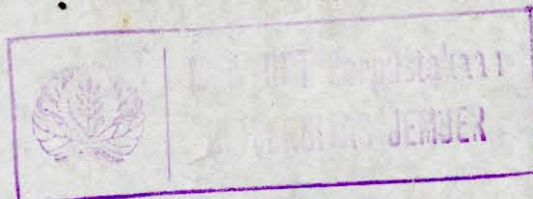
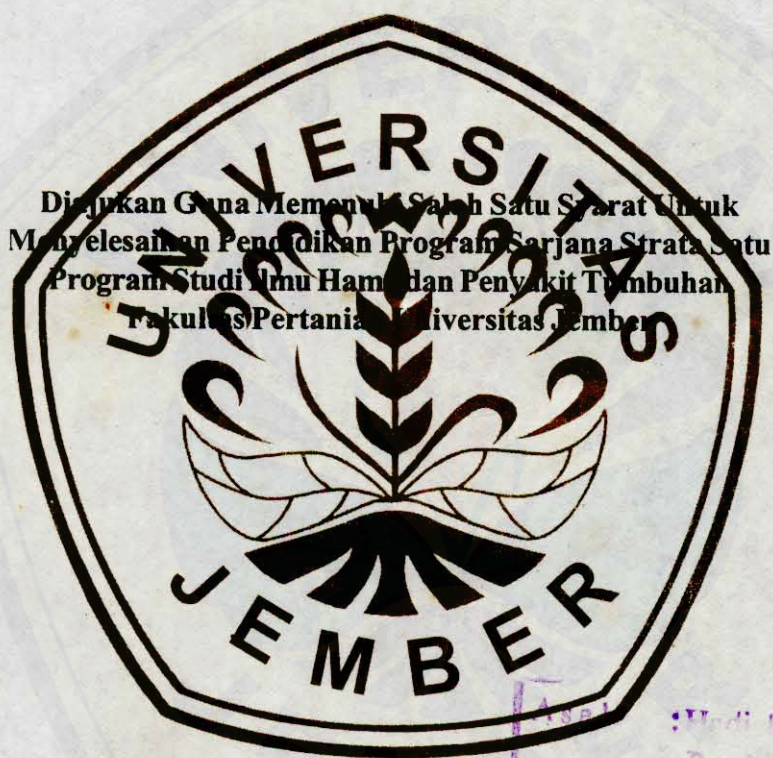


TEKNIK FORMULASI NEMATODA ENTOMOPATOGEN
Steinernema spp. ISOLAT LOKAL



KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)



Oleh

Kautsaril Barida

NIM. 961510401193

5
Klass 632.651
Terima : 7 JUL 2001
No Induk : 10236259
BAR
t
e.1

PEMBIMBING :

Dr. Ir. Didik Sulistyanto (DPU)

Ir. Wagiyana, MP (DPA I)

Ir. Sutjipto, MS (DPA II)

Diterima Oleh :

Fakultas Pertanian Universitas Jember

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 23 Mei 2001

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua


(Dr. Ir. Didik Sulistyanto)
NIP. 131 792 232

Anggota I


(Ir. Wagiyana, MP)
NIP. 131 759 840

Anggota II


(Ir. Sutjipto, MS)
NIP. 130 674 883

Mengesahkan

Dekan


(Ir. Arle Mudjiharjati, MS)
NIP. 130 609 808

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala nikmat dan hidayahnya penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian dalam bentuk Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) yang berjudul: **Teknik Formulasi Nematoda Entomopatogen *Steinernema spp.* Isolat Lokal**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan jenjang strata satu dalam bidang ilmu pertanian.

Selama penyusunan tulisan ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Sehubungan dengan hal tersebut, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberi ijin dan menyetujui penulisan karya ilmiah tertulis ini.
2. Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan atas segala bantuan hingga terselesaikannya penelitian ini.
3. Dr. Ir. Didik Sulistyanto, Ir. Wagiyana, MP dan Ir. Sutjipto, MS selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan dan arahan serta saran dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan laporan dalam bentuk skripsi.
4. Keluarga kami yang telah memberi dukungan moral serta bantuan finansial sehingga naskah ini dapat terselesaikan.
5. Teman-temanku di HPT angkatan 1996 yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas dukungan yang diberikan.

Harapan penulis semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat memberikan tambahan pengetahuan dan bermanfaat bagi pembaca yang budiman.

Jember, Mei. 2001

Penulis

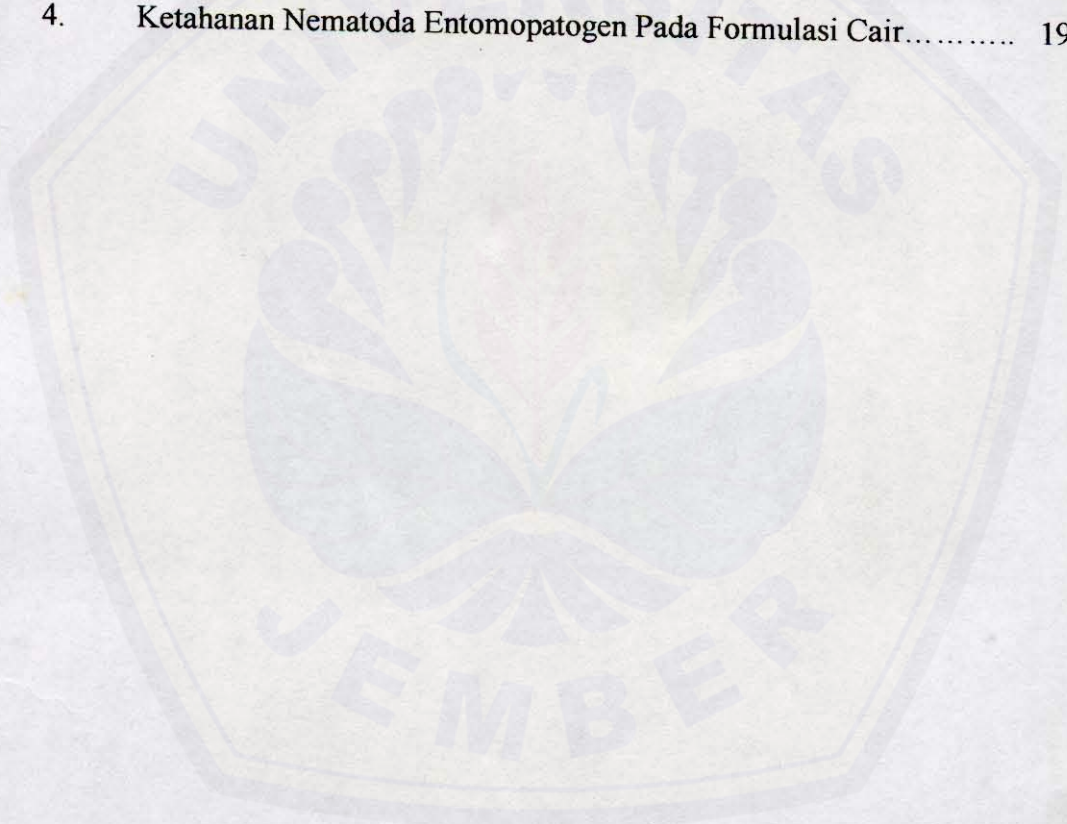
DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
ABSTRAK.....	ix
RINGKASAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan.....	1
1.2 Tujuan dan Manfaat.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Siklus Hidup Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp.....	3
2.2 Patogenesitas dan Kisaran Inang Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp.	4
2.3 Produksi Massal Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp.....	5
2.4 Formulasi Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. pada media cair.....	6
2.5 Formulasi Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. pada media padat.....	7
2.6 Hipotesis.....	9
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Bahan dan Alat.....	10
3.3 Metode Penelitian.....	10
3.3.1 Pembiakan Massal Nematoda Entomopatogen dan Bakteri Simbiose.....	11
3.3.2 Pemanenan Nematoda.....	13
3.3.3 Teknik Formulasi Nematoda.....	13

3.4 Parameter Pengamatan	14
3.5 Analisa Data	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1 Daya Tahan Hidup Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. Pada Formulasi Padat.....	15
4.2 Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Daya Tahan Hidup <i>Steinernema</i> spp. Isolat Lokal Dalam Formulasi Padat	17
4.3 Interaksi Antara Media Formulasi dengan Suhu Terhadap Daya Tahan Hidup Nematoda <i>Steinernema</i> spp. Isolat Lokal	17
4.4 Pengaruh Bahan Adjuvant Terhadap Daya Tahan Hidup <i>Steinernema</i> spp. Pada Formulasi Cair	19
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
5.1 Kesimpulan	23
5.2 Saran.....	23
DAFTAR PUSTAKA	24

DAFTAR TABEL

Tabel	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Daya Tahan Hidup Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. Isolat Lokal Pada Formulasi Padat	15
2.	Pengaruh Suhu Penyimpanan Dengan Formulasi Padat.....	18
3.	Ketahanan Nematoda Entomopatogen Pada berbagai Formulasi Padat yang Disimpan pada Suhu Inkubator dan Kamar	18
4.	Ketahanan Nematoda Entomopatogen Pada Formulasi Cair.....	19



DAFTAR GAMBAR

Gambar	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Perbanyak Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. Secara <i>in-vitro</i>	12
2.	Perbanyak Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. Secara <i>in-vivo</i>	12
3.	Formulasi Dalam Bentuk Padat.....	17
4.	Formulasi Dalam Bentuk Cair	21
5.	Daya Tahan Hidup Nematoda Entomopatogen <i>Steinernema</i> spp. Pada Formulasi Padat	16
6.	Pengaruh berbagai Jenis Adjuvant Terhadap Daya Tahan Hidup <i>Steinernema</i> spp.....	20
7.	Gejala Larva <i>Tenebrio molitor</i> yang Terinfeksi nematoda entomopatogen <i>Steinernema</i> spp.....	22

**The Formulation Technique of Entomopathogenic Nematode *Steinernema* spp.
Local Isolate**

By Kautsaril Barida

ABSTRACT

The chemical control could be one of so many ways which has been frequently used to cope with pest, while its negative influence for both human life and circumstances has also been felt. Entomopathogen Nematode, as a biological agent, is one of the alternatives used in controlling pest. To prepare this agent, we need economical and effective techniques for formulating and storing. The aim of this research is to study the influence of formulation media, effect of temperature and humidity, and solution towards the resisting power of local isolate Entomopathogen Nematode. Here are steps of research method used by the writer nematode multiplication, namely bacteria multiplication, media inoculation with bacteria and Nematode, Nematode Harvesting, Nematode formulating, and patogenicity nematode examining. The result of the research shows that the resisting power of Entomopathogen Nematode that could last 50 days in storing media lava soil, calcite soil A, calcite soil B, and in the media of tofu flour in a row are $0,893 \times 10^4$; $0,715 \times 10^4$; $0,240 \times 10^4$; $0,320 \times 10^4$ and $0,290 \times 10^4$. The resisting power of the local isolate *Steinernema* spp. decreases while being stored. The average of its resisting power in alcohol, clove, and formaline in a 5 days storing are 19,6; 19,4 and 6 tail; patogenicity of *Xenorhabdus* spp. toward insects *tenebrio molitor* is very high.

Key words : Formulation, *Steinernema* spp., Patogenicity

RINGKASAN

Kautsaril Barida. 961510401193. Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. **Teknik Formulasi Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp. Isolat Lokal.** Dosen pembimbing Dr. Ir. Didik Sulistyanto, Ir. Wagiyana,MP., Ir. Sutjipto, MS.

Penggunaan insektisida sintetik yang tidak bijaksana dapat menimbulkan dampak negatif diantaranya adalah resurgensi hama, resistensi hama, matinya musuh alami, merusak lingkungan dan merugikan manusia. Agen pengendali hayati nematoda entomopatogen berpotensi untuk mengatasi permasalahan hama, dikarenakan memiliki beberapa kelebihan diantaranya mempunyai virulensi yang tinggi terhadap inang, membunuh inang dalam waktu yang cepat, dapat diproduksi secara massal baik di media *in-vivo* maupun *in-vitro* dengan biaya yang relatif murah, dapat diaplikasikan dengan mudah dan kompatibel dengan cara pengendalian lain.

Penelitian dilaksanakan di laboratorium pengendalian hayati jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember, mulai bulan Juli tahun 2000 sampai bulan Januari 2001, dengan tujuan untuk mengetahui formulasi yang paling baik terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen, pengaruh suhu penyimpanan terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen, interaksi formulasi terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen, serta pengaruh adjuvant alkohol, cengkeh, serta formalin dengan konsentrasi 0,01% terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen. Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap yaitu pembiakan massal nematoda entomopatogen dan bakteri simbiose, pemanenan nematoda, penyimpanan dan formulasi nematoda, serta uji patogenesitas dengan ulat *Tenebrio molitor*.

Pengujian formulasi dilakukan dengan menyimpan nematoda pada media spon, tanah lava, tanah kalsit A, tanah kalsit B, serta tepung ampas tahu, disimpan pada suhu kamar dan suhu inkubator selama 50 hari, dan pengamatan dilakukan selang waktu 5 hari. Pengujian pengaruh adjuvant dilakukan dengan menyimpan nematoda pada alkohol, cengkeh serta formalin dengan konsentrasi 0,01%,

disimpan selama 50 hari, pengamatan dilakukan setelah 12 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam penyimpanan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi padat pada media spon memberikan hasil yang lebih baik terhadap daya tahan hidup nematoda *Steinernema* spp. setelah 50 hari penyimpanan dengan jumlah nematoda yang hidup mencapai $0,893 \times 10^4$ dibandingkan pada media padat lainnya. Penyimpanan pada suhu inkubator memberikan hasil yang lebih baik terhadap daya tahan hidup *Steinernema* spp. isolat lokal. Penyimpanan nematoda entomopatogen dalam suhu inkubator ($25,5^{\circ}\text{C}$) rata-rata jumlah nematoda yang hidup mencapai $5,38 \times 10^3$ setelah 50 hari penyimpanan, sedangkan pada suhu kamar ($25-27^{\circ}\text{C}$) mencapai $4,45 \times 10^3$. Formulasi cair dengan adjuvant alkohol 0,01% memberikan daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. lebih baik dibandingkan dengan cengkeh, dan formalin, setelah 120 jam penyimpanan jumlah nematoda entomopatogen yang hidup mencapai 19,6 ekor; 19,4 ekor; dan 6 ekor, hal ini karena larutan formalin mempunyai sifat iritan yang lebih besar jika dibandingkan dengan larutan alkohol maupun larutan cengkeh.

I. PENDAHULUAN

I. Latar Belakang Permasalahan

Penggunaan insektisida untuk pertanian dapat menekan kehilangan hasil yang diakibatkan oleh organisme pengganggu tanaman (OPT). Insektisida sintetis sampai saat ini masih menjadi tumpuan dalam mengendalikan serangga hama tanaman di Indonesia. Penggunaan insektisida sintetis yang tidak bijaksana dapat menimbulkan dampak negatif yang sangat merugikan, diantaranya resurgensi hama, resistensi hama, matinya musuh alami merusak lingkungan, dan membahayakan manusia. Adanya dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia mengakibatkan insektisida hayati mulai diperhatikan sebagai alternatif pengendalian serangga hama. Salah satu contoh adalah penggunaan agensia hayati nematoda entomopatogen yang telah banyak dipergunakan untuk mengendalikan serangga hama baik pada tanaman perkebunan, pangan, rumput lapangan golf, serta hortikultura. Nematoda entomopatogen memiliki beberapa kelebihan diantaranya: virulensi yang tinggi terhadap inangnya, membunuh inangnya dengan cepat (24-48 jam), dapat di produksi secara massal baik di media *in-vitro* maupun *in-vivo* dengan biaya yang relatif murah, dapat diaplikasikan dengan mudah dan kompatibel dengan insektisida yang lain (Sulistyanto, 1998a).

Nematoda entomopatogen telah diproduksi massal dengan formulasi dalam media padat dan cair sebagai teknik pengendalian hayati dalam augmentasi agen hayati (Georgis, 1992). Penggunaan media cair oleh formulator merupakan terobosan baru dalam rangka mencari bentuk formulasi yang tepat terhadap nematoda entomopatogen tanpa menghilangkan atau menurunkan patogenesis nematoda setelah diformulasikan.

Telah ditemukannya nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. di Indonesia maka rintisan untuk produksi massal dan formulasi sehingga nematoda entomopatogen sebagai biopestisida perlu dilakukan dalam rangka mendukung program pengendalian hama terpadu (PHT) nasional. Dari kenyataan ini maka

penelitian tentang pengembangan teknik penyimpanan dan formulasi perlu dilakukan untuk memproduksi massal nematoda entomopatogen dalam suatu industri formulasi nematoda entomopatogen di masa yang akan datang.

1.2 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui formulasi yang paling baik terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. Isolat lokal.
2. Mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal.
3. Mengetahui interaksi media formulasi dengan suhu terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal.
4. Mengetahui pengaruh adjuvant alkohol, cengkeh, serta formalin dengan konsentrasi 0.01 % terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal.

1.2.2 Manfaat

1. Menyediakan produk biopestisida nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. yang efektif terhadap serangga hama tanaman.
2. Memperoleh formulasi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. yang efektif dan ekonomis.
3. Memperpanjang daya tahan hidup nematoda entomopatogen serta mempermudah aplikasi nematoda entomopatogen dilapang.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Siklus Hidup Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp.

Nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. memiliki perilaku yang sama. Nematoda entomopatogen ini mempunyai perilaku bermacam-macam, seperti perilaku menyerang karena mempunyai kemampuan aktif mencari serangga inang contohnya *Steinernema glaseri* dan *Heterorhabditis* spp., sedangkan perilaku diam dan menunggu inang sampai berada didekatnya terdapat pada *Steinernema carpocapsae*. Di dalam inang, nematoda akan melakukan penetrasi kedalam tubuh serangga, biasanya melalui lubang alami tubuh serangga yaitu mulut, anus, spirakel atau menembus kutikula yang tipis. Setelah berada didalam haemocoel nematoda entomopatogen akan melepaskan bakteri simbiotik *Xenorhabdus* spp. untuk *Steinernema* spp. dan *Photobabidus* spp. untuk *Heterorhabditis* spp. yang dapat memperbanyak diri dengan cepat akibatnya serangga akan mengalami kematian dengan cepat (Gaugler, 1981).

Nematoda entomopatogen mempunyai siklus hidup yang berlangsung dari telur, larva, stadia juvenil dan dewasa. Pada tahap juvenil nematoda mengalami empat kali pergantian kulit sebelum mencapai dewasa bahkan pergantian kulit dapat terjadi di dalam telur maupun di dalam tubuh serangga inangnya (Tanada dan Kaya, 1993). Di dalam tubuh serangga bakteri mengeluarkan protein anti immune yaitu anti mikrobial yang dapat menekan kolonisasi pada kadaver oleh kompetisi penyerbu sekunder. Stadia infektif dari nematoda entomopatogen adalah juvenil infektif yang merupakan *dauerlarva* dimana hal itu terjadi karena kepadatan populasi atau kondisi nutrisi yang tidak memadai. *Dauerlarva* menyimpan makanan didalam tubuhnya sehingga mampu hidup bebas di lingkungan luar tubuh inangnya dan tahan terhadap kondisi lingkungan. Infektif juvenil mengandung sel-sel bakteri *Xenorhabdus* spp. yang disimpan dalam saluran pencernaan.

Seperti agen pengendali hayati lainnya, nematoda entomopatogen memerlukan keadaan tertentu untuk menjadi efektif. Pengaruh pengeringan atau penyinaran ultraviolet dengan cepat dapat menyebabkan nematoda inaktif.

2.2 Patogenesitas dan Kisaran Inang Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp.

Nematoda entomopatogen sebagai agensia pengendali hayati serangga hama memiliki beberapa kelebihan diantaranya: mempunyai daya bunuh antara 24-48 jam setelah serangga hama terinfeksi, memiliki spektrum luas dapat membunuh serangga ordo seperti Lepidoptera, Coleoptera, dan Diptera, aman bagi musuh alami, binatang yang berdarah panas, invertebrata, dan aman bagi lingkungan (Sulistyanto,1998b). Kisaran inang dari nematoda entomopatogen adalah serangga-serangga hama pada tanaman jeruk, strawberri, hortikultura, rumput lapangan golf, jamur merang dan tanaman perkebunan (Sulistyanto,1998b). Nematoda entomopatogen dapat memparasit laba-laba, binatang berkulit keras, molusca dan serangga hama lainnya. Jika nematoda entomopatogen menyerang serangga hama maka akan dapat membunuh atau menghambat perkembangan dari serangga inang. Di dalam proses infeksi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. pada serangga inangnya terdapat interaksi mutualisme antara nematoda entomopathogen dengan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* spp. Bakteri ini terdapat didalam saluran pencernaan juvenil infeksi (Poinar,1979).

Tanada dan Kaya (1993) menyatakan bahwa gejala serangan nematoda entomopatogen terhadap serangga inang menyebabkan gejala eksternal, internal, dan perilaku. Pada umumnya serangga yang terserang oleh nematoda entomopatogen menunjukkan gejala perubahan warna, tubuh menjadi lembek, dan bila dibedah konstitusi jaringan menjadi cair tapi tidak berbau busuk.

2.3 Produksi Massal Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp.

Penelitian tentang media pembiakan nematoda entomopatogen telah banyak dilakukan oleh beberapa negara maju seperti Jepang, Jerman, dan Amerika Serikat. Pemanfaatan beberapa agens pengendali hayati sangat tergantung pada tersedianya

bahan dalam jumlah yang cukup dan harga yang murah. Strategi untuk mengimplementasikan agens pengendali hayati pada pasar termasuk pengembangan produksi massal, penyimpanan, dan teknologi formulasi. Pengembangan produksi massal dan formulasi nematoda entomopatogen merupakan langkah maju ke arah komersialisasi produk tersebut. Proses fermentasi cair (Friedman,1990) dan media biakan padat (Bedding,1984) merupakan metode yang digunakan oleh industri formulasi nematoda entomopatogen. Teknik pembiakan nematoda entomopatogen pada awalnya dilakuakn secara *in -vivo*. Media yang pertama kali digunakan berupa larva serangga yang merupakan inang dari nematoda entomopatogen tersebut di alam. Nematoda *Steinernema* spp. merupakan salah satu jenis nematoda yang dikembangbiakkan dengan teknik pembiakan *in-vivo*. Perkembangbiakan *in-vivo* hanya mampu untuk memenuhi kebutuhan bagi kegiatan penelitian maupun pengendalian dalam skala kecil.

Berbagai jenis media yang dapat menghasilkan nematoda entomopatogen dengan kapasitas produksi besar terus ditemukan baik berbentuk padat maupun cair. Bedding (1981) membuat suatu formulasi media untuk memperbanyak nematoda entomopatogen yang terdiri dari homogenat ginjal hewan 60%, lemak 20% dan air 20%. Kisaran suhu normal untuk pembiakan nematoda *Steinernema carpocapsae* berkisar pada suhu 19-27°C atau sesuai dengan kehidupan di lingkungan aslinya. Temperatur tinggi pada pembiakan massal dapat menyebabkan bertambahnya tingkat kematian dalam kultur, sedangkan pada temperatur rendah akan menyebabkan bertambahnya waktu untuk pembiakan dan membutuhkan inokulum nematoda yang lebih banyak (Han *et.al.*1993).

2.4 Formulasi Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp. Pada Media Cair

Setelah hasil panen yang melimpah nematoda dikemas dalam bentuk formulasi tertentu untuk dipasarkan. Sebelum dikemas dalam bentuk formulasi, nematoda umumnya disimpan didalam tangki atau tabung aerasi yang besar. Teknik formulasi dan penyimpanan nematoda entomopatogen merupakan hal yang terpenting sebelum

bioinsektisida di pasarkan ke masyarakat. Penyimpanan sementara dari nematoda dilakukan pada bahan khusus seperti alginate gel, polyacrylamide gel, atau dalam tanah liat. Menurut Georgis (1990) formulasi dan penyimpanan nematoda entomopatogen menimbulkan masalah yang unik yang tidak dijumpai dalam pestisida kimiawi. Teknik penyimpanan dan formulasi harus menyediakan kondisi optimum untuk menjamin daya tahan hidup yang maksimum dan stabilitas infektifitas nematoda. Sebelum diformulasikan, umumnya nematoda disimpan di refrigerator dalam suspensi larutan yang beraerasi atau dalam spon.

Ekstrak tanaman kayu manis kering, cengkeh, rosemary dan oregano telah di uji sebagai adjuvant untuk memperpanjang daya hidup nematoda entomopatogen dalam media cair (Strauch *et al.*, 2000). Minyak cengkeh mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku pestisida nabati, karena produksinya cukup melimpah dan memiliki khasiat sebagai anti mikroba (Kardinan, 1999). Minyak cengkeh mengandung eugenol 83,5%, eugenol asetat 5,3%, β - *caryofilent* 0,23%, sedangkan ekstrak atau oleoresin mengandung minyak cengkeh 61%, dan eugenol 53,2%. Formula berbahan baku minyak cengkeh baik dalam bentuk cair maupun *powder* cukup efektif menekan beberapa jenis jamur dan bakteri patogen penyebab penyakit tanaman secara *in-vitro* maupun *in-vivo* pada dosis 0,01%-0,6 (Asman *et.al.*, 1999).

Larutan alkohol 0,015% dan formalin 0,01% berfungsi sebagai desinfektan pada sterilisasi nematoda entomopatogen. Formalin banyak digunakan untuk mengawetkan spesimen biologi dalam laboratorium atau dalam museum karena dapat membunuh dan berfungsi sebagai desinfektan (Karyadi,1994). Formalin merupakan senyawa polar, larut dengan baik dalam air. Larutan formalin 1% bersifat bakterisid dan efektif terhadap jamur. Formalin merupakan larutan gas formaldehid 37% dalam air. Bau dan sifat iritan formalin lebih besar dibandingkan alkohol (Purwastyastuti,1995). Alkohol pada umumnya digunakan sebagai pelarut dan mempunyai sifat mudah terbakar, mudah tercampur dengan air, dan mempunyai titik didih yang tinggi. Senyawa alkohol banyak

digunakan sebagai pelarut, pembersih karat pada logam-logam, dan sebagai bahan baku untuk membuat berbagai produk industri, zat warna serta parfum.

Teknologi penyimpanan untuk jangka waktu lama dan sekaligus formulasinya merupakan rangkaian dari produksi massal nematoda, formulasi dalam spon, polyurethane, hanya efisien untuk skala percobaan dan segmen pemasaran kecil. Teknik formulasi dalam substrat tertentu akan mempermudah transportasi dan aplikasi (Georgis,1990). Pada saat ini produk nematoda tidak sesuai dengan standar yang diharapkan. Hal ini disebabkan karena adanya faktor pembatas yaitu ukuran pasar untuk produk nematoda . Faktor pembatas yang lain adalah ukuran kemasan, khususnya kebutuhan kelembaban dan oksigen dimana nematoda membutuhkan volume kemasan yang lebih besar.

Formulasi nematoda entomopatogen dalam media padat telah dilakukan pada spon dan tanah liat. Formulasi pasta nematoda berisi 1-1,5 juta IJ/gr media untuk *Heterorhabditis bakteriophora* dan 1,3 juta IJ/gr media untuk *Heterorhabditis indica*. Attapulgit dan bentonit dikeringkan pada suhu 105 °C selama 24 jam. Pasta nematoda dicampur secara homogen pada spon dan juga pada tanah liat (Straucht *et. al.*,2000).

2.5 Formulasi Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp. Pada Media Padat

Tanah lava Semeru sebagai bahan pembawa dalam formulasi nematoda entomopatogen merupakan bahan vulkan yang terdiri dari mineral-mineral. Bahan erupsi gunung Semeru tersebut mempunyai kemampuan melapuk agak lambat dan kaya akan unsur Ca dan Mg. Bahan erupsi gunung Semeru berukuran pasir sangat halus. Mineral yang ada di gunung Semeru menunjukkan dominasi mineral plagioklas 45-50%, piroksin 20%, olivin 5%, gelas vulkanik 15-25%, dan hornblende 5-10%.

Tabel Hasil analisis komposisi kimia bahan vulkanik dari gunung Semeru

Kandungan Kimia	Prosentase
SiO ₂	53,25
Al ₂ O ₃	17,59
Fe ₂ O ₃	10,60
CaO	9,14
MgO	6,44
Na ₂ O	0,92
K ₂ O	0,39
MnO	0,25
TiO ₂	0,61
P ₂ O ₅	0,40
H ₂ O	0,17
HD (hilang dibakar)	0,24

Sumber : Santoso, 2000.

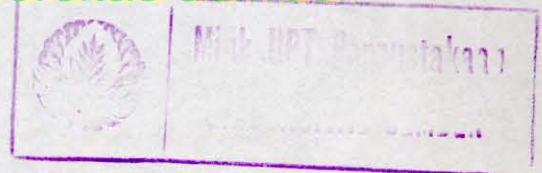
Mineral merupakan bahan alam homogen dari senyawa anorganik asli (Darmawijaya, 1990). Kalsit (CaCO₃) merupakan mineral penting dari golongan karbonat. Mineral kalsit merupakan mineral pokok dalam batuan kapur dan pualam. Adanya kalsit di dalam tanah dapat menaikkan pH tanah selain itu juga sebagai sumber unsur Ca yang dibutuhkan tanaman. Komposisi kimia kalsit terdiri dari CaO 56%, CO₂ 44% dan biasanya tercampur dengan silika, tanah, bahan organik, serta limonite atau hematit (Betekhtin, 1970)

Ditinjau dari kandungan nutrisinya, ampas tahu kering masih memiliki kandungan protein yang tinggi, yaitu sekitar 24,3% dengan komposisi asam amino yang cukup kecuali methionin (Pulungan dan Rangkuti, 1984). Apabila ampas tahu dibuat menjadi tepung maka penggunaannya sebagai bahan pencampur atau karier. Tepung ampas tahu

dibuat melalui beberapa tahap yaitu pemerasan untuk mengurangi sebagian kadar air, kemudian dilanjutkan dengan pengeringan, penggilingan dan pengayakan.

2.6 Hipotesis

1. Formulasi dalam spon memberikan hasil yang lebih tinggi terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp.
2. Suhu inkubator memberikan hasil yang lebih baik terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp.
3. Terdapat interaksi antara media formulasi padat dengan suhu penyimpanan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp.
4. Adjuvant alkohol memberikan hasil yang lebih baik terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp.



III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Pengendalian Hayati jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember bulan Juli tahun 2000 sampai bulan Januari 2001.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan antara lain: biakan massal nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat Pujon, biakan murni bakteri simbion nematoda entomopatogen *Xenorhabdus* spp., *Tenebrio molitor*, tepung agar-agar, yeast ekstrak, gula pasir, minyak kelapa, aquadest, medium yeast salt (YS), Alkohol 0,1 %, gliserol steril, larutan alkohol, formalin, cengkeh, tanah lava gunung Semeru, tepung ampas tahu, batu kalsit, beaker glass 100, 500 dan 1000 ml, erlenmeyer 250 dan 500 ml, autoklaf listrik, cawan petri plastik steril, eppendorf tube plastik 1,5 ml steril, laminar airflow, hand-counter, mikroskop binokuler, jarum ose, kapas steril, aluminium foil, spon polyurethan ukuran 2x2x2 cm, lembaran parafilm, timbangan elektronik, saringan nematoda 30 μ m dan 15 μ m, hand sprayer dan aerator listrik 220 volt.

3.3 Metode Penelitian

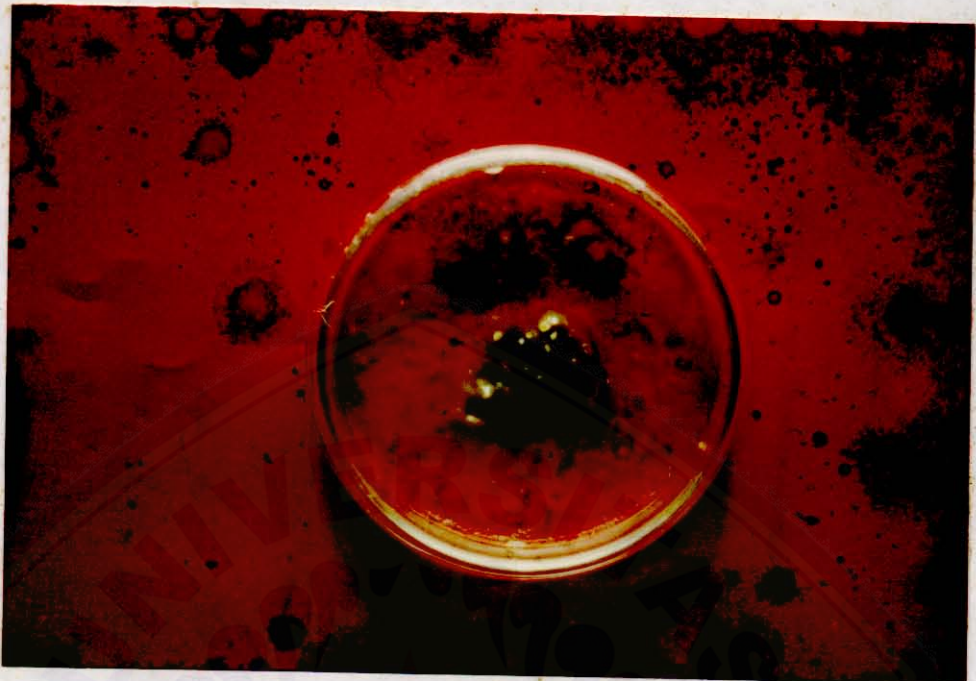
Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap faktorial (RAL) dengan 2 faktor dan 3 ulangan untuk penyimpanan dan formulasi dalam bentuk padat. Faktor pertama adalah media yang terdiri dari 5 macam media yaitu spon, tanah lava, tanah kalsit A, tanah kalsit B, dan tepung ampas tahu. Faktor kedua adalah suhu penyimpanan yang terdiri dari 2 macam perlakuan yaitu suhu inkubator 25,5°C dan suhu kamar dengan kisaran suhu antara 25-27°C. Rancangan percobaan yang digunakan untuk pengujian formulasi dalam bentuk cair adalah

Rancangan Acak Lengkap sederhana. Proses formulasi nematoda entomopatogen *Steinernema spp.* isolat lokal melalui beberapa tahapan, yaitu :

3.3.1 Pembiakan massal Nematoda dan Bakteri Simbiotik

Perbanyakan nematoda entomopatogen dilakukan secara *in-vivo* dan *in-vitro*. Perbanyakan *in-vivo* dilakukan dengan pembiakan nematoda entomopatogen pada larva *Tenebrio molitor* yang diinfeksi nematoda entomopatogen kemudian di ekstraksi dengan metode *white trap*. Perbanyakan *in-vitro* dilakukan dengan menggunakan media padat yang terdiri dari tepung agar-agar, gula pasir, yeast ekstrak, kentang, minyak kelapa dan ekstrak hati. Semua bahan dicampur hingga homogen sambil dipanaskan pada pemanas listrik hingga campuran mendidih kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril. Sterilisasi media dalam autoklaf selama 30 menit (121°C , 15 atm) (Bedding, 1981). Setelah media dituang kedalam petridis kemudian sebanyak 1 ml bakteri simbiotik diinokulasikan kedalam petridis dan dikocok secara vertikal agar bakteri merata. Setelah 24 jam masa inkubasi ginjal sapi diletakkan pada bagian tengah media dan nematoda entomopatogen *Steinernema spp.* diinokulasikan pada media setelah nematoda tersebut disterilisasi dengan menggunakan alkohol 0,01 % selama 60 menit dilanjutkan dengan membilas sebanyak tiga kali dengan aquadest steril (Kaya dan Stock, 1997). Media yang diinokulasi diinkubasikan pada suhu $25,5^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari- 10 hari.

Perbanyakan bakteri berasal dari biakan murni bakteri isolat Pujon. Koloni murni bakteri simbiotik *Xenorhabdus spp.* di inokulasi ke media YS (Yeast Salt) dan digojok dengan shaker selama 24 jam. Kemudian ditambah dengan gliserol 15% dan di simpan dalam eppendorf tube 1,5 ml, disimpan dalam suhu -20°C (Akhurst, 1980 dalam Kaya dan Stock, 1997).



Gambar 1. Perbanyakkan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. secara *in-vitro* pada media agar.



Gambar 2. Perbanyakkan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. secara *in-vivo* dengan ulat *Tenebrio molitor*.

3.3.2 Pemanenan Nematoda

Pemanenan nematoda dilakukan 7-10 hari setelah inokulasi nematoda dan menyemprot permukaan agar dengan air kemudian suspensi disaring saringan 30 dan 15 μm . Pemanenan pada perbanyakan *in-vivo* dilakukan pada 1–2 minggu setelah inokulasi dan juvenil infeksi yang dihasilkan disaring dengan saringan 30 μm dan 15 μm . Penyimpanan sementara dilakukan dengan menempatkan suspensi nematoda dalam botol air mineral dan diaerasi terus-menerus. Penyimpanan jangka panjang nematoda ditempatkan dalam erlenmeyer yang berisi spon polyurethen (2x2x2 cm) dengan kelembaban 80% kemudian disimpan dalam inkubator.

3.3.3 Teknik Formulasi Nematoda

3.3.3.1 Formulasi Nematoda Entomopatogen Dalam Bentuk Cair

Teknik penyimpanan dilakukan dengan mengaplikasikan 100 infeksi juvenil (IJ) pada masing-masing adjuvant alkohol 0,01%, formalin 0,01%, dan cengkeh 0,01%. Kemudian formulasi diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar, selama inkubasi dihitung jumlah nematoda yang mati dengan menggunakan cawan hitung. Setelah inkubasi berakhir dilakukan uji patogenesis nematoda menggunakan media pasir, selanjutnya diinkubasikan selama 5 hari. Kemudian selama inkubasi dilakukan pengamatan terhadap serangga uji.

3.3.3.2 Formulasi Nematoda Entomopatogen Dalam Bentuk Padat

Formulasi dalam spon dilakukan dengan menyimpan 2 ml suspensi nematoda dalam spon polyurethan yang berukuran 2x2x2 cm sebanyak 10 spon, diinokulasi nematoda sebanyak 10.000 IJ/ml. Untuk bentuk formulasi yang lain yaitu tanah lava, batu kalsit A dan B serta ampas tahu dilakukan dengan menimbang masing-masing media sebesar 20 gr kemudian media dicampur dengan suspensi nematoda sebanyak 20.000 IJ/gram media. Selanjutnya media diaduk sampai terjadi campuran yang merata. Semua bentuk formulasi kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dengan ulangan sebanyak 3 kali dan selanjutnya disimpan pada suhu kamar dan

inkubator selama 50 hari, setiap selesai pengamatan dilakukan uji patogenesis nematoda terhadap larva *Tenebrio molitor*.

3.3.3.3 Uji Patogenesis Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp.

Pengujian patogenesis nematoda dilakukan dengan menginokulasi nematoda entomopatogen dari semua media formulasi pada larva *Tenebrio molitor* dengan dua juvenil infeksi nematoda dengan menggunakan mikropipet 25 μ l. Setiap ekor serangga ditempatkan di dalam tabung plastik berukuran tinggi 2,5 cm dan diameter dasar tabung 2 cm yang telah diisi dengan pasir halus steril setinggi 0,7 cm yang kemudian ditutup dengan kertas filter yang dibasahi dengan air steril hingga cukup lembab.

3.4 Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. yang hidup dan mortalitas larva *Tenebrio molitor* yang terinfeksi nematoda. Jumlah nematoda entomopatogen yang hidup pada formulasi dalam bentuk cair dicatat setiap hari selama 5 hari sedangkan jumlah nematoda yang hidup pada formulasi dalam bentuk padat dicatat tiap 5 hari sekali selama 50 hari penyimpanan.

3.5 Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis varian untuk membedakan rerata antar perlakuan dilakukan uji Tukey pada jenjang kesalahan 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan teknik formulasi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal, dapat disimpulkan bahwa :

1. Formulasi padat dalam spon memberikan hasil lebih baik terhadap daya tahan hidup *Steinernema* spp. dibanding formulasi padat lainnya, setelah 50 hari pengamatan jumlah nematoda mencapai $0,89 \times 10^4$ ekor.
2. Jumlah nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal yang hidup pada suhu inkubator ($25,5^\circ\text{C}$) lebih banyak dibandingkan pada suhu kamar (25°C - 27°C) mencapai $0,538 \times 10^4$ setelah 50 hari penyimpanan.
3. Penyimpanan Formulasi nematoda entomopatogen pada suhu inkubator memberikan hasil yang lebih baik dibanding pada suhu kamar terhadap daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp.
4. Daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dengan adjuvant alkohol 0,01% lebih baik dibanding dengan cengkeh 0,01% dan formalin 0,01% setelah 120 jam penyimpanan, rata-rata jumlah nematoda yang hidup mencapai 19,6 ekor.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan tentang pengembangan teknik penyimpanan dan formulasi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. isolat lokal yang dapat meningkatkan daya tahan hidup dan mempermudah aplikasi nematoda entomopatogen dilapang serta perlu adanya penambahan zat antimikroba dalam media penyimpanan .

DAFTAR PUSTAKA

- Asman, Ariful, Rusli, Sofyan, K, Rukmiati. 1999. **Diversification of Clove Products as Phytopesticides**. Final Report of RUT III 1995/1998 61p. Balitro Departemen Pertanian. Bogor.
- Bedding, R. A. 1981. **Low Cost In-Vitro mass Production of Neoplectana and Heterorhaditis Species (Nematoda) for Field Control of Insect Pest**. Nematologica.
- _____. 1984. **Large Scale Production, Storage and Transport of The Insect Parasitic Nematodes *Neoplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp.** Ann. Appl. Biol. 104 : 117 – 120pp
- Betekhtin, A. 1970. **A Course of Mineralogy**. Peace Publisher. Moscow. 341-350pp
- Darmawijaya, M. I.1990. **Klasifikasi Tanah**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Epsky, N. D, J. L. Capineral, 1994. **Invasion Efficiency as Measure of Efficacy of The Entomogenous Nematodes *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida Steinernematidae)**. Econ. Entomol 87:366-370p
- Friedman, M.J. 1990. Commercial Production and Development. In : Gaugler, R. and Kaya, H. K. (eds). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. CRC Press. Boca Raton. Florida. 153 - 172pp
- Gaugler, R. 1981. **Biological Control of Potential of *Neoplectanid* Nematodes**. Journal of Nematologica. Vol.13 : 241 – 249pp
- Georgis, R. 1990. Formulation and Application Technology. In: R. Gaugler and H. K Kaya (eds) . **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. CRC Press. Boca Raton. R.L. 301 – 323pp
- _____. 1992. **The Role of Biotechnology Companies in Commercialization of Entomopathogenic Nematodes**. Journal of Biological and Science and Technology. 41 – 51 pp
- Han R, L. Cao, and X, Liu. 1993. **Effect of Inoculum Size, Temperature and Time on in -Vitro Production of *Steinernema carpocapsae* Agriotos**. Nematologica vol 39 (3)

- Kardinan, A. 1990. **Pestisida Nabati dan Ramuan dan Aplikasi**. Penebar Swadaya. Jakarta. 61 – 63 pp
- Karyadi, B. 1994. **Kimia 2**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Gradita Utama. Jakarta. 93 – 101 p
- Kaya, H. K and S. P, Stock. 1997. Manual of Techniques in Insect Pathology dalam Edi, P. 2000. **Pengaruh Komposisi Media Buatan Padat *in-Vitro* Terhadap Pembiakan Massal Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus* Isolat Lokal**. makalah (belum diterbitkan). Pada Seminar Hasil Penelitian Fakultas Pertanian Universitas Jember
- Klein, M. G. 1990. Efficacy Against Soil Inhabiting Pest. In : R. Gaugler and H. K. Kaya (eds). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. CRC Press. Boca Raton. R. L. 195 – 214 pp
- Pulungan dan Rangkuti. 1984. **Ampas Tahu untuk Makanan Ternak**. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Vol 6.no 5 . Dinas Pertanian RI. Bogor. 7-9p
- Purwastyastuti, A. 1995. Androgen, Anti Androgen dalam Anabolik Steroid dalam S. G, Ganiswarna, **Farmakologi dan Terapi** (Edisi 4). Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Indonesia. Gaya Baru. Jakarta
- Poinar, G, O.1979. **Nematodes for Biological Control of In sect**. CRC Press. Boca Raton. Florida. 277pp
- Richardson, P. N. and Grewal, P.S. 1993. Entomopathogenic Nematodes and The Soil Environment. In : Soil Biology and Ecology. (B.R. Bhandari. Eds) . In Press. In: **Infectivity of The Entomopathogenic Nematode *Steinernema scapterisci* (Nematoda : Steinernematidae)**. Journal of Invertebrate Pathology 62 : 22 – 28 pp
- Santoso, B. 2000. **Analisa Kimia dan Mineral Bahan Vulkanik Gunung Kelud, Semeru, Merapi**. Agrivita Vol 22. No 1 : 42 – 48 pp
- Strauch, O. Niemann, I. Neumann, A. Schmidt, A, J. Peters, A. and Ehlers, R,U. 2000. **Storage and Formulation of The Entomopathogenic Nematodes *Heterorhabditis indica* and *H. bacteriophora***. Biocontrol 00: 1-19pp
- Sulistiyanto, D. 1998a. **Endomotoksin Kompleks Nematoda Entomopathogen dalam Workshop Nol Dasar – Dasar Biologi Molekuler**. Pusat Penelitian Biologi Molekuler. Universitas Jember. Jember

_____. 1998b. **Prospek dan Kemungkinan Resiko Bioinsektisida Nematoda Entomopathogen dalam Konsep Pengendalian Hama Terpadu (PHT)**. Makalah Seminar FK-SIMPTI XII HMPTI.16 November. Jember. 13 p

Tanada, Y and H. K, Kaya. 1993. **Insect Pathology**. Academic Press. 666pp

Untung, K. 1993. **Pengantar Pengendalian Hama Terpadu**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 273 p

