

PRODUKSI DAN FORMULASI BIOINSEKTISIDA DARI PROPAGUL AKTIF JAMUR *Beauveria bassiana*

Untung Suwahyono dan Priyo Wahyudi
Peneliti di Pusat Teknologi Bioindustri
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Abstract

Beauveria bassiana is a well known entomopathogenic fungus that has been widely used for biocontrol of many economically important pest of crops. Production technology for massive production of bioinsecticide *B. bassiana* still using liquid fermentation. Product formulation is the critical stage for producing bioinsecticide *B. bassiana*, since its success indicator is the contain of viable propagules in the final product after long period of storage. The aim of this study is to assess the optimal production of biomass and formulation of bioinsecticide *B. bassiana*. Result showed that the best production technology of bioinsecticide *B. bassiana* is by liquid fermentation, as an innovative method aimed to reduce the production cost. Assessment of formulation of bioinsecticide *B. bassiana* showed that formulation using simple raw materials to make a pasta without filler is the best choice to be further developed.

Key word: *Beauveria bassiana*, bioinsecticide, production technology, formulation

1. PENDAHULUAN

Isu lingkungan dalam pengelolaan pertanian, memberikan dampak pada upaya yang serius untuk memproduksi biopestisida hayati, sebagai pengganti pestisida kimia sintetik yang saat ini digunakan. Pemanfaatan agensia mikroba pengendali hayati hama serangga, diakui sebagai cara yang tepat dan efektif di berbagai negara dalam mengendalikan hama pertanian yang penting. Kendala utama dalam upaya pemanfaatan mikroba pengendali hayati adalah pada formulasinya. Bentuk dan formula produk untuk kebutuhan tiap negara, akan berbeda-beda sesuai dengan sumber daya dukung yang ada. Apalagi untuk kepentingan komersial, harus diupayakan dengan bahan yang semurah-murahnya, namun layak guna dan layak jual di daerah setempat.

Produksi dan formulasi jamur entomopatogen telah banyak dibicarakan, khususnya jamur *Beauveria bassiana* dan *Metharizium anisopliae*. Namun sampai sekarang masih relatif sedikit informasi yang dapat memberikan kejelasan dalam proses produksi. Di Eropa dan Amerika pertama kali diproduksi bioinsektisida dari bahan aktif *M. anisopliae*, dengan metode fermentasi padat, seperti halnya membuat tempe⁽¹⁾. Bahkan terakhir pada tahun 1990, pada proyek Lobilosa di Afrika masih digunakan cara yang sama. Namun untuk jenis *Beauveria bassiana* tampaknya untuk kualitas yang baik tidak dapat dilakukan dengan cara tersebut, ada kelemahan pada kestabilan konidia atau blastoporanya. Dengan alasan ini banyak orang sekarang

meneliti perbanyak biomasa *B. bassiana* dengan cara kultur cair^(2,3).

Formulasi bentuk produk pun banyak dikembangkan oleh para peneliti berdasarkan latar belakang kepentingannya. Eyal *et al*⁽³⁾. membuat formula dalam bentuk butiran. Morales *et al*⁽⁴⁾. mengembangkan produk formula dalam bentuk granula yang mudah larut di dalam air. Quimby *et al*⁽⁵⁾., membuat bentuk produk yang sama yaitu granula, dengan sedikit kelebihan berupa penambahan bahan untuk stabilisasi dan mengembangkan formula bentuk gel, yang dapat digunakan untuk semua jenis bahan pestisida, baik agen hayati dan kimia. Marshall⁽⁶⁾ mengembangkan pula formulasi produk bioinsektisida dalam bentuk gel.

Merujuk pada hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan di atas, dapat dikembangkan metoda produksi dan formulasi yang lebih tepat untuk kebutuhan di Indonesia, khususnya jika akan dikembangkan di sentra-sentra pertanian dalam bentuk industri kecil dan menengah. Pemilihan bahan baku medium produksi dan formulasi diupayakan menjadi solusi bagi pemanfaatan limbah pertanian.

Tujuan dari kajian yang dipaparkan pada makalah ini adalah, langkah inovasi sistem teknologi produksi bioinsektisida melalui fermentasi substrat cair dan formulasi produk yang sederhana, murah dan layak guna.

2. TATA KERJA

a. Mikroorganisme

Isolat indigenus jamur *B. bassiana* yang digunakan adalah koleksi BPPTCC (*BPPT culture collection*) yang diisolasi dari tanah ladang budidaya bawang merah di Brebes Jawa Tengah.

b. Produksi biomassa dan konidia *B. bassiana*

Jamur *B. bassiana* ditumbuhkan pada 2000 ml volume medium cair di dalam labu Erlenmeyer 5000 ml. Medium cair, dengan komposisi (per 1000 ml): 40 g glukosa, 10 g KNO₃, 5 g KH₂PO₄, 2 g

MgSO₄ dan 2 g ekstrak yeast dan 0,05 g tetracycline-HCl. Laju konsumsi oksigen 70 vvm, pH medium 8,0 dan konsentrasi Tween-80 0,05% 2 ml, inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 6 hari, pada alat penggojok dengan kecepatan 130 strok/menit. Untuk memonitor kemurnian biakan dan kemungkinan terjadinya kontaminasi, dilakukan pengamatan pertumbuhannya tiap tenggang waktu 3 hari berdasarkan pada konidia yang hidup, kontaminan.

c. Pemanenan

pemanenan dilakukan setelah masa inkubasi 6 hari selesai, dengan sistem filtrasi. Biomassa yang dihasilkan kemudian disimpan sementara pada larutan glyserol 5% pada suhu 5 °C, sebelum diproses lebih lanjut menjadi produk contoh.

d. Formulasi produk

produk contoh diformulasikan dalam bentuk pasta dengan bahan pengisi dan tanpa bahan pengisi, sebagai rujukan untuk kajian formulasi produk antara lain, yaitu Morales *et al*⁽⁴⁾, yang telah melakukan penelitian khusus formulasi untuk bioinsektisida dengan bahan aktif *B. bassiana*, dalam bentuk granula yang mudah larut di dalam air. Kemudian peneliti lain yaitu, Quimby *et al*⁽⁵⁾. penelitian yang dilakukan menemukan berbagai jenis formula yang telah diajukan dalam permintaan paten di USA. Marshall⁽⁶⁾ mengembangkan formulasi pestisida dalam bentuk gel.

e. Uji Fisik Tampilan Produk

Uji fisik tampilan produk, merujuk pada Morales *et al*⁽⁴⁾., mencakup 2 parameter yaitu: (1) daya kelarutan atau kecepatan hancur di dalam air dan (2) banyak/sedikitnya endapan. Untuk mengukur kemudahan hancur produk di dalam air, ada 4 kriteria rujukan yaitu: (1) Sediaan hancur, jika ada yang belum hancur digojok 2 – 3 kali selama 1 – 2 menit, (2) Seluruh sediaan hancur sempurna, (3) Hanya sebagian saja

yang hancur atau, (4) Tidak hancur sama sekali.

Untuk pemeriksaan tingkat kelarutan yaitu dengan alat gelas ukur volume 1 liter diisi air (suhu 30°C, kesadahan pH 7). Satu gram sediaan produk dimasukkan, setelah 1 menit, gelas ukur diputar-putar perlahan-lahan (seperti digoyang), diulang sampai tiga kali. Dengan kriteria di atas, kecepatan hancur diamati berdasarkan waktu, tingkat kelarutan (% berat) dengan rujukan jika kira-kira 90% dari sediaan terlarut, dalam waktu 30 menit. Endapan yang terjadi dihitung berdasarkan prosentase berat. Hasil uji tampilan fisik ini sangat diperlukan guna kesesuaian pada saat aplikasi dengan peralatan di lapangan.

3. HASIL dan BAHASAN

3.1. Produksi Biomassa dan konidia *B. bassiana*

Perbanyakkan biomassa dan konidia *B. bassiana* melalui fermentasi medium cair menghasilkan 30 – 45 g biomassa basah *B. bassiana* per liter medium. Pemanenan dilakukan dengan sentrifugasi pada sentrifugal separator. Untuk menjaga kestabilan hidup biomassa, segera diawetkan dengan larutan glycerol 5 – 10% .

3.2. Formulasi produk

Formulasi produk yang dilakukan pada kajian ini, dengan merujuk beberapa

temuan^(4,7,6,5). Kajian formulasi dengan bahan-bahan yang sederhana dan mudah didapatkan tanpa merubah fungsi-guna dari bahan tersebut untuk membuat produk.

Pada kajian formulasi produk dirunut dari susunan formula yang sederhana sampai agak kompleks. Formula sederhana yang hanya mengandung 2 atau 3 komponen saja yaitu biomasa konidia, bahan pengisi dan bahan pengikat. Sedangkan untuk formulasi yang agak kompleks, pembuatan produk dipisahkan atas adonan untuk biomasa konidia (bahan aktif bioinsektisida) dan adonan untuk bahan pengisi secara terpisah kemudian baru dicampurkan. Bentuk produk dibandingkan dalam bentuk serbuk kering dan dalam bentuk pasta. Variabel formula ataupun bentuk produk ini dimaksudkan untuk mendapatkan formula yang paling ideal, efektif dan murah. Parameter keberhasilan formula adalah produk bioinsektisida *B. bassiana* dengan jumlah kandungan konidia hidup yang memenuhi persyaratan minimal (Cfu 10⁵/g/ml) dalam umur simpan minimal 6 – 12 bulan, mudah diaplikasikan dan ongkos produksi minimal, sehingga harga produk terjangkau pada tingkat pengguna.

Contoh 1 dan 2 di bawah ini dimaksudkan untuk membuat produk dalam bentuk pasta, dengan bahan pengisi yang berbeda tanpa pengeringan, sehingga diharapkan akan mengurangi komponen biaya produksi.

Contoh 1 : produk formula dengan bahan pengisi talkum :

Komposisi I :	% dr berat	Komposisi II	% dr berat
Biomassa spora	25	Bentonit	30,6
Glycerol	1,6	Tepung singkong	4,1
Na-Alginat	1,7	Sukrose	14,2
Urea	0,2	Propilen glycol	2,1
Air	71,5	Sekam padi	8,2
		Air	40,8
	100		100

Formulasi dalam sediaan jadi :

Komposisi bahan	% berat
Biomassa spora	13,80
Talkum	13,80
Tepung singkong	1,83
Sekam padi	3,60
Sukrosa	6,40
Na-Alginat	0,92
Glyserol	0,92
Urea	0,09
Propylen glycol	0,92
Air	57,70
	100,0

Contoh 2 : Produk formula dengan bahan pengisi talkum

Komposisi I :	% dr berat	Komposisi II	% dr berat
Biomassa spora	28,6	Talkum	40,54
Glycerol	2,84	Tepung singkong	2,70
Na-Alginat	1,42	Sukrose	18,92
Urea	0,14	Sekam padi	10,82
Air	67,0	Air	27,02
	100		100

Formulasi dalam sediaan jadi

Komposisi bahan	% berat
Biomassa spora	18,7
Talkum	14,02
Tepung singkong	0,93
Sekam padi	3,73
Sukrosa	6,54
Na-Alginat	0,93
Glyserol	1,86
Urea	0,09
Air	53,2
	100,0

Setelah adonan dicampurkan sediaan berbentuk pasta lunak, tidak kenyal kemudian dikering-anginkan pada suhu 30°C

Karakteristik produk formulasi contoh (1 & 2)

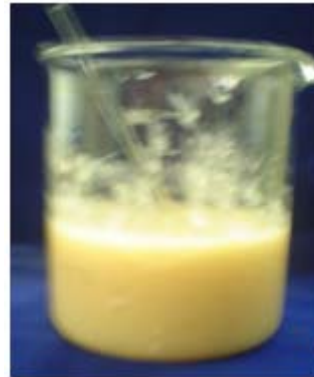
Kriteria	Tampilan
Tekstur basah	Pasta lunak
Kepadatan spora broth	$8,0 \times 10^7$ Cfu/ml
Kepadatan spora pasta (Form. conth 1)	$7,5 \times 10^7 / 0,1$ g/ml
Kepadatan spora pasta (Form. conth 2)	$7,2 \times 10^7 / 0,1$ g/ml
Tampilan produk	Pasta kental

Kandungan tepung singkong dan propilen glycol sebagai perekatan sangat berpengaruh terhadap tekstur sediaan jadi. Tekstur cenderung lebih pekat dan kenyal, sedangkan pada contoh 2 tanpa propilen glycol memberikan tekstur yang ideal dalam bentuk pasta. Demikian pula terhadap kelulusan hidup konidia setelah proses dalam bentuk pasta lebih banyak dibandingkan dengan bahan pengisi bentonit.



Contoh 3 : produk bentuk pasta tanpa bahan pengisi:

Formula produk dalam bentuk pasta/gel dan tanpa bahan pengisi. Dalam bentuk produk seperti ini proses yang lebih sederhana, lebih murah, produk dapat dikemas dalam bentuk sachet yang mudah digunakan. Dikaji beberapa formula kandungan glyserol dan TiO₂ yang berbeda



Komposisi I :	% dr berat	Komposisi II	% dr berat
Polypropionioic acide	1,92	Biomassa	15,67
Sukrosa	2,39	Glyserol	27,97
Glyserol	47,84	TiO ₂	0,42
Tween-80	0,01	Air	55,9
Air	47,84		
Total :	100	Total :	100

Dari campuran I dan II disatukan diaduk hingga merata kemudian ditambahkan senyawa Triethanolamine hingga terjadi cairan kental bentuk pasta.

Kandungan Glyserol 10%

Formulasi dalam sediaan jadi :

Komposisi bahan	% berat
Biomassa spora	9.450
Sukrosa	0,882
Polypropionioic acide	0,530
TEA	0,001
Glyserol	35.292
Tween-80	0,003
TiO₂	0.882
Air	52.960
	100

Kandungan Glycerol 10%

Formulasi dalam sediaan jadi :

Komposisi bahan	% berat
Biomassa spora	9,884
Sukrosa	0,882
Polypropionic acide	0,706
TEA	0,001
Glycerol	35,30
Tween-80	0,003
TiO₂	0,264
Air	52,960
	100

Karakteristik produk formulasi contoh (3)

Kriteria	Tampilan
Tekstur basah	Pasta lunak
Kepadatan spora broth	$5,2 \times 10^7$ Cfu/ml
Kepadatan Biomassa	$3,0 \times 10^7$ Cfu/ml
Kepadatan spora bentuk pasta	$2,5 \times 10^7$ Cfy/ml
Tampilan produk	Pasta kental

Formulasi di atas dibedakan atas kandungan TiO₂, bahan ini sangat sensitif terhadap jaringan makhluk hidup, walaupun fungsinya adalah sebagai pelindung terhadap sinar ultra violet (UV). Kepadatan konidia dalam proses formulasi memang terjadi penurunan jumlah secara gradual, namun dalam bentuk formula jadi, jumlah spora masih dalam batas standar layak guna. Penampakan secara fisik dari 3 contoh formula tanpa bahan pengisi di atas tidak memperlihatkan perbedaan tampilan, hanya sedikit berbeda pada tingkat kekentalan.

3.3 Uji Fisik Tampilan Produk

Daftar 3.3-1 : Uji tampilan formula produk bentuk pasta dengan dan tanpa bahan pengisi

Formula pasta dengan bahan pengisi			
	Dispersable	Kelarutan	endapan
Contoh 1 (bentonit 37,5%) :	3 (7menit)	85%	23,4%
Contoh 2 (Talkum 14,2%) :	2 (9menit)	85%	21,0%
Contoh 3 (Talkum 13,8%) :	3 (10 menit)	87%	20,38%
Formula pasta tanpa bahan pegisi			
Contoh 1 :	1 (10 detik)	95%	0,5%
Contoh 2 :	1 (10 detik)	90%	0,5%

Uji fisik tampilan produk pada contoh di atas memberikan informasi bahwa talkum sebagai bahan pengisi memberikan respon yang terbaik, dilihat dari tingkat kelarutan dan endapan dan harganya pun relatif murah. Satu hal yang masih diperhatikan dan ukuran butiran talkum perlu diperkecil (50-100 mm), bahan dispersan prosentasinya perlu dinaikkan agar didapat tingkat kelarutan yang lebih baik dan endapan yang lebih sedikit. Tampilan contoh 1 dan 2 yang kurang sempurna,

mencoba untuk disempurnakan dengan formula pada contoh 3 yang sama sekali tidak menggunakan bahan pengisi. Memperlihatkan formula yang sangat ideal, mempunyai tingkat dispersable tinggi, mudah kelarutan, dan endapan rendah, disamping itu memberikan daya tumbuh yang optimal ($2,5 \times 10^7$ Cfu/ml) dalam masa penyimpanan, juga memudahkan untuk distribusi produk, dikemas dalam bentuk sachet dengan biaya yang sangat murah.

KESIMPULAN

Kajian sistem teknologi produksi bioinsektisida *B. bassiana* dengan metoda substrat cair, adalah sebagai langkah inovasi sistem produksi dengan tujuan biaya produksi lebih murah, efektif dan efisien untuk pengembangan rumah produksi dalam skala industri kecil dan menengah.

Kajian formulasi bioinsektisida *B. bassiana* menunjukkan bahwa formula komplek dengan bahan yang murah, dari kajian ini secara ekonomis sangat memungkinkan untuk dikembangkan. Formula pasta tanpa bahan pengisi memberikan tampilan yang lebih sempurna baik secara teknis dan ekonomis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soper, R. S. and M. G. Ward. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control, pp. 161-181. In G.C. Papavizas (ed). Biological control In crop production. Allanheld, Osmun Publ. Ottawa, New Jersey.
2. Roberto, M.P. and W.R. Donald. 1990. Dry Mycelium Preparation of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. J. Invertebrate Pathology. 56,39-46. Academic Press, Inc.
3. Eyal, J., J.F. Walter, L. Osborne and Zdenek, L. 1994. Methode For Production and Use of Pathogenic Fungal Preparation For Pest Control. US. Patent No.5,360,607. Nov.1,1994
4. Morales, E. and H. Rochling. (1998): Water Dispersible Granules of Spore or Live *Beauveria bassiana*. US Patent 5,730,973, Mart 24,1998.
5. Quimby, P.C, A.J. Caesar, L.J. Birdsall, C.D. Boyette, N.K. Zidack and W.E. Grey. 2002. Granulated Formulation and Methode For Stabilizing Biocontrol Agents. US Patent No. 6,455,036 B1. Sep.24,2002.
6. Marshall, J.R. 2007. Pesticide in Gel Form. US.Patent No. 7,179,455 B2, Feb.20,2007
7. Luz, C and I. Batagin. 2005. Potential of Oil-Based Formulation of *Beauveria bassiana* to Control *Triatoma infestans*. Mycopathologia. 160:51-62.