	70	70	100	100	100	100
	T3	0	0	70	70	70	100	100	100	100
Daun	T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T1	0	0	50	70	70	100	100	100	100
	T2	0	0	50	50	70	100	100	100	100
	T3	0	0	50	70	70	100	100	100	100

Keterangan: T0 = biji jagung direndam dalam aquades, T1 = biji jagung direndam dalam suspensi *B. bassiana* 24 jam, T2 = biji jagung direndam dalam suspensi *B. bassiana* 36 jam, T3 = biji jagung direndam dalam suspensi *B. bassiana* 48 jam.

Pada jaringan daun, hifa *B. bassiana* mulai nampak sejak tanaman berumur 3 minggu pada semua perlakuan perendaman (T1, T2 dan T3) dengan persentase keberadaan pada tanaman contoh sebanyak 50%. Pada pengamatan minggu ke-4 persentase keberadaan *B. bassiana* pada T1, T3 mencapai 70% sedangkan T2 sebanyak 50%. Pada pengamatan minggu ke-5 persentase keberadaan *B. bassiana* pada tanaman contoh untuk ketiga perlakuan mencapai 70%. Pengamatan minggu ke-6 jaringan daun pada semua tanaman contoh 100% telah memperlihatkan keberadaan *B. bassiana*. Sedangkan pada tanaman kontrol yang diamati dari minggu ke-1 sampai minggu ke-12, cendawan tersebut tidak ditemukan (Tabel 2).

Dengan demikian hasil percobaan menunjukkan bahwa keberadaan cendawan *B. bassiana* dalam jaringan akar, batang dan daun tidak berbeda diantara ketiga perlakuan lama perendaman biji. Cendawan mulai nampak dalam jaringan tanaman pada minggu ke-3. Keberadaan cendawan tersebut cenderung meningkat pada minggu-minggu berikutnya dan mencapai puncaknya (100%) pada ming-

gu ke-6 pada semua jaringan tanaman. Diamatinya cendawan pada seluruh contoh tanaman sampai pengamatan minggu ke-12, berarti bahwa *B. bassiana* relatif persisten dalam jaringan tanaman.

Penampakan hifa dan miselium pada jaringan contoh akar dan batang setelah pewarnaan menunjukkan bahwa *B. bassiana* berada pada ruang antara sel pada jaringan parenkima (Gambar 1, 2, dan 3).

Penampakan cendawan pada jaringan daun setelah pewarnaan menunjukkan bahwa *B. bassiana* berada pada daerah mesofil daun dan daerah stomata (Gambar 1).

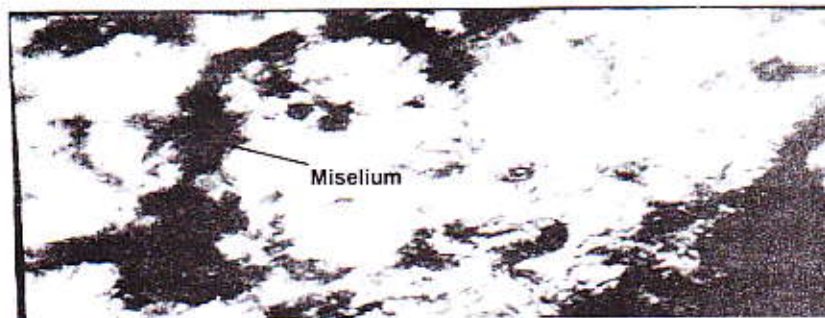
Penampakan hifa dan miselium pada jaringan contoh akar dan batang setelah pewarnaan menunjukkan bahwa *B. bassiana* berada pada ruang antara sel pada jaringan parenkima (Gambar 2 dan 3). Pada jaringan batang yang dipotong secara melintang, menunjukkan hifa *B. bassiana* berada dalam ruang diantara sel-sel dalam jaringan parenkima (Gambar 4). Pemotongan batang secara membujur, menunjukkan pula bahwa hifa berada dalam jaringan parenkima (Gambar 2).



Gambar 1. Hifa *Beauveria bassiana* pada jaringan daun (400 x).



Gambar 2. Hifa *B. bassiana* tumbuh memanjang dalam jaringan parenkima batang (400 x).



Gambar 3. Miselium *B. bassiana* pada jaringan akar (400 x).

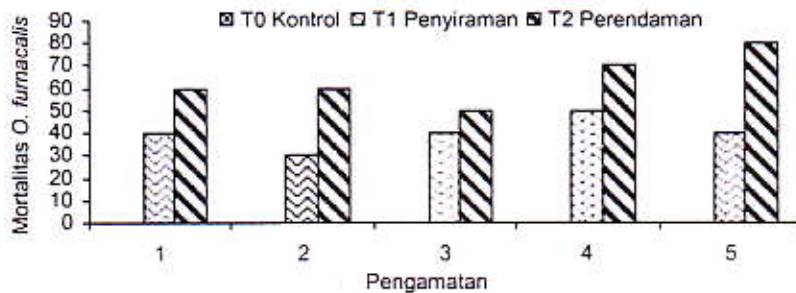


Gambar 4. Hifa dan Miselium pada parenkima dan berkas vaskuler pada jaringan batang secara melintang (400 x).

Mortalitas *Ostrinia furnacalis*

Hasil pengamatan terhadap larva instar III *O. furnacalis* yang memakan batang yang berasal dari tanaman kontrol (T0), tanaman yang disiram suspensi konidia *B. bassiana* (T1), tanaman yang berasal dari biji yang direndam ke dalam suspensi *B. bassiana* (T2), menunjukkan bahwa mortalitas larva *O. furnacalis* secara berturut-turut sebesar 0%, 40% dan

64% (Gambar 5). Pengujian statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan sangat nyata antara persentase mortalitas yang terjadi pada ke-3 perlakuan. Terdapat indikasi bahwa toksisitas batang pada tanaman yang benihnya direndam ke dalam suspensi konidia *B. bassiana* (T2), lebih tinggi dari pada toksisitas batang pada tanaman yang disiram suspensi konidia *B. bassiana* (T1) sehingga



Gambar 5. Persentase mortalitas *O. furnacalis* pada uji bio dengan tanaman jagung.

kematian larva *O. furnacalis*, lebih banyak pada T2 dibandingkan pada T1 meskipun semua batang yang dimakan mengandung cendawan *B. bassiana*.

Kematian larva uji terjadi pada tanaman yang mengandung *B. bassiana* karena larva yang menggerek batang telah terkontaminasi oleh cendawan yang ada dalam jaringan batang, baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung adalah dengan terkontaminasi oleh cendawan yang berada dalam jaringan tanaman sehingga cendawan tersebut bisa masuk dalam tubuh serangga sedangkan secara tidak langsung disebabkan oleh toksin yang dihasilkan oleh *B. bassiana* itu sendiri sebagaimana dibuktikan dengan uji kromatografi. Makin tinggi populasi *B. bassiana* dalam jaringan tanaman, makin tinggi pula konsentrasi toksin sehingga tingkat kematian larva *O. furnacalis* tinggi pula, seperti diperlihatkan pada perlakuan

Pengamatan Toksin dan Metabolisme Sekunder yang terbentuk pada Tanaman yang Mengandung *Beauveria bassiana*

Hasil kromatografi dengan menggunakan senyawa standar Beauverisin

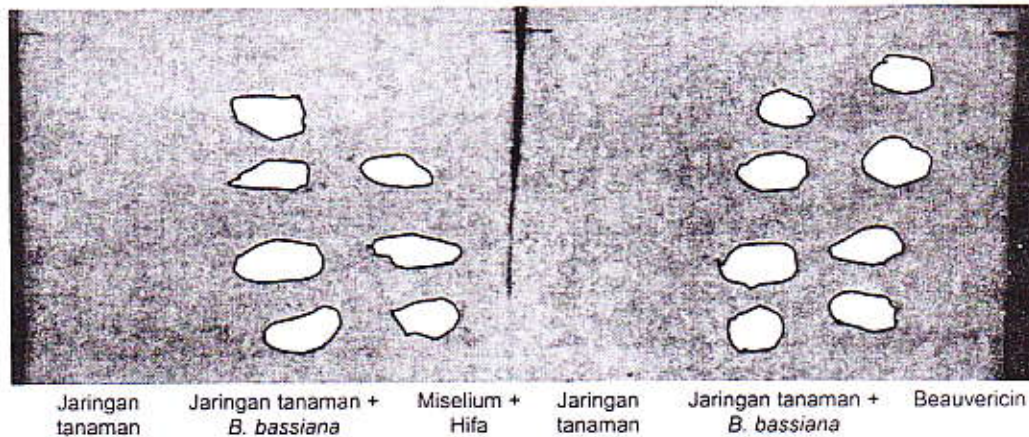
menunjukkan adanya 4 fraksi dengan nilai Rf (revelasi) yang cenderung sama. Keempat fraksi tersebut dideteksi berdasarkan hasil bioautografi menggunakan spora *Gliocladium* sp., dimana spot yang muncul tidak ditumbuhi oleh *Gliocladium* sp. Pada pemisahan hasil ekstrak batang jagung yang diinfeksi dengan *B. bassiana*, dan isolat murni *Beauveria bassiana* diperoleh 4 fraksi yang nilai Rf nya mendekati nilai Rf dari senyawa standar. Rf 1 dari ekstrak batang yang mengandung *Beauveria bassiana*, filtrat *Beauveria bassiana* adalah 0,78 dan 0,76 cenderung sama dengan Rf dari Beauverisin yaitu 0,73 (Tabel 3 dan Gambar 6). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diteteskan pada plat kromatografi mengandung senyawa yang sama karena pergerakan ke atas pada plat cenderung sama jaraknya (nilai revelasi sama).

Senyawa yang terdapat pada ekstrak endofit, ekstrak suspensi dan senyawa beauverisin dapat mendetoksifikasi *Gliocladium* sp., sehingga tidak tumbuh pada bercak yang terbentuk pada plat.

Dari uji ini menunjukkan bahwa *B. bassiana* yang berada dalam jaringan

Tabel 3. Nilai RF ekstrak tanaman dengan endofit *B. bassiana*, tanaman kontrol, dan larutan beauvericin berdasarkan uji TLC.

Perlakuan	RF ₁	RF ₂	RF ₃	RF ₄
Tanaman dengan Endofit beauvericin	0,78	0,71	0,36	0,17
Spora <i>B. bassiana</i>	0,76	0,50	0,35	-
Beauvericin	0,73	0,56	0,30	0,10
Kontrol	-	-	-	-



Gambar 6. Ekstrak endofit, jaringan tanaman, spora *B. bassiana* dan beauvericin dan deteksi TLC serta penghambatan pertumbuhan *Gliocladium* sp.

tanaman menghasilkan toksin, demikian pula pada saat berada dalam media perbanyakan. Toksin yang dihasilkan oleh *B. bassiana* adalah beauvericin. Hal ini lebih menguatkan asumsi bahwa pada saat larva *O. furnacalis* berada di dalam jaringan batang, ada dua kemungkinan terjadi yaitu larva terinfeksi *Beauveria bassiana* atau memakan senyawa toksin. Keempat fraksi tersebut dideteksi berdasarkan hasil bioautografi menggunakan spora *Gliocladium* sp di mana spot yang muncul tidak ditumbuhi oleh *Gliocladium* sp. Fraksi yang terbentuk oleh senyawa beauvericin bersifat menghambat pertumbuhan *Gliocladium* sp., sehingga pada fraksi tersebut tidak ditumbuhi oleh spora. *Gliocladium* sp. berperan sebagai antagonis dengan cendawan lain. Metode ini tidak mendeteksi

keberadaan metabolit sekunder lain selain beauvericin.

KESIMPULAN

1. Endofitisme *B. bassiana* dalam tanaman jagung dapat dibuat dengan cara perendaman biji jagung dalam suspensi konidia. Cendawan *B. bassiana* berada dalam jaringan tanaman dengan struktur morfologi dalam bentuk hifa dan miselium tumbuh secara aktif dan pasif di antara ruang sel pada parenkima.
2. Hifa dan miselium *B. bassiana* dalam jaringan tanaman jagung dapat menghasilkan beauvericin.

DAFTAR PUSTAKA

- Daud, I.D. 1995. The isolate *Beauveria bassiana* Vuill from *Darna catenata* larvae and biological assay. Agriculture biotechnology conference. Jakarta. 13-15 June 1995. 5 p.
- _____, A. Rosmana, N. Dai, dan N. Tangaran. 1997. Uji Biossay Pellet Alginat *B. bassiana* (Balsamo) Vuill (Fungi : *Hypomyces*) terhadap Hama jagung *Helicoverpha armigera*. Prosiding seminar dan lokakarya nasional jagung. Makassar - Maros, 11-12 Nopember 1997. 7 p.
- _____, dan M. Besse. 1998. Pengaruh *Beauveria bassiana* Vuill (Moniliales: Moniliaceae) yang diinjeksikan ke batang jagung terhadap mortalitas larva instar III *Ostrinia furnacalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae). Seminar Ilmiah dan Pertemuan tahunan XI PEI, PFI, HPTI, Maros. 7 p.
- Keogh, R.C., B.J. Deverall, and S. Mcleod. 1980. Comparison of histological and physiological responses to *Phakospora pachyrhizi*. Transactions of the British Mycological Society. 74:329-333.
- Socnartiningih. 1996. Peranan cendawan *B. bassiana* (Balsomo) Vuill dan endomikoriiza (*Glomus fasciculatus*) terhadap hama dan penyakit jagung. Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin Ujung Pandang. (Tesis S₂). 40 p.
- Tikupadang, H. dan A.P. Saranga. 1999. Identifikasi dan tingkat serangan serta pengendalian rayap dengan *Beauveria bassiana* Vuill pada hutan tanaman sengon *Paraserianthes falcutaria* di Gowa Sulawesi Selatan. Fitomedika 1:10-13.
- White, J.F., J.G. Morgan, and A.C. Morrow. 1993. Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium* endophytes. Agric. Ecosystems Environ. 44:13-37.