

JURNAL
**HAMA DAN PENYAKIT
TUMBUHAN TROPIKA**
Journal of Tropical Plant Pests and Diseases

- | | |
|--|--|
| <p>Karakterisasi Fitoplasma Penyebab Penyakit Layu Kelapa di Pulau Derawan Menggunakan RFLP <i>in Silico</i></p> <p>Kompatibilitas Cendawan <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschn.) Sorokin dengan Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> sp.</p> <p>Kerapatan dan Viabilitas Konidia <i>Beauveria bassiana</i> dan <i>Metarhizium anisopliae</i> pada Media <i>in Vitro</i> pH Rendah</p> <p>Respon Genotipe Kedelai terhadap Hama Pengisap Polong <i>Aiptortus linearis</i> Fabricius</p> <p>Vegetation Diversity and Intensity of Plant Pests and Diseases in Two Polyculture Systems in Tanggamus District</p> <p>Karakterisasi Molekuler nucleopolyhedrovirus (NPV) <i>Hyposidra latacea</i> Wlk. di Perkebunan Teh Gunung Mas Bogor</p> <p>Introduksi Formula Pupuk Hayati Berbahan Aktif <i>Pseudomonas Fluorescent</i> Isolat PF-122 untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Cabai di Lapangan</p> <p>Kesintasan Beberapa Jamur Antagonis pada Buah Cabai dan Potensinya dalam Menekan Penyakit Antraknosa yang Disebabkan oleh <i>Colletotrichum gloeosporioides</i></p> <p>Aktivitas Siderofor <i>Bacillus subtilis</i> sebagai Pemacu Pertumbuhan dan Pengendali Patogen Tanaman Terung</p> <p>Pengaruh Fraksi Ekstrak Daun Pacar Cina (<i>Aegle odorata</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>Colletotrichum capsici</i> Penyebab Penyakit Antraknosa pada Cabai (<i>Capsicum annuum</i> L.) secara <i>in Vitro</i></p> <p>Aktivitas Insektisida Ekstrak <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A Gray (Asteraceae) terhadap Ulat Daun Kubis <i>Plutella xylostella</i> (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae)</p> | <ul style="list-style-type: none"> ■ Agus Eko Prasetyo, Kikih Hamzah Mutaqin, & Giyanto ■ Imron Rosyidi, Hari Purnomo, Nanang Tri Haryadi, & Mohammad Hoesain ■ Lilian Rizkia, Siti Herlinda, Suwandi Chandra Irsan, Susilawati, & Benyamin Lakitan ■ Marida Senti Yudha Ika Bayu, Ayda Krisnawati, & M. Muchlisah Adie ■ Sudiono, Surjono Hadi Sutjahyo, Nurheni Wijayanto, Purnama Hidayat, & Rachman Kurniawan ■ R. Yayi Munara Kusumah, Lestia Revli, & Fitrianingrum Kurniaswati ■ Yenny Wuryandari, Sri Wiyatiningsih, & Maroeto ■ Nurballis, Martinus, & Rizka Naipinta ■ Nur Prihatiningsih, Heru Adi Djatmiko, & Puji Lestari ■ Etri, Trik Nur Aeny, Tri Maryono, & Eko Ronaldi ■ Etrin Firmansyah, Dadang, & Ruli Anwar |
|--|--|

KOMPATIBILITAS CENDAWAN *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCHN.) SOROKIN DENGAN NEMATODA ENTOMOPATOGEN *STEINERNEMA* SP.

Imron Rosyidi, Hari Purnomo, Nanang Tri Haryadi, & Mohammad Hoesain

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121
E-mail: haripurnomo.faperta@unej.ac.id

ABSTRACT

Compatibility *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin with entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin and entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. can be used as biological control of insect pests. The objective of this research was to identify compatibility between fungus *M. anisopliae* with entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. This research was conducted using a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments and repeated 5 times. The treatment used was *M. anisopliae* isolates Jombang 1 with *Steinernema* sp. (M1), *M. anisopliae* Jombang 2 with *Steinernema* sp. (M2), *M. anisopliae* isolates Kediri with *Steinernema* sp. (M3), *M. anisopliae* isolates Bondowoso with *Steinernema* sp. (M4), and *M. anisopliae* isolates Banyuwangi with *Steinernema* sp. (M5). Based on this research result, compatibility between the fungus *M. anisopliae* with entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. was antagonistic. This occurs due to the symbiotic bacteria *Xenorhabdus* sp. that produced compounds antimycotic and capable to inhibit the growth of fungus *M. anisopliae*.

Key words: compatibility, *M. anisopliae*, *Steinernema* sp., *Xenorhabdus* sp.

ABSTRAK

Kompatibilitas cendawan *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin dengan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin dan nematoda patogen serangga *Steinernema* sp. dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati serangga hama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kompatibilitas antara cendawan *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap lima perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu *M. anisopliae* isolat Jombang 1 dengan *Steinernema* sp. (M1), *M. anisopliae* Jombang 2 dengan *Steinernema* sp. (M2), *M. anisopliae* isolat Kediri dengan *Steinernema* sp. (M3), *M. anisopliae* isolat Bondowoso dengan *Steinernema* sp. (M4), dan *M. anisopliae* isolat Banyuwangi dengan *Steinernema* sp. (M5). Hasil penelitian menunjukkan kompatibilitas antara cendawan *M. anisopliae* dengan nematoda *Steinernema* sp. bersifat antagonis. Hal ini terjadi dikarenakan adanya bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. yang menghasilkan senyawa antimikotik dan mampu menghambat pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*.

Kata kunci: kompatibilitas, *M. anisopliae*, *Steinernema* sp., *Xenorhabdus* sp.

PENDAHULUAN

Aplikasi kombinasi agens pengendali hayati (APH) ditujukan untuk meningkatkan efektivitas pengendalian, dan sebagai upaya untuk mengurangi penggunaan pestisida dengan ditemukannya metode pengendalian yang lebih ekonomis dan efisien (Xu *et al.*, 2011). Ansari *et al.* (2008) mengombinasikan *Metarhizium anisopliae* dengan *Steinernema* sp. dalam mengendalikan hama *Otiorhynchus sulcatus* dengan memberikan mortalitas lebih dari 93% pada uji skala laboratorium dan lebih dari 83% pada uji skala lapang.

Hartati (2013) menyebutkan bahwa penggunaan APH seperti cendawan entomopatogen *M. anisopliae* dan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. banyak dilakukan untuk mengendalikan uret *Lepidiota stigma* pada tanaman tebu. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alfarizi (2014) mengenai pengendalian uret menggunakan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. dengan cendawan entomopatogen *M. anisopliae* di laboratorium, menunjukkan perlakuan aplikasi kombinasi *Steinernema* sp. dengan *M. anisopliae* memberikan mortalitas uret sebesar 92% pada pengamatan tiga minggu setelah aplikasi kombinasi *Steinernema* sp. terlebih dahulu dan 48 jam berikutnya

aplikasi *M. anisopliae*, sedangkan pada pengamatan tiga minggu setelah aplikasi kombinasi *M. anisopliae* terlebih dahulu dan 48 jam berikutnya aplikasi *Steinernema* sp. memberikan mortalitas uret sebesar 84%.

Menurut Alfarizi (2014), gejala kematian uret yang ditunjukkan pada perlakuan kombinasi *Steinernema* sp. dengan *M. anisopliae* sama dengan gejala kematian uret yang disebabkan oleh aplikasi *Steinernema* sp. secara tunggal dan tidak ditemukan pertumbuhan miselia *M. anisopliae* pada tubuh uret yang mati pada perlakuan kombinasi *Steinernema* sp. dengan *M. anisopliae*. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan kombinasi cendawan entomopatogen *M. anisopliae* dengan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. untuk mengetahui kompatibilitas antara cendawan entomopatogen *M. anisopliae* dan nematoda entomopatogen *Steinernema* sp.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Januari sampai Agustus 2016.

Peremajaan Isolat *M. anisopliae*. Peremajaan dilakukan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Secara aseptis koloni cendawan diambil dan digoreskan secara *strike plate* pada media PDA dan diinkubasi pada ruang gelap dengan suhu rata-rata 28 °C selama kurang lebih 15 hari sampai cendawan entomopatogen *M. anisopliae* tumbuh memenuhi media. Isolat cendawan *M. anisopliae* yang digunakan yaitu isolat Jombang 1, Jombang 2, Kediri, Banyuwangi dan Bondowoso. Semua isolat *M. anisopliae* diisolasi dari serangga inang *Lepidoptera stigma*.

Penyediaan Suspensi Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. Nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. diperbanyak dengan cara *in vivo* menggunakan metode perangkap White (*White trap*) kemudian diinkubasi selama 7-15 hari. *Tenebrio molitor* yang mati terinfeksi *Steinernema* sp. dipanen dan populasi nematoda entomopatogen dihitung pada Mikroskop (Olympus SZ51, Tokyo Jepang) dalam *Counting dish*.

Pembuatan Media NBTA (*Nutrient Bromothymol Blue Agar*). Sebanyak 23 g *NA Nutrient Agar* (Difco™ Becton Dickinson and Company, USA) dan 0,025 g *Bromothymol Blue* (ACS Merck, German) dicampur

dengan 1 L air destilasi steril, dan dimasak 30 menit lalu diautoklaf (Wisd Daihan, Korea) 15 menit suhu 121 °C bertekanan 1 atm, setelah steril didiamkan sampai dingin dan ditambahkan 0,04 g TTC (*Triphenyl Tetrazolium Chloride*) (Sigma- Aldrich, Austria USA) yang sudah disterilisasi menggunakan *microdisk* (Kurabo, Cina).

Isolasi Bakteri Symbion *Xenorhabdus* sp. Bakteri symbion *Xenorhabdus* sp. diisolasi dari larva *T. molitor* terinfeksi *Steinernema* sp.. Larva terinfeksi disterilisasi permukaan dengan dicelupkan pada alkohol 70% selama 10-15 detik, dibilas tiga kali dengan air destilasi steril, dan dikeringkan pada kertas saring (Whatman, UK). Tungkai *T. molitor* mati dipotong dan cairan *haemolymph* yang keluar dari tungkai digoreskan pada media NBTA, selanjutnya diinkubasi pada ruang gelap suhu rata-rata 28 °C selama 24 jam sampai terdapat koloni bakteri symbion *Xenorhabdus* sp. fase primer yang tumbuh dengan tanda warna koloni biru.

Uji Kompatibilitas secara *Bioassay*. Uji kompatibilitas *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. pada larva *T. molitor* dilakukan dengan dua uji *bioassay*. Setiap uji *bioassay* terdapat lima perlakuan yang diulang lima kali diantaranya *M. anisopliae* Jombang 1 (M1) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Jombang 2 (M2) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Kediri (M3) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Banyuwangi (M4) dengan *Steinernema* sp. dan *M. anisopliae* (M5) dengan *Steinernema* sp.

Pada *bioassay* pertama *T. molitor* (n=10 ekor) dicelupkan pada suspensi *M. anisopliae* (10⁸ spora/ml) selama 10 detik. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada cawan Petri (Anumbra, Ceko) yang berisi kertas saring (Whatman TM, UK) dan kapas basah untuk mengatur kelembapan. Pada periode 48 jam berikutnya, *T. molitor* (n=10 ekor) diinfeksi dengan 1 ml suspensi *Steinernema* sp. per cawan Petri (± 200 Juvenil infeksi), setelah itu diinkubasi pada ruangan gelap dengan rata-rata suhu ruang 28 °C sampai *T. molitor* mati terinfeksi, dengan gejala terinfeksi oleh *M. anisopliae* atau *Steinernema* sp. secara tunggal ataupun oleh keduanya.

Pada *bioassay* kedua, *T. molitor* (n=10 ekor) diinfeksi dengan satu ml suspensi *Steinernema* sp. (± 200 Juvenil infeksi) dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam, *T. molitor* (n=10 ekor) dicelupkan pada suspensi *M. anisopliae* (10⁸ spora/ml) selama 10 detik, selanjutnya diinkubasi pada ruang gelap dengan suhu ruang 28 °C sampai serangga uji mati terinfeksi.

Pengamatan dilakukan setiap hari, dimulai dari 1 hari setelah infeksi (HSI) sampai terdapat mortalitas

serangga mati 100% pada salah satu perlakuan. Pada pengamatan terakhir semua serangga uji dibongkar dan diamati di bawah mikroskop untuk memastikan serangga mati terinfeksi oleh *M. anisopliae* atau nematoda *Steinernema* sp.

Interaksi Kompatibilitas Hasil Uji Bioassay.

Pengamatan reaksi kompatibilitas pada uji *bioassay* ditentukan berdasarkan rasio mortalitas kenyataan dengan mortalitas harapan *T. molitor* yang dihitung setelah terdapat mortalitas 100% pada salah satu perlakuan. Data mortalitas kenyataan merupakan mortalitas hasil pengamatan langsung, sedangkan mortalitas harapan merupakan nilai mortalitas yang diharapkan berdasarkan respon interaksi. Interaksi kompatibilitas berdasarkan mortalitas *T. molitor* di tentukan dengan rumus (Farenhorst *et al.*, 2010):

$$Me = Mn + Mi \left(1 - \frac{Mn}{100}\right)$$

$$X^2 = \frac{(M_o - M_e)^2}{M_e}$$

dengan:

M_o = Mortalitas kenyataan;

M_i = Mortalitas kontrol infeksi APH pertama secara tunggal;

M_n = Mortalitas kontrol infeksi APH kedua secara tunggal;

M_e = Mortalitas harapan.

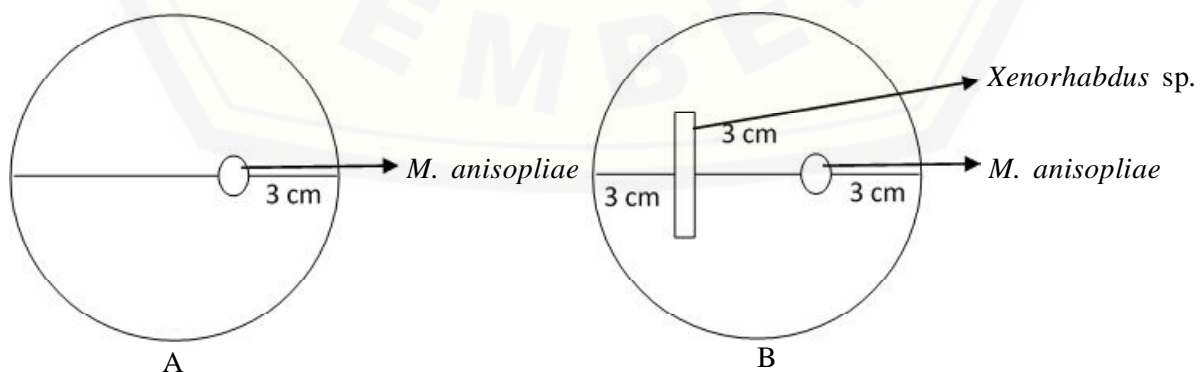
Jika ($M_o - M_e$) bernilai positif dan nilai $X^2 > 3,84$ maka kombinasi antara *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. dikatakan sinergis. Jika ($M_o - M_e$)

bernilai negatif dan nilai $X^2 \leq 3,84$ maka kombinasi antara *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. dikatakan antagonis (Ansari *et al.*, 2008).

Gejala dan Perkembangan *Steinernema* sp. pada Tubuh *T. molitor* Mati Terinfeksi.

Pengamatan diperoleh dari pengamatan tujuh hari setelah infeksi. Gejala terinfeksi oleh *M. anisopliae* dijelaskan oleh Trizelia *at al.* (2010) yaitu tubuh larva yang mengeras dan diselimuti oleh hifa cendawan berwarna putih dan kemudian berubah menjadi hijau pucat. Sedangkan gejala serangga terinfeksi *Steinernema* sp. yaitu perubahan warna pada *T. molitor* menjadi cokelat muda sampai cokelat gelap (Chaerani *et al.*, 2007). Pengamatan perkembangan *Steinernema* sp. dalam tubuh *T. molitor* yang terinfeksi *Steinernema* sp. dilakukan dengan membedah tubuh *T. molitor* untuk memastikan terdapat nematoda yang hidup dan berkembang dalam tubuh *T. molitor* yang mati terinfeksi.

Uji Kompatibilitas secara *In Vitro*. Uji kompatibilitas secara *in vitro* dilakukan antara *M. anisopliae* dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. pada media NBTA sesuai dengan metode Ansari *et al.* (2005). Uji kompatibilitas secara *in vitro* menggunakan lima perlakuan dan diulang lima kali. Kelima perlakuan yaitu *M. anisopliae* Jombang 1 (M1) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Jombang 2 (M2) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Kediri (M3) dengan *Steinernema* sp., *M. anisopliae* Banyuwangi (M4) dengan *Steinernema* sp. dan *M. anisopliae* (M5) dengan *Steinernema* sp. Potongan subkultur isolat *M. anisopliae* ($D = 0,5$ cm) diletakkan pada bagian media NBTA pada jarak 3 cm dari tepi cawan Petri dan 3 cm



Gambar 1. Metode uji kompatibilitas secara *in vitro*; A. sketsa penumbuhan *M. anisopliae* secara tunggal; B. sketsa penumbuhan *M. anisopliae* secara tunggal.

dari titik inokulasi bakteri *Xenorhabdus* sp. Bakteri *Xenorhabdus* sp. diambil dengan ose steril dan digoreskan secara garis pada jarak 3 cm dari tepi cawan Petri. Sebagai pembandingan dilakukan inokulasi tunggal semua isolat *M. anisopliae* tanpa inokulasi bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. pada jarak 3 cm dari tepi cawan Petri (Gambar 1). Pengamatan dilakukan interval 3 hari setelah investasi (HSI) dan dihentikan setelah miselium *M. anisopliae* yang ditumbuhkan secara tunggal menyentuh bagian tepi cawan Petri.

Persentase Hambatan Pertumbuhan *M. anisopliae*. Persentase hambatan dihitung dari panjang diameter *M. anisopliae* pada pengamatan terakhir menggunakan rumus persentase hambatan sebagai berikut:

$$H\% = \frac{d_1 - d_2}{d_1} \times 100\%$$

dengan:

H% = persentase daya hambat;

d_1 = diameter pertumbuhan *M. anisopliae* kontrol;

d_2 = diameter pertumbuhan *M. anisopliae* perlakuan.

Indeks Kompatibilitas. Variabel pengamatan menunjukkan reaksi kompatibilitas antara *M. anisopliae* dan *Xenorhabdus* sp. yang ditumbuhkan bersama dalam satu cawan Petri, apakah terjadi penghambatan pertumbuhan *M. anisopliae* oleh *Xenorhabdus* sp. atau tidak. Nilai indeks kompatibilitas (IK) dihitung berdasarkan rumus yang diadopsi dan dimodifikasi dari Hamilton & Attia (1997).

Jika $IK > 1$ = uji tersebut tidak kompatibel (antagonis) dan jika $IK = 1$ = uji tersebut kompatibel (sinergis).

Analisis Data. Hasil pengamatan uji reaksi kompatibilitas secara *bioassay* dan hambatan pertumbuhan *M. anisopliae* pada uji kompatibilitas secara *in vitro* dianalisis ragam menggunakan ANOVA dengan bantuan software StatView versi 5.0.1 SAS (1998) dan data yang menunjukkan berbeda nyata diuji lanjut dengan uji Tukey pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reaksi Kompatibilitas pada Uji *Bioassay*. Hasil analisis ragam kedua uji *Bioassay* menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi antara *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. terhadap mortalitas kenyataan *T. molitor* tidak nyata dengan P-Value= 0,0769 untuk uji *bioassay* pertama, dan P-Value= 0,3116 untuk uji

bioassay kedua. Berdasarkan rasio nilai mortalitas kenyataan dengan mortalitas harapan pada uji *Bioassay* pertama pada 4 hari setelah infeksi *M. anisopliae* yaitu menunjukkan semua perlakuan terjadi interaksi antagonis (Tabel 1), demikian juga pada uji *bioassay* kedua pada 4 hari setelah infeksi *Steinernema* sp. (Tabel 2).

Hasil pengamatan gejala infeksi *T. molitor* yang mati baik pada uji *bioassay* pertama maupun pada uji *bioassay* kedua menunjukkan tidak ada *M. anisopliae* yang berhasil tumbuh pada tubuh *T. molitor* sampai pengamatan 7 hari setelah perlakuan infeksi pertama. Gejala infeksi yang ditemukan hanya disebabkan oleh nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Alfarizi (2014), yaitu gejala *Lepidiota stigma* yang mati terinfeksi pada perlakuan kombinasi *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. hanya disebabkan oleh nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. Gejala infeksi nematoda *Steinernema* sp. yaitu terjadinya perubahan warna pada tubuh menjadi cokelat gelap. Chaerani *et al.* (2007) menyebutkan bahwa *T. molitor* yang terinfeksi *Steinernema* sp. menunjukkan gejala khas yaitu tubuh menjadi cokelat muda sampai cokelat gelap. Hal tersebut mengindikasikan bahwa *M. anisopliae* dengan *Steinernema* sp. bersifat antagonis sehingga *M. anisopliae* tidak mampu tumbuh pada tubuh *T. molitor* setelah nematoda menginfeksi tubuh *T. molitor*. Setelah tubuh serangga uji *T. molitor* dibedah, menunjukkan di dalam tubuh *T. molitor* terdapat nematoda entomopatogen *Steinernema* sp.. Hal ini menandakan *Steinernema* sp. berkembang dan hidup dalam tubuh *T. molitor* yang mati (Gambar 2). Shapiro-Ilan *et al.* (2004) menyatakan bahwa interaksi antagonis pada kombinasi nematoda entomopatogen dengan cendawan entomopatogen disebabkan oleh bakteri simbiosis yang dilepaskan oleh nematoda dalam tubuh serangga yang terinfeksi.

Bakteri Simbiosis *Xenorhabdus* sp. Hasil Isolasi.

Isolat bakteri *Xenorhabdus* sp. yang digunakan pada uji kompatibilitas secara *in vitro* merupakan isolat yang diperoleh dari serangga terinfeksi nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. Koloni bakteri *Xenorhabdus* sp. akan tumbuh setelah diisolasi dari *haemolymph* serangga terinfeksi dan diinkubasi selama 24 jam pada ruang gelap dengan tanda koloni bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. fase primer berwarna biru pada media NBTA (Gambar 3). Menurut Lengyel *et al.* (2005), bakteri *X. budapestensis* fase primer pada media indikator NBTA koloninya berwarna biru.

Tabel 1. Reaksi kompatibilitas infeksi *M. anisopliae* dan *Steinernema* sp. 48 jam berikutnya pada *T. molitor* pada uji *bioassay* pertama

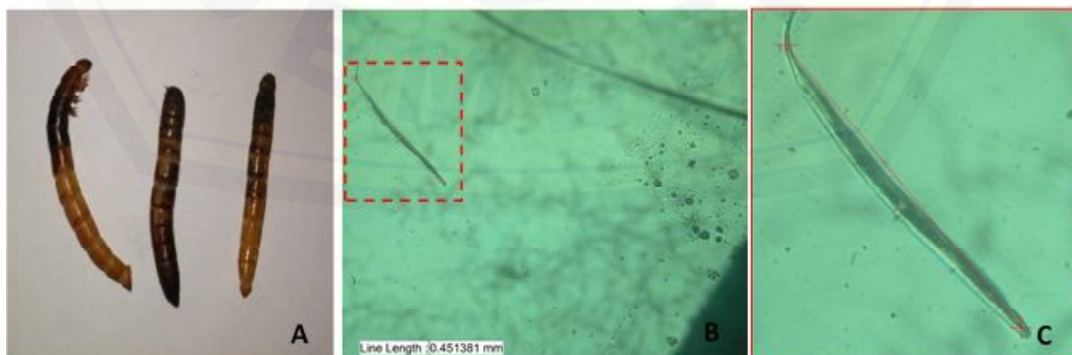
Isolat <i>M. anisopliae</i>	Spora/ ml	Nematoda	JI/ ml	Interval aplikasi (hari)	Mo (%)	Me (%)	X ²	Interaksi
Jombang 1	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	92	95,7	0,14	Antagonis
Jombang 2	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	98	99,3	0,02	Antagonis
Kediri	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	94	96,6	0,22	Antagonis
Banyuwangi	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	96	97,6	0,03	Antagonis
Bondowoso	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	88	92,8	0,25	Antagonis

JI= Juvenil Infektif; Mo= Mortalitas kenyataan; Me= Mortalitas harapan yang dihitung berdasarkan rumus: $Mn-Mi$ ($1-Mn/100$). Untuk interaksi kompatibilitas dilihat berdasarkan rasio mortalitas kenyataan dengan mortalitas harapan pada X².

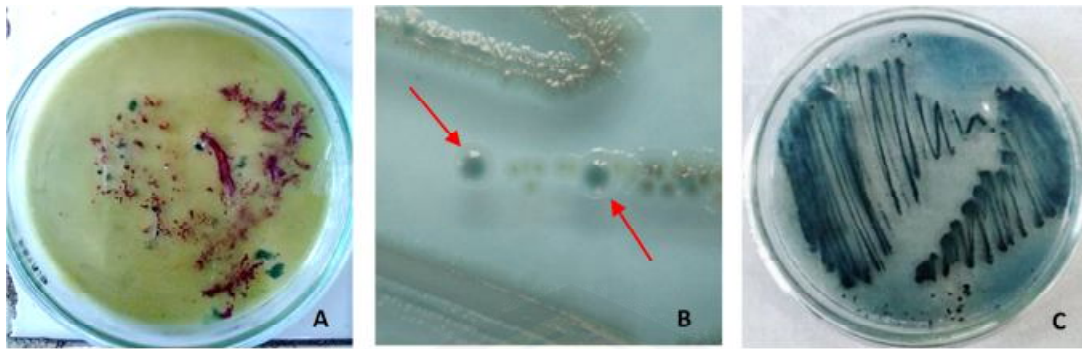
Tabel 2. Reaksi kompatibilitas infeksi *Steinernema* sp. dan *M. anisopliae* 48 jam berikutnya pada *T. molitor* pada uji *bioassay* kedua

Isolat <i>M. anisopliae</i>	Spora/ ml	Nematoda	JI/ ml	Interval aplikasi (hari)	Mo (%)	Me (%)	X ²	Interaksi
Jombang 1	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	98	100	0,04	Antagonis
Jombang 2	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	98	100	0,04	Antagonis
Kediri	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	94	100	0,36	Antagonis
Banyuwangi	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	98	100	0,04	Antagonis
Bondowoso	10 ⁸	<i>Steinernema</i> sp.	200	2	96	100	0,16	Antagonis

JI= Juvenil Infektif; Mo= Mortalitas kenyataan; Me= Mortalitas harapan yang dihitung berdasarkan rumus: $Mn-Mi$ ($1-Mn/100$). Untuk interaksi kompatibilitas dilihat berdasarkan rasio mortalitas kenyataan dengan mortalitas harapan pada X².



Gambar 2. Hasil identifikasi *T. molitor* mati terinfeksi; A. *T. molitor* terinfeksi nematoda *Steinernema* sp. dengan gejala tubuh serangga terinfeksi berwarna cokelat muda sampai cokelat tua, B. dan C. Pengamatan nematoda di bawah mikroskop dari tubuh *T. molitor* yang dibedah



Gambar 3. Koloni bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. hasil Isolasi; A. Koloni bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. hasil isolasi, B. Koloni tunggal bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. fase primer, C. Isolat bakteri *Xenorhabdus* sp. murni

Tabel 3. Persentase hambatan isolat *M. anisopliae* oleh bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp.

Perlakuan	Rata-rata persentase daya hambat (%)
Met. Jombang 1 dan <i>Xenorhabdus</i>	45,38
Met. Jombang 2 dan <i>Xenorhabdus</i>	38,12
Met. Kediri dan <i>Xenorhabdus</i>	41,54
Met. Banyuwangi dan <i>Xenorhabdus</i>	41,54
Met. Bondowoso dan <i>Xenorhabdus</i>	40,64

Persentase Hambatan Pertumbuhan *M. anisopliae*.

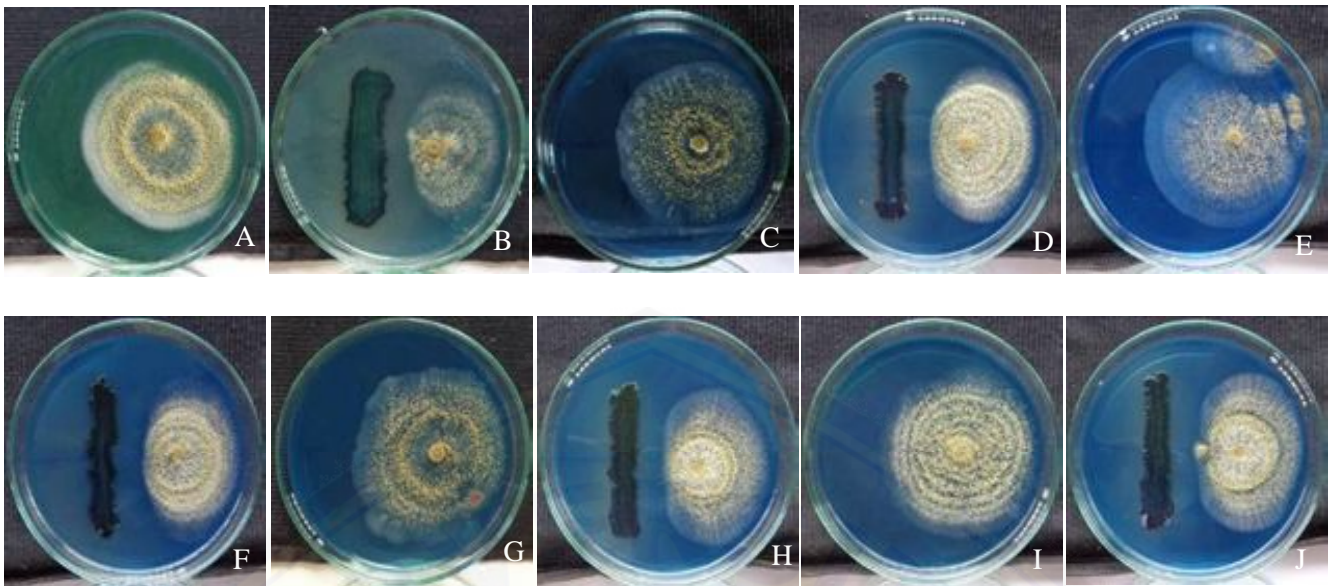
Uji kompatibilitas antara isolat cendawan *M. anisopliae* dan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Xenorhabdus* sp. menghambat pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan asal isolat *M. anisopliae* tidak nyata mempengaruhi daya hambat bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. dengan P-Value = 0,0758 (Tabel 3). Daya hambat bakteri *Xenorhabdus* sp. terhadap cendawan *M. anisopliae* pada uji kompatibilitas ini berkisar antara 38,1-45,5%.

Pada pengamatan 9 hari setelah infestasi pada uji kompatibilitas secara *in vitro* diketahui bahwa bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. mampu menghambat pertumbuhan semua isolat *M. anisopliae* (Gambar 4). Ansari *et al.* (2005) menyatakan bahwa bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. mampu menghambat pertumbuhan cendawan entomopatogen. Menurut Dowds (1998), bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikotik. Dijelaskan oleh Li *et al.* (1995) bahwa senyawa antimikotik yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. yaitu indoles dan dithiolyrrolones

(xenorhabdins, xenomins, dan xenorxides). Senyawa antimikotik lainnya yang juga dihasilkan oleh bakteri *Xenorhabdus* sp. yaitu xenocoumacins, hydroxystilbenes, dan nucleosides (Webster *et al.*, 2002).

Indeks Kompatibilitas Isolat *M. anisopliae* dengan Bakteri Simbiosis *Xenorhabdus* sp.

Berdasarkan pengamatan indeks kompatibilitas antara *M. anisopliae* dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. menunjukkan bahwa semua isolat *M. anisopliae* yang diuji tidak kompatibel dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. Kriteria indeks kompatibilitas dikatakan tidak kompatibel atau antagonis jika nilai indeks kompatibilitas > 1 dan dikatakan kompatibel atau sinergis jika nilai indeks kompatibilitas ≤ 1 (Hamilton & Attia, 1997; Hanudin *et al.*, 2012). Nilai indeks kompatibilitas perlakuan dari semua isolat *M. anisopliae* uji dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. berturut-turut 1,9; 1,6; 1,7; 1,7 dan 1,7 sehingga dapat dikatakan kompatibilitas antara isolat *M. anisopliae* dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* sp. bersifat antagonis (Tabel 4).



Gambar 4. Hasil uji kompatibilitas secara *in vitro* pada media NBTA; A. Jombang 1 kontrol, B. Jombang 1 dengan *Xenorhabdus* sp., C Jombang 2 kontrol, D. Jombang 2 dengan *Xenorhabdus* sp., E. Kediri kontrol, F. Kediri dengan *Xenorhabdus* sp., G. Banyuwangi kontrol, H. Banyuwangi dengan *Xenorhabdus* sp.; I. Bondowoso kontrol, J. Bondowoso dengan *Xenorhabdus* sp

Tabel 4. Indeks kompatibilitas isolat *M. anisopliae* dengan *Xenorhabdus* sp. secara *in vitro*

Perlakuan	Diameter Koloni (cm)	Indeks Kompatibilitas (IK)	Keterangan
Met Jombang 1	6,5	-	-
Met Jombang 1 × <i>Xenorhabdus</i>	3,54	1,9	Antagonis
Met Jombang 2	6,4	-	-
Met Jombang 2 × <i>Xenorhabdus</i>	3,96	1,6	Antagonis
Met Kediri	6,5	-	-
Met Kediri × <i>Xenorhabdus</i>	3,8	1,7	Antagonis
Met Banyuwangi	6,5	-	-
Met Banyuwangi × <i>Xenorhabdus</i>	3,8	1,7	Antagonis
Met Bondowoso	6,3	-	-
Met Bondowoso × <i>Xenorhabdus</i>	3,74	1,7	Antagonis

IK > 1= Uji tersebut tidak kompatibel (antagonis); IK ≤ 1= Uji tersebut kompatibel (sinergis).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kompatibilitas antara cendawan *M. anisopliae* dengan nematoda *Steinernema* sp. bersifat antagonis, dan bakteri simbiosis nematoda entomopatogen *Xenorhabdus* sp. mampu menghambat pertumbuhan cendawan *M. anisopliae*.

SANWACANA

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Jember dengan Skim Usaha Strategi Nasional atas dana hibah penelitian yang diberikan tahun anggaran 2016 Nomor: 187B/UN25.3.1/LT/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfarizi S. 2014. Pengendalian hayati uret menggunakan nematoda patogen serangga (nps) dan *Metarhizium* sp. di laboratorium. Skripsi. Universitas Jember. Jember.
- Ansari MA, Shah FA, & Butt TM. 2008. Combined use of entomopathogenic nematodes and *Metarhizium anisopliae* as a new approach for black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus*, control. *Entomol. Exp. Appl.* 129(3): 340–347.
- Ansari MA, Tirry L, & Moens M. 2005. Antagonism between entomopathogenic fungi and bacterial symbionts of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol* 50(3): 465–475.
- Chaerani, Suryadi Y, Priyatno TP, Koswanudin D, Rahmat U, Sujatmo, Yusuf, & Griffin CT. 2007. Isolasi nematoda patogen serangga *Steinernema* dan *Heterorhabditis*. *J. HPT Tropika* 7(1): 1–9.
- Dowds B. 1998. Bacterial virulence mechanism. In: Simões N, Boemare N, & Ehlers RU (Eds). *Entomopathogenic Nematodes*. Pp. 9–19. European Commission, Luxembourg.
- Farenhorst M, Knols BGJ, Thomas MB, Howard AFV, Takken W, Rowland M, & N'Guessan R. 2010. Synergy in efficacy of fungal entomopathogens and permethrin against west African insecticide-resistant *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Plos One* 5(8): 1–10.
- Hamilton JT & Attia FL. 1997. Effect of mixture of *Bacillus thuringiensis* and pesticide on *Plutella xylostella* and the parasite *Thyraella collaris*. *J. Econ. Entomol.* 70(1): 146–148.
- Hanudin B, Marwanto, Hersanti, & Muharam A. 2012. Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *J. Hort.* 22(2): 172–179.
- Hartati S. 2013. Pengendalian Hama Uret pada Tanaman Tebu. http://www.puslitgula10.com/2013/05/pengendalian-hama-uret-pada-tanaman-tebu_16.html. Diakses tanggal 10 Januari 2017.
- Lengyel K, Elke L, Andra's F, Emilia S, Peter S, & Erko S. 2005. Description of four novel species of *Xenorhabdus*, family Enterobacteriaceae: *Xenorhabdus budapestensis* sp. nov., *Xenorhabdus ehlersii* sp. nov., *Xenorhabdus innexi* sp. nov., and *Xenorhabdus szentirmaii* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 28(2): 115–122.
- Li J, Chen G, Webster JM, & Czyzewska E. 1995. Antimicrobial metabolites from a bacterial symbiont. *J. Nat. Prod.* 58(7): 1081–1086.
- SAS 1998. *Using Statview*. SAS Institute Inc., USA.
- Shapiro-Ilan DI, Jackson M, Reilly CC, & Hotchkiss MW. 2004. Effects of combining on entomopathogenic fungi or bacterium with entomopathogenic nematodes on mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Biol. Control* 30(1): 119–126.
- Trizelia, Syam U, & Herawaty Y. 2010. Virulensi isolat *Metarhizium* sp. yang berasal dari beberapa rizosfer tanaman terhadap *Crocidolomia pavonana* Fabricus (Lepidoptera: Pyralidae). *Mangrove* 10(2): 51–59.
- Webster JM, Chen G, Kaiji-Hu, & Jianxiong-li. 2002. Bacterial metabolites. In: Gaugler R (Ed.). *Entomopathogenic Nematology*. Pp. 99–114. Cabi Publishing, New York USA.
- Xu XM, Jeffries P, Pautasso M, & Jeger MJ. 2011. Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice. *J. Phytopathology* 101(9): 1024–1031.