EKSPLORASI NEMATODA ENTOMOPATOGEN PADA LAHAN TANAMAN JAGUNG, KEDELAI DAN KUBIS SERTA VIRULENSINYA DI DAERAH MALANG

Oleh

LIZA AFIFAH

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2012

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

EKSPLORASI NEMATODA ENTOMOPATOGEN PADA LAHAN TANAMAN JAGUNG, KEDELAI DAN KUBIS SERTA VIRULENSINYA DI DAERAH MALANG

Oleh
LIZA AFIFAH
0810480180

MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

SKRIPSI
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2012

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, November 2012

Liza Afifah

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Eksplorasi Nematoda Entomopatogen Pada Lahan Tanaman Jagung, Kedelai Dan Kubis Serta Virulensinya Di Daerah Malang
Nama : Liza Afifah
NIM : 0810480180
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi : Agroekoteknologi
Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Dr.Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU	Hagus Tarno, SP., MP., Ph.D
NIP. 19550403 198303 1 003	NIP. 19770810 200212 1 003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU
NIP. 19550403 198303 1 003

Tanggal persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I	Penguji II
Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.	Dr. Ir. Retno Dyah Puspitarini, MS.
NIP. 19521028 197903 1 003	NIP. 19580112 198203 2 002
Penguji III	Penguji IV
Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU	Hagus Tarno, SP., MP., Ph.D
NIP. 19550403 198303 1 003	NIP. 19770810 200212 1 003

Tanggal Lulus :

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Penelitian ini berjudul "Eksplorasi Nematoda Entomopatogen Pada Lahan Tanaman Jagung, Kedelai Dan Kubis Serta Virulensinya Di Daerah Malang", sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian.

Penulis menyadari banyak menerima bantuan dalam menyelesaikan tugas akhir ini, sehingga penulis tidak lupa menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya serta selaku pembimbing utama yang telah memberikan saran dan bimbingannya kepada penulis selama ini.
2. Hagus Tarno, SP., MP., PhD selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan saran, bimbingan dan motivasi kepada penulis selama ini.
3. Kepada kedua orang tua, kakak dan adik atas semua kasih sayang, dukungan moril maupun materil serta doa yang selalu menyertai penulis.
4. Teman-teman HPT 08 yang telah memberikan bantuan, saran dan dukungan dalam penelitian ini.

Semoga segala kebaikan dan pertolongan semuanya mendapatkan berkah dari Allah SWT. Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Malang, November 2012

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kediri pada tanggal 29 September 1989 sebagai putri ketiga dari lima bersaudara dari Bapak Mohammad Zawawi dan Ibu Istiqomah.

Penulis memulai pendidikan dasar di TK Perwanida PGAN Kediri pada tahun 1995 hingga 1996, melanjutkan di SDI Al-Huda Kediri pada tahun 1996 sampai tahun 2002, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Kediri pada tahun 2002 dan selesai pada tahun 2005, kemudian di SMAN 2 Kediri pada tahun 2005-2008. Penulis melanjutkan studi di Program Studi Agroekoteknologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya melalui jalur SNMPTN.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum Dasar Perlindungan Tanaman (2009), asisten praktikum Ekologi Pertanian (2010), asisten praktikum Teknologi Produksi Tanaman (2011), asisten praktikum Hama dan Penyakit Penting Tanaman dan asisten praktikum Pertanian Berlanjut (2012). Pengalaman organisasi yang pernah diikuti antara lain Pengurus Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman (Himapta) sebagai kepala divisi administrasi dan kesekertariatan (2010-2011) dan anggota Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman Indonesia (HMPTI).

DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul i
Ringkasan ii
Summary iii
Kata Pengantar iv
Riwayat Hidup v
Daftar Isi vi
Daftar Gambar viii
Daftar Tabel ix

I. PENDAHULUAN
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Tujuan Penelitian 3
1.3. Manfaat Penelitian 3

II. TINJAUAN PUSTAKA
2.1. Sejarah Perkembangan Nematoda Entomopatogen 4
2.2. Morfologi Nematoda Entomopatogen 4
2.3. Mekanisme Infeksi Nematoda Entomopatogen 5
2.4. Kisaran Inang Nematoda Entomopatogen 6
2.5. Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Nematoda Entomopatogen 7
2.6. Kelebihan Nematoda Entomopatogen 7
2.7. Identifikasi Nematoda Entomopatogen 8

III. METODOLOGI
Waktu dan Tempat 10
Alat dan Bahan 10
Metode Penelitian 10
3.1. Perbanyakan Larva *Tenebrio molitor* 10
3.2. Perbanyakan Larva *Spodoptera litura* 11
3.3. Pengambilan Contoh Tanah 11
3.4. Teknik Isolasi Nematoda Entomopatogen 12
3.5. Pembuatan Preparat dan Identifikasi Nematoda Entomopatogen 14
3.6. Uji Virulensi Nematoda Entomopatogen pada *Spodoptera litura* 15

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1. Hasil Isolasi Menggunakan Larva *Tenebrio molitor* 16
4.2. Kepadatan Populasi Nematoda Entomopatogen 18
4.3. Identifikasi Nematoda Entomopatogen 22
4.4. Uji Virulensi Nematoda Entomopatogen pada Larva *Spodoptera litura* 25

V. KESIMPULAN DAN SARAN
5.1. Kesimpulan 30
5.2. Saran 30

DAFTAR PUSTAKA 31
LAMPIRAN 36

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Mekanisme Infeksi Nematoda Entomopatogen pada Larva	5
2.	Nematoda Entomopatogen	9
3.	Kotak Perbanyakan *Tenebrio molitor*	11
4.	Lahan Pengambilan Contoh Tanah	12
5.	Isolasi Nematoda Entomopatogen	13
6.	Contoh *White Trap* Nematoda Entomopatogen	13
7.	Larva *T. molitor* yang Terinfeksi Nematoda Entomopatogen	16
8.	Larva *T. molitor* yang Terinfeksi Jamur Entomopatogen	17
9.	Rata-Rata Kepadatan Populasi Nematoda Entomopatogen Setiap 0,25 ml	19
10.	Morfologi dan Anterior Nematoda Entomopatogen	22
11.	Nematoda Entomopatogen Genus Steinernema dan Heterorhabditis	23
12.	Larva *T. molitor* yang Terinfeksi NEP Genus Heterorhabditis	24
13.	Nematoda Entomopatogen	25
14.	Larva *Spodoptera litura* yang Terinfeksi Nematoda Entomopatogen	29

DAFTAR TABEL

Nomor **Teks** **Halaman**

1. Tampilan Morfologi Larva *T. molitor* yang Terinfeksi NEP Berdasarkan Warna pada Tubuhnya 24
2. Rata-rata Persentase Mortalitas Kumulatif Larva *S. litura* 26

Lampiran

1. Anova Mortalitas Larva *S. litura* 24 Jam setelah Aplikasi 36
2. Anova Mortalitas Larva *S. litura* 48 Jam setelah Aplikasi 36
3. Anova Mortalitas Larva *S. litura* 72 Jam setelah Aplikasi 36
4. Anova Mortalitas Larva *S. litura* 96 Jam setelah Aplikasi 36
5. Analisis Kadar Air dan Tekstur Contoh Tanah 36
6. Analisis pH dan Bahan Organik Contoh Tanah 36

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Masalah hama masih menjadi kendala utama dalam peningkatan produksi tanaman. Salah satu cara pengendalian yang dapat memberikan jaminan terhadap keamanan lingkungan dan cukup efektif ialah pengendalian hayati. Dalam pengendalian hayati, patogen serangga merupakan agens hayati yang cukup potensial (DeBach, 1964). Oleh karena kandidat agens hayati pada umumnya sudah tersedia di alam, sehingga perlu melakukan upaya pengembangan agar perannya sebagai agens hayati lebih meningkat.

Saat ini penggunaan agens hayati untuk mengendalikan serangga hama telah banyak digunakan. Hal ini dikarenakan agens hayati tidak mencemari lingkungan, tidak menimbulkan resistensi dan kompatibel dengan beberapa pestisida. Pengendalian hayati adalah tindakan parasitoid, predator atau patogen dalam memelihara kepadatan populasi organisme lain pada tingkat rata-rata yang lebih rendah daripada apabila tindakan itu tidak ada (DeBach, 1964). Beberapa agens hayati diantaranya yaitu virus, bakteri, jamur, dan nematoda.

Nematoda entomopatogen (NEP) adalah salah satu agens hayati untuk mengendalikan hama tanaman. Terdapat dua genus NEP yang berperan sebagai agens pengendali hayati yaitu genus Steinernema dan Heterorhabditis. NEP menginfeksi inangnya dengan bersimbiosis dengan bakteri yang ada pada saluran pencernaannya. Nematoda famili Steinernematidae bersimbiosis dengan bakteri genus Xenorabdus dan nematoda famili Heterorhabditidae bersimbiosis dengan bakteri genus Photorabdus (Smart, 1995).

Kemampuan NEP untuk menyebar, mempertahankan diri, menemukan inang dan reproduksi di dalam tanah dipengaruhi oleh tipe tanah dan kelembaban atau suhu tanah (Sucipto, 2008). Faktor yang mempengaruhi penyebaran nematoda dan penemuan inang di dalam tanah meliputi ruang pori-pori tanah, kelembaban, suhu dan inang. Praktek budidaya tanaman seperti penambahan pupuk dan pestisida juga dapat mempengaruhi perilaku nematoda (Lewis, 2001). Tekstur tanah yang liat mempunyai pori-pori udara yang sedikit sehingga perpindahan nematoda terbatas dan nematoda membutuhkan selaput air untuk

penyebarannya dalam tanah (Georgis dan Gaugler, 1991). Suhu tanah dan kelembaban berpengaruh dalam kelangsungan hidup dan patogenesitas *Steinernema carpocapsae* Weiser dan *S. glaseri* Steiner. Kelangsungan hidup dan patogenesitas *S. carpocapsae* lebih besar pada suhu rendah 5-25ºC daripada suhu yang tinggi 35ºC sedangkan *S. glaseri* lebih besar pada suhu tinggi 15-35ºC daripada suhu yang rendah 5ºC (Kung dan Gaugler, 1991). Praktek budidaya tanaman seperti pengolahan tanah berpengaruh pada faktor biotik dan abiotik, yang bisa menurunkan kelangsungan hidup dan aktivitas NEP (Millar dan Barbercheck, 2002).

Keefektivan pengendalian hayati dengan menggunakan NEP ditentukan juga oleh daya adaptasinya dengan lingkungan tempat pengendalian dilakukan. Penggunaan NEP akan efektif jika digunakan spesies yang terdapat di tempat asal hama tersebut (Bunga, 2004).

NEP dapat diisolasi dari berbagai tempat, khususnya dari famili Steinernematidae dan Heterorhabditidae (Smart, 1995). Anggota kedua famili ini digunakan untuk mengendalikan hama-hama dari ordo Lepidoptera, yaitu: pyralid *Galleria mellonella* Linnaeus, noctuid *Spodoptera exigua* Hubner dan *Agrotis ipsilon* Hufn yang virulensinya mencapai 100% (Nugrohorini, 2010). Beberapa spesies NEP mempunyai penyebaran yang luas. *Steinernema carpocapsae* dan *S. feltiae* Filipjev tersebar di daerah beriklim sedang, *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar di daerah dengan iklim kontinental dan mediteran, dan *H. indica* Poinar ditemukan di wilayah tropis dan subtropis. Spesies yang lain seperti *S. rarum* Doucet, *S. kushidai* Mamiya, *S. ritteri* Doucet, dan *H. argentinensis* Stock, daerah sebarannya terbatas (Hazir, Kaya, Stock dan Keskin, 2003).

Untuk mendapatkan NEP isolat lokal diperlukan kegiatan eksplorasi yang dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi. Eksplorasi adalah penjelajahan lapangan dengan tujuan memperoleh pengetahuan lebih banyak tentang keadaan, terutama sumber-sumber alam yang terdapat di tempat itu (Anonymous, 1996). Lahan yang dipilih untuk kegiatan eksplorasi NEP adalah lahan yang ditanami tanaman jagung, kedelai dan kubis. Pemilihan jenis tanaman didasarkan pada kepentingan ekonomi tanaman. Tanaman jagung dan kedelai termasuk kategori tanaman pangan dan tanaman kubis termasuk kategori tanaman hortikultura. Hal

ini untuk mengetahui apakah ada perbedaan genus dan kepadatan populasi NEP antara lahan yang ditanami tanaman jagung, kedelai dan kubis.

Untuk mengetahui tingkat virulensi NEP yang didapatkan dari hasil eksplorasi maka diperlukan kegiatan uji virulensi. Serangga yang digunakan sebagai serangga uji yaitu larva *S. litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). Larva *S. litura* dipilih karena mempunyai kisaran inang yang luas dan polifagus.

Eksplorasi NEP telah dilakukan di Jawa Timur di daerah Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo, dan Lamongan (Nugrohorini, 2010). Tanah yang diambil untuk dijadikan contoh tanah pada penelitian tidak dilakukan secara spesifik, hanya ditentukan dari jenis tanah dan kelembaban yang sesuai bagi kehidupan nematoda. Hasil penelitian tesebut menunjukkan bahwa kepadatan populasi nematoda tertinggi adalah populasi nematoda yang terdapat di daerah Malang. Pada penelitian itu tidak dikaji hubungan berbagai jenis tanaman dengan keragaman NEP.

Mengingat NEP cukup potensial sebagai agens pengendali hayati hama dari ordo Lepidoptera dan untuk mengetahui hubungan berbagai jenis tanaman terhadap keragaman NEP, maka perlu dilakukan kegiatan eksplorasi untuk mengetahui keragaman NEP dan virulensinya dari lahan tanaman jagung, kedelai dan kubis di daerah Malang.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus NEP dan kepadatan populasi dari lahan jagung, kedelai dan kubis di daerah Malang serta virulensinya terhadap larva *S. litura*.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dengan diketahuinya genus dan kepadatan populasi nematoda yang didapat, maka diharapkan dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati di daerah asal NEP tersebut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sejarah Perkembangan Nematoda Entomopatogen

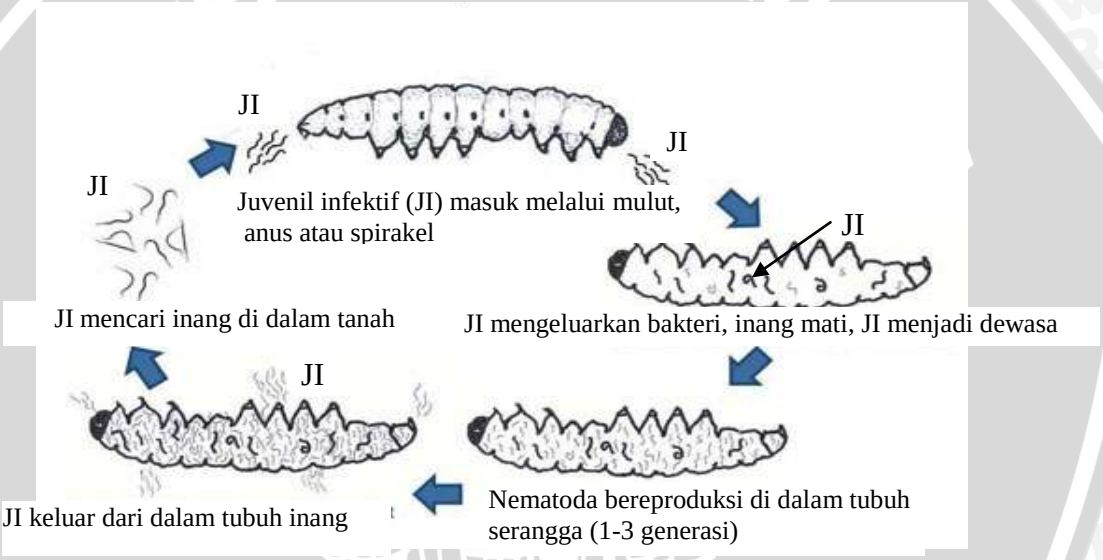
NEP telah diketahui sejak abad 17, tetapi pada tahun 1930 NEP baru dimanfaatkan sebagai agens pengendali hayati untuk hama serangga. NEP pertama kali ditemukan oleh Gotthold Steiner di Jerman pada tahun 1923 yang diberi nama *S. kraussei*. Kemudian pada tahun 1929 Rudholf William Glaser menemukan steinernema yang menginfeksi kumbang Jepang *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae) di New Jersey, Amerika Serikat yang diberi nama *S. glaseri* (Nugrohorini, 2012). Penelitian terkemuka mengenai NEP telah dilakukan oleh Glaser pada era pengendalian biologi. Namun, meluasnya penggunaan pestisida yang efektif dan murah selama periode 1940-1960 menyebabkan diabaikannya penelitian Glaser. Pada tahun 1960 dan 70an ketika beberapa pestisida tidak tersedia di pasaran, maka NEP sebagai agens pengendali biologi diteliti kembali (Smart, 1995). Sampai saat ini NEP yang telah diidentifikasi yaitu 61 spesies dari genus Steinernema dan 16 spesies dari genus Heterorhabditis (Nguyen, 2011).

2.2. Morfologi Nematoda Entomopatogen

Pada umumnya tubuh nematoda berbentuk seperti cacing, transparan, panjang dan agak silindris, dan diselubungi oleh kutikula non seluler yang elastis. Nematoda memiliki sistem syaraf, sistem pencernaan dan sistem reproduksi. Sistem pencernaan terdiri dari stoma, esofagus yang terdiri atas corpus (*procorpus* dan *metacorpus*), isthmus dan basal bulb, usus, rektum dan anus. NEP umumnya tidak memilki stilet. Jenis kelamin nematoda biasanya terpisah. Jantan memiliki sistem reproduksi yang berkembang masuk ke rektum dan membentuk kloaka. Jantan dewasa dicirikan dengan keberadaan satu atau dua testis dan spikula yang bergabung dengan kloaka, sedangkan betina sistem reproduksinya tersusun atas satu atau dua ovari dan vulva yang terletak ventral (Tanada dan Kaya, 1993).

2.3. Mekanisme Infeksi Nematoda Entomopatogen

Juvenil infektif (JI) masuk ke tubuh serangga inang melalui mulut, anus, spirakel atau menembus langsung melalui kutikula. Jika masuk melalui mulut atau anus, nematoda menembus dinding usus untuk mencapai hemocoel, dan jika melalui spirakel maka menembus dinding trakea. Ketika JI mencapai hemocoel inang, ia melepaskan bakteri yang memperbanyak dengan cepat di dalam hemolimfa (Gambar 1). Biasanya serangga mati dalam waktu 24-72 jam. Walaupun bakteri yang utama bertanggung jawab pada kematian serangga inang, steinernema juga menghasilkan racun yang mematikan serangga (Burman dan Pye, 1982 *dalam* Adnan dan Burhanuddin, 2007).



Gambar 1. Mekanisme infeksi nematoda entomopatogen pada larva (Arthur, 2012)

NEP famili Steinernematidae memerlukan waktu untuk siklus hidupnya selama 5-10 hari, sedangkan famili Heterorhabditidae memerlukan waktu 10-15 hari. Di dalam tubuh serangga yang mati nematoda berkembang sebanyak dua atau tiga generasi sebelum berkembang menjadi JI. Ukuran tubuh JI dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop untuk membantu identifikasi NEP. Puluhan ribu JI dapat dilepaskan dari satu inang yang terinfeksi NEP. Bakteri simbiotik, *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) yang terdapat di dalam

tubuh spesies dari famili Steinernematidae dan *Photorhabdus* spp. (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) yang terdapat di dalam tubuh spesies dari famili Heterorhabditidae, virulen terhadap berbagai serangga inang. Setelah dilepaskan oleh nematoda, bakteri membunuh serangga inang melalui infeksi bakteri dan melepaskan berbagai senyawa yang bertindak untuk mempertahankan bangkai serangga di dalam tanah. Bakteri juga menyediakan sumber nutrisi untuk berkembangnya nematoda. Semua larva serangga yang terinfeksi nematoda akan memiliki karakteristik yang berbeda yaitu keras dan elastis dan tetap utuh selama lebih dari seminggu, sementara nematoda menyelesaikan siklus hidupnya. Serangga yang mati dari sesuatu yang bukan disebabkan oleh infeksi nematoda akan membusuk dan hancur dalam sehari atau dua hari setelah mati. Serangga yang terinfeksi NEP biasanya menunjukkan gejala khusus untuk nematoda spesies tertentu. Bangkai larva ngengat lilin *G. mellonella*, yang terinfeksi *Heterorhabditis* spp. akan berubah warna keunguan karena metabolit yang dihasilkan oleh simbiosis bakteri Photorabdus. Ngengat lilin yang terinfeksi oleh *S. carpocapsae* menunjukkan warna krem, sementara yang terinfeksi oleh *S. glaseri* atau *S. feltiae* akan menjadi coklat gelap. Perubahan warna ini disebabkan oleh bakteri simbiotik yang bersimbiosis dengan setiap nematoda (Greenwood dan Rebek, 2009).

2.4. Kisaran Inang Nematoda Entomopatogen

Beberapa serangga yang dapat dikendalikan oleh NEP diantaranya ulat tentara, ulat penggerek pohon, kutu kucing atau anjing, penggerek pucuk, ulat pemotong, lalat, kecoa, ulat pengorok daun, anjing tanah, lalat bongkok, ngengat bulu, kumbang akar, lalat sciarid, penggerek batang, ulat bulu dan uret (Smart, 1995). *Steinernema carpocapsae* dengan kepadatan 800 dan 1.600 JI/ml efektif mengendalikan larva *Phthorimae operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) pada tanaman kentang di rumah kaca dengan mortalitas 97,5% dan 100% menggunakan metode penyemprotan (Uhan, 2008a). Di daerah dataran tinggi nematoda *S. carpocapsae* dapat mengendalikan ulat crop kubis *Crocidolomia*

binotalis Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), *S. litura* dan *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) (Subagiya, 2005).

2.5. Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Nematoda Entomopatogen

Faktor yang mempengaruhi kehidupan nematoda di dalam tanah yaitu adanya inang, suhu, kelembaban, musuh alami dan tipe tanah. Umumnya nematoda dapat berkembang baik pada tanah pasir atau tanah liat berpasir pada kelembaban dan suhu rendah kira-kira 15-25ºC daripada di tanah liat dengan suhu rendah atau tinggi. Selain itu musuh alami berperan penting pada populasi NEP di dalam tanah. Populasi NEP dapat berkurang oleh bakteri, jamur, tungau, nematoda predator, tardigrades, dan organisme tanah lainnya (Smart, 1995).

Beberapa contoh musuh alami NEP adalah bakteri *Photorhabdus* fase II, microsporidia (protozoa), jamur perangkap *Arthrobotrys* sp. (Ascomycota: Helotiales), predator invertebrata *Macrocheles* sp. (Mesostigmata: Macrochelidae) dan jamur endoparasit *Hirsutella* sp. (Ascomycota: Hypocreales) (Adnan dan Talanca, 2005).

2.6. Kelebihan Nematoda Entomopatogen

NEP memiliki beberapa kelebihan, yaitu penggunaan nematoda aman di lingkungan dan dapat diterima, dapat diaplikasikan dengan alat yang konvensional, dalam aplikasi dapat dikombinasikan dengan pestisida, mudah untuk diperbanyak, dapat ditemukan pada inang nematoda baik yang pasif maupun aktif, dapat hidup pada habitat yang tersembunyi (Smart, 1995). Kelebihan lain jika dibandingkan dengan insektisida kimia dan nabati, yaitu mempunyai kemampuan mencari inang yang tinggi, bersifat selektif terhadap serangga dengan spektrum inang yang luas, menginfeksi dan membunuh serangga sasaran dengan cara meracuni hemolimfa (septisemia) dalam waktu singkat 24-48 jam, tidak berbahaya bagi mamalia dan vertebrata, kompatibel dengan sebagian besar pestisida kimia, dan mudah dibiakkan secara massal pada media buatan (Wagiman, Triman dan Astuti, 2003).

2.7. Identifikasi Nematoda Entomopatogen

Identifikasi NEP dapat dilakukan dengan cara mengamati gejala pada serangga inang dan mengamati morfologi NEP. Kedua cara itu diuraikan di bawah ini.

Pengamatan gejala pada serangga inang. Pengamatan pada serangga inang bertujuan untuk melihat gejala serangan oleh NEP pada bagian kutikula yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna. Apabila tubuh serangga berwarna hitam kecoklatan, serangga tersebut terinfeksi steinernema. Apabila berwarna kemerahan terinfeksi heterorhabditis. Hal ini disebabkan adanya reaksi bakteri simbion, *Xenorhabdus* spp. atau *Photorhabdus* spp. yang dikeluarkan oleh nematoda pada saat di dalam tubuh serangga inang. Pengujian dapat menggunakan ulat bambu, larva *G. mellonella* atau *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) sebagai alternatif. Hasilnya cukup dapat dijadikan acuan untuk membedakan serangga terserang steinernema atau heterorhabditis (Nugrohorini, 2010).

Pengamatan morfologi NEP. Identifikasi NEP dapat dilakukan dengan membedakan morfologi dari famili Steinernematidae dan Heterorhabditidae. Ciri khas NEP yaitu tidak mempunyai stilet. Ciri morfologi yang umum dan khas steinernema yaitu, kepalanya rata, stoma berbentuk silinder panjang dan melebar, esofagus di bagian corpus berbentuk silinder, diikuti oleh isthmus serta basal bulb yang dilengkapi dengan satu katup. Nematoda betina biasanya berukuran lebih besar daripada jantan. Betina memiliki vulva yang menonjol keluar, sepasang ovari dengan posisi berlawanan satu sama lain, ekor yang pendek dengan ujung berbentuk kerucut. Nematoda jantan mempunyai spikula yang relatif besar dan lebar, testis tunggal dan tidak mempunyai bursa (Gambar 2) (Bunga, 2004). Famili Heterorhabditidae mempunyai ciri morfologi yang berbeda dengan Steinernematidae. Kepala heterorhabditis berbetuk kerucut terpotong di bagian ujung atau agak membulat. Stoma pendek, diikuti corpus yang pendek berbentuk silinder. Isthmus dan basal bulb tidak mempunyai katup. Ekor betina meruncing dan panjang, sedangkan ekor jantan mempunyai bursa kopulatrik. Ada dan tidak adanya bursa ini merupakan salah satu karakter pembeda antara steinernema dan

heterorhabditis (Gambar 2). Ciri pembeda yang lain adalah cincin syaraf terletak di tengah-tengah di sekitar isthmus yang dapat terlihat lebih jelas dibanding cincin syaraf steinernema (Bunga, 2004).

a b

Gambar 2. Nematoda entomopatogen [a: genus Steinernema (Luc, 2012) dan b: genus Heterorhabditis (Anonymous, 2012)]

III. METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama, Sub. Laboratorium Nematologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, mulai April 2012 sampai September 2012. Contoh tanah diambil di daerah Malang dari lahan jagung Desa Ngijo, lahan Kedelai di Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Desa Kendalpayak dan lahan kubis Desa Bumiaji.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah sekop, meteran, mikroskop binokuler, mikroskop Olympus BX41, cawan petri ukuran diameter 9 cm dan ukuran diameter 14 cm, cawan penghitung nematoda, alat penghitung, pinset, kotak plastik ukuran 25 x 16 cm, karet, stoples kaca, stoples plastik, jarum pancing nematoda yang terbuat dari tusuk gigi yang ujungnya diruncingkan, pipet, gelas erlenmeyer, kamera, gelas objek, gelas penutup, fial film, kertas label, kantong plastik, pengaduk, timbangan dan gunting.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu kain kasa, kertas saring, larva *T. molitor*, larva *S. litura* sebanyak 270 ekor, polar (makanan ayam), umbi ubi kayu, daun jarak kepyar *Ricinus communis* Linnaeus (Euphorbiales: Euphorbiceae), contoh tanah, aquades, alkohol 70%, larutan fiksatif formal gliserin (formalin 40% 10 ml, gliserol 6 ml dan aquades 84 ml), gliserol, *metilen blue*, tali raffia dan cat kuku.

Metode Penelitian

3.1. Perbanyakan Larva *Tenebrio molitor*

Larva *T. molitor* atau ulat Hongkong berfungsi sebagai umpan untuk mendapatkan NEP di dalam tanah. Larva diperbanyak di Laboratorium Hama, Sub. Laboratorium Nematologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas

Pertanian Universitas Brawijaya Malang, dengan pakan polar dan umbi ubi kayu. Larva dimasukkan ke dalam wadah plastik dengan tutup wadah yang dilubangi dan ditutup dengan kain kasa (Gambar 3).

Gambar 3. Kotak perbanyakan *Tenebrio molitor*

3.2. Perbanyakan Larva *Spodoptera litura*

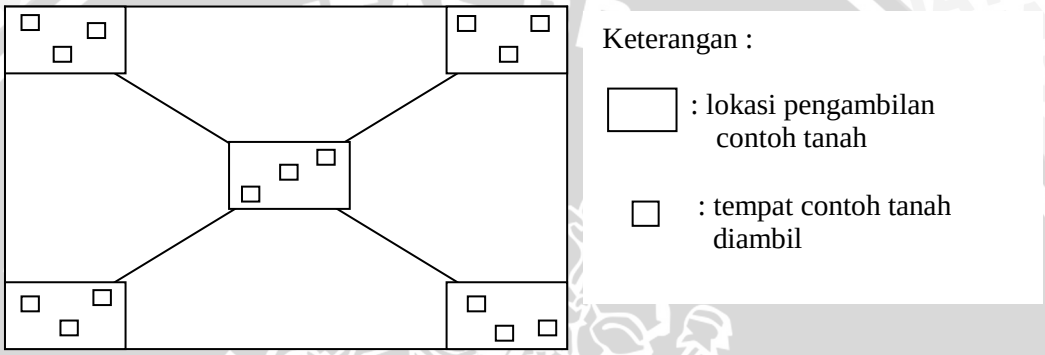
Larva *S. litura* berfungsi sebagai serangga uji untuk pengujian virulensi NEP. Larva didapatkan dari perbanyakan yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balitas). Larva yang digunakan yaitu larva instar 3. Larva dimasukkan ke dalam stoples plastik dengan tutup wadah yang dilubangi dan ditutup dengan kain kasa. Larva diberi pakan daun jarak kepyar yang diperoleh dari pekarangan di Jalan Sukarno Hatta Malang.

3.3. Pengambilan Contoh Tanah

Contoh tanah diambil dari lahan jagung di Desa Ngijo, lahan kedelai di lahan milik Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian Desa Kendalpayak dan lahan kubis di Desa Bumiaji.

Tanah diambil dari sekitar perakaran tanaman (rhizosfer). Setiap lahan ditetapkan 5 lokasi yang berukuran 2-4 m^2 yang ditetapkan secara diagonal (Gambar 4). Setiap lokasi ditetapkan 3 tempat secara acak dengan luas permukaan 100 cm^2. Pengambilan contoh tanah dilakukan sampai kedalaman 20 cm. Contoh tanah diambil menggunakan sekop. Sebelum digunakan sekop disterilkan dengan

alkohol 70%. Kemudian contoh tanah dicampur dan disimpan dalam kantung plastik yang berlubang-lubang untuk ventilasi (Baliadi, 2011). Contoh tanah pada tiap kantung plastik diberi label tanggal, komoditas dan tempat pengambilan. Sebelum dibawa ke laboratorium contoh tanah ditempatkan di tempat yang teduh dan ditambahkan air apabila kondisi tanah kering sehingga nematoda yang berada di dalam tanah tetap hidup. Contoh tanah dianalisis jenis tanah, tekstur, kandungan bahan organik, kelembaban dan pHnya di Laboratorium Kimia dan Fisika Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.



Gambar 4. Lahan pengambilan contoh tanah

3.4. Teknik Isolasi Nematoda Entomopatogen

NEP diisolasi menggunakan larva *T. molitor*. Contoh tanah lebih kurang 150 g dimasukkan ke dalam stoples kaca. Selanjutnya diinfestasikan 10 larva *T. molitor* (Gambar 5). Setelah 7 hari, larva yang mati kemudian dikeluarkan dan dibilas dengan aquades. Pemerangkapan NEP kemudian dilanjutkan dengan menggunakan metode ekstraksi *White trap*, yang diterangkan di bawah ini.

Gambar 5. Isolasi nematoda entomopatogen

Larva yang mati diletakkan di cawan petri kecil yang telah dilapisi kertas saring lembab. Kemudian cawan petri kecil diletakkan ke dalam cawan petri besar. Kemudian dituangi aquades ke dalam cawan petri besar hingga setengah dari cawan petri kecil. Kemudian cawan petri besar ditutup dengan penutup cawan petri. Diharapkan setelah 1-2 minggu nematoda bermigrasi ke dalam aquades (Gambar 6).

Gambar 6. Contoh *white trap* nematoda entomopatogen

Suspensi aquades NEP atau suspensi NEP yang didapatkan dari hasil *white trap* difiksasi menggunakan larutan fiksatif formal gliserin. Suspensi NEP dan larutan formal glyserin dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dengan perbandingan voleme 1 : 1. Kemudian campuran suspensi NEP dan larutan formal gliserin diaduk hingga homogen.

NEP yang didapat dari masing-masing komoditas dihitung kepadatannya menggunakan mikroskop binokuler, cawan hitung dan alat penghitung. Perhitungan populasi NEP yaitu volume suspensi NEP dijadikan 30 ml, bila lebih dibiarkan mengendap kemudian dikurangi volumenya. Setelah itu suspensi diletakkan ke dalam gelas ukur dan diaduk hingga homogen. Sub suspensi diambil sebanyak 0,25 ml, kemudian dituang ke dalam cawan hitung. Selanjutnya populasi dihitung menggunakan mikroskop dan diulang n kali. Setiap pengambilan sub contoh, suspensi yang telah dihitung dikembalikan lagi ke dalam gelas ukur. Populasi NEP kemudian dihitung menggunakan rumus berikut (Anonymous, 1997).

$$P = \frac{P1+P2+P3+\cdots+Pn}{n} \text{ x } X$$

$$X = \frac{\text{Volume suspensi (30 ml)}}{\text{Volume sub contoh (0,25 ml)}}$$

yang P adalah populasi NEP per 0,25 ml, P_1-P_n adalah sub contoh pengambilan NEP dengan n ulangan dan n adalah banyaknya ulangan pengambilan sub contoh NEP.

3.5. Pembuatan Preparat dan Identifikasi Nematoda Entomopatogen

Nematoda yang telah selesai dihitung kemudian diidentifikasi. Sebelum diidentifikasi dilakukan pembuatan preparat. Pembuatan preparat dilakukan dengan cara nematoda yang telah mati, diambil dengan cara dipancing menggunakan jarum pancing atau tusuk gigi yang telah diruncingkan ujungnya. Nematoda diatur letak posisinya di atas gelas objek yang telah ditetesi sedikit gliserol dan dicampur dengan *metilen blue* kemudian diaduk merata menggunakan kuas gambar atau alat pancing. Kemudian dengan cepat ditutup dengan gelas penutup dan di sekeliling ujungnya diolesi dengan cat kuku agar udara tidak dapat masuk, dengan demikian preparat nematoda dapat bertahan dalam jangka waktu yang cukup lama (Nadiah, 2008).

Identifikasi nematoda dilakukan dengan mengamati gejala pada larva *T. molitor* yang terserang nematoda dan pengamatan morfologi nematoda. Pengamatan gejala pada larva yaitu dengan mengamati perubahan warna kutikula larva. Pengamatan morfologi nematoda dilakukan menggunakan mikroskop Olympus BX41 untuk diidentifikasi sampai tingkat genus.

3.6. Uji Virulensi Nematoda Entomopatogen pada Larva *Spodoptera litura*

Isolat nematoda dari lahan jagung, kedelai dan kubis diinokulasikan dengan metode kertas saring. Isolat nematoda dengan konsentrasi 200 JI/1,5 ml akuades diinokulasikan ke dalam cawan petri tertutup yang dilapisi dua lapis kertas saring (Wagiman, Triman dan Astuti, 2003). Sebanyak 20 ekor larva *S. litura* dimasukkan ke dalam cawan tersebut, diberi pakan daun jarak dan dipelihara selama 4 hari. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan yakni asal isolat dan menggunakan delapan ulangan, sehingga didapatkan satuan percobaan. Pada perlakuan kontrol, larva *S. litura* diaplikasi dengan air steril. Parameter yang diamati adalah jumlah *S. litura* yang mati, waktu dan perubahan tampilan pada *S. litura*. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam selama 4 hari. Persentase mortalitas dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Mortalitas} = \frac{\sum \text{larva yang mati}}{\sum \text{larva uji}} \text{ x } 100\ \%$$

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Isolasi Menggunakan Larva *Tenebrio molitor*

Hasil isolasi NEP dengan menggunakan umpan larva *T. molitor* dari lahan yang di tanaman jagung, kedelai dan kubis didapatkan NEP dengan ciri-ciri larva *T. molitor* yang terparasit NEP mengalami penurunan aktivitas pergerakan, cenderung diam pada akhirnya larva akan mati dengan kulit berwarna coklat kehitaman (Gambar 7). Gejala tersebut sesuai dengan hasil penelitian Nugrohorini (2007) bahwa larva *S. litura* yang terinfeksi NEP *Steinernema* sp. tubuhnya tidak bergerak dan kaku serta terjadi perubahan warna pada kutikula. Gejala lain yang bisa diamati ialah larva *T. molitor* yang semula berwarna coklat muda kemudian berubah menjadi coklat karamel, struktur jaringan tubuh larva yang terinfeksi menjadi lunak, meskipun bentuk tubuh larva tetap utuh dan tidak berbau busuk. Menurut Boomare *et al.* (1996 *dalam* Nugrohorini, Wagiyana dan Mindari 2009) gejala larva yang terinfeksi *Steinernema* spp. berwarna kecoklatan atau karamel karena bakteri *Xenorhabdus* spp. yang bersimbiosis dengan nematoda *Steinernema* spp. menghasilkan enzim lekitinase, protease serta entomotoksin (eksotoksin dan endotoksin) yang mempengaruhi proses kematian hama. Bakteri *Xenorhabdus* spp. termasuk bakteri gram negatif, katalase negatif dan bioluminescens negatif sehingga gejala larva yang terinfeksi nematoda *Steinernema* spp. berwarna kecoklatan atau karamel.

Gambar 7. Larva T*enebrio molitor* yang terinfeksi nematoda entomopatogen

Hasil isolasi menggunakan larva *T. molitor* tidak semua larva mati disebabkan oleh NEP. Setelah dilakukan metode *white trap* pada hari kedua tumbuh jamur entomopatogen pada tubuh larva dengan koloni jamur berwarna putih dan hijau (Gambar 8). Larva yang mati akibat terinfeksi jamur dipisahkan dari *white trap*. Selain itu beberapa larva setelah di *white trap* mengeluarkan belatung dari dalam tubuhnya.

a b

Gambar 8. Larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi jamur entomopatogen (a: koloni jamur berwarna hijau dan b: koloni jamur berwarna putih)

Adanya jamur pada larva *T. molitor* tampaknya karena cara mengisolasi NEP dari tanah sama seperti cara mengisolasi jamur entomopatogen dari tanah, sehingga saat isolasi selain didapatkan NEP juga didapatkan jamur entomopatogen. Pada penelitian Nuraida dan Hasyim (2009) larva *T. molitor* digunakan untuk memerangkap jamur entomopatogen pada perakaran kubis. Jamur yang didapatkan yaitu genus Beauveria, Metharizium, Nomureaea, Paelomyces, Fusarium dan Aschersonia.

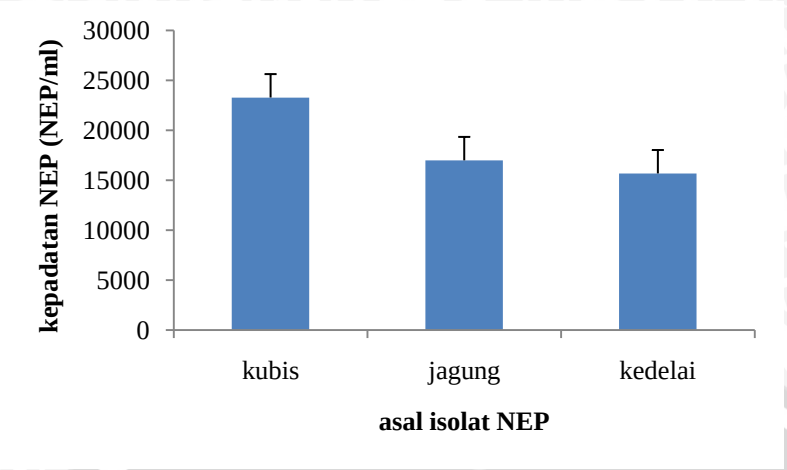
Adanya belatung pada larva *T. molitor* kemungkinan disebabkan karena pada saat larva ada di dalam tanah tubuh larva mengandung telur dari belatung, sehingga saat di *white trap* telur sudah menetas menjadi larva. Adanya kontaminasi dari jamur dan belatung tampaknya disebabkan karena menggunakan umpan serangga sebagai perangkap NEP. Hal ini menyebabkan gagalnya simbiosis antara bakteri simbion dengan NEP yang pada akhirnya perkembangan NEP di dalam tubuh larva *T. molitor* terhambat. Menurut Bunga (2004) terjadinya kontaminasi pada serangga umpan oleh organisme lain dapat

menyebabkan gagalnya perkembangbiakan NEP dan merupakan salah satu kekurangan penggunaan serangga perangkap untuk mendapatkan NEP.

Tidak semua larva *T. molitor* yang diinokulasikan ke dalam contoh tanah mati, pada beberapa contoh tanah larva tetap hidup. Hal ini tampaknya karena bakteri yang berada di dalam saluran pencernaan nematoda tidak mampu mematahkan kekebalan yang dimiliki oleh larva sehingga nematoda tidak mampu untuk berkembang dan bereproduksi di dalam tubuh larva. Hal ini di dukung oleh pernyataan Hazir *et al.* (2003) bahwa untuk melawan sel-sel bakteri, serangga dapat menggunakan protein anti bakteri atau fagositosis diikuti oleh pembentukan nodul untuk menonaktifkan nematoda, hemosit serangga mungkin membentuk kapsul (encapsulasi) diikuti dengan melanisasi. Serangga mempunyai ketahanan internal yang berupa senyawa kimia anti bakteri. Senyawa ini menyebabkan terjadinya pengkapsulan nematoda di dalam hemocoel, apabila nematoda tidak berhasil melawan ketahanan serangga inang. Apabila nematoda berhasil menghancurkan senyawa anti bakteri yang diproduksi oleh serangga, maka nematoda akan mencapai hemocoel, dapat berkembang menjadi dewasa dan bereproduksi di dalam hemocoel. Senyawa anti bakteri akan dihancurkan oleh enzim ekstraseluler yang dilepaskan oleh nematoda bersamaan dengan saat nematoda melakukan penetrasi ke dalam hemocoel serangga (Noviayanti dan Wahyuningsih, 2011).

4.2. Kepadatan Populasi Nematoda Entomopatogen

Dari hasil perhitungan didapatkan kepadatan populasi rata-rata NEP pada tiap lahan yaitu pada lahan kubis 23.264 NEP/0,25ml, pada lahan jagung 16.976 NEP/0,25ml dan pada lahan kedelai 15.664 NEP/0,25ml. Kepadatan populasi rata-rata tertinggi terdapat pada lahan kubis dan kepadatan populasi terendah terdapat pada lahan kedelai (Gambar 9).



Gambar 9. Rata-rata kepadatan populasi nematoda entomopatogen setiap 0,25 ml

Kepadatan rata-rata populasi NEP tertinggi terdapat pada lahan tanaman kubis, hal ini tampak karena tekstur tanah dan bahan organik tanah mendominasi lahan tersebut. Tanah pada tanaman kubis bertekstur lempung berdebu sehingga kondisi tanahnya remah. NEP lebih menyukai tanah yang bertekstur remah daripada tanah yang bertekstur liat hal ini disebabkan karena tanah yang bertekstur remah mempunyai pori-pori tanah yang berukuran besar dan mempunyai kandungan oksigen yang tinggi. Tanah yang remah memudahkan NEP untuk bergerak di dalam tanah dan kandungan oksigen yang tinggi mendukung untuk pernapasan NEP. Dengan demikian NEP dapat berkembang dan bereproduksi dengan baik di dalam tanah sehingga populasi NEP tinggi. Kepadatan rata-rata populasi NEP terendah terdapat pada lahan tanaman kedelai. Hal ini diduga karena tekstur tanah, kondisi tanah dan aplikasi jamur entomopatogen dalam mengendalikan OPT tanaman kedelai. Tanah pada tanaman kedelai bertekstur liat sehingga kondisi tanahnya padat. Tanah yang bertekstur liat mempunyai pori-pori tanah yang berukuran kecil dan mempunyai kandungan oksigen yang rendah sehingga membatasi pergerakan, perkembangan dan reproduksi NEP di dalam tanah, dengan demikian NEP yang didapatkan dari lahan tanaman kedelai sedikit. Pengaruh tekstur tanah terhadap keberadaan NEP dilaporkan oleh Nugrohorini (2010) bahwa nematoda tidak dapat hidup pada jenis tanah lempung berliat, karena pada jenis tanah ini tidak terdapat rongga sehingga oksigen tidak dapat masuk ke dalam tanah secara maksimal. Kaya (1990 *dalam*

Ennis 2009) menyatakan bahwa jenis dan tekstur tanah bermain penting dalam pergerakan dan penyebaran dari NEP. Pergerakan akan terganggu pada tanah liat yang berat dan gangguan pergerakan akan melemah dengan menurunnya persentase dari debu dan tanah liat. Hal ini juga didukung oleh Hazir *et al.* (2003) bahwa tekstur tanah mempengaruhi kelangsungan hidup JI, pada tanah liat nematoda sedikit ditemukan. Hal ini karena kadar oksigen yang rendah karena pori-pori tanah yang kecil. Oksigen merupakan faktor pembatas dalam tanah. Hubungan tingkat parasitasi serangga oleh NEP dengan kandungan fraksi pasir dan kadar air telah diteliti oleh Molyneux dan Bedding (1984). Mereka menyatakan bahwa peningkatan kandungan pasir berpengaruh positif terhadap mobilitas nematoda dan meningkatkan parasitasi serangga oleh nematoda. Kandungan air pada pasir berkorelasi positif dengan tingkat parasitasi NEP sedangkan pada tanah berlempung korelasinya negatif. Pada tanah yang liat penyebaran nematoda dan kelangsungan hidup nematoda menurun (Shapiro, McCoy, Fares, Obreza dan Dou, 2000).

Hasil analisis bahan organik pada lahan jagung adalah 1,11%, lahan kedelai 3,10% dan lahan kubis 6,10%. Kandungan bahan organik tertinggi terdapat pada lahan kubis sehingga NEP yang didapat juga banyak. Bahan organik berperan sebagai sumber makanan dari nematoda di dalam tanah. Menurut Eilenberg (2006) bahan organik adalah komponen esensial pada semua tanah dan umumnya berpengaruh terhadap populasi mikroba di dalam tanah. Penelitian ekologi menunjukkan bahwa nematoda pemakan bakteri populasinya meningkat dengan kandungan bahan organik. Nematoda hidup dengan cara memanfaatkan bahan organik atau memakan serangga-serangga atau organisme lain di dalam tanah (Imanadi, 2012).

Selain itu faktor yang berpengaruh pada kepadatan populasi NEP adalah derajat keasaman (pH) tanah. Pada lahan kubis dan jagung pH tanah 6,3. Pada lahan kedelai pH tanah 6,6. Pada penelitian ini besarnya pH ketiga lahan tidak berbeda jauh. pH optimum untuk proses biologi yang berhubungan dengan metabolisme tanaman dan organisme tanah berada pada kisaran 5,5-7,2. Pada pH 6,3 dan 6,6 diduga NEP dapat bereproduksi dan menginvasi inang lebih baik. Kung, Gaugler dan Kaya (1990) menyatakan bahwa kelangsungan hidup dan

patogenesitas steinernema sedikit menurun ketika pH tanah diturunkan dari 8 menjadi 4, tetapi kelangsungan hidup dan patogenesitas menurun drastis pada pH 10. Pada penelitian Djunaedi (2009) menunjukkan bahwa pH memberikan pengaruh yang nyata terhadap mortalitas NEP heterorhabditis. Pada pH 5 tingkat mortalitas mencapai 100%. pH optimum bagi NEP di lapang yaitu pH 8.

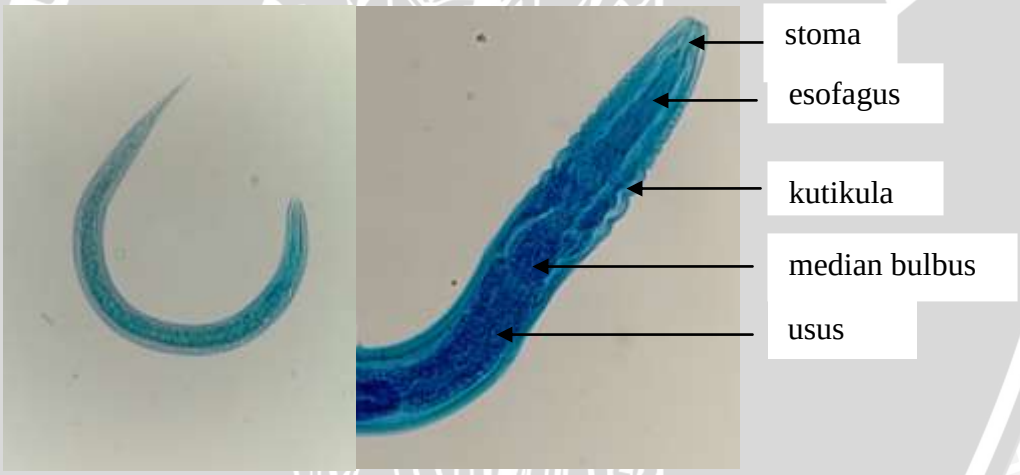
Dari hasil analisis laboratorium kelembaban tanah pada lahan kedelai 50%, lahan jagung 48% dan lahan kubis 51%. Kelembaban tanah adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas NEP. NEP memerlukan kelembaban tanah yang cukup untuk kelangsungan hidup dan pergerakannya. Kelembaban tanah yang rendah menyebabkan NEP mati karena NEP memerlukan lapisan selaput air untuk pergerakannya. Kelembaban merupakan faktor pembatas terhadap NEP heterorhabditis jadi semakin rendah tingkat kelembaban maka mortalitasnya semakin tinggi (Djunaedi, 2009). Akan tetapi kelembaban tanah yang terlalu tinggi dapat menyebabkan berkurangnya kadar oksigen di dalam tanah dan membatasi pergerakan nematoda. Tingkat kelembaban yang diperlukan nematoda bervariasi tergantung dari spesies nematoda dan jenis tanah (Shapiro, Gouge, Piggot dan Fife, 2006). Namun di dalam penelitian ini faktor dominan yang mempengaruhi NEP adalah tekstur tanah dari masing-masing lahan.

Selain itu aplikasi jamur entomopatogen pada lahan kedelai dapat mempengaruhi patogenesitas nematoda terhadap serangga inang. Hal ini karena adanya suatu kompetesi antara nematoda dengan jamur dalam mendapatkan sumber makanan. Adanya jamur entomopatogen menyebabkan NEP yang diperoleh lebih rendah karena NEP tidak mendapatkan inang untuk perkembangan dan reproduksinya. Hal ini dikemukakan oleh Barbercheck dan Kaya (1990) bahwa studi kompetisi interspesifik jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* Vuill (Ascomycota: Hypocreales) dan NEP menunjukkan bahwa keduanya tidak sinergis dalam inang yang sama. Interaksi antara NEP dan jamur entomopatogen dapat menjadi antagonis (Baur, Kaya, Tabashnik dan Chilcutt, 1998). Pengaruh langsung antagonisme antara NEP dan patogen lain juga disebabkan adanya kompetisi untuk mendapatkan sumber inang yang sama (Kaya, 2002). Umumya ketika NEP diaplikasikan pada saat yang sama dengan jamur entomopatogen,

maka nematoda akan bersaing dengan jamur dalam inang yang sama (Chen, Chen dan Dickson, 2004).

4.3. Identifikasi Nematoda Entomopatogen

Dari hasil identifikasi NEP secara morfologi, menunjukkan tubuh nematoda berbentuk seperti cacing, transparan, tubuh diselubungi oleh kutikula, mempunyai ekor yang runcing dan tidak memiliki stilet (Gambar 10a). Nematoda mempunyai sistem syaraf, sistem pencernaan dan sistem reproduksi. Sistem pencernaan terdiri dari stoma, esofagus yang terdiri atas corpus, isthmus dan basal bulb, usus, rektum dan anus (Gambar 10b). Ciri-ciri tersebut sesuai dengan Tanada dan Kaya (1993) bahwa pada umumnya tubuh nematoda berbentuk seperti cacing, transparan, panjang dan agak silindris, dan diselubungi oleh kutikula.

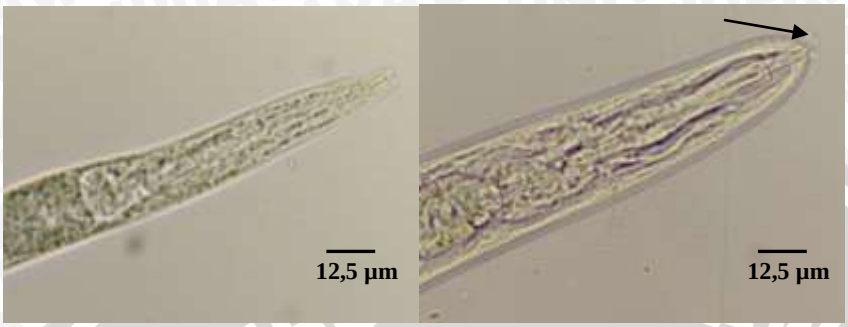


a b

Gambar 10. Nematoda entomopatogen (a: morfologi dan b: bagian anterior, perbesaran 400x)

Hasil pengamatan morfologi anterior NEP, didapatkan dua ciri-ciri yaitu kepala halus tidak bertanduk atau tidak berkait dan kepala mempunyai kait (Gambar 11). NEP yang mempunyai kepala halus dan tidak berkait adalah nematoda genus Steinernema. Hal ini sesuai dengan salah satu ciri-ciri morfologi NEP menurut Stock (1993) dan Nugrohorini (2010) bahwa genus Steinernema dewasa yaitu mempunyai kutikula yang halus, kepala bulat, mempunyai enam

bibir masing-masing berhubungan dengan sebuah papilla, amphid lateral tidak mencolok, stoma dangkal, tidak adanya kait pada bagian anterior dan mempunyai striasi longitudinal.



a b

Gambar 11. Nematoda entomopatogen (a: genus Steinernema tidak memiliki kait pada bagian anterior dan b: genus Heterorhabditis memiliki kait pada bagian anterior, perbesaran 400x)

Berdasarkan ciri tersebut maka dapat diidentifikasikan bahwa nematoda tersebut adalah genus Steinernema. Nematoda yang memiliki kait pada bagian anterior adalah nematoda genus Heterorhabditis. Hal ini sesuai dengan salah salah satu ciri-ciri NEP yang disebutkan oleh Stock, Griffin dan Burnell (2002) dan Zahroin (2011) yang menyebutkan bahwa ciri-ciri NEP genus Heterorhabditis dewasa yaitu kepala terpotong atau agak bulat, mempunyai enam bibir yang menonjol di sekitar bukaan mulut yang tiap bibir berhubungan dengan papilla, lubang amphid mencolok seperti pori-pori, stoma pendek dan lebar, cincin syaraf terletak di tengah isthmus dan lubang ekskretori terletak di atas basal bulb, selain itu kulit kepala heterorhabditis seperti tongkol jagung. Salah satu karakter JI pada heterorhabditis yaitu keberadaan kait pada bagian ujung kepala (Poinar dan Grewal, 2012).

Dari hasil identifikasi gejala pada kutikula larva *T. molitor* yang didapatkan dari lahan tanaman kubis, kutikula larva berwarna coklat kehitaman dan kutikula larva berwarna merah diketahui bahwa nematoda yang didapatkan adalah genus Steinernema dan Heterorhabditis. Sedangkan nematoda yang ada pada lahan

jagung dan lahan kedelai adalah genus Steinernema karena kutikula larva inang berubah menjadi coklat kehitaman (Gambar 12).

Gambar 12. Larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi nematoda entomopatogen genus Heterorhabditis ditunjukkan oleh tanda panah, sedangkan yang lain terinfeksi genus Steinernema

Hasil identifikasi pada larva *T. molitor* menunjukkan terdapat variasi gejala pada kutikula larva yaitu warna coklat kehitaman dan warna merah. Pada tanaman kubis larva yang terinfeksi NEP berwarna coklat yang lama-kelamaan akan menjadi hitam dan berwarna merah. Pada tanaman jagung dan kedelai seluruh larva yang terinfeksi NEP berwarna coklat kehitaman. Adanya perbedaan warna pada kutikula larva menunjukkan bahwa larva terserang nematoda genus tertentu (Tabel 1).

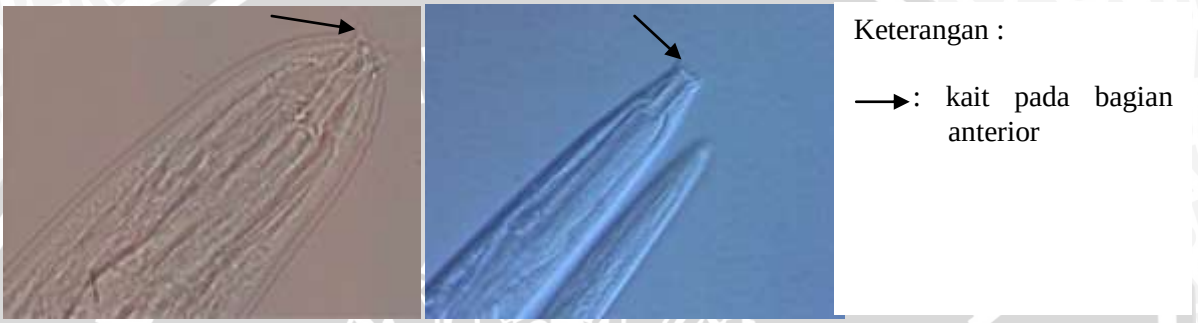
Tabel 1. Tampilan morfologi larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi nematoda entomopatogen berdasarkan warna pada tubuhnya

Komoditas	Genus	Warna kutikula larva *T. molitor*
Kubis	Steinernema	coklat kehitaman
	Heterorabditis	merah
Jagung	Steinernema	coklat kehitaman
Kedelai	Steinernema	coklat kehitaman

Rahayuningtias dan Nugrohorini (2010) menyatakan bahwa uji gejala pada serangga inang berfungsi untuk melihat gejala serangan oleh nematoda parasit serangga pada bagian kutikula yang ditunjukkkan dengan adanya perubahan warna. Hal ini disebabkan adanya reaksi bakteri simbion, *Xenorhabdus* spp. atau

Photorabdus spp. yang dikeluarkan oleh nematoda pada saat di dalam tubuh serangga inang. Apabila terinfeksi steinernema kutikula serangga inang akan berwarna hitam kecoklatan atau karamel dan jika terinfeksi heterorhabditis kutikula serangga inang akan berwarna merah muda.

NEP yang didapat dari lahan kubis mempunyai kesamaan dengan NEP yang ditemukan oleh Ferris (2008). Kesamaan ini terdapat pada bagian anterior, yaitu adanya kait pada anterior nematoda (Gambar 13).



a b

Gambar 13. Nematoda entomopatogen [a: nematoda dari lahan kubis dan b: nematoda yang ditemukan oleh Ferris (2008)]

4.4. Uji Virulensi Nematoda Entomopatogen pada Larva *Spodoptera litura*

Hasil uji virulensi NEP semua isolat dapat mematikan serangga uji, tetapi tingkat mortalitas antar isolat berbeda-beda. Larva *S. litura* instar 3 yang terinfeksi NEP mulai mati dalam waktu 24 jam setelah aplikasi (JSA). Kematian ini salah satunya didukung oleh pergerakan larva instar 3 yang aktif, sehingga memudahkan nematoda untuk menginfeksi. Seperti yang dikemukakan oleh Uhan (2008b) bahwa pergerakan tubuh larva *S. litura* instar 3 yang lebih aktif membantu nematoda dalam menemukan inang. Selain itu disebabkan *S. litura* tidak mampu mempertahankan diri dari serangan NEP. Nugrohorini dan Windriyati (2009) menyatakan bahwa kematian *S. litura* ditentukan oleh patogenesitas nematoda dan bakteri dan kemampuan *S. litura* untuk

mempertahankan diri melawan parasit yang menyerang. Mortalitas larva *S. litura* menunjukkan peningkatan pada 48 JSA, 72 JSA dan 96 JSA (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata persentase mortalitas kumulatif larva *Spodoptera litura*

Isolat	Mortalitas larva *S. litura* (%)			
	24 JSA	48 JSA	72 JSA	96 JSA
kubis	1.25 ± 2.31 ab	9.38 ± 4.96 b	23.12 ± 9.61 b	43.75 ± 12.17 b
jagung	6.88 ± 2.59 c	15.00 ± 4.63 b	27.50 ± 8.02 b	37.50 ± 18.13 b
kedelai	3.75 ± 3.54 b	13.13 ± 9.23 b	21.25 ± 10.61b	33.75 ± 11.57 b
kontrol	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	3.33 ± 2.89 a

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata pada uji Duncan taraf 5%

Pada pengamatan 24 JSA larva *S. litura* mulai mati karena terinfeksi NEP. Perlakuan NEP isolat kubis dan isolat kedelai tidak berpengaruh nyata terhadap kematian *S. litura*, namun berpengaruh nyata apabila dibandingkan dengan isolat jagung yang memiliki tingkat mortalitas lebih tinggi. Tingginya mortalitas *S. litura* isolat jagung diduga karena adanya perbedaan spesies yang menginfeksi larva *S. litura*. Hal ini dilaporkan oleh Ernіningtyas (2006) dan Zahroin (2012) bahwa infeksi *Steinernema* sp. mengakibatkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan infeksi *Heterorhabditis* sp. Hal ini karena bakteri simbion *Steinernema* sp. memiliki senyawa racun yang efektif untuk menginfeksi dan evasi serangga inang.

Pada pengamatan 48 JSA dan 72 JSA isolat kubis, jagung dan kedelai menunjukkan peningkatan mortalitas *S. litura*. Namun perlakuan NEP antar ketiga isolat tidak berpengaruh nyata terhadap kematian *S. litura*. Perlakuan NEP akan berpengaruh nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan mortalitas *S. litura* diduga karena bakteri yang ada di dalam tubuh nematoda telah dilepaskan dan berkembang biak dengan cepat di dalam tubuh larva. Hal ini menyebabkan meningkatnya mortalitas *S. litura*. Poinar dan Grewal (2012)

menyatakan bahwa ketika JI mencapai hemocoel serangga inang, nematoda akan melepaskan bakteri yang akan berkembang biak dengan cepat di dalam hemolimfa inang. Biasanya serangga akan mati dalam waktu 2 hari, nematoda akan berkembang dan bereproduksi di dalam tubuh inang, makan bakteri simbion dan mendegradasi jaringan tubuh serangga inang.

Pada pengamatan 96 JSA pada kontrol terdapat kematian serangga uji. Isolat kubis, jagung dan kedelai menunjukkan peningkatan mortalitas, akan tetapi perlakuan NEP yang diberikan tidak berpengaruh nyata terhadap kematian *S. litura*. Namun berpengaruh nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Artinya ketiga isolat yaitu kubis, jagung dan kedelai memiliki tingkat virulensi yang sama. Sulistyanto (1999 *dalam* Nugrohorini 2012) menyatakan mekanisme patogenesitas NEP secara umum melalui tahap invasi, evasi dan toksikogenesis. Invasi adalah proses terjadinya penetrasi NEP ke dalam tubuh serangga inang melalui kutikula dan lubang-lubang alami, seperti mulut, anus, spirakel dan stigma. Tahap selanjutnya adalah evasi yaitu tahap NEP mengeluarkan bakteri simbion ke dalam tubuh serangga inang. Tahap terakhir adalah toksikogenesis yaitu tahapan bakteri simbion menghasilkan toksin sehingga dapat menyebabkan kematian pada serangga inang.

Patogenesitas NEP terdapat pada bakteri simbionnya, yaitu dengan diproduksinya toksin intraseluler dan ekstraseluler yang dihasilkan bakteri dalam waktu 24-48 jam, bakteri bergantung pada kemampuan nematoda untuk masuk ke dalam serangga inang, juga kemampuan bakteri untuk memperbanyak diri di dalam hemolimfa serta kemampuannya untuk melawan mekanisme pertahanan serangga (Nasahi, 2010). Selain itu patogenesitas NEP juga dipengaruhi oleh lingkungan nematoda dan inang nematoda. Ernіningtyas (2006) menyatakan bahwa patogenesitas NEP dipengaruhi oleh enzim, pH, suhu dalam tubuh serangga dan suhu lingkungan. Suhu lingkungan yang tidak menguntungkan akan menyebabkan kematian pada nematoda, pH dalam tubuh serangga yang kurang menguntungkan akan menghambat perkembangbiakan bakteri simbion sehingga akan memperlambat kematian serangga inang. Masing-masing spesies NEP memiliki hubungan yang khas dengan satu jenis bakteri *Steinernema* spp. bersimbiosis dengan *Xenorhabdus* spp. dan *Heterorhabditis* sp. bersimbiosis

dengan *Photorhabdus* spp. namun bakteri tersebut dapat bersimbiosis dengan lebih dari satu jenis nematoda (Erniningtyas, 2006).

Fungsi bakteri simbion bagi NEP adalah dapat membunuh inang dengan cepat 24-48 jam, membuat suasana lingkungan yang cocok bagi perkembangan NEP dengan memproduksi antibiotik yang dapat menghambat mikroorganisme sekunder dan menyediakan sumber nutrisi yang siap pakai untuk NEP (Sucipto, 2008). Antibiotik yang dikeluarkan bakteri untuk membunuh inang yaitu fosfolipase, lipase, protease dan beberapa antibiotik, lipopolisakarida (Akhdiya, Pratiwi dan Samudra, 2007), xenorhabdins, xenocaumarins, hydroxystilbenes, indole derivatives, dan anthhraquinone derivates (Webster *et al*., 2002 *dalam* Poinar dan Grewal, 2012).

Kemampuan bakteri Photorhabdus yang bersimbiosis dengan NEP heterorhabditis dalam mengendalikan hama telah digunakan sebagai bahan perakitan tanaman transgenik. Hal ini dilaporkan oleh Liu *et al*. (2003 *dalam* Akhdiya, Pratiwi dan Samudra 2007) bahwa integrasi gen toksin insektisidal bakteri *Photorabdus luminescens* Poinar dan Thomas (Enterobacteriales: Enterobacteria) telah berhasil dilakukan pada tanaman *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Capparales: Brassicaceae). Ekspresi gen ini dapat melindungi tanaman transgenik tersebut dari larva *Manduca sexta* Linnaeus (Lepidoptera: Sphingidae).

Larva *S. litura* yang terinfeksi NEP menunjukkan gejala perubahan pergerakan dan warna kutikula. Semula larva bergerak aktif namun lama-kelamaan gerakan larva menjadi lambat, warna kutikula larva yang semula berwarna hijau berubah menjadi coklat kehitaman dan tubuhnya menjadi lembek (Gambar 14). Apabila tubuh larva ditekan dengan tangan maka akan mudah hancur dan mengeluarkan cairan yang berbau busuk. Gejala perubahan pada larva *S. litura* yang terinfeksi NEP telah dilaporkan oleh Djamilah, Nadrawati dan Rosi (2010) bahwa *S. litura* yang terinfeksi steinernema menunjukkan beberapa gejala yaitu gerakan larva menjadi tidak aktif atau malas. Bila disentuh larva menunjukkan respon yang berbeda dengan larva yang sehat, larva menjadi lemas dan lama-kelamaan tubuh larva akan semakin lembek dan terjadi perubahan warna, semakin lama larva menghitam diseluruh tubuhnya. Bila ditekan tubuh larva akan mudah pecah dan mengeluarkan cairan putih kekuningan berbau busuk.

Gambar 14. Larva *Spodoptera litura* yang terinfeksi nematoda entomopatogen

Perubahan warna yang terjadi pada serangga diakibatkan karena adanya simbiosis mutualisme antara nematoda dengan bakteri yang menghasilkan eksotoksin (Arinana, 2002).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Hasil ekstraksi nematoda menggunakan larva *T. molitor* didapatkan nematoda entomopatogen genus Steinernema dan Heterorhabditis dari lahan kubis dan genus Steinernema dari lahan jagung dan kedelai.
2. Kepadatan populasi rata-rata nematoda entomopatogen pada lahan kubis, jagung dan kedelai dipengaruhi oleh tekstur tanah pada ketiga lahan. Kepadatan tertinggi terdapat pada lahan yang ditanami tanaman kubis dan kepadatan terendah terdapat pada lahan yang ditanami tanaman kedelai.
3. Hasil uji virulensi nematoda entomopatogen terhadap larva *S. litura* menunjukkan bahwa isolat dari lahan yang ditanami jagung, kedelai dan kubis mempunyai tingkat virulensi yang sama.

5.2. Saran

Pada penelitian ini menggunakan umpan serangga untuk mendapatkan NEP dari dalam tanah. Hasil yang didapatkan selain NEP adalah adanya kontaminasi jamur patogen serangga dan belatung sehingga disarankan menggunakan umpan selain serangga untuk mendapatkan NEP di dalam tanah.

Selain itu, pada penelitian ini konsentrasi NEP yang digunakan untuk perlakuan pada larva *S. litura* hanya 200 JI/1,5 ml. Hasil yang didapatkan 96 jam setelah aplikasi, mortalitas larva *S. litura* belum mencapai 50% (LC 50), sehingga disarankan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh berbagai tingkat konsentrasi NEP di atas konsentrasi 200 JI/1,5 ml.

DAFTAR PUSTAKA

Adnan, A.M. dan Burhanuddin. 2007. Bioecology of entomopathogenic nematode (Steinernematidae: Rhabditida). Prosoding seminar ilmiah dan pertemuan tahunan PEI dan PFI XVIII Sulawesi Selatan.

Adnan, A.M., Talanca, A.H. 2005. Benefit of entomopathogenic nematode (family steinernematidae) as a biological control. Prosiding seminar ilmiah dan pertemuan tahunan PEI dan PFI XVI Komda Sulawesi Selatan.

Akhdiya, A., Pratiwi, E., Samudra, I.M. 2007. Protein toksin insektisidal dari bakteri pathogen serangga *Photorhabdus luminescens* HJ. Jurnal Berita Biologi 8 (6): 481-487.

Anonymous. 1997. Teknik Ekstraksi dan Penghitungan Populasi Nematoda Parasit Pada Contoh Tanah dan Akar. Balai Proteksi Tanaman Perkebunan Jawa Timur.

Anonymous. 2012. Larvanem biological pest control. Entocare C.V. Waginengen. http://www.entocare.nl/english/products_beetles.htm.

Arinana. 2002. Keefektifan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. dan *Heterorhabditis indica* sebagai agen hayati pengendali rayap tanah *Coptotermes curvignathus* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Arthur, S. 2012. Entomopathogenic nematodes. University of Florida. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic_nematode.htm.

Baliadi, Y. 2011. Pathogenecity, development and reproduction of the entomopathogenic nematode *Steinernema* sp., in mealworm *Tenebrio molitor*. Jurnal Agrivita 33 (3): 240-251.

Barbercheck, M.E., Kaya, H.K. 1990. Interactions between *Beauveria bassiana* and the entomogenous nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis.* Jurnal of Invertebrata Pathology 55: 225-234.

Baur, M., Kaya, H.K., Tabashnik, B.E., Chilcutt, C.F. 1998. Suppression of Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) with an Entomopathogenic Nematode (Rhabditida: Steinernematidae) and *Bacillus thuringiensis* Berliner. Jurnal Economic Entomology 91 (5): 1089-1095.

Bunga, J.A. 2004. Eksplorasi nematoda entomopatogen dari Kupang, Nusa Tenggara Timur dan Pengujian Keefektifannya terhadap *Cylas formicarius*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Chen, Z.X., Chen, S.Y., Dickson, D.W. 2004. Nematode management and utilization. CABI publishing pp.1103-1104.

DeBach, P. 1964. Biological control of insect pests and weeds. Chapman and hall, Ltd.

Djamilah, Nadrawati dan Rosi, M. 2010. Isolasi Steinernema dari tanah pertanaman jagung di Bengkulu bagian selatan dan patogenesitasnya terhadap *Spodoptera litura* F. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia 12 (1): 34-39.

Djunaedi, A. 2009. Studi karakter ekologi nematoda entomopatogen Heterorhabditis isolat lokal Madura. Jurnal Embrio 6 (1): 1-12.

Ernіningtyas, T. 2006. Efikasi nematoda entomopatogen *Heterorhabditis* sp. dan *Steinernema* sp. Isolat Bogor sebagai bioinsektisida terhadapa rayap tanah *Coptothermes curvignathus* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Eilenberg, J. 2006. An ecological and societal approach to biological control. Springer. hal. 172-174.

Ennis, D. 2009. Behavioural interaction between the large pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Coleoptera: Curculionidae), and entomopathogenic nematodes. Tesis. University Nui Maynooth. Ireland.

Ferris, H. 2008. Family Rhabditidae. http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/taxadata/Rhabidae.htm.

Georgis, R., Gaugler, R. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. Jurnal Economic Entomology 84: 713-720.

Greenwood, C., Rebek, E. 2009. Detection, Conservation, and Augmentation of Naturally Occuring Beneficial Nematodes for Natural Pest Suppression. Oklahoma cooperativeextension service.

Hazir, S., Kaya, H.K., Stock, S.P., Keskin, N. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Jurnal Biologi 27: 181-202.

Imanadi, L. 2012. Kajian pengendalian hama dengan nematoda entomopatogen (*Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp.). Balai besar karantina pertanian Surabaya. Surabaya.

Korlina, E. 2011. Pengembangan dan pemanfaatan agens pengendali hayati (APH) terhadap hama dan penyakit tanaman. Jurnal Suara Perlindungan Tanaman 1 (2): 8-13.

Kung, S., Gaugler, R. 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. Jurnal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Kung, S.P., Gaugler, R., and Kaya, H.K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. Jurnal Nematology 22 (4): 440-445.

Lewis, E. 2001. Behavioural Biology. Entomopathogenic Nematology. R. Gaugler (editor). Cabi publishing. hal. 205-273.

Luc, D.D. 2012. Crop pest biocontrol : Insect parasitic nematodes. http://allplantprotection.blogspot.com/2012/04/insect-parasitic nematodes.html.

Millar, L.C., Barbercheck, M.E. 2002. Effects of tillage practices on entomopathogenic nematodes in a corn agroecosystem. Jurnal Biological Control 25: 1-11.

Molyneux, A.S., Bedding, R.A. 1984. Influence of soil texture and moisture on the infectivity of *Heterorhabditis* spp. D1 and *Steinernema Glaseri* for larvae of Blowfly, *Lucilia cuprina*. Jurnal Nematologica 30 (3): 358-365.

Nadiah, A. 2008. Inventarisasi nematoda akar dan tanah pada pertanaman kopi PTPN XII di Kebun Bangelan, Kabupaten Malang. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.

Nasahi, C. 2010. Peran mikroba dalam pertanian organik. Makalah .Universitas Padjajaran. Bandung.

Nguyen, K.B. 2011. Species of Steinernema dan Heterorabditis. Entomology dan nematology department university of Florida.

Noviayanti, P., Wahyuningsih, P. 2011. Mekanisme membunuh nematoda entomopatogenik pada serangga hama. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Nugrohorini, B.A. 2012. Pengaruh ekstrak biji mimba dan mahoni terhadap mortalitas *Spodoptera litura* di Laboratorium. http://ditjenbun.deptan.go.id/bbp2tpsur/images/stories/proteksi/spodoptera%20litura.pdf.

Nugrohorini, Windriyati, W. 2009. Produksi biopestisida nematoda entomopatogen isolat lokal dengan teknik *in vitro* sebagai pengendali hama tanaman kedelai *Spodoptera* sp. Naskah seminar nasional "membangun citra dan daya saing fakultas pertanian melalui pengembangan teknologi pertanian" di Surabaya 9 Desember 2009.

Nugrohorini, Wagiyana, Mindari, W. 2009. Pengembangan dan pemanfaatan agens hayati (nematoda entomopatogen) pada budidaya sayuran di Jawa Timur. Universitas Pembangunan nasional Veteran Jawa Timur. Surabaya.

Nugrohorini. 2007. Uji toksisitas nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungangung) pada hama tanaman sawi (*Brassica juncea*) di laboratorium. Jurnal Pertanian Mapeta 10 (1): 1-6 .

Nugrohorini. 2010. Eksplorasi nematoda entomopatogen pada beberapa wilayah di Jawa Timur. Jurnal Pertanian Mapeta XII (2): 72-144.

Nugrohorini. 2012. Nematoda entomopatogen sebagai biokontrol hama tanaman. monograf. UPN Press Surabaya.

Nuraida, Hasyim, A. 2009. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi jamur entomopatogen dari rizosfir pertanaman kubis. Jurnal Hortikultura 19 (4): 419-432.

Poinar, G.O., Grewal, P.S. 2012. History of entomopathogenic nematology. Jurnal Nematology 44 (2): 153-161.

Rahayuningtias, S., Nugrohorini. 2010. Aplikasi teknologi produksi massal nematoda entomopatogen sebagai biopestisida hama wereng pada kelompok tani padi di kecamatan Rembang Kabupaten Pasuruan. Seminar hasil penelitian dan pengabdian kepada masyarakat LPPM-UPN Jawa timur.

Shapiro, D.I., Gouge, D.H., Piggot, S.J., Fife, J.P. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Jurnal Biological Control 38: 124-133.

Shapiro, D.I., McCoy, C.W., Fares, A., Obreza, T., Dou, H. 2000. Effect of soil type on virulence and persistence of entomopathogenic nematodes in relation to control of *Diaprepes abbreviates* (Coleoptera: Curculionidae). Jurnal Environmental Entomology 29 (5): 1083-1087.

Smart, G. C. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. Journal of Nematology 27: 529-534.

Stock, S.P. 1993. Description of an argentinian strain of *Steinernerma feltiae* (Filipjev, 1934) (Nematoda: Steinernematidae). Jurnal Nematol.medit. 21: 279-283.

Stock, S.P., Griffin, C.T., Burnell, A.M. 2002. Morphological characterization of three isolates of *Heterorhabditis* Poinar 1976 from the 'Irish group' (Nematoda:Rhabditidae:Heterorhabditidae) and additional evidence supporting their recognition as a distinct species, *H.downesi* n.sp. Jurnal Systematic parasitology 51: 95-106.

Subagiya. 2005. Pengendalian hayati dengan nematoda entomogenus *Steinernema carpocapsae* (All) strain lokal terhadap hama *Crocidolomia binotalis* Zell di Tawangmangu. Jurnal Agrosains 7 (1): 34-9.

Sucipto. 2008. Persistensi nematoda entomopatogen *Heterorhabditis* (all strain) isolat lokal Madura terhadap pengendalian rayap tanah *Macrotermes* sp.(Isoptera:Termitidae) di lapang. Jurnal Embrio 5 (2): 193-208.

Tanada, Y., Kaya, H.K. 1993. Insect pathology. Gulf professional publishing. Academic press. New York. hal. 459-483.

Uhan, T.S. 2008a. Kemangkusan nematoda entomopathogen *Steinernema carpocapsae* terhadap hama penggerek umbi/daun (*Phthorimae operculella* Zell) kentang. Jurnal Hortikultura 18 (1): 46-54.

Uhan, T.S. 2008b. Bioefikasi beberapa isolat nematoda entomopatogenik *Steinernema* spp. terhadap *Spodoptera litura* Fabricius pada tanaman cabai di rumah kaca. Jurnal Hortikultura 18 (2): 175-184.

Wagiman, F.X., Triman, B. dan Astuti, R.S. 2003. Keefektifan *Steinernema* spp. Terhadap *Spodoptera exigua*. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia 9: 22-27.

Zahroin, E. 2011. Teknik isolasi dan identifikasi nematoda entomopatogen. http://ditjenbun.deptan.go.id/bbp2tpsur/images/stories/proteksi/web5.pdf.

Zahroin, E. 2012. Uji toksisitas nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat Tulungagung terhadap *Spodoptera litura* F. http://ditjenbun.deptan.go.id/bbp2tpsur/images/stories/proteksi/web%2014.pdf.

Tabel lampiran 1. Anova mortalitas larva *S. litura* 24 jam setelah aplikasi

SK	db	JK	KT	F.Hit	P Value
Perlakuan	3	221,094	73,698	12,01	<001
Galat	28	171,875	6,138		

Tabel lampiran 2. Anova mortalitas larva *S. litura* 48 jam setelah aplikasi

SK	db	JK	KT	F.Hit	P Value
Perlakuan	3	1068,75	356,25	10,86	<001
Galat	28	918,75	32,81		

Tabel lampiran 3. Anova mortalitas larva *S. litura* 72 jam setelah aplikasi

SK	db	JK	KT	F.Hit	P Value
Perlakuan	3	3608,59	1202,86	17,87	<001
Galat	28	1884,38	67,3		

Tabel lampiran 4. Anova mortalitas larva *S. litura* 96 jam setelah aplikasi

SK	db	JK	KT	F.Hit	P Value
Perlakuan	3	7758,3	2586,1	16,94	<001
Galat	28	4275	152,7		

Tabel lampiran 5. Analisis kadar air dan tekstur contoh tanah (tabel asli terlampir)

No	Kode		kadar air aktual	porositas (%)	pasir	debu	liat	kelas tekstur
			$g.g^{-1}$			%		
1	Kedelai	K. Payak	0,50		28	26	46	liat
2	Jagung	Ngijo	0,48		16	37	47	liat
3	Kubis	Bumiaji	0,51		38	57	4	lemp. berdebu

Tabel lampiran 6. Analisis pH dan bahan organik contoh tanah (tabel asli terlampir)

No. Lab	Kode	pH 1 : 1		C. organik	bahan organik
		H_2O	KCl 1N	……..%.....	
TNH 669	Jagung	6,3	5,9	0,64	1,11
TNH 670	Kedelai	6,6	5,9	1,79	3,10
TNH 671	Kubis	6,3	6,1	3,52	6,10