



**UJI VIABILITAS NEMATODA ENTOMOPATOGEN
Steinernema sp. DALAM FORMULASI GRANULAR**

SKRIPSI

Asal :	Hadiah Pembelian	Klass
Terima Tgl :	10 FEB 2012	632.96
Jumlah Eks :		KRI
Disiplin :		4

Oleh

Ibnu Rizal Kristanto
NIM 071510401048

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2011**



**UJI VIABILITAS NEMATODA ENTOMOPATOGEN
Steinernema sp. DALAM FORMULASI GRANULAR**

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Ibnu Rizal Kristanto
NIM 071510401048**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2011**

SKRIPSI

**UJI VIABILITAS NEMATODA ENTOMOPATOGEN *Steinernema* sp.
DALAM FORMULASI GRANULAR**

Oleh

Ibnu Rizal Kristanto
NIM 071510401048

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC

Dosen Pembimbing Anggota : Nanang Tri Haryadi, S.P., M.Sc.

PENGESAHAN


Skripsi berjudul "Uji Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. dalam Formulasi Granular" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 21 September 2011

tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

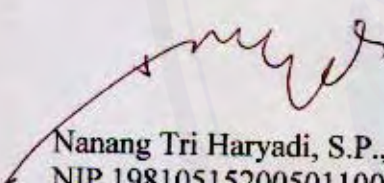
Tim Penguji:

Penguji 1,



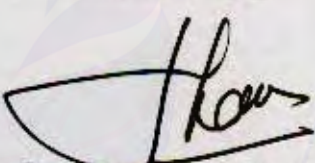
Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC
NIP 196606301990031002

Penguji 2,



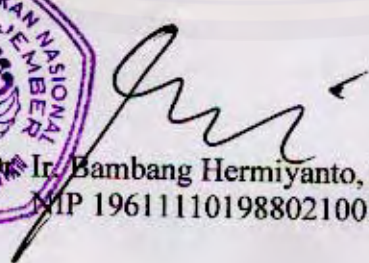
Nanang Tri Haryadi, S.P., M.Sc.
NIP 198105152005011003

Penguji 3,



Prof. Dr. Ir. Suharto, M.Sc.
NIP 196001221984031002

Mengesahkan
Dekan



Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, M.P.
NIP 196111101988021001

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ibnu Rizal Kristanto

NIM : 071510401048

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Uji Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. dalam Formulasi Granular**, adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Oktober 2011

Yang menyatakan,



Ibnu Rizal Kristanto
NIM 071510401048

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ibnu Rizal Kristanto

NIM : 071510401048

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Uji Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. dalam Formulasi Granular**, adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Oktober 2011

Yang menyatakan,



Ibnu Rizal Kristanto
NIM 071510401048

RINGKASAN

Uji Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. dalam Formulasi Granular; Ibnu Rizal Kristanto, 071510401048; 2011; 34 halaman; Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT) merupakan salah satu aspek penting pada praktek perlindungan tanaman. Pengendalian OPT yang digunakan oleh petani di Indonesia masih menggunakan pengendalian kimia. Padahal pengendalian kimia tersebut menimbulkan banyak permasalahan. Untuk mengatasi masalah-masalah yang diakibatkan pengendalian kimia terhadap hama, dikembangkan pengendalian hayati.

Salah satu agens hayati yang digunakan untuk pengendalian hayati adalah nematoda entomopatogen (NEP), yang dapat menggantikan fungsi insektisida sintetis. Nematoda entomopatogen yang banyak diteliti dan dikembangkan berasal dari genus *Steinernema* dan *Heterorhabditis*. Nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. berasosiasi dengan bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dalam mematikan larva serangga.

Untuk menggantikan peran insektisida, NEP harus diformulasikan agar dapat disimpan dalam waktu yang lama dan dapat dipasarkan. Formulasi yang banyak dipakai di Indonesia untuk mengemas NEP masih berupa spons (*monoxenic slide culture*). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tentang viabilitas nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dalam formulasi granular.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai sejak Januari hingga Agustus 2011. Penelitian ini meneliti empat macam formulasi granular, yaitu formulasi A, B, C, dan D yang masing-masing menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan faktor bahan formulasi dan suhu penyimpanan, dimana faktor bahan formulasi meliputi formulasi A adalah tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, dan tepung *wheat germ*, sedangkan formulasi B, C, dan D adalah tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, tepung *wheat germ*, dan tepung roti. Faktor kedua adalah suhu

penyimpanan meliputi penyimpanan pada suhu 4°C dan 25°C. Masing-masing kombinasi perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 ulangan. Data hasil pengamatan jumlah nematoda tiap gram granular yang aktif kembali (pengamatan hari kesatu, kedua, ketiga, dan ketujuh) pada setiap formulasi (formulasi A, B, C, dan D), diuji dengan uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada formulasi A, viabilitas nematoda dapat mencapai satu hari penyimpanan (perlakuan bahan tepung terigu, suhu penyimpanan 4°C) dan pada formulasi B, viabilitas nematoda mencapai dua hari penyimpanan (perlakuan tepung *wheat germ*, suhu penyimpanan 4°C). Pada formulasi C, hasil terbaik didapatkan pada perlakuan bahan tepung *wheat germ* dan suhu penyimpanan 4°C. Sedangkan pada formulasi D, viabilitas NEP terbaik adalah granular yang menggunakan bahan tepung terigu dan disimpan pada suhu 4°C. Pada formulasi C dan D, viabilitas nematoda entomopatogen telah mencapai 7 hari.



SUMMARY

Viability of Entomopathogenic Nematodes *Steinernema* sp. in Granular Formulation; Ibnu Rizal Kristanto; 071510401048; 2011; 34 pages; Pest and Plant Disease Departement; Faculty of Agriculture, Jember University.

Control of plant pests are important aspect in the practice of crop protection. Pest control used by farmers in Indonesia is still using the chemical control. Whereas, chemical control has created many problems due to negative effect on human, environment and non target organism. To overcome the problems caused by chemical control of pests, biological control is developed.

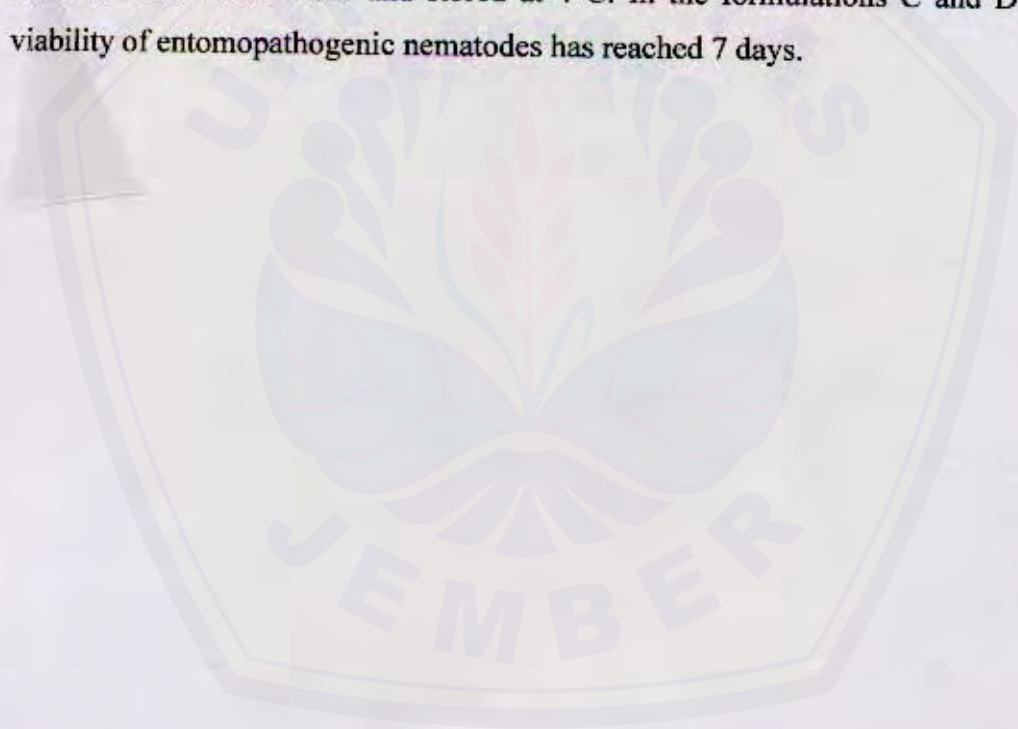
One of the biological agents used for biological control is the entomopathogenic nematodes (EPN), which can replace the usage of synthetic insecticides. Entomopathogenic nematodes are widely studied and developed beonging genera of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. Entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. associated with the bacterium *Xenorhabdus nematophilus* that kill insect.

To replace pesticides application, the EPN should be formulated so that can be stored for a long time and can be marketed. Formulations used in Indonesia for packing the EPN in sponge (slides monoxenic culture). This study will examine the viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. in granular formulations.

This research was conducted at the Laboratory of Biological Control of Plant Pests and Diseases Department, Faculty of Agriculture, University of Jember from January to August 2011. This study examines four granular formulations, such as formulations A, B, C, and D are each using a Completely Randomized Design (CRD) Factorial with material factor formulation and storage temperature, where the factor of materials formulations including in formulations A is wheat flour, wheat and wheat germ flour, and wheat germ flour, whereas formulation B, C, and D is wheat flour, wheat and wheat germ flour, wheat germ flour, and bread flour. The second factor is the temperature of storage includes storage at 4°C and 25°C. Each treatment combination was repeated by four

repetitions. Data of observations (the first observation day, the second, third, and seventh) against the number of nematodes that active again per gram granular, were tested with Honestly Significant Different (HSD) test at the level of 5%.

The results showed in formulations A, viability of the nematodes can reach one day of storage (treatment of wheat flour ingredients, temperature of storage 4°C) and the formulation B, the viability of nematodes reach two days of storage (wheat germ flour treatment, temperature of storage 4°C). In formulation C, the best results obtained in the treatment of wheat germ flour, temperature of storage 4°C. While in formulation D, the viability of the EPN is the best to use a granular material from wheat flour and stored at 4°C. In the formulations C and D, the viability of entomopathogenic nematodes has reached 7 days.



PRAKATA

Puji syukur penulis dipanjatkan ke hadirat Allah SWT, Tuhan yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Viabilitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. dalam Formulasi Granular”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Beberapa pihak turut membantu penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

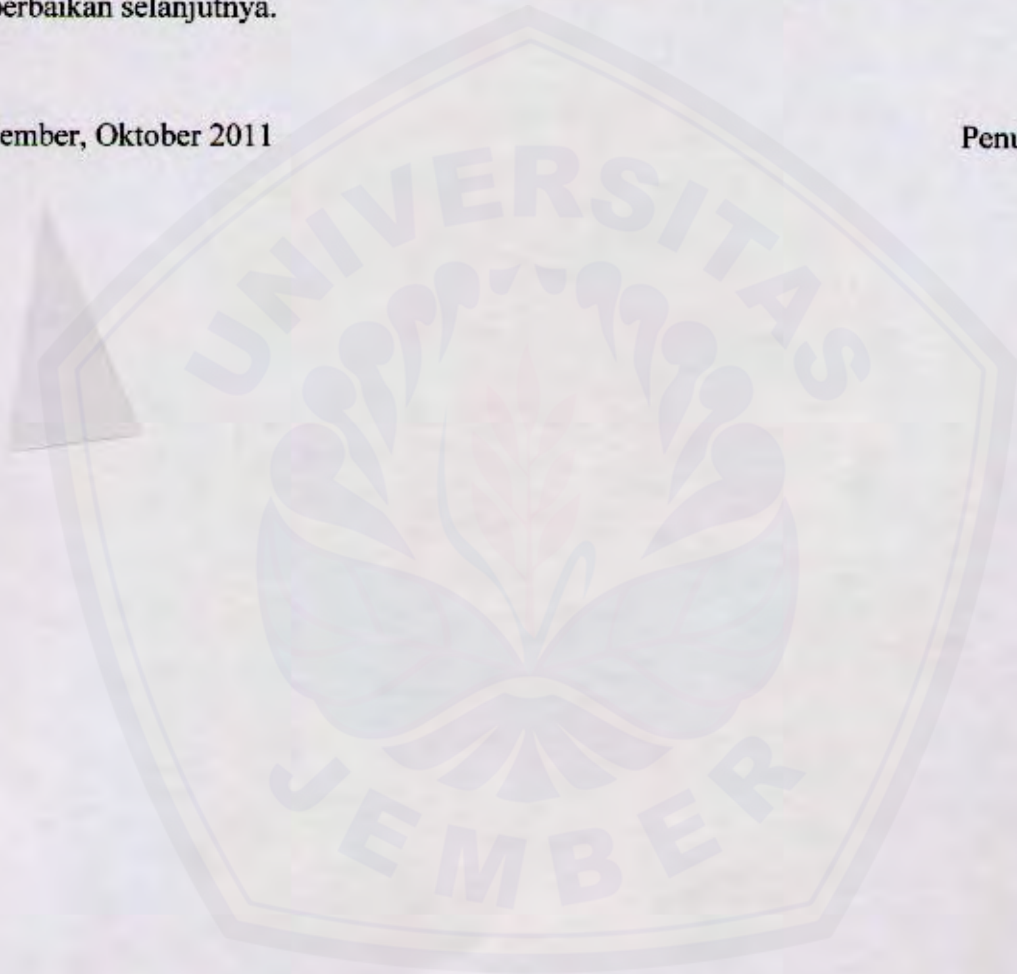
1. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC, selaku Dosen Pembimbing Utama dan, Nanang Tri Haryadi, S.P., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang memberikan perhatian, meluangkan waktu, dan pikiran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
2. Ir. Tatang Pranata, Dipl.Agr., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
3. Prof. Dr. Ir. Suharto, M.Sc. selaku anggota dosen penguji dua yang telah membantu dan meluangkan pikiran untuk perbaikan skripsi ini;
4. Ayahku Krisna Murtiyanto, S.Sos., M.M., ibuku Wiwik Purwati, adik, dan keluargaku tercinta yang menjadi alasan untuk terus berjuang, dengan senantiasa memberikan semangat, doa, dan saran demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Saudara Ra’ad Rasyidi, Ali Wafa, Saudari Ika Dewi Febrianti, Silvi Fitri Mei Arini, dan Indah M. Kamalin, serta segenap Tim Laboratorium Pengendalian Hayati karena telah menjadi rekan kerja yang baik selama penelitian berlangsung;
6. Ketua, Sekretaris, dan Ketua Komisi Pendidikan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Jember yang turut membantu kelancaran pelaksanaan skripsi ini;
7. Rekan-rekan dari Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (2006-2007) yang turut berperan dalam membantu menyelesaikan penelitian ini;

8. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini;

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian di masa mendatang. Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang bersifat konstruktif sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, Oktober 2011

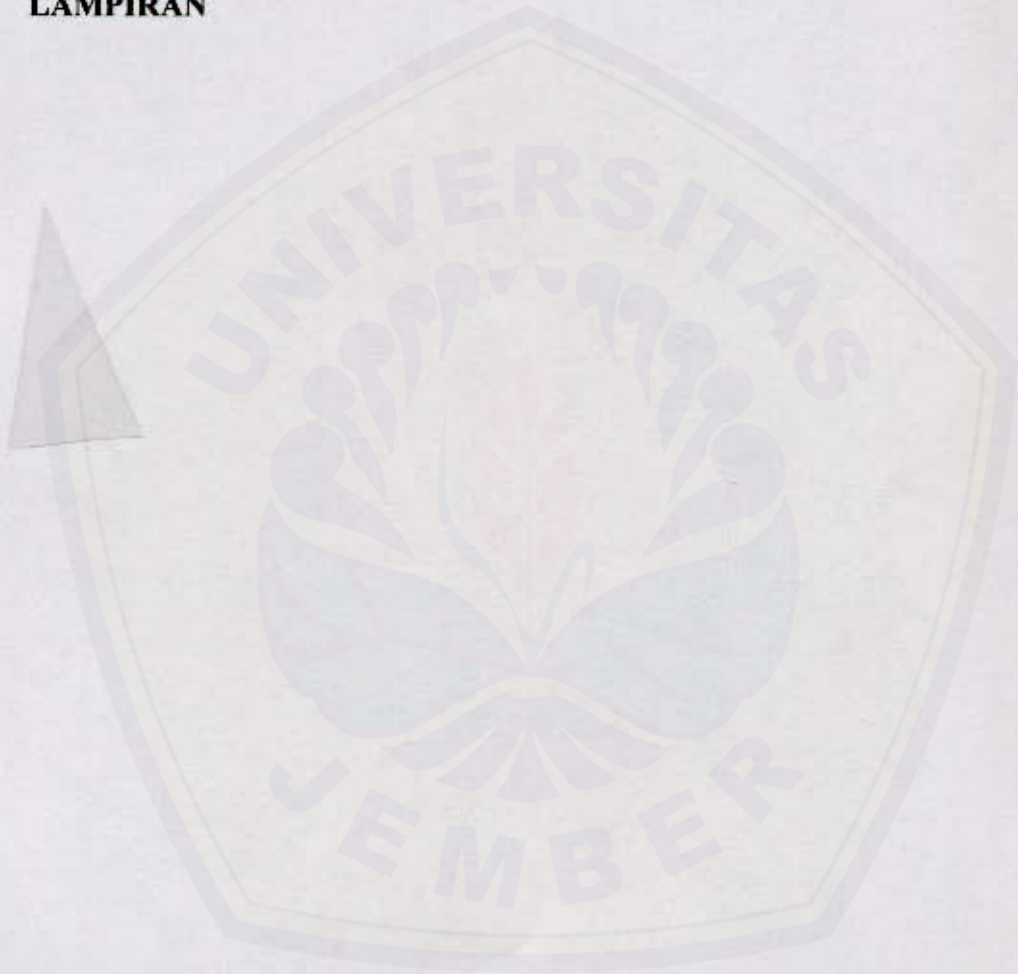
Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PEMBIMBINGAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Biologi <i>Steinernema</i> sp	3
2.2 Daur Hidup <i>Steinernema</i> sp	3
2.3 Peran <i>Steinernema</i> sp. dalam Pengendalian Hayati	5
2.4 Formulasi Nematoda Entomopatogen	6
BAB 3. METODE PENELITIAN	7
3.1 Bahan dan Alat	7
3.2 Metode	7
3.2.1 Formulasi A	8
3.2.2 Formulasi B	9
3.2.3 Formulasi C	10
3.2.4 Formulasi D	10
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1 Hasil Penelitian	11
4.2 Pembahasan	13

BAB 5. PENUTUP	16
5.1 Simpulan	16
5.2 Saran	16
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi A (Pengamatan Hari Kesatu).....	19
2. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi B (Pengamatan Hari Kesatu)	19
3. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi B (Pengamatan Hari Kedua)	19
4. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Kesatu)	20
5. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Kedua).....	20
6. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Ketiga).....	20
7. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Ketujuh)	21
8. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Kesatu).....	21
9. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Kedua).....	21
10. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Ketiga)	22
11. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Ketujuh).....	22

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT) merupakan salah satu aspek penting pada praktek perlindungan tanaman. Pengendalian OPT yang digunakan oleh petani di Indonesia masih menggunakan pengendalian kimia. Padahal pengendalian kimia tersebut menimbulkan banyak permasalahan, misalnya 1) pestisida sintetis dapat menyebabkan keracunan pada aplikator, baik karena kesalahan saat aplikasi, maupun melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, 2) spektrum yang cenderung luas sehingga tidak hanya membunuh organisme sasaran, namun juga organisme bukan sasaran, contohnya musuh alami, 3) harga pestisida sintetis yang mahal dan penggunaannya kadang tidak tepat sehingga memperbesar biaya produksi, jika pengaplikasian pestisida sintetis dilakukan saat tidak diperlukan (Purnomo, 2010). Salah satu solusi atas permasalahan tersebut adalah menggunakan kembali pengendalian hayati yang lebih ramah lingkungan dibandingkan pengendalian kimia.

Salah satu agens hayati yang digunakan untuk pengendalian hayati adalah nematoda entomopatogen (NEP), yang dapat menggantikan fungsi insektisida sintetis. Nematoda entomopatogen yang banyak diteliti dan dikembangkan berasal dari genus *Steinernema* dan *Heterorhabditis* (Sulistyanto, 2009). Nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. berasosiasi dengan bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dalam mematikan larva serangga (Fatamorgana, 2006).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa NEP efektif untuk menyebabkan kematian serangga hama. Bakti (2004) melaporkan bahwa *S. carpocapsae* dapat menyebabkan mortalitas pada rayap (*Coptotermes curvignathus*) sebesar 38.16 % hingga 60.80% pada hari kedua setelah NEP diinokulasikan. Selain itu, Hussein *et al.* (2009) melaporkan bahwa penggunaan *S. carpocapsae* untuk mengendalikan *Pieris rapae* pada lahan kubis, menyebabkan mortalitas stadia prapupa meningkat, dari 47,1% (tanpa perlakuan) menjadi 84%.

Untuk menggantikan peran insektisida sintetis, NEP harus diformulasikan agar dapat disimpan dalam waktu yang lama dan dapat dipasarkan. Formulasi

Digital Repository Universitas Jember

yang banyak dipakai di Indonesia untuk mengemas NEP masih berupa spons (*monoxenic slide culture*). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tentang viabilitas nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dalam formulasi granular.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. *Formulasi merupakan aspek penting untuk memasarkan produk nematoda entomopatogen.*
2. Bagaimana pengaruh bahan tepung, suhu penyimpanan, maupun interaksi keduanya terhadap viabilitas NEP dalam formulasi granular?

1.3 Tujuan dan Manfaat

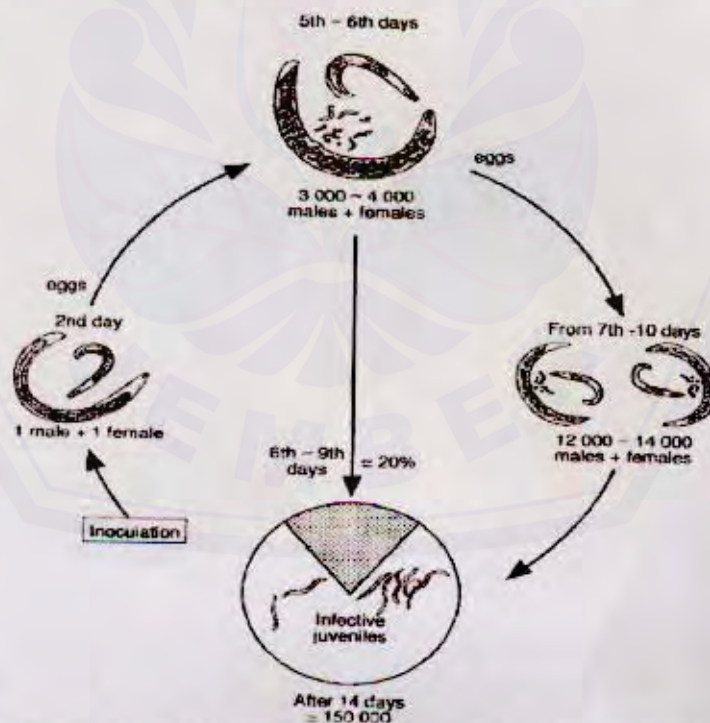
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. dalam formulasi granular dengan pengaruh bahan tepung, suhu penyimpanan, dan interaksi keduanya pada empat macam formulasi (Formulasi A, B, C, dan D). Diharapkan dengan selesainya penelitian ini, dapat dijadikan acuan dalam membuat formulasi granular nematoda entomopatogen.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Steinernema* sp.

Steinernema sp. merupakan salah satu nematoda entomopatogen yang banyak diteliti (Sulistiyanto, 2009). Sistematika taksonomi nematoda entomopatogen tersebut adalah kingdom Animalia, filum Nematoda, kelas Chromadorea, ordo Rhabditida, famili Steinernematidae, dan genus *Steinernema* (Uniprot Consortium, 2011).

Nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. memiliki dua alur daur hidup, yaitu daur pendek dan daur panjang seperti tampak pada Gambar 1. Daur pendek *S. scapterici*. berkisar 6-7 hari sedangkan daur panjangnya berkisar 9-10 hari (Nguyen and Smart, 1992). *S. carpocapsae*, daur pendeknya berkisar 6-9 hari dan daur panjangnya berkisar 14 hari (Burnell and Stock, 2000)



Gambar 1. Bagan daur hidup *S. carpocapsae* (Burnell and Stock, 2000).

2.2 Daur Hidup *Steinernema* sp.

Gaugler (2002) menyebutkan bahwa juvenil infektif dari *Steinernema* sp. membawa bakteri simbion (genus *Xenorhabdus*) dalam ususnya. Menurut Hall

and Menn (1984), nematoda entomopatogen dapat mematikan serangga yang menjadi inangnya tanpa adanya bakteri simbion, namun tingkat reproduksinya rendah. Saat juvenil infektif masuk haemolim inang, *Steinernema* sp. melepaskan bakteri simbiannya. Bakteri tersebut melakukan replikasi dengan cepat dalam darah serangga dan membunuh serangga tersebut karena menyebabkan *septicaemia*, biasanya selama 24-48 jam. Menurut Irishealth (2011), *septicaemia* pada manusia adalah infeksi yang disebabkan bakteri dalam jumlah besar dalam aliran darah dan dapat mematikan. *Septicaemia* dalam konteks pengendalian hayati adalah infeksi entomopatogen dalam jumlah besar pada haemolim serangga sasaran hingga serangga tersebut akhirnya mati. Selain itu, *Steinernema* spp. juga menyebabkan *toxicogenesis* (proses keracunan akibat senyawa yang dihasilkan bakteri) pada serangga inang dan memproduksi sistem kekebalan terhadap peptida antimikrobal yang dihasilkan serangga.

Setelah melepaskan bakteri simbion, nematoda tersebut kemudian berubah menjadi juvenil ketiga, memakan bakteri, dan berganti kulit lagi dan menjadi juvenil keempat. Pada juvenil keempat (stadium dewasa), nematoda memiliki diferensiasi kelamin, yaitu kelamin jantan dan betina. Setelah kawin, nematoda betina meletakkan telur yang kemudian menetas menjadi nematoda juvenil kesatu, berganti kulit kemudian menjadi juvenil kedua, ketiga, dan keempat. Nematoda juvenil keempat tersebut kemudian berkembang menjadi nematoda jantan dan betina dewasa generasi kedua (Gaugler, 2002).

Nematoda betina pada generasi kedua menghasilkan telur dari hasil perkawinannya dengan nematoda jantan yang menetas menjadi nematoda juvenil kesatu dan berganti kulit menjadi nematoda juvenil kedua. Reproduksi nematoda berlanjut hingga zat makanan dalam bangkai habis, biasanya setelah dua hingga tiga generasi (daur panjang, Gambar 1). Jika persediaan makanan terbatas, telur diproduksi oleh betina generasi pertama, langsung berkembang menjadi juvenil infektif (daur pendek, Gambar 1). Menurut Poinar (1979), juvenil nematoda yang bersifat infektif (mampu menginfeksi inang) dan hidup di luar serangga inang hanyalah juvenil ketiga. Jika zat makanan dalam bangkai habis, juvenil kedua tahap akhir akan berhenti makan dan menggabungkan pellet-pellet bakteri ke

dalam ruang bakteri. Setelah itu, nematoda akan berganti kulit menjadi prainfektif lalu juvenil infektif, menahan kutikula nematoda juvenil kedua sebagai selubung (*dauer juvenile*). Juvenil infektif umumnya meninggalkan bangkai untuk mencari inang baru. Juvenil infektif tidak makan dan dapat bertahan hidup selama beberapa bulan di dalam tanah. (Gaugler, 2002)

Menurut Gaugler (2002), terdapat dua fase fisiologis dalam daur hidup bakteri simbiosis yang saling berhubungan dalam dua keadaan ekologi yang berbeda. Fase pertama adalah fase *phoretic* yaitu pada masa istirahat nematoda yang menjadi inang. *Xenorhabdus* muncul secara alami dari gelembung-gelembung usus juvenil infektif *Steinernema* spp. Fase kedua adalah fase vegetatif yaitu ketika bakteri menggandakan diri di dalam haemolim serangga.

Smigielski *et al.* (1994), membagi *Xenorhabdus* ke dalam dua fase yang berbeda, yaitu fase I dan fase II. Fase I adalah saat *Xenorhabdus* secara alami dibawa oleh juvenil infektif nematoda entomopatogen secara alami hingga dikeluarkan saat NEP berada dalam larva serangga. Ketika dalam fase I, *Xenorhabdus* menghasilkan senyawa antibiotik yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain pada bangkai larva serangga. *Xenorhabdus* fase II mengubah zat-zat yang dikandung bangkai larva serangga menjadi zat yang lebih sederhana sehingga bisa dimanfaatkan NEP dengan baik untuk tumbuh dan berkembang biak.

2.3 Peran *Steinernema* sp. dalam Pengendalian Hayati

Genus *Steinernema* adalah nematoda entomopatogen selain genus *Heterorhaptis* yang banyak diteliti untuk pengendalian serangga hama. Bakti (2004) melaporkan bahwa *S. carpocapsae* dapat menyebabkan mortalitas pada rayap (*Coptotermes curvignathus*) sebesar 38,16 % hingga 60,80% pada hari kedua setelah NEP diinokulasikan. Pada hari keenam setelah inokulasi, kematian rayap mendekati 100% baik pada konsentrasi rendah (>100-<150) hingga tinggi (>251-<300). Chambers *et al.* (2010) juga melaporkan bahwa penggunaan *Steinernema carpocapsae* Weiser untuk mengendalikan *Cydia latiferreana* Walsingham menyebabkan mortalitas *C. latiferreana* berkisar antara 50-78%.

Selain itu, Wagiman dkk. (2003) melaporkan bahwa nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dapat menyebabkan mortalitas mencapai 90% pada larva instar ketiga *Spodoptera exigua*.

2.4 Formulasi Nematoda Entomopatogen

Formulasi NEP sangat penting untuk penyimpanan dan pemasaran nematoda entomopatogen. Formulasi diharapkan dapat meningkatkan aktivitas, penyerapan, penyebaran, dan mempermudah penggunaan dan juga stabilitas penyimpanan dari bahan aktif tersebut. Formulasi juga dapat diartikan sebagai persiapan produk atas bahan aktifnya dengan menggabungkan bahan aktif dan pelengkap. Contoh umum dari bahan pelengkap formulasi pestisida, misalnya zat pembalut, perekat, pembawa, pengawet, pelarut, pengental, dan zat anti mikroba. (Gaugler, 2002)

Pada mulanya, produksi massal formulasi nematoda dilakukan secara *in vivo*, kemudian berkembang secara *in vitro*. Salah satu cara untuk melakukan perbanyakan NEP secara *in vitro* adalah mengembangkan NEP dalam media agar (Dunphy and Webster, 1989, dalam Ehlers and Ilan, 2005). Perkembangan selanjutnya tentang produksi massal NEP dimulai saat Bedding (1981) melaporkan bahwa *Steinernema* spp. dapat ditumbuhkan pada medium spons *polyetherpolyurethane* dalam labu reaksi. Selain itu, Ehlers *et al.* (1998) melaporkan bahwa produksi massal juga dapat dilakukan dalam media cair.

Beberapa formulasi granular telah banyak diteliti untuk masa penyimpanan nematoda entomopatogen. Connick *et al.* (1993), dalam penelitiannya tersebut menyebutkan bahwa konsentrasi nematoda entomopatogen dalam formulasi granular sebesar 424.000 ji/gram granular dari suspensi awal 744.000 hingga 770.000 ji/ml. Grewal (1998) melaporkan bahwa dalam *dispersible granular formulation* (WDG), *S. carpocapsae* dapat bertahan 4-5 bulan sedangkan *S. feltiae* and *S. riobrave* hanya dapat bertahan dalam penyimpanan 2-3 bulan pada suhu ruangan.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tepung terigu, tepung *wheat-germ*, tepung roti, kaolin, peat moss, bentonit, isolat *Steinernema* sp. (isolat milik Hari Purnomo) dari Desa Jemblok Kabupaten Trenggalek Jawa Timur, kertas saring, ulat Hongkong (*Tenebrio molitor* L.), aquadest steril, alkohol 70% dan kertas tisu.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu petridish kecil (diameter 9 cm), petridish besar (diameter 14,5 cm), pipet 1 ml, pipet 5 ml, gelas ukur, erlenmeyer, loyang, alat pembuat mie (*pasta maker*), higrometer, *counting dish*, timbangan, erlenmeyer, dan toples.

3.2 Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai sejak Januari hingga Agustus 2011. Penelitian ini meneliti empat macam formulasi granular, yaitu formulasi A, B, C, dan D yang masing-masing menggunakan Rancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan faktor bahan formulasi dan suhu penyimpanan, dimana faktor bahan formulasi meliputi formulasi A adalah tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, dan tepung *wheat germ*, sedangkan formulasi B, C, dan D adalah tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, tepung *wheat germ*, tepung roti. Faktor kedua adalah suhu penyimpanan meliputi penyimpanan pada suhu 4°C dan 25°C (formulasi A, B, C, dan D). Masing-masing kombinasi perlakuan tersebut diulang sebanyak 4 ulangan. Data hasil pengamatan (pengamatan hari kesatu, kedua, ketiga, dan ketujuh) dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam. Apabila analisis sidik ragam menunjukkan adanya interaksi antara faktor bahan dan suhu penyimpanan, data tersebut diuji lanjut dengan uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5%. Namun, bila hasil analisis sidik ragam menunjukkan tidak ada interaksi antara faktor bahan dan suhu penyimpanan, data tersebut dianalisis sidik ragam

berdasarkan faktor tunggalnya (faktor bahan atau faktor suhu penyimpanan). Hasil analisis sidik ragam tersebut jika berbeda nyata, diuji lanjut dengan uji BNJ taraf 5%.

3.2.1 Formulasi A

Perbanyakan nematoda entomopatogen (*Steinernema* sp.) dilakukan dengan membasahi kertas saring dengan suspensi cair *Steinernema* sp. dalam petridish ukuran kecil kemudian bagian permukaannya diberi *T. molitor* hidup sebanyak 20 ekor. Setiap 24 jam berikutnya, *T. molitor* yang mati dalam petridish ukuran kecil dipindah ke petridish ukuran besar, tetapi tetap di dalam petridish kecil dengan kertas saring lembab. Bagian dasar petridish besar diisi dengan air hingga tingginya setengah petridish kecil dan dibiarkan selama tujuh hari hingga nematoda turun ke air. Prosedur ini dinamakan *White Trap* (Griffin *et al.*, 1993).

Suspensi nematoda tersebut, sebanyak 25 ml (konsentrasi 304 ji/ml) dicampur dengan bahan lainnya yaitu bahan tepung 32 gram, kaolin 8 gram, peat moss 2 gram (Connick *et al.*, 1993). Faktor bahan tepung yang digunakan adalah tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, dan tepung *wheat germ*. Untuk perlakuan tepung terigu-*wheat germ*, komposisi masing-masing adalah 16 gram sehingga berat campurannya adalah 32 gram. Suspensi nematoda sebelum digunakan untuk membuat adonan terlebih dahulu dihitung konsentrasinya dengan *counting dish*. Hasil penghitungan tersebut dilakukan sebanyak 5 kali ulangan sehingga dihasilkan konsentrasi nematoda sebanyak 304 ji/ml. Setelah itu, bahan-bahan sesuai dengan perbandingan tersebut dicampur dan diaduk hingga menjadi adonan tepung.

Adonan tepung yang sudah menyatu sempurna masing-masing bahannya, dipipihkan dengan *pasta maker* hingga ketebalannya menjadi sekitar 1 mm. Kemudian lembaran adonan tersebut diletakkan diatas loyang dan dibiarkan di udara terbuka (25°C) selama 24 jam hingga kelembapannya turun menjadi sekitar 22,4-24,3%. Pengukuran kelembapan adonan tersebut diukur menggunakan higrometer.

Lembaran adonan tepung yang kelembapannya sudah turun menjadi sekitar 22,4-24,3%, diremas dengan tangan dan sisanya ditumbuk dengan menggunakan mortar. Hasil penumbukan bahan tersebut kemudian disaring dengan saringan dengan diameter lubang 2 mm. Penyaringan tersebut dimaksudkan agar ukuran diameter granular yang diperoleh seragam (kurang dari 2 mm).

Granular-granular yang telah selesai disaring yaitu granular dengan ukuran diameter kurang dari 2 mm, disimpan pada dua kondisi perlakuan yaitu suhu 4°C (lemari pendingin) dan suhu 25°C (ruangan) yang merupakan faktor kedua dalam penelitian ini. Penyimpanan tersebut dilakukan untuk beberapa waktu pengamatan, yaitu setelah 24, 48, 72 jam dan tujuh hari penyimpanan. Masing-masing perlakuan tersebut dilakukan sebanyak empat ulangan.

Granular yang telah disimpan, pada hari pengamatan yang telah ditentukan, baik di suhu 4°C maupun 25°C, dicampur ke air steril untuk menghitung nematoda yang aktif kembali pada masing-masing waktu pengamatan. Sebanyak 0,5 gram granular (masing-masing ulangan) dicampur dengan air steril hingga volumenya mencapai 10 ml pada setiap pengamatan. Setelah granular tersebut larut dalam air steril, 1 ml larutan tersebut diambil dengan pipet volume untuk dihitung konsentrasi nematoda yang aktif kembali (ji/ml). Penghitungan tersebut diulang sebanyak tiga kali ulangan. Perhitungan tersebut dilakukan dengan menggunakan *counting dish* sebanyak tiga kali ulangan.

3.2.2 Formulasi B

Metode untuk membuat formulasi B hampir sama dengan metode formulasi A. Perbedaan metodenya yaitu saat proses penambahan suspensi nematoda. Suspensi nematoda yang digunakan pada formulasi B adalah 1121 ji/ml, sedangkan pada formulasi A adalah 304 ji/ml. Faktor yang digunakan adalah faktor bahan (tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, tepung *wheat germ*, dan tepung roti) dan faktor suhu penyimpanan (suhu 4°C dan 25°C).

3.2.3 Formulasi C

Metode yang digunakan untuk membuat formulasi C hampir sama dengan formulasi A dan B. Namun, suspensi nematoda yang digunakan pada formulasi C berbeda dengan yang digunakan pada formulasi A dan B yaitu 483 ji/ml. Selain itu, komposisi adonan formulasi C adalah 32 g tepung, 8 g kaolin, 2 g peat moss, 2 gram bentonit, dan 25 ml suspensi nematoda. Pada formulasi C tidak terdapat pembuatan adonan menjadi lembaran setebal 1 mm, namun langsung dijadikan bentuk pasta (mi) dengan lebar 1 cm dan tebal 1 mm dan dijemur pada loyang alumunium pada suhu ruangan (25°C). Setelah kelembapan turun menjadi 21,3% hingga 23,9%, dilakukan peremasan. Pada formulasi C tidak dilakukan penumbukan dengan mortar untuk membuat granular. Hasil remasan tersebut disaring dengan saringan yang berukuran lubang 5 mm. Hasil saringan dengan ukuran granular yang kurang dari 5 mm disimpan pada suhu 4°C dan 25°C. Pengamatan dilakukan pada 24, 48, 72 jam, dan tujuh hari setelah perlakuan.

3.2.4 Formulasi D

Pada formulasi D, suspensi nematoda yang digunakan adalah 483 ji/ml. Komposisi bahan sama dengan formulasi C. Faktor bahan masih sama dengan formulasi B dan C yaitu tepung terigu, tepung terigu-*wheat germ*, tepung *wheat germ*, dan tepung roti. Granulasi nematoda tidak dilakukan dengan membuat adonan tepung seperti formulasi A, B, dan C, melainkan dengan cara mengoyang tepung hingga bahan-bahan tersebut tercampur lalu ditetesi nematoda entomopatogen ke campuran tersebut. Suspensi nematoda yang berbentuk tetesan suspensi secara langsung tergulung membentuk granular. Kelembapan granular saat diukur dengan *higrometer* adalah lebih dari sama dengan 40% (batas skala maksimal pengukuran kelembapan oleh *higrometer* adalah 40%). Setelah itu granular disimpan dalam kotak penyimpanan pada suhu 4°C dan 25°C (faktor suhu penyimpanan). Pengamatan terhadap formulasi D dilakukan pada 24, 48, 72 jam, dan tujuh hari setelah perlakuan.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian dan pengujian data hasil penelitian yang telah dilakukan, granularasi nematoda entomopatogen yang terbaik adalah formulasi D karena memiliki nilai viabilitas tertinggi (jumlah NEP yang aktif kembali setelah disimpan) dibandingkan dengan ketiga formulasi lainnya. Viabilitas nematoda entomopatogen formulasi C dan D mencapai tujuh hari. Interaksi perlakuan yang terbaik pada formulasi C adalah penggunaan tepung *wheat-germ* yang disimpan pada suhu 4°C dan pada formulasi D adalah penggunaan tepung terigu yang disimpan pada suhu 4°C

5.2 Saran

Peneliti yang hendak melanjutkan penelitian ini dapat langsung menggunakan metode formulasi D karena memiliki hasil terbaik (jumlah NEP yang aktif kembali setelah disimpan terbanyak dan viabilitas nematoda entomopatogen terlama) jika dibandingkan dengan formulasi A, B, dan C. Namun, kelembaban yang terlalu tinggi pada formulasi D harus diwaspadai karena granular yang disimpan menjadi rentan terhadap jamur.



DAFTAR PUSTAKA

- Bakti, D. 2004. Pengendalian rayap *Coptotermes curvignathus* Holmgren menggunakan nematoda *Steinernema carpocapsae* Weiser dalam skala laboratorium. *J. Natur Indonesia* 6(2): 81-83
- Bedding, R.A. (1984) Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Annals of Applied Biology* 104: 117-120.
- Burnell and Stock. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts-lethal pathogens of insects. *J. Nematol* 2 (1): 31-42
- Ehlers R. U., S. Lunau, K. Krasomil-Osterfeld, and K. H. Osterfeld. 1998. Liquid culture of the entomopathogenic nematode-bacterium-complex *Heterorhabditis megidis/Photorhabdus luminescens*. *J. Biocontrol* 43: 77-86.
- Connick, W. J., W. R. Nickle, and B. T. Vinya. 1993. Pesta: new granular formulation for *Steinernema carpocapsae*. *J. Nematol* 25(2): 198-203.
- Chambers, U., Denny J. Buck, Jeff Olsen, and Vaughn M. Walton. 2010. Control of overwintering filbertworm (Lepidoptera: Tortricidae) larvae with *Steinernema carpocapsae*. *J. Econ. Entomol.* 103 (1): 416-422.
- Ehlers, R. U. and Ilan, D. I. S. *Nematodes as Biocontrol Agents*. United Kingdom: Biddles Ltd., King's Lynn.
- Fatamorgana R., Salbiah, Rike N., Intan W. E., Prakarsa S. 2006. Prospek *Steinernema* sp. Dan *Heterorhabditis* sp. sebagai agens pengendali *Meloidogyne incognita* chitwood di laboratorium. *PKMP-PIMNAS 2006*. Institut Pertanian Bogor.
- Gaugler, R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. Biddles Ltd Ltd, Guildford and King's Lynn. United Kingdom.
- Grewal, P. S. 1998. Formulations of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Japanese J. of Nematol* 28: 68-74
- Griffin, C. T., Susan A. Joyce, Ilona Dix, Ann. M. Burnell, and Martin J. Downes. Characterisation of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* (nematoda: Heterorhabditidae) from Ireland and Britain by molecular and cross breeding techniques and the occurrence of the genus in these island. *Fundam. App. Nematol* 17(3): 245-253

- Hall, F. R. and J. J. Menn. 1984. *Biopesticides Use and Delivery*. New Jersey: Humana Press
- Hussein, M. A., Hussein, H. M., and Farag, N. A. 2009. Impact of liquid agar on the efficacy of *Steinernema carpocapsae* to control *Pieris rapae* infected cabbage plantation. *J. Nematol* **19**(1): 103-107
- Irishealth. 2011. Septicaemia. Available at: <http://www.irishhealth.com/article.html?id=1908>. Accessed 23 Feb 2011
- Nguyen, K. B. and G. C. Smart, Jr. 1992. Life cycle of *Steinernema capsici* Nguyen and Smart 1990. *J. Nematol* **24** (1): 161-169
- Ogura, N. 1993. Control of scarabaeid grubs with an entomogenous nematode, *Steinernema* spp. *JARQ* **27**(1): 49-54.
- Purnomo, H. 2010. *Pengantar Pengendalian Hayati*. Andi Offset. Yogyakarta.
- Smigielski, A. J., R. J. Akhurst, and N. E. Boemare. 1994. Phase variation in *Xenorhabdus nematophilus* and *Photorhabdus luminescens*: differences in respiratory activity and membrane energization. *J. Applied and Environmental Microbiol.* **60** (1):120-125
- Sulistiyanto, Didik. 2009. Pengenalan nematoda entomopatogen sebagai agensia hayati organisme pengganggu tanaman yang berwawasan lingkungan. Available at: <http://didiksulistiyanto.wordpress.com/2009/02/12/pengenalan-nematoda-entomopatogen-sebagai-agensia-hayati-organisme-pengganggu-tanaman-yang-berwawasan-lingkungan/>. Accessed 19 Sept 2011.
- Uniprot Consortium. Genus *Steinernema*. Available at: <http://www.uniprot.org/taxonomy/34507>. Accessed September 10th, 2011.
- Wagiman. 2003. Keefektifan *Steinernema* Spp. terhadap *Spodoptera Exigua*: Effectiveness Of *Steinernema* Spp. Against *Spodoptera Exigua*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* **9**(1): 22-27

4. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Kesatu)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	8,541667	1,067708	0,960937	ns	4,39	8,75
A	3	4,625	1,541667	1,3875	ns	5,14	10,92
B	1	3,125	3,125	2,8125	ns	5,99	13,74
AB	4	0,791667	0,197917	0,178125	ns	4,76	9,78
Galat	8	8,888889	1,111111				
Total	16	17,43056					

5. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Kedua)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	1,357639	0,169705	0,191667	ns	4,39	8,75
A	3	0,760417	0,253472	0,286275	ns	5,14	10,92
B	1	0,03125	0,03125	0,035294	ns	5,99	13,74
AB	4	0,565972	0,141493	0,159804	ns	4,76	9,78
Galat	8	7,083333	0,885417				
Total	16	8,440972					

6. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Ketiga)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	3,552083	0,44401	0,835784	ns	4,39	8,75
A	3	1,538194	0,512731	0,965142	ns	5,14	10,92
B	1	0,170139	0,170139	0,320261	ns	5,99	13,74
AB	4	1,84375	0,460938	0,867647	ns	4,76	9,78
Galat	8	4,25	0,53125				
Total	16	7,802083					

7. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi C (Pengamatan Hari Ketujuh)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	1,335219	0,166902	4,58139	*	4,39	8,75
A	3	0,163603	0,054534	1,496937	ns	5,14	10,92
B	1	1,008014	1,008014	27,66949	**	5,99	13,74
AB	4	0,163603	0,040901	1,122703	ns	4,76	9,78
Galat	8	0,291444	0,036431				
Total	16	1,626663					

8. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Kesatu)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	45,44097	5,680122	7,402149	*	4,39	8,75
A	3	44,14931	14,71644	19,17798	**	5,14	10,92
B	1	1,003472	1,003472	1,307692	ns	5,99	13,74
AB	4	0,288194	0,072049	0,093891	ns	4,76	9,78
Galat	8	6,138889	0,767361				
Total	16	51,57986					

9. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Kedua)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	8,302083	1,03776	1,048684	ns	4,39	8,75
A	3	6,538194	2,179398	2,202339	ns	5,14	10,92
B	1	1,003472	1,003472	1,014035	ns	5,99	13,74
AB	4	0,760417	0,190104	0,192105	ns	4,76	9,78
Galat	8	7,916667	0,989583				
Total	16	16,21875					

10. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Ketiga)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	9,190972	1,148872	2,690041	ns	4,39	8,75
A	3	4,288194	1,429398	3,346883	ns	5,14	10,92
B	1	2,170139	2,170139	5,081301	ns	5,99	13,74
AB	4	2,732639	0,68316	1,599593	ns	4,76	9,78
Galat	8	3,416667	0,427083				
Total	16	12,60764					

11. Hasil Analisis Data Pengamatan NEP dalam Granular pada Formulasi D (Pengamatan Hari Ketujuh)

SK	db	JK	KT	F Hitung	Notasi	F tabel	
						5%	1%
Perlakuan	8	2,769318	0,346165	31,07424	**	4,39	8,75
A	3	0,182609	0,06087	5,464095	*	5,14	10,92
B	1	2,4041	2,4041	215,8093	**	5,99	13,74
AB	4	0,182609	0,045652	4,098071	ns	4,76	9,78
Galat	8	0,089119	0,01114				
Total	16	2,858437					

