

## Enkapsulasi Propagul Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* Menggunakan Alginat dan Pati Jagung sebagai Produk Mikoinspektisida

PRIYO WAHYUDI\*

Pusat Teknologi Bioindustri-BPPT  
Jalan MH Thamrin 8 Jakarta

Diterima 6 Juni 2008, Disetujui 25 September 2008

**Abstract:** Negative effects of chemical pesticides experienced by farmers have encouraged researchers to develop bioinsecticide. *Beauveria bassiana* is one of entomopatogen fungus that may be used as an active compound of mycoinsecticide. The main constraint of this mycoinsecticide is retaining the viability of *Beauveria bassiana* propagules. The encapsulation of active propagule of *Beauveria bassiana* using sodium alginate and corn starch was studied in this experiment. The aim is to get the formula of mycoinsecticide with a high viable propagules contain for long storage period. Liquid fermentation were proceed to produce active biomass of *Beauveria bassiana*, followed by encapsulation using sodium alginate (Formula I) and corn starch (Formula II). After encapsulation and the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, and 3<sup>rd</sup> week of storage in room temperature, viability test was carried out. The result showed that Formula I and II were able to immobilize effectively, but the number of viable propagule was slightly reduced. The number of viable propagule of *Beauveria bassiana* in Formula I and II after three weeks storage was  $8.75 \times 10^6$  cfu/g and  $6.13 \times 10^6$  cfu/g respectively. It can be concluded that encapsulation using sodium alginate and corn starch could retain propagule of *Beauveria bassiana* in viable number.

**Key words:** mycoinsecticide, *Beauveria bassiana*, encapsulation, sodium alginate, corn starch.

### PENDAHULUAN

PENGUNAAN pestisida kimia sudah lama dikenal oleh masyarakat. Meningkatnya kepedulian terhadap kelestarian lingkungan dan standar kesehatan masyarakat menuntut digantinya pestisida kimia sintetik dengan pestisida yang ramah lingkungan. Biopestisida merupakan alternatif untuk pengendalian hama yang ramah lingkungan. Salah satu biopestisida untuk mengendalikan hama serangga adalah mikoinspektisida berbahan aktif propagul jamur entomopatogen *Beauveria bassiana*. Mikoinspektisida adalah suatu sediaan mengandung jamur yang penggunaannya dimaksudkan untuk pengendalian serangga hama secara biologis<sup>(1)</sup>.

Entomopatogen adalah suatu istilah yang diberikan kepada satu jenis atau satu kelompok mikroorganisme yang keberadaannya di alam menjadi patogen terhadap jenis-jenis serangga<sup>(2)</sup>. Jamur entomopatogen dapat diartikan sebagai jamur yang mampu membunuh serangga<sup>(3)</sup>. Jamur

entomopatogen sebagian besar berasal dari kelas Deuteromycetes seperti *Beauveria*, *Metarhizium*, *Paecilomyces* dan *Nomuraea*<sup>(3,4)</sup>.

Dari beberapa jenis jamur entomopatogen, *B. bassiana* merupakan pengendali hayati hama pada berbagai komoditas tanaman yang efektif dan efisien<sup>(5)</sup>. Sejak penelitian pertama oleh Bassi pada 1835 terhadap *Beauveria bassiana*<sup>(6)</sup>, tidak kurang dari 175 spesies serangga hama dapat dikendalikan oleh *B. bassiana* dari hampir semua ordo serangga seperti Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Orthoptera dan Hymenoptera<sup>(7)</sup>. Di Indonesia, *B. bassiana* telah diuji efektivitasnya terhadap beberapa jenis hama, yaitu penggerek batang/cabang kakao (*Zeuzera coffeae*), penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei*), ulat kantung (*Metisa plana*) dan kepik penghisap buah/pucuk kakao (*Helopeltis antonii*)<sup>(8)</sup>.

Mekanisme pengendalian serangga hama oleh *B. bassiana* adalah melalui infeksi langsung hifa atau spora *B. bassiana* ke dalam kutikula melalui kulit luar serangga. Pertumbuhan hifa akan mengeluarkan enzim yang menyerang dan menghancurkan kutikula, sehingga hifa tersebut mampu menembus dan masuk serta berkembang di dalam tubuh serangga<sup>(9)</sup>. Pada

\* Penulis korespondensi, Hp. 08161119981  
e-mail: wahyudi@bppt.go.id

perkembangannya di dalam tubuh serangga, *B. bassiana* akan mengeluarkan racun yang disebut *beauvericin* yang menyebabkan terjadinya paralisis pada anggota tubuh serangga. Paralisis menyebabkan kehilangan koordinasi sistem gerak, sehingga gerakan serangga tidak teratur dan lama-kelamaan melemah, kemudian berhenti sama sekali. Setelah lebih-kurang lima hari terjadi kelumpuhan total dan kematian<sup>(10)</sup>. Toksin juga menyebabkan kerusakan jaringan, terutama pada saluran pencernaan, otot, sistem syaraf, dan sistem pernafasan<sup>(7)</sup>.

Setelah serangga inang mati, *B. bassiana* akan mengeluarkan antibiotik, yaitu *Oosporein* yang menekan populasi bakteri dalam perut serangga inang. Dengan demikian, pada akhirnya seluruh tubuh serangga inang akan penuh oleh propagul *B. bassiana*. Pada bagian lunak dari tubuh serangga inang, jamur ini akan menembus keluar dan menampakkan pertumbuhan hifa di bagian luar tubuh serangga inang yang biasa disebut "white bloom". Pertumbuhan hifa eksternal akan menghasilkan konidia yang bila telah masak akan disebarkan ke lingkungan dan menginfeksi serangga sasaran baru<sup>(2)</sup>.

Proses produksi biomassa aktif jamur entomopatogen *B. bassiana* sebagai bahan aktif mikoinsektisida telah banyak dilakukan melalui fermentasi cair maupun padat. Untuk mempermudah penggunaan biomassa aktif jamur entomopatogen *B. bassiana* sebagai mikoinsektisida dibutuhkan suatu sediaan yang dapat menjebak jamur tersebut. Tujuan penjabakan tersebut adalah untuk mempertahankan viabilitas dari jamur melalui penghambatan proses metabolismenya, sehingga jumlah propagul dari jamur *B. bassiana* dapat stabil hingga saat penggunaan.

Masalah utama dalam membuat sediaan mikoinsektisida adalah kestabilan sediaan, baik secara fisika maupun mikrobiologi. Yasin *et al.*<sup>(11)</sup> melaporkan bahwa jamur *B. bassiana* dengan jumlah propagul  $5 \times 10^7$  cfu/g dan  $5 \times 10^6$  cfu/g masih cukup efektif mengendalikan wereng jagung (*Peregrinus maidis*). Karena itu, sediaan mikoinsektisida yang dibuat harus dapat mempertahankan viabilitas jamur *B. bassiana* sehingga masih efektif pada saat penggunaannya.

Salah satu cara yang digunakan untuk menjaga kestabilan sediaan mikoinsektisida yang berdampak langsung pada viabilitas jamur adalah dengan menerapkan metode enkapsulasi<sup>(12)</sup>. Menurut Risch<sup>(13)</sup>, enkapsulasi adalah suatu proses di mana satu bahan atau campuran bahan disalut atau dijebak dalam bahan atau sistem lain. Bahan yang disalut atau dijebak biasanya sebuah cairan, tetapi dapat pula berupa partikel padat atau gas dan itu semua

ditunjukkan dengan nama yang bermacam-macam, seperti bahan inti, muatan, bahan aktif, isi, atau fase dalam. Bahan yang digunakan untuk membentuk salutan disebut sebagai bahan penyimpanan, pembawa, selaput, kulit, atau penyalut.

Bahan yang paling sering digunakan dalam proses enkapsulasi biomassa aktif jamur adalah natrium alginat dan amilum jagung. Feng *et al.*<sup>(14)</sup> melaporkan bahwa biomassa aktif *B. bassiana* yang dienkapsulasi dalam natrium alginat dan amilum jagung tidak hanya stabil selama penyimpanan pada suhu kamar, tetapi juga masih mempunyai viabilitas yang tinggi setelah penyimpanan beberapa bulan.

Dalam sediaan farmasi, natrium alginat digunakan sebagai bahan penstabil, bahan pensuspensi, bahan penghancur tablet dan kapsul, bahan pengikat tablet, dan bahan peningkat viskositas. Sementara itu, amilum jagung digunakan sebagai *glidant*, bahan pengisi tablet dan kapsul, bahan penghancur tablet dan kapsul, dan juga sebagai pengikat tablet<sup>(15)</sup>.

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan suatu sediaan mikoinsektisida yang mampu mempertahankan viabilitas jamur entomopatogen *B. bassiana* dengan baik selama penyimpanan, sehingga jumlah propagul jamur entomopatogen *B. bassiana* masih dalam jumlah yang efektif untuk membunuh serangga hama pada saat digunakan.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Isolat kapang *B. bassiana* BPPTCC, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), media produksi biomassa *B. bassiana* dengan komposisi (per liter): glukosa 50 g, kalium nitrat 10 g, kalium dihidrogen fosfat 5 g, kalsium klorida dihidrat 2 g, natrium molibdat dihidrat 50 mg, magnesium sulfat 12 mg, besi klorida heksahidrat 2,5 mg, mangan sulfat monohidrat 0,2 mg, seng sulfat heptahidrat 2,5 mg, tembaga sulfat pentahidrat 0,5 mg, kloramfenikol 250 mg, air suling 1000 ml. Bahan untuk enkapsulasi terdiri dari biomassa *B. bassiana*, natrium alginat, amilum jagung, kalsium klorida dihidrat, tepung terigu, etanol 96%, air suling.

**METODE.** Peremajaan jamur *Beauveria bassiana*. Biakan murni kapang *B. bassiana* diremajakan pada medium PDA cawan Petri. Inkubasi pada suhu kamar selama 5 hari.

**Perbanyakkan propagul secara fermentasi cair.** Ke dalam 1000 ml medium cair steril dalam labu Erlenmeyer 2000 ml diinokulasikan hifa *B. bassiana* hasil peremajaan dengan ukuran 1x1 cm secukupnya, kemudian ditempatkan pada penggojog dengan kecepatan 125 rpm selama 7 hari pada suhu kamar.

**Pemanenan propagul aktif.** Cairan hasil fermentasi disaring menggunakan kertas saring pada corong gelas. Biomassa yang tertinggal dalam kertas saring dikumpulkan.

**Uji viabilitas propagul aktif.** Dilakukan penghitungan jumlah propagul aktif *B. bassiana* menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Diambil sampel sebanyak 1 ml, kemudian dibuat seri pengenceran sampai  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-8}$  dan dilakukan penanaman pada media PDA cawan Petri. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 3 hari. Hasilnya dapat diamati dan jumlah koloni yang terbentuk dihitung dengan rumus:

$$\frac{(A \times 10^6) + (B \times 10^7) + (C \times 10^8)}{3} = \dots \text{cfu/ml} \dots (1)$$

Keterangan:

- A = jumlah koloni pada media PDA cawan Petri dari pengenceran  $10^{-6}$   
 B = jumlah koloni pada media PDA cawan Petri dari pengenceran  $10^{-7}$   
 C = jumlah koloni pada media PDA cawan Petri dari pengenceran  $10^{-8}$

**Pembuatan sediaan mikoinsektisida<sup>(14)</sup>.** Sediaan mikoinsektisida I (enkapsulasi pada natrium alginat) dibuat dengan memasukkan 37 g biomassa aktif hasil penyaringan kultur cair ke dalam 100 ml larutan natrium alginat 1% dalam air, dimasukkan ke dalam 100 ml larutan kalsium klorida dihidrat 0,25 M, ditambahkan tepung terigu, disaring dengan kertas Whatman No.40, dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 30°C dan dihaluskan dengan menggunakan mesin penghalus (*grinder*).

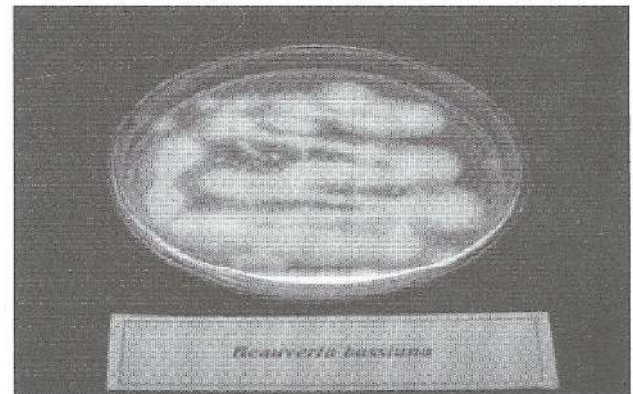
Sediaan mikoinsektisida II (enkapsulasi pada amilum jagung) dibuat dengan memasukkan 25 g amilum jagung tergelatinasi ke dalam 500 ml kultur cair, disaring dan dibiarkan mengeras, dihaluskan dengan menggunakan mesin penghalus (*grinder*), ditambahkan 50 g amilum jagung dan dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 30°C.

**Uji viabilitas sediaan mikoinsektisida.** Uji viabilitas sediaan mikoinsektisida *B. bassiana* dilakukan dengan menggunakan metode yang sama dengan uji viabilitas biomassa aktif. Uji viabilitas sediaan dilakukan sebanyak empat kali, yaitu pada saat setelah pembuatan sediaan, dan setelah penyimpanan pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Perbanyakan propagul aktif dan uji viabilitas propagul aktif.** Peremajaan biakan jamur *B. bassiana* yang dilakukan menunjukkan tumbuhnya

miselia *B. bassiana* dengan lebat mengikuti alur goresan, seperti disajikan pada Gambar 1. Hasil pengamatan sesuai dengan Domsch *et al.*<sup>(16)</sup> bahwa koloni jamur *B. bassiana* pada media PDA cawan Petri akan membentuk lapisan seperti tepung, jarang membentuk sinema. Koloni bagian pinggir berwarna putih dan menjadi kuning pucat, kadang-kadang agak kemerah-merahan. Organ *conidiogenous* membentuk sekelompok sel-sel yang menggebu-gebu yang tersusun rapat serta mengandung lubang-lubang berukuran 3–6x2,5–3,5 µm. Konidia berhialin, dindingnya mulus dan berdiameter 2–3 µm. Biakan *B. bassiana* hasil peremajaan 5 hari inkubasi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Biakan *B. bassiana* hasil peremajaan 5 hari inkubasi.

Pada perbanyakan propagul aktif *B. bassiana* melalui fermentasi cair yang dilakukan pada empat labu Erlenmeyer 1000 ml dengan volume medium cair 500 ml, didapatkan berat basah propagul aktif *B. bassiana* yang berbeda-beda seperti disajikan pada Tabel 1. Kultur cair dan biomassa aktif yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.

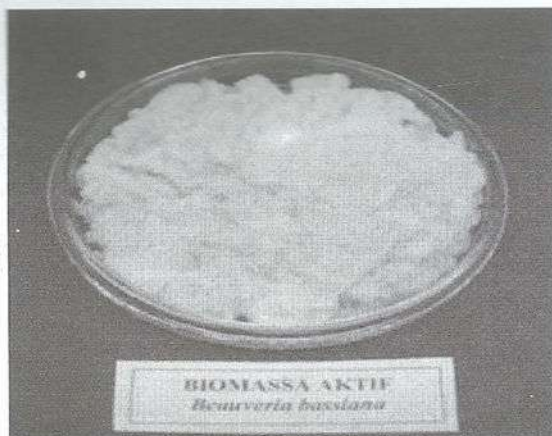
Uji viabilitas terhadap propagul basah dilakukan untuk mengetahui jumlah propagul dari *B. bassiana* yang dihasilkan melalui fermentasi cair. Dari uji

Tabel 1. Berat basah propagul aktif *B. Bassiana* hasil perbanyakan propagul aktif melalui fermentasi cair.

Labu Erlenmeyer	Berat basah propagul aktif
A	64,5243 g
B	47,7485 g
C	67,6754 g
D	50,9612 g
Total	230,9094 g



Gambar 2. Kultur cair hasil fermentasi cair.



Gambar 3. Propagul aktif *B. bassiana*.

viabilitas tersebut didapatkan bahwa jumlah propagul pada biomassa aktif adalah  $2,05 \times 10^9$  cfu/g.

**Pembuatan sediaan mikroinsektisida.** Pada pembuatan sediaan mikroinsektisida I yang mengandung natrium alginat dan sediaan mikroinsektisida II yang mengandung amilum jagung,

Tabel 2. Data spesifikasi fisik sediaan mikroinsektisida.

No.	Parameter fisika	Sediaan mikroinsektisida	
		I	II
	Organoleptis :		
1.	a. Bentuk	Serbuk halus	Serbuk halus
	b. Warna	Putih	Putih
	c. Bau	Khas jamur	Khas jamur
2.	Berat total	23,5430 g	67,7632 g

dihasilkan sediaan mikroinsektisida dengan spesifikasi seperti disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 4.

**Pengujian viabilitas sediaan mikroinsektisida.** Pada pengujian viabilitas kedua sediaan mikroinsektisida selama masa penyimpanan,



Gambar 4. Sediaan mikroinsektisida pada alginat.

didapatkan jumlah koloni yang tidak sebanyak pengujian viabilitas biomassa aktif. Berdasarkan penghitungan, jumlah propagul yang didapat jauh lebih kecil dibandingkan jumlah propagul pada biomassa aktif. Jumlah propagul pada kedua sediaan mikroinsektisida mengalami penurunan setiap minggunya (Tabel 3).

Tabel 3. Jumlah rata-rata koloni hasil uji viabilitas sediaan mikroinsektisida *B. bassiana* selama penyimpanan.

Penyimpanan hari ke-	Jumlah propagul (cfu/g) sediaan mikroinsektisida <i>B. bassiana</i>	
	I	II
0	$1,85 \times 10^8$	$1,66 \times 10^8$
7	$6,33 \times 10^7$	$3,31 \times 10^7$
14	$5,26 \times 10^7$	$1,91 \times 10^7$
21	$8,75 \times 10^6$	$6,13 \times 10^6$

### PEMBAHASAN

Proses produksi biomassa *B. bassiana* yang dilakukan dengan fermentasi cair berhasil memberikan kepadatan propagul sebesar  $2,05 \times 10^9$  cfu/g. Dengan jumlah propagul tersebut, biomassa aktif yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan

aktif dalam pembuatan sediaan mikoinsektisida, sebagaimana yang dilaporkan oleh Yasin *et al.*<sup>(11)</sup> bahwa jamur *B. bassiana* dengan jumlah propagul  $5 \times 10^6$  cfu/g masih efektif untuk membunuh hama wereng.

Sediaan mikoinsektisida dibuat dengan metode enkapsulasi dalam dua formula yang berbeda, yaitu sediaan mikoinsektisida I yang mengandung natrium alginat dan sediaan mikoinsektisida II yang mengandung amilum jagung. Tujuan dari proses enkapsulasi ini, selain untuk mempermudah dalam penyimpanan dan penggunaan juga untuk menjebak propagul *B. bassiana* dalam sediaan mikoinsektisida. Dengan demikian, jumlah propagulnya masih efektif untuk membunuh serangga target saat diaplikasikan di lapang.

Kedua sediaan mikoinsektisida memiliki bentuk sediaan yang sama, yaitu berupa serbuk halus dengan warna putih. Dari segi bau, kedua sediaan mikoinsektisida menghasilkan bau yang sama pula, yaitu bau khas jamur yang masih sangat terasa. Hal ini disebabkan bau biomassa aktif jamur *B. bassiana* sendiri yang sangat khas dan komponen lain yang digunakan pada pembuatan kedua sediaan mikoinsektisida tidak memiliki bau.

Berat total sediaan mikoinsektisida II (67,7632 g) lebih besar dibandingkan sediaan mikoinsektisida I (23,5430 g). Hal ini disebabkan jumlah bahan padat sebelum dienkapsulasi pada sediaan mikoinsektisida II yang mengandung amilum jagung jauh lebih banyak dibanding jumlah bahan padat sediaan mikoinsektisida I yang mengandung natrium alginat. Pada sediaan mikoinsektisida I, natrium alginat yang merupakan komponen utama dalam bentuk larutan 1% dalam air, sedangkan pada sediaan mikoinsektisida II, amilum jagung yang merupakan komponen utama digunakan dalam bentuk padat.

Dari uji viabilitas sediaan mikoinsektisida selama masa penyimpanan dapat diketahui bahwa jumlah propagul pada kedua sediaan mikoinsektisida mengalami penurunan setiap minggunya. Hal ini mungkin disebabkan terjadinya kerusakan hifa atau spora *B. bassiana* akibat proses penghalusan serbuk (*grinding*). Kemungkinan lain adalah masih terjadinya proses metabolisme *B. bassiana* yang membutuhkan nutrisi, sementara persediaan nutrisi di dalam sediaan mikoinsektisida terbatas sehingga jamur *B. bassiana* menjadi mati karena kurangnya persediaan nutrisi.

Meski demikian, kedua sediaan mikoinsektisida mampu mempertahankan viabilitas propagul *B. bassiana* dengan baik sampai penyimpanan pada minggu ketiga. Jumlah propagul aktif setelah penyimpanan pada suhu ruang selama tiga minggu

untuk masing-masing sediaan adalah  $8,75 \times 10^6$  cfu/g (sediaan I) dan  $6,13 \times 10^6$  cfu/g (sediaan II). Pereira dan Roberts pada 1990 dan 1991<sup>(14)</sup> melaporkan bahwa jumlah propagul jamur *B. bassiana* pada sediaan yang sama dengan sediaan mikoinsektisida I setelah disimpan selama lima bulan pada suhu kamar adalah sebesar  $1,77 \times 10^8$  cfu/g. Sementara itu, pada sediaan yang sama dengan sediaan mikoinsektisida II, jumlah propagulnya setelah disimpan selama lima bulan pada suhu kamar adalah sebesar  $2,54 \times 10^8$  cfu/g.

Natrium alginat merupakan polisakarida yang berasal dari ganggang laut, banyak digunakan pada berbagai macam formulasi sediaan farmasi. Natrium alginat dapat digunakan sebagai bahan pengikat dan bahan penghancur (formulasi tablet), sebagai bahan pengeras dan pensuspensi (pasta, krim, dan gel), serta sebagai bahan penstabil emulsi minyak dalam air<sup>(15)</sup>.

Teknik alginasi telah banyak digunakan untuk enkapsulasi berbagai macam mikroorganisme, termasuk jamur yang berfungsi sebagai biokontrol. Biopestisida, seperti *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) dan *Trichoderma harzianum* telah dienkapsulasi dalam bentuk mikrokapsul dengan bahan selubung dari alginat atau polietilena<sup>(12)</sup>. Alginasi dianggap metode yang efektif, karena reaksi pembentukan gel ini relatif aman pada suhu tertentu dan terutama sangat cocok untuk sel atau organisme yang sensitif terhadap suhu<sup>(17)</sup>.

Amilum jagung berasal dari tanaman jagung (*Zea mays*) dan dikenal dengan *amilum maydis*, terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilum jagung biasa digunakan sebagai bahan tambahan, bahan pengikat, pengisi, dan penghancur (formula tablet)<sup>(15)</sup>. Amilum menjadi bahan yang paling sering digunakan dalam proses enkapsulasi setelah alginat. Pereira dan Roberts pada 1990, melaporkan bahwa biomassa aktif yang dienkapsulasi dalam sediaan yang mengandung amilum jagung tidak hanya stabil selama penyimpanan pada suhu kamar, tetapi juga masih mempunyai viabilitas yang tinggi setelah penyimpanan beberapa bulan<sup>(14)</sup>.

Kemampuan penjebakan (enkapsulasi) biomassa *B. bassiana* oleh natrium alginat dan amilum jagung sama-sama efektif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kedua formula enkapsulasi dapat dipilih untuk memproduksi mikoinsektisida dari propagul aktif *B. bassiana*.

## SIMPULAN

Sediaan mikoinsektisida I (enkapsulasi natrium alginat) dan sediaan mikoinsektisida II (enkapsulasi amilum jagung) mempunyai kemampuan yang tidak berbeda dalam menjebak (immobilisasi) biomassa *B. bassiana*, sekaligus mempertahankan viabilitas

jamur *B. bassiana* pada tingkat yang masih efektif untuk mengendalikan hama.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan bahan alam untuk dijadikan bahan enkapsulasi yang lebih efektif dan efisien dalam mempertahankan viabilitas jamur *B. bassiana*. Selain itu, uji aplikasi pada serangga target untuk mengetahui virulensi dari propagul jamur *B. bassiana* yang ada dalam sediaan mikoinsektisida yang dihasilkan juga perlu dilakukan.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Leathers TD. Mycopesticides: Status, challenges and potential. *J. Industrial Microbiol.* 1993.12:69-75.
2. Wahyudi P. Produksi insektisida berbahan aktif jamur entomopatogen *Beauveria bassiana*. *J. Sains dan Teknologi Indonesia*. Edisi Teknologi Proses. 1999. 1(9):36-42.
3. Bradley CA. Mycoinsecticide activity against Grasshoppers produced by *Beauveria bassiana*. United State Patent. No. 5.939.065. 1999.p.1-20.
4. Mangoendihardjo S. Teori dan praktek pengendalian biologis. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia UI Press; 1989. hal. 218-9.
5. Hegedus DD. *Beauveria bassiana* submerged conidia production in a defined medium containing chitin, two hexosamines or glucose. *App. Microbiol. and Technol.* 1990.(33):641-7.
6. Weiser J. Persistence of fungal insecticides: influence of environmental factors and present and future applications. *Microbial and viral pesticides*. Marcel Dekker Inc. 1982.p.531-55.
7. Pramono S. Potensi jamur *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill terhadap *Helicoverpa armigera* (Hubner). Yogyakarta: Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada; 1994. hal.10-6.
8. Sudarmadji D dan Suharyanto. Deteksi keberagaman *Beauveria bassiana* berdasarkan pola pita protein dan uji hayati terhadap hama *Helopeltis antonii*. *J. Mikrobiologi Tropika*. 1997.(Juli):60-3.
9. Mahr S. Know your friends. Diambil dari <http://www.wisc.edu/entomology/mbcn/kyf410.html>. *Midwest Biological Control News*. 2000.IV(10):1-2.
10. Duvick J. Beauvericin detoxification compositions and methods. United States Patent No. 6.117.668. September 12, 2000.p.1-7.
11. Yasin M, Syamsudin, dan Baco D. Pengaruh berbagai konsentrasi cendawan *Beauveria bassiana* terhadap wereng jagung (*Peregrinus maidis*). *Stigma*. April 1999.VII(1):171-4.
12. Benita S. Microencapsulation methods and industrial applications. New York: Marcell Dekker Inc; 1996.p.82-3.
13. Risch, SJ. Encapsulation: Overview of uses and techniques, encapsulation and controlled release of food ingredients. Washington DC: American Chemical Society; 1995.p.2-7.
14. Feng MG, Poprawski TJ, and Khachatourians GG. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current status. *Biocontrol Science and Technology*. 1994.p.1-25.
15. Wade A, Weller PJ (Eds.). Handbook of pharmaceutical excipients. 2<sup>nd</sup> ed. London: The Pharmaceutical Press; 1994.p.428-30, 483-8.
16. Domsch KH, Gams W, and Anderson TH. Compendium of soil fungi. Vol 1. London: Academic Press; 1980.
17. Shah PA, Aebi M, and Tour U. Method to immobilize the aphid pathogenic fungus *Erynia neoaphidis* in an alginate matrix for biocontrol. *App. and Enviro. Microbiol.* 1998.64(11):4260-3.