



MILIK PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JEMBER

TIDAK DIBIHKAN KELUAR

PENGARUH KOMPOSISI MEDIA BUATAN PADAT *IN-VITRO*
TERHADAP PEMBIAKAN MASAL NEMATODA ENTOMOPATOGEN
Heterorhabditis indicus ISOLAT LOKAL

KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program
Strata Satu Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian Universitas Jember



Oleh

PURNOMO EDDY
Nim: 9515101236

5

Ara	titikah
Terima Tgl:	4 JUL 2000
No. Induk :	10.2.330
Kelas	
632.65	
EDD	
P	

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER
Juni, 2000

Pembimbing:
DR. Ir. DIDIK SULISTYANTO (DPU)
Ir. SUTJIPTO, MS. (DPA)

HALAMAN PENGESAHAN

Diterima oleh :

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

Sebagai : Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

Hari : Selasa

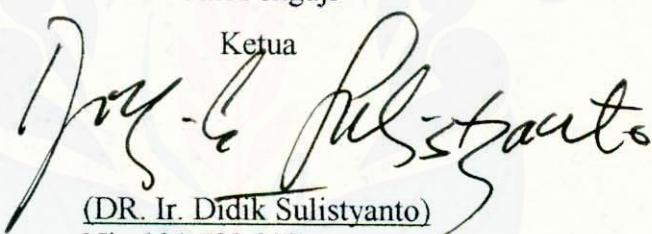
Tanggal : 06 Juni 2000

Jam : 07.15 WIB

Tempat : Fakultas pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua


(DR. Ir. Didik Sulistyanto)
Nip 131 792 232

Anggota I


(Ir. Sutijpto, MS.)
Nip: 130 674 883

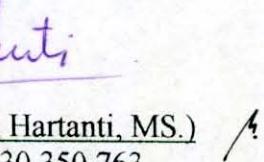
Anggota II


(Ir. Saifuddin Hasjim, MP.)
Nip : 131 832 329

Mengesahkan

Dekan Fakultas Pertanian




(Hj. Hj. Siti Hartanti, MS.)
Nip : 130 350 763

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT dengan telah selesainya Karya Ilmiah Tertulis (KIT), dengan judul "**Pengaruh Komposisi Media Buatan Padat *in-vitro* Terhadap Pembelahan Massal Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indica* Isolat Lokal**".

Karya Ilmiah Tertulis ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada bulan Agustus 1999 sampai dengan Desember 1999, di Laboratorium Pengendalian Tanaman, guna menyelesaikan program pendidikan strata satu (S1) Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Penelitian dan penyusunan Karya Ilmiah Tertulis ini dapat terselesaikan berkat bantuan dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS. sebagai dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember
2. Ir. Sutjipto, MS. sebagai ketua Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Ir. Didik Sulistyanto sebagai Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan Ir. Sutjipto, MS. sebagai Dosen Pembimbing Anggota (DPA), yang telah memberikan bantuan, nasehat dan bimbingan selama penelitian sampai dengan penyusunan Karya Ilmiah Tertulis ini.
4. Para staf Dosen pada Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan yang telah memberikan masukan bagi penulis.
5. Kepada teman-teman ku Budi, Diah, Ismet, Ucok, Khobib, Kundari, Fitri, Yayuk, serta adikku Ati dan Teknisi Laboratorium HPT dengan segala bantuannya selama penelitian sampai penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, Juni 2000

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GRAFIK.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
INTISARI.....	xii
ABSTRAK	xiii
RINGKASAN	xiv
 I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan.....	2
1.3 Hipotesis.....	3
 II. TINJAUAN PUSTAKA	 4
2.1 Media Pembibitan Masal Nematoda Entomopatogen ...	4
2.2 Karakteristik Nematoda Entomopatogen.....	6
 III. BAHAN DAN METODE	 9
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	9
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	9
3.3 Metode Penelitian.....	9
3.3.1 Pembuatan Media.....	10
3.3.2 Isolasi Bakteri.....	10
3.3.3 Inokulasi Media Dengan Bakteri dan Nematoda <i>Heterorhabditis indica</i> (Isolat Ngadas).....	11
3.3.4 Ekstraksi Nematoda	11

3.3.5 Penyimpanan Nematoda.....	12
3.3.6 Uji Patogenisitas.....	12
3.3.7 Analisa Biaya Produksi	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
4.1 Perbanyakan Nematoda Pada Media.....	14
4.1.1 Perkembangan Nematoda Fase Juvenil 2 dan 3	14
4.1.2 Perkembangan Nematoda Fase Juvenil 4 dan 5	18
4.1.3 Perkembangan Nematoda Juvenil 2, 3, 4 dan 5	20
4.2 Biaya Bahan Baku.....	22
4.3 Virulensi Nematoda Entomopatogen.....	23
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

No.	Uraian	Halaman
1.	Jumlah Nematoda <i>Heterorhabditis indica</i> (Isolat Ngadas) Fase Juvenil 2 dan 3 Pergram Media	15
2.	Jumlah Nematoda <i>Heterorhabditis indica</i> (Isolat Ngadas) Fase Juvenil 4 dan 5 Pergram Media	19
3.	Jumlah Nematoda <i>Heterorhabditis indica</i> (Isolat Ngadas) Fase Juvenil 2 hingga 5 Pergram Media	22
4.	Biaya Bahan Baku Untuk Menghasilkan 10^6 Nematoda Dalam Setiap Gram Media.....	23
5.	Mortalitas Larva <i>Tenebrio molitor</i> Pada Uji Patogenisitas Setelah Transformasi Arcshin.....	24

DAFTAR GRAFIK

No	Uraian	Halaman
1.	Populasi Nematoda Fase Juvenil 2 dan 3.....	16
2.	Populasi Nematoda Fase Juvenil 4 dan 5.....	18
3.	Populasi Nematoda Fase Juvenil 2 hingga 5.....	21

DAFTAR GAMBAR

No	Uraian	Halaman
1.	Siklus Hidup Nematoda Entomoptogen <i>Heterorhabditis</i> spp.....	7
2.	Penyimpanan Suspensi Nematoda Hasil Pembibitan Masal.....	12
3.	Gejala <i>Tenebrio molitor</i> Yang Terinfeksi Nematoda <i>Heterorhabditis indica</i> (isolat Ngadas).....	24

DAFTAR LAMPIRAN

No	Uraian	Halaman
1.	Populasi Nematoda Entomopatogen <i>Heterorhabditis indicus</i> (Isolat Ngadas) Hasil Pembibitan Masal	29
2.	Data populasi Nematoda Entomopatogen <i>Heterorhabditis indicus</i> (Isolat Ngadas) setelah transformasi akar kuadrat Hasil Pembibitan Masal	30
3.	Hasil Uji Patogenisitas (<i>Two by one assay</i>).....	31
4.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari Ke-10..	32
5.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari Ke-14..	33
6.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari Ke-21...	34
7.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari ke-30....	35
8.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari ke-14...	36
9.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari ke-10...	37
10.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari ke-21...	38
11.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari ke-30...	39
12.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari ke-10.....	40
13.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari ke-14.....	41

14.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari ke-21.....	42
15.	Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap Populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari ke-30.....	43
16.	Analisa data Mortalitas <i>Tenebrio molitor</i> (dalam Arcsin) Pada Uji Patogenisitas (<i>Two by one assay</i>) Hari ke-10.....	44
17.	Analisa data Mortalitas <i>Tenebrio molitor</i> (dalam Arcsin) Pada Uji Patogenisitas (<i>Two by one assay</i>) Hari ke-14.....	45
18.	Analisa data Mortalitas <i>Tenebrio molitor</i> (dalam Arcsin) Pada Uji Patogenisitas (<i>Two by one assay</i>) Hari ke-21.....	46
19.	Analisa data Mortalitas <i>Tenebrio molitor</i> (dalam Arcsin) Pada Uji Patogenisitas (<i>Two by one assay</i>) Hari ke-30.....	47

INTISARI

Penggunaan pestisida dalam mengendalikan serangga hama pada tanaman pertanian memberi dampak negatif bagi lingkungan serta manusia sehingga pemanfaatan nematoda entomopatogen sebagai biopestisida diharapkan dapat mengurangi penggunaan pestisida. Untuk menyediakan biopestisida nematoda entomopatogen, membutuhkan formulasi media yang efisien dan ekonomis. Nematoda entomopatogen *H. indicus* isolat lokal (ngadas) dapat dikembangbiakkan secara monoxenic dengan bakteri simbion *P. luminescens* pada media padat agar maupun spon. Hasil tertinggi sebesar 275445.09 nematoda dihasilkan dari media formula Resep 1 dengan lama inkubasi 21 hari sedangkan formula Resep 3, Resep 4 dan Resep 5 berturut-turut sebanyak 36324.43, 76186.4, dan 59676.67 nematoda dengan lama inkubasi 14 hari untuk Resep 3 dan Resep 5 serta 10 hari untuk Resep 4. Biaya terendah untuk menghasilkan satu juta nematoda dicapai oleh media formula Resep 4 sebesar Rp 54,08 sen pergram media. Hasil uji patogenisitas menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (DMRT 5%) terhadap nematoda hasil pembiakan masal pada media Resep 1, Resep 3, Resep 4 dan Resep 5.

Kata kunci: *Heterorhabditis indicus* isolat lokal, komposisi media.

ABSTRACT

The using of pesticides to control insects pest in the agriculture vegetations give some negatif aspec to envorement and human health so advantage of entomopatogenic nematodes as biopestisides is hope to minimys the usage of pesticides. For preparing the biopesticides of entomopatogenic nematodes needs some formulation wich efisien and economicaly. Entomopatogenic nematodes from Indonesia can be to propagate by monoxenic cultures with spesific bacterial simbiont *Photorhabdus luminescens* in spones media and agar. High yields of a 275445.09 nematodes is produced from medium Resep 1whith 21 days cultures times. Whereas Resep 3, Resep 4 and Resep 5 have yields as much as 36324.43, 76186.40 and 59676.67 nematodes whith culture times 14 days for Resep 3 and Resep 5 and 10 days culture times for medium Resep 4. The lowest cost to produce a one million nematodes can be got by medium Resep 4 as much as Rp 54.08 sen each gram medium. The result of patogenic test whith two by one assay showed non significant (DMRT 5%) to mortality of *T. molitor* which caused by nematodes *H. indicus* form mass propagate in medium Resep 1, 4 and Resep 5.

Key words: *Heterorhabditis indicus* (Ngadas), Culture composition.

RINGKASAN

Purnomo Eddy Nim. F1E195236, Program Studi Ilmu Hama Dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember, "Pengaruh Komposisi Media Buatan Padat in-vitro Terhadap Pembiakan Masal Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus* Isolat Lokal" dengan Pembimbing Dr. Ir. Didik Sulistyanto dan Ir. Sutjipto, MS.

Heterorhabditis indicus merupakan salah satu nematoda entomopatogen yang telah banyak digunakan untuk mengendalikan serangga hama dilahan-lahan pertanian dibanyak negara. Nematoda ini berasioasi dengan bakteri simbion *Photorhabdus luminescens*. Tanpa bakteri simbion pertumbuhan dan perkembangan nematoda entomopatogen akan terganggu. Dengan menggunakan medium yang cocok bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri simbion tersebut maka nematoda entomopatogen dapat dibiakan secara *in-vitro* (Sulistyanto, 1998) yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangan sel-sel bakteri simbion maupun nematoda yang dapat berupa protein, lemak maupun polysakarida.

Nematoda genus *Heterorhabditidae* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari daerah ngadas yang diidentifikasi sebagai *Heterorhabditis indicus* dengan ukuran sebesar 520 μm , lebar 19 μm dengan panjang esopagus dan ekor sebesar 116 μm dan 99 μm (Bahari. 1999). Nematoda ini selain dapat berkembangbiak dengan cara kawin juga dapat menghasilkan keturunan secara hermaprodit. (Poinar, 1979). Bakteri simbion *P. luminescens* berperan pada proses patogenisitas nematoda terhadap serangga inang dengan mengeluarkan senyawa-senyawa toksin (Simoes, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh suatu formulasi media yang tepat dan ekonomis bagi pembiakan *in-vitro* *H. indicus* isolat lokal dengan memanfaatkan sumber-sumber nutrisi yang murah dan mudah diperoleh. Pembiakan masal diawali dengan mengisolasi bakteri simbion *Photorhabdus luminescens* dari serangga yang terinfeksi nematoda *H. indicus* pada media NBTA atau *Mac conkey* hingga diperoleh biakan murni. Media yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari lima formula (Resep) yaitu Resep 1 dengan komposisi yang hampir sama dengan Resep 5 kecuali

BNB yang diganti dengan kuning telur, bahan-bahan lainnya terdiri dari *yeast extract*, tepung maizena, dan minyak kelapa. Media resep 2 tersusun dari usus sapi, lemak sapi, tepung maizena dan aquades. Media Resep 3 terdiri dari *bacto nutrient broth*, ekstrak hati sapi, lemak sapi dan tepung maizena sedangkan Resep 4 merupakan media agar-agar terdiri dari tepung agar-agar, gula pasir, ekstrak yeast, kentang, minyak kelapa dan ekstrak hati sapi. Semua bahan dicampur hingga homogen dan dicampur dengan spon polyurethan (1x1x1 cm) dengan perbandingan 1 gram spon dengan 12,5 gram yang kemudian disterilisasi. (Bedding, 1980). Media yang telah ditumbuhi dengan bakteri simbion diinokulasi dengan 1376 invektif juvenil nematoda *H. indicus* untuk kemudian diinkubasi dan dipanen setelah 10, 14 ,21 dan 30 hari masa inkubasi. Metode pemanenan dilakukan dengan pencucian secara langsung spon-spon media dan kemudian hasil ekstraksi tersebut diuji daya patogenisitasnya dengan teknik *two by one assay*. Mortalitas serangga uji dihitung dengan rumus Abbot (1965). Hasil nematoda dan data uji patogenisitas dianalisa dengan Rancangan Acak Lengkap dan analisa varian 1% dan 5% (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan (DMRT 5%).

Hasil pembiakan masal nematoda entomopatogen pada media Resep 1, 3, 4 dan 5 menunjukkan hasil yang berbeda dimana media resep 1 populasi nematoda paling tinggi dibanding ketiga media lainnya yaitu 275445,09 berbanding 53082,30 dan 76186,66 serta 49769,05 nematoda. Ditinjau dari hasil juvenil 2 hingga 5 ,media resep 1 menghasilkan nematoda paling tinggi dibanding ketiga media lainnya. Diduga komposisi media resep 1 mampu memacu pertumbuhan awal nematoda entomopatogen dalam media. Hasil uji patogenisitas terhadap nematoda yang berasal dari pembiakan masal pada keempat media tidak berbeda nyata (DMRT 5%) dengan mortalitas berkisar antara 20 hingga 100 persen.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa media resep 1 memberikan hasil nematoda tertinggi dibandingkan ketiga media lainnya. Virulensi dari nematoda hasil pembiakan masal pada keempat media tidak berubah dengan biaya untuk menghasilkan nematoda terendah pada media Resep 4 sebesar Rp 54,08 sen pergram untuk setiap juta nematoda.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi serangan hama tanaman diantaranya penggunaan varietas tahan , teknik bercocok tanam, pergiliran tanam, pemanfaatan musuh alami dan penggunaan pestisida. Penggunaan pestisida dalam pengendalian hama mempunyai pengaruh negatif yaitu timbulnya resurjensi hama, resistensi hama tanaman terhadap pestisida, terbunuhnya musuh alami organisme bukan sasaran dan pencemaran oleh residu pestisida (Laba *et al.*, 1998) serta pencemaran tanah, air dan udara oleh pestisida serta mengganggu kesehatan manusia (Oka, 1998).

Salah satu alternatif teknik pengendalian yang berwawasan lingkungan adalah penggunaan nematoda entomopatogen serangga sebagai biopestisida. Nematoda famili Rhabditida genus *Heterorhabditidae* di beberapa negara telah banyak digunakan untuk mengendalikan serangan serangga hama dilahan pertanian. Aplikasi dilapang menggunakan peralatan yang biasa digunakan untuk menyemprotkan pestisida kimiai dilahan-lahan pertanian seperti alat semprot punggung, mis blower, fans sprayers dan lainnya dengan tekanan tabung yang aman sebesar 2068 kpa (Georgis. 1990 dalam Martin. 1997). *Heterorhabditis indicus* berasosiasi dengan bakteri simbion *Photorhabdus luminescens* dapat diproduksi dengan lebih efisien pada media padat dibandingkan dengan menggunakan media cair sehingga menyebabkan harga jual produk nematoda *Heterorhabditis* spp tiga kali lebih mahal daripada Steinernema (Hominick dan Reid. 1990 dalam Martin. 1997). Tanpa bakteri simbion pertumbuhan dan perkembangan nematoda entomopatogen akan terganggu. Dengan menggunakan medium yang cocok bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri simbion tersebut maka nematoda entomopatogen dapat dibiakkan secara *in-vitro* (Sulistyanto, 1998). Medium pembiakan *in-vitro* nematoda entomopatogen harus dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangan sel-sel bakteri simbion. Protein, lemak maupun polysakarida merupakan beberapa

oleh mikroorganisme sebagai sumber energinya (Michael, 1990 dalam Kaya dan Gaugler. 1990).

Pada telur ayam dari setiap 100 gram bagian kuningnya merupakan protein sebanyak 16,3 gram, lemak 31,9 gram, karbohidrat 0,7 gram serta air sebesar 49 gram. Untuk minyak kelapa, 98 persen merupakan lemak dengan kandungan protein hanya 1 persen yang ternyata lebih besar daripada kandungan lemak pada lemak sapi dimana sebanyak 90 persen dari bobot bahan yang merupakan lemak. Pada lemak sapi sebanyak 1,5 persen merupakan protein dengan sterol sebesar 100 persen dari berat bahan (Anggorodi. 1985). Kandungan protein kentang sebanyak 2 persen dari bobot bahan, dengan 0,1 persen merupakan lemak dan 19,1 persen berupa karbohidrat. Pati jagung atau tepung maizena tersusun dari 0,3 persen protein, 85 persen karbohidrat serta mineral-mineral lainnya dalam jumlah kecil (Sediaoetama. 1996).

1.2 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan Penelitian

1. Memanfaatkan sumber-sumber nutrisi yang murah dan mudah diperoleh sebagai bahan formulasi pembiakan masal nematoda entomopatogen secara *in-vitro*.
2. Memperoleh suatu formulasi yang tepat dan ekonomis bagi pembiakan *in-vitro* *Heterorhabditis indicus* (isolat lokal).
3. Mengetahui beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pembiakan masal nematoda entomopatogen *Heterorhabditis indicus* (isolat Ngadas) pada media padat secara *in vitro* dan patogenisitasnya terhadap *Tenebrio molitor*.

1.2.2 Manfaat

1. Menyediakan biopestisida nematoda entomopatogen serangga yang efektif dan ekonomis untuk mengendalikan serangga hama pada lahan pertanian.
2. Menciptakan teknologi inovatif tentang pembiakan masal nematoda entomopatogen dalam media padat.

1.3 Hipotesis

Penambahan *Bacto nutrient broth* akan memberikan pengaruh lebih baik terhadap hasil nematoda entompatogen *Heterorhabditis indica* (isolat Ngadas) dibandingkan penambahan kuning telur ayam pada media yang terdiri dari ekstrak yeast, tepung maizena, minyak kelapa dan air pada pembiakan masal dengan media padat *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Media Pembiakan Masal Nematoda Entomopatogen

Penelitian tentang media pembiakan nematoda entomopatogen telah banyak dilakukan oleh beberapa peneliti di beberapa negara maju seperti Jepang, Jerman dan Amerika Serikat. Teknik pembiakan nematoda entomopatogen pada awalnya dilakukan secara *in vivo*. Media yang pertama kali digunakan berupa larva serangga yang merupakan inang daripada nematoda entomopatogen tersebut di alam. Hampir semua jenis nematoda entompatogen dapat dikembangbiakkan pada larva serangga dari famili Scarabaeidae maupun kelas Lepidoptera serta pada beberapa jenis jangkrik (Wodring and Kaya, 1988 dalam Kaya and Stock, 1997) yang hanya mampu untuk memenuhi kebutuhan bagi kegiatan penelitian maupun pengendalian skala kecil. Nematoda *Heterorhabditis* spp. merupakan salah satu jenis nematoda yang dikembangbiakkan dengan teknik pembiakan *in vivo*. Nematoda *Heterorhabditis* spp. setelah menembus kutikula serangga, akan melepaskan bakteri simbion *Photorhabdus luminescens* yang kemudian berkembangbiak di dalam cairan haemolimf serangga inang. Haemolimf serangga merupakan cairan yang kurang lebih jernih dimana tersuspensi di dalamnya sel-sel hemosit dan senyawa-senyawa lipida, protein, karbohidrat, sedikit garam-garam mineral serta asam-asam amino (Borror *et al.* 1989). Setelah masuk ke dalam tubuh serangga inang, bakteri simbion *Photorhabdus luminescens* pada umumnya akan mengeluarkan senyawa-senyawa yang menunjukkan aktifitas sitotoksin dan proteolitik selain mengeluarkan juga enzim-enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, DNAse dan phosphatase serta entomotoksin yang membunuh serangga inang (Boemare *et al.* 1993 dalam Simoes dan Rosa. 1996).

Berbagai jenis media yang dapat menghasilkan nematoda entomopatogen dengan kapasitas produksi besar terus ditemukan baik berbentuk padat maupun cair. Bedding (1980) membuat suatu formula media untuk memperbanyak nematoda *Heterorhabditis* spp. yang terdiri dari homogenat ginjal hewan (60%), lemak (20%) dan air (20%) yang ditempatkan dalam spon polyurethan. Dari segi pembiakan

nematoda entomopatogen, media yang menggunakan sumber nutrisi hewani memberikan hasil yang lebih rendah dari segi kuantitas bila dibandingkan dengan media yang menggunakan media buatan siap pakai. Selain itu pula media yang menggunakan nutrisi hewani dapat menimbulkan pencemaran yang cukup mengganggu lingkungan karena bau yang ditimbulkan selama pembuatan kurang sedap. Selama perbanyakan pada media *dog food agar*, kandungan amonia pada media bertambah dengan semakin meningkatnya pH media (Ogura dan Mamiya 1989 dalam Ogura dan Haraguchi. 1993) Media yang lain terdiri dari bahan-bahan yang berasal dari *serealia*, yeats, serta bahan-bahan siap pakai lainnya telah diformulasikan. Ogura dan Haraguchi (1993) membuat suatu media yang terdiri dari tepung, *D-glucose*, Lemak babi, *Peptone*, *Yeast extract* dan *Agar*. Dengan menggunakan medium tersebut ternyata *peptone* dan *yeast extract* dapat memacu hasil juvenil 3 nematoda *Steinernema kushidai* lebih baik dibandingkan dengan media yang tidak menggunakan kedua bahan tersebut.

Medium yang digunakan pada pembiakan masal nematoda entomopatogen hendaknya memiliki tekanan osmosis yang sama dengan tekanan osmosis haemolimf serangga inang terutama bila medium tersebut merupakan medium cair. Lunau *et al.* (1993) melaporkan bahwa kemampuan hidup nematoda stadia juvenil infektif akan berkurang secara nyata ketika tekanan osmosis medium rendah sehingga untuk mempertahankan keberhasilan hidup juvenil infektif, maka tekanan osmosis medium harus dijaga agar paling rendah sebesar 290 mosmol yang mendekati nilai tekanan osmosis haemolimf *G. mellonella* sebesar 400 mosmol.

Kisaran suhu normal untuk pembiakan nematoda *S. carpocapsae* berkisar pada 19-27°C atau sesuai dengan kehidupan dilingkungan aslinya. Temperatur tinggi pada pembiakan masal 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.* 1992 dalam Han *et al.* 1993).

Medium buatan yang terdiri dari tepung agar-agar dan *dog food* nilai pH yang terukur berkisar pada kisaran normal yaitu 6 hingga 7,5. Menurut Ogura dan Haraguchi (1993) menyatakan bahwa media *Dog food agar*, *Pig intestine peptone*

agar, *Wouts' Lipid agar* dan media *Original SGLPY* diperkirakan memiliki pH sebesar 6,4. Medium yang tidak diberikan larutan penyingga, hasil juvenil infektifnya tidak berbeda dengan medium dengan pH 6,5 yang diberikan larutan penyingga Sorensenphosphate. Pembentukan nematoda stadia ketiga pada media yang tidak ditambahkan larutan penyingga, beberapa hari lebih lambat dibandingkan pada medium yang diberi larutan penyingga. Hasil yang sama juga dilaporkan dari hasil pengamatan untuk memperbanyak nematoda *S. carposcapsae* dan *H. heliothidis* pada media lemak agar (Ogura dan Haraguchi. 1993).

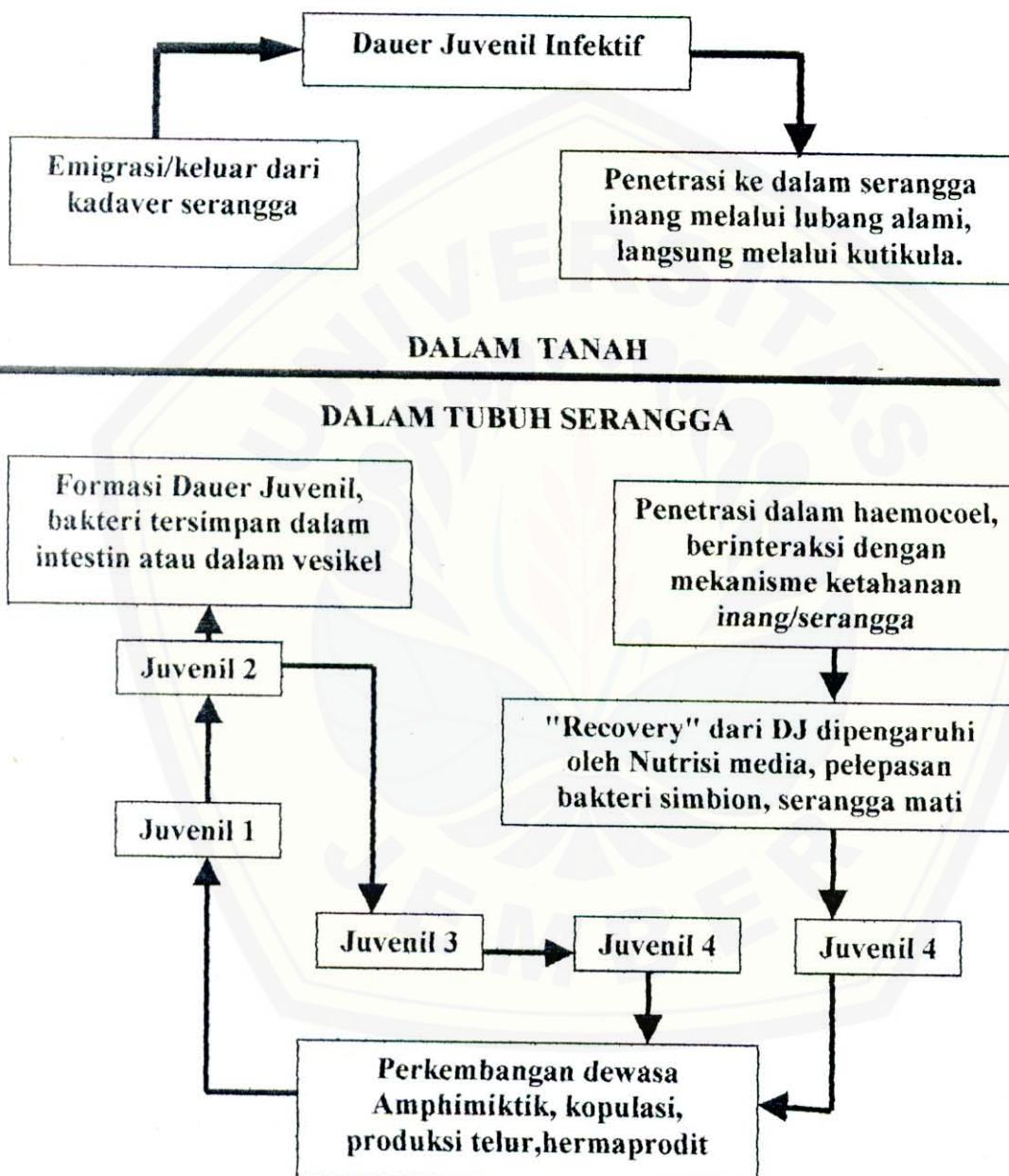
2.2 Karakteristik Nematoda Entomopatogen

Pada dasarnya nematoda entomopatogen mempunyai siklus hidup yang terdiri dari tahapan : telur, larva stadia (Juvenil) dua, tiga, empat, dan dewasa. Pada tahap juvenil nematoda entomopatogen mengalami empat kali pergantian kulit sebelum mencapai dewasa dan pergantian kulit dapat saja terjadi di dalam telur maupun selama didalam tubuh serangga inangnya (Kaya and Gaugler 1990). Nematoda golongan Heterorhabditidae diklasifikasikan oleh Poinar (1979) sebagai berikut :

Kelas	: Nematoda
Ordo	: Secernentea
Sub Ordo	: Rhabditina
Super Famili	: Rhabditoidae
Famili	: Heterorhabditidae
Spesies	: <i>Heterorhabditis indica</i> *.

Juvenil I nematoda entomopatogen pada umumnya berada di dalam telur dan akan mengalami pergantian kulit untuk pertama kalinya menjadi juvenil II, kemudian keluar dari dalam telur. Setelah keluar dari telur juvenil II akan berganti kulit untuk memasuki stadia ketiga yang merupakan stadia infektif (Juvenil infektif). Dilaporkan pula bahwa seringkali stadia juvenil III masih terbungkus dalam kulit juvenil II yang merupakan stadia yang resisten terhadap lingkungan dan sering disebut '*Dauer Juvenil*'. (Poinar dan Lutenegger. 1968. dalam Kaya. 1985).

Adapun diagram siklus hidup nematoda entomopatogen *Heterorhabditis* spp. secara lengkap disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Siklus Hidup Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis* spp. (Ehlers and Peters, 1995)

Nematoda entomopatogen *Heterorhabditis* pada umumnya memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan genus lainnya. Karakteristik yang dimiliki antara lain tidak memiliki stylet, bentuk kepala ramping membulat, bagian mulut terdiri dari

enam bibir yang sebagian menyatu dengan bagian dasar serta masing-masing bibir mempunyai sebuah *labial papila* serta dua papila tambahan. Bagian posterior dari stoma hilang dan menyatu dengan bagian menyatunya bagian pro-, meso- dan *metarhabdion*. Procorpus dari bagian oesophagus berbentuk lebar dan silindris. Pada bagian *basal bulb* terdapat katub yang mereduksi. Pada nematoda betina cincin syaraf terletak pada bagian pertengahan dari isthmus sedangkan nematoda jantan terletak pada bagian *basal bulb*. Nematoda hermaprodit sperma terletak pada bagian proximal aurtestis dan vulva sedangkan nematoda betina yang kawin memiliki amphidelpic ovarii dengan bagian *reflexed* yang umumnya memanjang hingga bagian vulva (Poinar ,1979; Kaya dan Stock 1997).)

Pada stadia infektif juvenil, kutikula kasar dengan saluran ekskresi terletak pada bagian posterior dari cincin syaraf. Selain itu memiliki sepasang garis longitudinal pada kutikulanya. Stadia kedua dicirikan oleh jumlah garis-garis tepi longitudinal (Poinar. 1979). Panjang tubuh nematoda *H. indicus* (isolat Ngadas) stadia ketiga sebesar 520 μm , lebar 19 μm dengan panjang esopagus dan ekor sebesar 116 μm dan 99 μm (Bahari. 1999).

Photorhabdus luminescens merupakan bakteri simbion pada nematoda entomopatogen dari famili Heterorhabditidae (Poinar, 1979). Daya bunuh nematoda entomopatogen terhadap serangga inang dipengaruhi oleh bakteri simbion yang menghasilkan toksin dan septicemia. Toksin yang dihasilkan bakteri nematoda entomopatogen sangat mempengaruhi proses patogenik nematoda (Simoes dan Rosa, 1996).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Perlindungan Tanaman Fakultas Petanian Universitas Jember pada bulan Agustus sampai dengan Desember 1999.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan antara lain: Nematoda entomopatogen *Heterorhabditis indicus* (isolat Ngadas), bakteri simbion nematoda entomopatogen *Photorhabdus luminescens*, *Tenebrio molitor*, hati sapi, gula pasir, lemak sapi, tepung agar-agar cap Matahari Walet @7gram, tepung jagung cap Hawai in Harvest aquades, Yeast ekstrak, Bacto Nutrien Broth (BNB), medium Yeast salt (YS), gliserol steril, media agar Mac Conkey, bacto agar Difco, minyak kelapa, Streptomisin 0,1%, NaOCl 0,5%, kuning telur, kertas saring Watman no.1, Beker glass 500 ml dan 1000ml, Erlenmeyer 500 ml dan 250 ml, autoclaf listrik, cawan Petri plastik steril, caps plastik 2,5 ml steril, laminar air flow, alkohol 95%, lemari inkubator, lemari pendingin, pinset, gunting stainless stell, cawan hitung, hand caunter, mikroskop binokuler, jarum ose, kapas steril, aluminium foil, spon polyurethan ukuran 1x1x1cm, lembaran parafilm, timbangan elektronik, saringan nematoda 30 μm dan 15 μm , *hand sprayer*, aerator listrik.

3.3 Metode Penelitian

Perbanyak nematoda entomopatogen *Heterorhabditis indicus* (isolat Ngadas) dengan menggunakan empat macam formula media buatan padat. Pengamatan dilakukan pada hari ke-10, 14, 21 dan 30 setelah inokulasi nematoda. Nematoda hasil pembiakan diamati dan dikelompokkan menjadi kelompok Juvenil 2 dan 3 serta kelompok juvenil 4 dan dewasa. Untuk mengetahui virulensi nematoda dilakukan pengujian patogenisitas terhadap nematoda hasil pembiakan masal dari setiap kali pengamatan dengan menggunakan metode *two by one assay* (Teknik Miller, 1989 dalam Ricci *et al*, 1996). Rancangan yang digunakan pada penelitian

ini berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan ulangan sebanyak tiga kali dengan keempat macam formula media sebagai perlakuan sedangkan pada uji patogenisitas masing-masing perlakuan diulang lima kali. Hasil Rancangan Acak Lengkap dianalisa dengan analisa varian yang kemudian dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan 5% atau Duncan Multiple Range Test 5% (DMRT 5%).

3.3.1 Pembuatan Media

Media pembiakan masal yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari lima macam formulasi sebagai berikut:

Resep 1	Resep 2	Resep 3	Resep 4	Resep 5
*BNB	*BNB	*BNB	<i>Yeast extrac</i>	<i>Yeast extrac</i>
<i>Yeast extrac</i>	Usus sapi	Ekstrak hati sapi	Gula pasir	Kuning telur
Tepung maizena	Lemak sapi	Lemak sapi	Kentang	Tepung maizena
Minyak kelapa	Tepung maizena	Tepung maizena	Minyak kelapa	Minyak kelapa
Aquades	Aquades	Aquades	Ekstrak hati sapi	Aquades
Spon	Spon	Spon	Aquades	Spon
			Agar-agar instan	

*BNB *Bacto nutrient broth*

Semua bahan dicampur hingga homogen dengan menggunakan magnetik stirer dan stirer untuk pembuatan media Resep 1, Resep 3 dan Resep 5. Media yang telah homogen dicampur dengan spon polyurethan (1x1x1 cm) dengan perbandingan 1gram spon dengan 12,5 gram media. Campuran spone polyurethan dan media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil untuk kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 30 menit (121°C,15 atm) (Bedding, 1980). Media Resep 4, pencampuran bahan dilakukan secara bertahap dan terakhir dimasukkan tepung agar-agar sambil dipanaskan pada pemanas listrik hingga campuran mendidih kemudian dituang kedalam Petridish plastik steril lakukan dalam kondisi steril.

3.3.2 Isolasi Bakteri

Isolasi dilakukan langsung dari larva *Tenebrio molitor* yang telah terinfeksi nematoda *H. indicus* isolat ngadas dengan gejala kutikula merah muda hingga merah

tua (Bahari, 1999). Sterilisasi permukaan larva yang terinfeksi nematoda dilakukan dengan alkohol 95% selama 15 menit dibilas tiga kali dengan aquades steril dan dikeringkan dengan kertas saring steril. Bagian tungkai larva tersebut dipotong dengan gunting stainless stell steril dan cairan haemolypma yang keluar digoreskan pada media agar NBTA. Media diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam. Reisolasi beberapa kali pada media agar *Mac Conkey* dilakukan hingga didapat koloni murni bakteri simbion yang ditandai dengan warna hijau kebiruan hingga biru dengan zona jernih disekitar koloni. Koloni murni bakteri simbion *P. luminescens* diinokulasi ke media *YS broth* dan diinkubasi selama 24 hingga 72 jam pada kondisi gelap bersuhu 25°C. Untuk penyimpanan jangka panjang bakteri simbion dapat disimpan dalam caps 2,2 ml yang berisi 0,3 ml gliserol steril dan 1,7 ml suspensi bakteri dalam media *YS broth* penyimpanan dilakukan pada suhu -20°C (Akhurst, 1980 dalam Kaya dan Stock, 1997).

3.3.3 Inokulasi Media Dengan Bakteri dan Nematoda *Heterorhabditis indicus* (Isolat Ngadas)

Sebanyak 1 ml bakteri simbion *P.luminescens* dalam media *YS* diinokulasi kemasing-masing tabung media, dikocok secara vertikal dan horizontal agar bakteri merata. Setelah 24 jam masa inkubasi sebanyak 1376 juvenil infektif *H. indicus* diinokulasikan pada media setelah nematoda tersebut disterilisasi dengan menggunakan Streptomisin 0,1% selama 60 menit dilanjutkan dengan NaOCl 0,5% selama satu jam dan dibilas tiga kali dengan aquades steril (Kaya dan Stock, 1997). Sumber inokulum nematoda berasal dari perbanyakan secara *in-vitro* pada media agar ginjal. Media yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu 27°C selama 10 hari, 14 hari, 21 hari dan 30 hari.

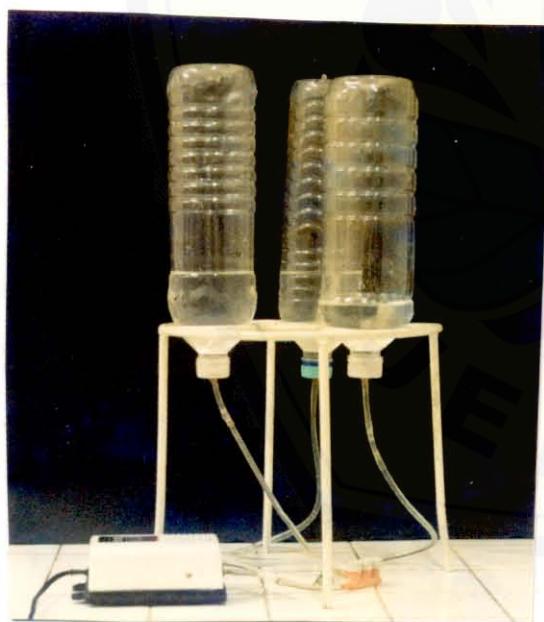
3.3.4 Ekstraksi Nematoda

Pemanenan nematoda dilakukan pada 10, 14, 21 dan 30 hari setelah inokulasi nematoda dengan mengambil lima spon dari masing-masing tabung media secara aseptik lalu dicuci dengan air mengalir sembari diremas-remas hingga nematoda dan media bersih dari spons. Suspensi nematoda dalam air dibuat hingga mencapai

volume akhir 500 ml. Perhitungan nematoda dilakukan dengan menggunakan cawan hitung. Pengambilan suspensi diulang tiga kali masing-masing satu mililiter kemudian diamati dengan mikroskop binokuler (Kaya dan Stock, 1997).

3.3.5 Penyimpanan Nematoda

Penyimpanan sementara, dilakukan dengan menempatkan suspensi nematoda yang telah disaring dengan menggunakan saringan 30 μm dan 15 μm untuk memisahkan nematoda dari media kemudian ditempatkan ke dalam botol air mineral dan diaerasi terus menerus. Penyimpanan jangka panjang nematoda ditempatkan dalam Erlenmeyer (botol) yang berisi spons polyurethan (1x1x1cm) lembab yang bersumbat kapas setelah suspensi nematoda. Botol disimpan dalam inkubator suhu 25 °C.



a



b

Gambar 2. Penyimpanan Suspensi Nematoda Hasil Pembelahan Massal
a. Penyimpanan Pada Botol Air Mineral Yang diaerasi
b. Penyimpanan Pada Spons Lembab.

3.3.6 Uji Patogenisitas

Pengujian patogenisitas dilakukan dengan menggunakan teknik *two by one assay* dimana setiap satu serangga uji *T. molitor* diinokulasikan dua juvenil infektif

3.3.6 Uji Patogenisitas

Pengujian patogenisitas dilakukan dengan menggunakan teknik *two by one assay* dimana setiap satu serangga uji *T. molitor* diinokulasikan dua juvenil infektif nematoda dengan menggunakan mikropipet 25 µl (Teknik Miller, 1989 dalam Ricci et al, 1996). 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 setelah diletakkan *Tenebrio molitor*. Setelah kertas filter ditutup lagi dengan pasir halus steril setinggi 0,7 cm yang kemudian dibasahi dengan air steril hingga cukup lembab.

Angka kematian serangga dicatat setiap 24 jam selama 5 hari. Pengujian diulang lima kali dari setiap ulangan perlakuan (botol media). Persentase mortalitas dinyatakan dengan rumus Abbot (1925) dalam (Swiyono, 1999).

$$\text{Persen Kematian} = [(A-B)/(100-B)] \times 100\%$$

Kontrol perlakuan sama seperti diatas namun tanpa diinokulasi nematoda.

Data pengujian patogenisitas ditransformasi dengan transformasi Arcsin menurut Gasper (1991) dengan ketentuan:

Setiap nilai nol persen (0%) diganti dengan : $[1/(4n)]$,

sedangkan nilai 100% diganti dengan: $[100-(1/(4n))]$,

dimana n = jumlah satuan percobaan dimana data persentase tersebut diperoleh.

3.3.7 Analisa Biaya Produksi

Formula media yang paling ekonomis dinilai dari segi pemakaian bahan baku berbanding dengan hasil tertinggi nematoda dari masing-masing resep media. Penghitungan menggunakan asumsi bahwa biaya produksi hanya terdiri dari biaya bahan baku tanpa termasuk biaya-biaya variabel serta biaya tetap lainnya. Metode perhitungan menggunakan besaran biaya per-nematoda yang merupakan modifikasi dari metode analisa biaya per-unit pada sistem akuntansi biaya (Horngren et al. 1994)

$$\text{Biaya per - ekor nematoda} = \frac{\text{Total biaya bahan baku}}{\text{Jumlah nematoda yang dihasilkan}}$$

Biaya perunit ini kemudian dikalikan dengan satuan 10^6 sehingga diperoleh besar biaya bahan baku untuk memproduksi satu juta nematoda.

V.KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Media Resep 1 yang terdiri dari Bakto nutrien broth, yeast ekstrak, tepung jagung, dan minyak kelapa memberikan hasil lebih baik (275445.09 nematoda pergram media) untuk perbanyak nematoda *Heterorhabditis indica* (isolat Ngadas) dibandingkan formula Resep 3, Resep 4 dan Resep 5 dengan jumlah nematoda berturut-turut sebesar 36324.43, 76186,67 dan 59676.67 dari setiap gram media.
2. Biaya bahan baku media Resep 4 terendah untuk setiap satu juta nematoda *Heterorhabditis indica* (isolat Ngadas) sebesar Rp 54,08 sen dibanding media Resep 1, Resep 3 dan Resep 5 sebesar Rp 376,52 sen, Rp 1107,24 sen dan Rp 229,40 sen.
3. Formulasi media yang berbeda pada media resep 1, resep 3, resep 4 dan resep 5 tidak menyebabkan berubahnya patogenisitas nematoda entomopatogen *Heterorhabditis indica* (isolat Ngadas).

5.2 Saran

Untuk dapat menyediakan biopestisida nematoda entomopatogen *Heterorhabditis indica* (isolat lokal) dalam menggantikan pestisida kimiawi, dibutuhkan formula media yang dapat menghasilkan nematoda lebih banyak dengan harga yang lebih rendah dari pestisida kimiawi serta teknik penyimpanan yang mudah, praktis dan tidak mempengaruhi virulensi nematoda. Untuk itu diperlukan alternatif lain untuk menggantikan pemakaian bahan baku media impor dengan menggunakan bahan-bahan berpotensi namun ekonomis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggorodi R. 1985. **Kemajuan Muktahir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas.** Jakarta: penerbit University Indonesia Press.
- Anonim. Tanpa tahun. **Yeast Ekstrak Agar for Microbiology.** Germany: Merck^R.
- Bedding R. A. 1980. Low Cost In -Vitro Mass Production of Neoplectana end Heterorhabditis Species (Nematode) For Field Control of Insect Pests. Dalam **Nematol.** Vol 27(1): P.110.
- Bahari R. 1999. Inventarisasi, Isolasi dan Identifikasi Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. Pada Tanaman Hortikultura Di Jawa Timur. Dalam **Makalah Seminar Hasil Penelitian** (belum diterbitkan). Fakultas Pertanian. Universitas Jember.
- Bormarc *et al.* 1993. Dalam Simoes N. dan J.S. Rosa. 1996. Patogenicity and Host Specificity of Entomopathogenic Nematodes. Dalam **Journal Biocontrol Science and Technology**.
- Borror D. J., C. A. Triplehorn, N.F. Johnson. 1989. An Introduction to the Study Insects. Soetiyyono Partosoetiono (penerjemah). 1992. **Pengenalan Pelajaran Serangga.** Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Chaerani, M., M. Finnegan, M. J. Downes dan C. T. Griffin. 1995. Pembiakan Massal Nematoda Entomopatogen Serangga *Steinernema* spp. Dan *Heterorhabditis* spp. Isolat lokal Indonesia Secara *in-vitro* Untuk Pengendalian Hama Pengerek Padi Secara Hayati. Dalam **Makalah Balit bio.** Disajikan pada Pekan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Puspitek serpong.
- Ehlers, R. U. dan A. Peters. 1995. Entomopathologic Nematyodes in Biological Control: Feasibility, Perspective and Possible Risk. Dalam **jurnal Biol. Cont.** (H. M. T. Hakkanen and I. M. Lynch eds.). Cambridge University Press: Cambridge.
- Gasper, V. 1991. **Metode Perancangan Percobaan.** Bandung: penerbit C.V. Armico. P71.

Horngren C. T, E. Foster, S.M Datar. 1994. **Akuntansi Biaya Dengan Manajerial**. Terjemahan Endah Susilaningtyas. Jakarta: penerbit Salemba Empat Prentice Hall.

Han R. , L. Cao dan X. liu. 1993. Effect of Inoculum Size, Temperature and Time On *In -vitro* production of *steinernema carpocapsae* Agriotos. Dalam **Nematologica Vol. 39(3)**.

Kaya, H.K. dan S.P. Stock. 1997. **Manual of Techniques in Insect Pathology**.

Kaya, H. K. 1985. Entomopatogeneus Nematodes for Insect Control in IPM Systems. Dalam **Biological Control in Agricultural IPM Systems**. (editor) Hay, M. A. dan D. C. Herzog. 1985. New York: Academic Press Inc.

Kaya H. K. dan R. Gaugler . 1990. **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. Boca Rabon Florida: penerbit CRC Press.

Laba I. W, D. Killin dan D. Soetopo. 1998. Dampak Penggunaan Insektisida Dalam Pengendalian Hama . Dalam **Jurnal Litbang Pertanian XVII (3)**. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.

Lunau s. S. Stoessel, A.J. Schmidt, Paisher end R.V. Ehlers. 1993. Establishment of Monoxenic For Scalling of In-Vitro Cultures of The Entomopathogenic Nematodes *Steinernema* spp end *Heterorhabditis* spp. Dalam **Nematol. Vol 39(3): p.386**.

Martin, W.R. 1997. Using Entomopathogenic Nematodes to Control Insects During Stand Establisment. Dalam **HortScience Vol 32(2)**.

Ogura N. dan N. Haraguchi. 1993. Xenic Culture of *Steinernema kushidai* (nematode Steinernematidae) on Artificial Media. **Nematologica Vol 29(2): 266-273**.

Oka, I.N. 1998. **Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya di Indonesia**. Yokyakarta: penerbit Gajah Mada University Press.

Poinar G. O. 1979. **Nematodes For Biological Control of Insects**. CRC Press Inc. Boca Rabon Florida.

Ricci M., I. Glazer, J.F. Campbell dan R. Gaugler. 1996. Comparison of Bioassay to Measure Virulence of Different Entomopathogenic Nematodes. Dalam **Jurnal Biocontrol Science and Technology no.6: 235-245**.

Simoes, N dan Rosa. 1996. Patogenicity of the complex *Steinernema carpocapsae* - *Xenorhabdus nematophilus*: Molekuler aspect related with virulence. *Bio. Sci. Technol* 6: 73 - 83.

Sulistyanto, D. 1998. **Biopestisida Nematoda Entomopatogen Dalam Konsep Pertanian Berwawasan Lingkungan**. Makalah (belum diterbitkan) pada seminar. Fakultas Pertanian. Universitas Jember.

Sediaoetama A.D. 1996. **Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa dan Profesi**. Jakarta: penerbit Dian Rakyat.

Swiyono, D. S. 1999. Efektifitas Nematoda Entomopatogen *Steinernema carpocapsae* (All strain) dan *S. glaseri* (NC) Terhadap Hama Bubuk Buah Kopi (*Hypothenemus hampei*). Makalah (belum diterbitkan) pada seminar hasil penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Digital Repository Universitas Jember

lampiran 1. Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus* (Isolat Ngadas) Hasil pembiakan Masal

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus*

(isolat Ngadas) Juvenil 4 dan Dewasa Hasil Pembiakan Masal In vitro Pada Hari ke- hari ke-10

perlakuan	Hari ke-14						Hari ke-14					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	193,74	24361,95	31632,25	56187,94	18729,31	19875,87	5104,41	2088,17	27068,45	9022,82		
Resep 3	6535,11	7034,75	7668,98	21238,84	7079,61	9619,60	2499,27	13057,79	25176,66	8392,22		
Resep 4	15626,40	160,00	14133,60	29920,00	9973,33	240,00	1760,00	1520,00	3520,00	1173,33		
Resep 5	3464,20	7621,25	1232,10	12317,55	4105,85	3879,91	28600,46	18512,70	50993,07	16997,69		
Total				119664,33	9972,03				106758,18	8896,52		

Hari ke-21

Hari ke-30

perlakuan	Hari ke-21						Hari ke-30					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	3828,31	2745,94	2977,96	9552,20	3184,07	7926,91	6032,48	6650,81	20610,21	6870,07		
Resep 3	15947,33	2499,27	11899,41	30346,01	10115,34	12521,21	1999,63	9205,19	23726,04	7908,68		
Resep 4	213,60	1680,00	1520,00	3413,60	1137,87	1733,60	1146,40	1333,60	4213,60	1404,53		
Resep 5	4272,52	11700,92	10084,30	26057,74	8685,91	2194,00	2386,84	3772,52	8353,35	2784,45		
Total				69369,55	5780,80				56903,20	4741,93		

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus*

(isolat Ngadas) Juvenil 2 dan 3 Pada hari ke-

hari ke-10

hari ke-14

perlakuan	hari ke-10						hari ke-14					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	193,74	292305,10	368135,73	660634,57	220211,52	207308,58	228383,99	346017,40	781709,98	260569,99		
Resep 3	11533,65	11509,51	17361,74	40404,90	13468,30	22701,90	39880,40	21214,34	83796,63	27932,21		
Resep 4	105280,00	0,00	93360,00	198640,00	66213,33	80,00	14853,60	13866,40	28800,00	9600,00		
Resep 5	13086,61	27713,63	5620,09	46420,32	15473,44	8757,51	69616,63	49662,82	128036,95	42678,98		
Total				946099,80	78841,65				1022343,56	85195,30		

hari ke-21

hari ke-30

perlakuan	hari ke-21						hari ke-30					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	213186,77	352281,90	251314,39	816783,06	272261,02	222892,11	194741,30	262335,27	679968,68	226656,23		
Resep 3	22628,75	39880,40	14959,77	77468,91	25822,97	18971,10	32870,15	13094,37	64935,63	21645,21		
Resep 4	1226,40	12933,60	12160,00	26320,00	8773,33	6986,40	6480,00	6240,00	19706,40	6568,80		
Resep 5	33911,09	53502,31	24480,37	111893,76	37297,92	8660,51	6235,57	7274,83	22170,90	7390,30		
Total				1032465,74	86038,81				786781,60	65565,13		

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indicus*

(isolat Ngadas) Juvenil 2, 3, 4 dan Dewasa Pada Hari Ke-

Hari ke-10

Hari ke-14

perlakuan	Hari ke-10						Hari ke-14					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	387,47	316667,05	399767,98	716822,51	238940,84	227184,45	233488,40	348105,57	808778,42	269592,81		
Resep 3	18068,76	18544,26	25030,72	61643,75	20547,92	32321,51	42379,66	34272,13	108973,30	36324,43		
Resep 4	120906,40	160,00	107493,60	228560,00	76186,67	320,00	16613,60	15386,40	32320,00	10773,33		
Resep 5	16550,81	35334,87	6852,19	58737,88	19579,29	12637,41	98217,09	68175,52	179030,02	59676,67		
Total				1065764,13	88813,68				1129101,74	94091,81		

Hari ke-21

Hari ke-30

perlakuan	Hari ke-21						Hari ke-30					
	1	2	3	Total	Rata-rata	1	2	3	Total	Rata-rata		
Resep 1	217015,08	355027,84	254292,34	826335,27	275445,09	230819,03	200773,78	268986,08	700578,89	233526,30		
Resep 3	38576,08	42379,66	26859,18	107814,92	35938,31	31492,32	34869,79	22299,56	88661,67	29553,89		
Resep 4	1440,00	14613,60	13680,00	29733,60	9911,20	8720,00	7626,40	7573,60	23920,00	7973,33		
Resep 5	38183,60	65203,23	34564,67	137951,50	45983,83	10854,50	8622,40	11047,34	30524,25	10174,75		

Digital Repository / Universitas Jember

Lampiran 2. Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indica* (Isolat Ngadas) Hasil pembiakan Masal Pada Media Buatan Resep 1, 3, 4 dan 5 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indica*

(isolat Ngadas) Juvenil 4 dan Dewasa Hasil Pembiakan Masal *In vitro* Pada Hari ke-

Hari ke-10

Hari ke-14

perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	13.92	156.08	177.85	347.86	115.95	140.98	71.45	45.70	258.12	86.04
Resep 3	80.84	83.87	87.57	252.29	84.10	98.08	49.99	114.27	262.34	87.45
Resep 4	125.01	12.65	118.88	258.54	85.51	15.49	41.95	38.99	98.43	32.14
Resep 5	58.86	87.30	35.10	181.26	60.42	62.29	169.12	136.06	367.47	122.49
Total				1037.94	86.50				984.36	82.03

Hari ke-21

Hari ke-30

perlakuan	ulangan			Total	Rata-rata	ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	61.87	52.40	54.57	168.05	56.28	89.03	77.67	81.55	248.25	82.75
Resep 3	128.28	49.99	109.08	285.36	95.12	111.90	44.72	95.94	252.56	84.19
Resep 4	14.62	40.99	38.99	94.59	31.53	41.64	33.86	36.52	112.01	37.34
Resep 5	65.36	108.17	100.42	273.96	91.32	46.84	48.86	61.42	157.12	52.37
Total				822.75	68.56				769.94	64.16

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indica*

(isolat Ngadas) Juvenil 2 dan 3 Pada hari ke-

hari ke-10

hari ke-14

perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	13.92	540.65	606.74	1161.31	387.10	455.31	477.90	500.23	1521.44	507.15
Resep 3	107.39	107.28	131.76	348.44	115.48	150.67	199.70	145.85	496.02	165.34
Resep 4	324.47	0.00	305.55	630.02	210.01	8.94	121.88	117.76	248.58	82.86
Resep 5	114.40	168.47	74.97	355.84	118.61	93.58	263.85	222.85	580.28	193.43
Total				2493.81	207.80				2848.32	237.19

hari ke-21

hari ke-30

perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	461.72	593.53	501.31	1556.57	518.86	472.11	441.30	512.19	1425.60	475.20
Resep 3	150.43	199.70	122.31	472.44	157.48	137.74	181.30	114.43	433.47	144.49
Resep 4	35.02	113.73	110.27	259.02	88.34	83.58	80.50	78.99	243.08	81.03
Resep 5	184.15	231.31	156.48	571.92	190.84	93.06	78.97	85.29	257.32	85.77
Total				2859.94	238.33				2359.46	196.62

Populasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis indica*

(isolat Ngadas) Juvenil 2, 3, 4 dan Dewasa Pada Hari Ke-

Hari ke-10

Hari ke-14

perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	27.84	696.74	784.60	1509.17	503.06	596.29	549.34	633.93	1779.58	593.19
Resep 3	188.23	191.16	219.34	598.73	199.58	248.75	249.69	258.92	758.37	252.79
Resep 4	449.47	12.65	424.43	886.56	295.52	24.44	163.83	156.74	345.01	115.00
Resep 5	173.25	253.77	110.07	537.10	179.03	155.87	432.97	358.91	947.75	315.92
Total				3531.55	294.30				3830.89	319.22

Hari ke-21

Hari ke-30

perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3			1	2	3		
Resep 1	523.59	645.94	555.88	1725.41	575.14	561.15	518.96	593.74	1873.85	557.95
Resep 3	278.71	249.69	231.39	757.80	252.60	248.63	226.02	210.37	688.03	228.68
Resep 4	49.64	154.71	149.26	353.81	117.87	125.22	114.36	115.51	355.09	118.36
Resep 5	249.51	339.48	256.88	845.87	281.96	139.90	127.82	146.71	414.44	138.15
Total				3682.69	308.89				3129.40	260.78

Lampiran 3. Hasil Uji Patogenisitas (*Two by one assay*)

**Mortalitas *Tenebrio Molitor* (%) Dengan Nematoda
Pada Uji Patogenisitas NeP Hasil Pembiakkan Massal Pada Media**

perlakuan	ulangan hari ke-10			ulangan/hari ke-14			Total
	1	2	Total	1	2		
Resep 1	80	100	180	100	100		200
Resep 3	100	100	200	100	100		200
Resep 4	80	80	160	100	100		200
Resep 5	80	80	160	100	100		200
Kontrol	0	0	0	0	0		0
Total			700				800

perlakuan	Hari ke-21			Hari ke-30			Total	
	1	2	3 Total	1	2	3 Total		
Resep 1	20	80	20	120	20	60	80	160
Resep 3	20	20	80	120	60	80	60	200
Resep 4	80	60	60	200	40	80	40	160
Resep 5	60	60	60	180	60	40	60	160
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
Total			620				680	

**Mortalitas *Tenebrio Molitor* (Transformasi Arcsin)
Pada Uji Patogenisitas NeP Hasil Pembiakkan Massal Pada Media**

perlakuan	ulangan hari ke-10			ulangan/hari ke-14			Total
	1	2	Total	1	2		
Resep 1	63,43	88,72	152,15	88,72	88,72		177,44
Resep 3	88,72	88,72	177,44	88,72	88,72		177,44
Resep 4	63,43	63,43	126,86	88,72	88,72		177,44
Resep 5	63,43	63,43	126,86	88,72	88,72		177,44
Kontrol	12,92	12,92	25,84	12,92	12,92		25,84
Total			609,15				735,60

perlakuan	Hari ke-21			Hari ke-30			Total	
	1	2	3 Total	1	2	3 Total		
Resep 1	26,56	63,43	26,56	116,55	26,56	50,77	63,43	140,76
Resep 3	26,56	26,56	63,43	116,55	50,77	63,43	50,77	164,97
Resep 4	63,43	50,77	50,77	164,97	39,23	63,43	39,23	141,89
Resep 5	50,77	50,77	50,77	152,31	50,77	39,23	50,77	140,77
Kontrol	12,92	12,92	12,92	38,76	12,92	12,92	12,92	38,76
Total			589,14				627,15	

Lampiran 4. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

**Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *in vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. Indicus* (Isolat Lokal) Juvenil 2 dan 3 Hari ke-10**

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP pergram bahan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	13.92	540.65	606.74	1161.31	387.10
R3	107.39	107.28	131.76	346.44	115.48
R4	324.47	346.28	305.55	976.30	325.43
R5	114.40	166.47	74.97	355.84	118.61
Total				2839.89	236.66

t =	4
r =	3
FK =	672080.70
JKT =	393928.099
JKP =	177401.02
JKG =	216527.08
dbt =	11
dbp =	3
dbg =	8
KTP =	59134
KTG =	27066
F-hitung =	2.18

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	177401.02	59133.67	2.18	4.07	7.59
Galat	8	216527.08	27065.89			
Total	11	393928.10				

Perlakuan berbeda tidak nyata

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (2.76)

Koef. Kerag.= 69.52

	2	3	4	
	3.26	3.39	3.47	x
	309.65	322.00	329.59	94.98

	R3	R5	R4	R1
	115.48	118.61	325.43	387.10
R1	387.10	271.62	268.49	61.67
R4	325.43	209.95	206.82	0.00
R5	118.61	3.13	0.00	
R3	115.48	0.00		

	R3	R5	R4	R1
	115.48	118.61	325.43	387.10
a	a	a	a	a

Ket : angka yang dilukti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampliran 5. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari Ke-14 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Berbagai Komposisi Media Padat *In vitro* Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Juvenil 2 dan 3

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	455.31	477.90	588.23	1621.44	507.15
R3	150.67	190.70	145.65	496.02	165.34
R4	8.94	121.88	117.76	248.58	82.86
R5	93.58	263.85	222.85	580.28	193.43
Total				2846.32	

$$\begin{aligned}
 t &= 4 \\
 r &= 3 \\
 FK &= 675128.63 \\
 JKT &= 347214.93 \\
 JKP &= 311316.33 \\
 JKG &= 35898.60 \\
 dbt &= 11 \\
 dbp &= 3 \\
 dbg &= 8 \\
 KTP &= 103772 \\
 KTG &= 4487.3245 \\
 F-hitung &= 23.13
 \end{aligned}$$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	311316.33	103772.11	23.13	4.07	7.59
Galat	8	35898.60	4487.32			
Total	11	347214.93				

F-tabel 1% (7.59) < F-hitung (24,92)

Perlakuan berbeda sangat nyata

$$UJD = ta(t;dbg) \times KTG/r \quad \text{Koef. Kerag.=} \quad 28.24$$

$$\begin{array}{cccc}
 2 & 3 & 4 & \\
 3.26 & 3.39 & 3.47 & \times 38.68 \\
 \hline
 126.08 & 131.11 & 134.20 &
 \end{array}$$

	R4	R3	R5	R1
	82.86	165.34	193.43	507.15
R1	507.15	424.29	341.81	313.72
R5	193.43	110.57	28.09	0.00
R3	165.34	82.48	0.00	
R4	82.86	0.00		

R4	R3	R5	R1
82.86	165.34	193.43	507.15
a	a	a	b

Ket : angka yang dilikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 6. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Hari Ke-21 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

**Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat
In vitro Terhadap Jumlah NEP *H. Indicus* (Isolat Lokal) (kecII 21)**

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	461.72	593.53	501.31	1556.57	518.86
R3	150.43	199.70	122.31	472.44	157.48
R4	35.02	113.73	110.27	259.02	86.34
R5	184.15	231.31	156.46	571.92	190.64
Total				2859.94	

t =	4
r =	3
FK =	681606.04
JKT =	350859.70
JKP =	331821.18
JKG =	19038.52
dbt =	11
dbp =	3
dbg =	8
KTP =	110607.06
KTG =	2379.81
F-hitung =	46.48

ANOVA

Sumber eragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	331821.18	110607.06	46.48	4.07	7.59
Galat	8	19038.52	2379.81			
Total	11	350859.70				

F-tabel 1% F-tabel 1% < F-hitung(33.38)

Perlakuan berbeda sangat nyata

$$UJD = ta(t, dbg) \quad \times \quad KTG/r \quad \text{Kef. Kerag.} = 20.47$$

$$\begin{array}{cccc} 2 & 3 & 4 \\ 3.26 & 3.39 & 3.47 \\ \hline 91.82 & 95.48 & 97.73 \end{array} \quad \times \quad 28.17$$

	R4	R3	R5	R1
R1	518.86	432.52	361.38	518.86
R5	190.64	104.30	33.16	0.00
R3	157.48	71.14	0.00	
R4	86.34	0.00		

$$\begin{array}{cccc} R4 & R3 & R5 & R1 \\ 86.34 & 157.48 & 190.64 & 518.86 \\ a & a & a & b \end{array}$$

Ket : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 7. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Setelah Transformasi Akar Kuadrat.

**ANALISA RAL PENGARUH BERBAGAI KOMPOSISI MEDIA PADAT
TERHADAP JUMLAH NEP H. Indicus ISOLAT LOKAL (KECIL 30)**

IN-VITRO

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	472.11	441.30	512.19	1425.60	475.20
R3	137.74	181.30	114.43	433.47	144.49
R4	83.58	80.50	78.99	243.08	81.03
R5	93.06	78.97	85.29	257.32	85.77
Total				2359.46	

$t =$ 4
 $r =$ 3
 $FK =$ 463921.22
 $JKT =$ 322860.38
 $JKP =$ 317918.38
 $JKG =$ 4942.00
 $dbt =$ 11
 $dbg =$ 3
 $dbg =$ 8
 $KTP =$ 105972.79
 $KTG =$ 617.75
 $F\text{-hitung} =$ 171.55

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	317918.38	105972.79	171.55	4.07	7.59
Galat	8	4942.00	617.75			
Total	11	322860.38				

F-tabel 1% (7.59) < F-hitung (171.55)

Perlakuan sangat berbeda nyata

12.64

$$UJD = t_a(t; dbg) \quad \times \quad KTG/r$$

$$\begin{array}{cccc}
 2 & 3 & 4 & \\
 3.26 & 3.39 & 3.47 & \\
 \hline
 46.78 & 48.65 & 49.79 &
 \end{array} \quad \times \quad 14.35$$

	R4	R5	R3	R1
R1	475.20	394.17	389.43	330.71
R3	144.49	63.46	58.72	0.00
R5	85.77	4.75	0.00	
R4	81.03	0.00		

$$\begin{array}{cccc}
 R4 & R5 & R3 & R1 \\
 81.03 & 85.77 & 144.49 & 475.20 \\
 a & ab & b & b
 \end{array}$$

Ket : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampliran 8. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari Ke-10 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

**Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *in vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Hari Ke-10 Juvenil 4 dan 5**

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	13.92	156.08	177.85	347.86	115.95
R3	80.84	83.87	87.57	252.29	84.10
R4	125.01	12.65	118.88	256.54	85.51
R5	58.86	87.30	35.10	181.26	60.42
Total				1037.94	

$t =$ 4
 $r =$ 3
 $FK =$ 89776.77
 $JKT =$ 29887.56
 $JKP =$ 4663.14
 $JKG =$ 25224.42
 $dbt =$ 11
 $dbp =$ 3
 $dbg =$ 8
 $KTP =$ 1564.38
 $KTG =$ 3153.05
 $F\text{-hitung} =$ 0.49

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	4663.14	1554.38	0.49	4.07	7.59
Galat	8	25224.42	3153.05			
Total	11	29887.56				

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (0.49) < F-tabel 1% (7.59)

Perlakuan berbeda tidak nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t; dbg)$ \times KTG/r Koef. Kera 64.92

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	\times 32.42
105.69	109.90	112.50	

	R5	R3	R4
	60.42	84.10	85.51
R1	115.95	55.53	31.86
R4	85.51	25.09	1.42
R3	84.10	23.68	0.00
R5	60.42	0.00	

R5	R3	R4	R1
60.42	84.10	85.51	115.95

Ket : angka yang dilikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 9. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari Ke-14 Setelah Transformasi Akar Kuadrat.

**Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *in vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Hari Ke-14 Juvenil 4 dan 5**

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	140.98	71.45	45.70	258.12	86.04
R3	98.08	49.99	114.27	262.34	87.45
R4	15.49	41.95	38.99	96.43	32.14
R5	62.29	169.12	136.06	367.47	122.49
Total				984.36	

$t = \quad 4$
 $r = \quad 3$
 $FK = 80747.85$
 $JKT = 26010.34$
 $JKP = 12513.01$
 $JKG = 13497.33$
 $dbt = \quad 11$
 $dbp = \quad 3$
 $dbg = \quad 8$
 $KTP = 4171.00$
 $KTG = 1687.17$
 $F\text{-hitung} = \quad 2.47$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	12513.01	4171.00	2.47	4.07	7.59
Galat	8	13497.33	1687.17			
Total	11	26010.34				

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (3.85) < F-tabel 1% (7.59)

Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = t_a(t; dbg)$ \times KTG/r Koef. Kerag.: 50.07

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	\times
77.31	80.39	82.29	23.71

R5	R4	R1	R3
	32.14	86.04	87.45
			122.49
R3	90.35	36.45	35.04
R1	55.30	1.41	0.00
R4	86.04	53.90	0.00
R4	32.14	0.00	

R4	R1	R3	R5
32.14	86.04	87.45	122.49
a	b	ab	ab

Ket : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampliran 10. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari Ke-21 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat • *In vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Hari Ke-21 Juvenil 4 dan 5

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	61.87	52.40	54.57	168.85	56.28
R3	126.28	49.99	109.08	285.36	95.12
R4	14.62	40.99	38.99	94.59	31.53
R5	65.36	108.17	100.42	273.96	91.32
Total				822.75	

t = 4
 r = 3
 FK = 56410.00
 JKT = 12959.55
 JKP = 8236.07
 JKG = 4723.48
 dbt = 11
 dbp = 3
 dbg = 8
 KTP = 2745.36
 KTG = 590.43
 F-hitung = 4.65

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	8236.07	2745.36	4.65	4.07	7.59
Galat	8	4723.48	590.43			
Total	11	12959.55				

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (4.65) < F-tabel 1% (7.59)

Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 UJD = ta(t,dbg) x KTG/r Koef. Kera 35.44

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	x 14.03
45.73	47.56	48.68	

		R4	R1	R5	R3
		31.53	56.28	91.32	95.12
R3	95.12	63.59	38.84	3.80	0.00
R5	91.32	59.79	35.04	0.00	
R1	56.28	24.75	0.00		
R4	31.53	0.00			

R4	R1	R5	R3
31.53	56.28	91.32	95.12
a	ab	b	b

Ket : angka yang dilikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 11. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 4 dan 5 Hari Ke-30 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *in vitro* Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Hari Ke-30 Juvenil 4 dan 5

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	89.03	77.67	81.55	248.25	82.75
R3	111.90	44.72	95.94	252.56	84.19
R4	41.64	33.86	36.52	112.01	37.34
R5	46.84	48.86	61.42	157.12	52.37
Total				769.94	

$t =$ 4
 $r =$ 3
 $FK =$ 49401.10
 $JKT =$ 7502.09
 $JKP =$ 4815.26
 $JKG =$ 2686.83
 $dbt =$ 11
 $dbp =$ 3
 $dbg =$ 8
 $KTP =$ 1605.0864
 $KTG =$ 335.85364
 $F\text{-hitung} =$ 4.78

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	4815.26	1605.09	4.78	4.07	7.59
Galat	8	2686.83	335.85			
Total	11	7502.09				

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (3.85) < F-tabel 1% (7.59)

Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan
 $WJD = ta(t, dbg)$ 5%
 x KTG/r Koefis. Ker: 28.56

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	x 10.58
34.49	36.87	36.72	

	R4	R5	R1	R3
	37.34	52.37	82.75	84.19
R3	84.19	46.85	31.81	1.43
R1	82.75	45.41	30.38	0.00
R5	52.37	15.03	0.00	
R4	37.34	0.00		

R4	R5	R1	R3
37.34	52.37	82.75	84.19
a	ab	a	b

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 12. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 dan 3 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *In vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Juvenil 2 Hingga Dewasa Hari ke-10

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP pergram bahan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	19.65	562.73	631.72	1214.11	404.70
R3	134.42	136.18	158.21	428.81	142.94
R4	347.72	12.65	362.62	722.99	241.00
R5	128.65	187.98	82.78	399.40	133.13
Total				2765.30	230.44

$t =$ 4
 $r =$ 3
 FK = 637242.38
 JKT = 451824.16
 JKP = 142812.89
 JKG = 309011.48
 dbt = 11
 dbp = 3
 dbg = 8
 KTP = 47604.23
 KTG = 38626.43
 F-hitung = 1.23

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	142812.89	47804.23	1.23	4.07	7.59
Galat	8	309011.48	38626.43			
Total	11	451824.16				

Perlakuan berbeda tidak nyata

F-tabel 5% (4.07) > F-hitung (2.76)

Koef. Kerr 85.2866

	2	3	4	x	113.47
	3.26	3.39	3.47		
	369.91	384.66	393.74		

	R3	R5	R4	R1
	142.94	133.13	241.00	404.70
R1	404.70	261.77	271.57	183.71
R4	241.00	98.06	107.86	0.00
R5	133.13	-9.80	0.00	
R3	142.94	0.00		

R3	R5	R4	R1
142.94	133.13	241.00	404.70
a	a	a	b

Ket : angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Amiran 13. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari Ke-14 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *In vitro*
Terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Juvenil 2,3, 4 dan 5 Hari ke-14

komposisi	Rata-rata jumlah NEP per-gram bahan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	476.64	483.21	590.00	1549.85	516.62
R3	179.78	205.86	185.13	570.77	190.26
R4	17.89	128.89	124.04	270.82	90.27
R5	112.42	313.40	261.10	686.92	228.97
Total				3078.36	

$$\begin{aligned}
 t &= 4 \\
 r &= 3 \\
 FK &= 789693.75 \\
 JKT &= 339408.36 \\
 JKP &= 301311.87 \\
 JKG &= 38096.49 \\
 dbt &= 11 \\
 dbp &= 3 \\
 dbg &= 8 \\
 KTP &= 100437.29 \\
 KTG &= 4762.06 \\
 F\text{-hitung} &= 21.09
 \end{aligned}$$

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	301311.87	100437.29	21.09	4.07	7.59
Galat	8	38096.49	4762.06			
Total	11	339408.36				

t-tabel 1% (7.59) < F-hitung (23.63)

Pperlakuan berbeda sangat nyata

Jji Jarak Duncan
UJD = ta(t;dbg)
x KTG/r

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	x 39.84
129.88	135.06	138.25	

	R4	R3	R5	R1
R1	516.62	426.34	326.36	287.64
R5	228.97	138.70	38.71	0.00
R3	190.26	99.98	0.00	
R4	90.27	0.00		

R4	R3	R5	R1
90.27	190.26	228.97	516.62
a	a	a	b

Ket : angka yang dilikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 14. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari Ke-21 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat *in vitro*

Terhadap Jumlah NEP *H. indica* (Isolat Lokal) Juvenil 2,3,4 dan 5 Hari ke-21

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	465.85	595.84	604.27	1565.96	521.99
R3	196.41	205.86	163.89	566.16	188.72
R4	37.95	120.89	116.96	275.80	91.93
R5	195.41	255.35	185.92	636.67	212.22
Total				3044.59	

$$\begin{aligned}
 t &= 4 \\
 r &= 3 \\
 FK &= 772462.13 \\
 JKT &= 329373.52 \\
 JKP &= 312270.03 \\
 JKG &= 17103.49 \\
 dbt &= 11 \\
 dbp &= 3 \\
 dbg &= 8 \\
 KTP &= 104090.01 \\
 KTG &= 2137.94 \\
 F\text{-hitung} &= 48.69
 \end{aligned}$$

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	3	312270.03	104090.01	48.69	4.07	7.59
Galat	8	17103.49	2137.94			
Total	11	329373.52				

F-tabel 1% (7.59) < F-hitung (48.69)

Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times KTG/r$

	2	3	4	
3.26	3.39	3.47		\times
87.03	90.50	92.63		26.70

	R4	R3	R5	R1
R1	521.99	430.06	333.27	309.76
R5	212.22	120.29	23.50	0.00
R3	188.72	96.79	0.00	
R4	91.93	0.00		

	R4	R3	R5	R1
	91.93	188.72	212.22	521.99
a	b	b	c	

Ket : angka yang dilukis huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Empiran 15. Hasil Analisa Pengaruh Komposisi Media Terhadap populasi Nematoda Entomopatogen Juvenil 2 Hingga 5 Hari Ke-30 Setelah Tranformasi Akar Kuadrat.

Analisa RAL Pengaruh Komposisi Media Padat in vitro terhadap Jumlah NEP *H. indicus* (Isolat Lokal) Juvenil 2, 3, 4 dan 5 Hari ke-30

Posisi	Rata-rata Jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	480.44	448.08	518.64	1447.15	482.38
R3	177.46	186.73	149.33	513.53	171.18
R4	93.38	87.33	87.03	267.74	89.25
R5	104.37	92.86	105.11	302.33	100.78
Total				2630.75	

$$\begin{aligned}
 t &= 4 \\
 r &= 3 \\
 FK &= 533723.47 \\
 JKT &= 310000.60 \\
 JKP &= 306626.64 \\
 JKG &= 3373.960747 \\
 dbt &= 11 \\
 dbp &= 3 \\
 dbg &= 8 \\
 KTP &= 102208.88 \\
 KTG &= 421.7450933 \\
 F-hitung &= 242.35
 \end{aligned}$$

ANOVA

Jenis Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	306626.64	102208.88	242.35	4.07	7.59
Galat	8	3373.96	421.75			
Total	11	310000.60				

Tabel 1% (7.59) < F-hitung (325.76)

Pperlakuan berbeda sangat nyata

Jarak Duncan
UJD = ta(t;dbg)
x KTG/r

2	3	4	
3.26	3.39	3.47	x 11.86
38.65	40.19	41.14	

	R4	R5	R3	R1
	89.25	100.78	171.18	482.38
482.38	393.14	381.61	311.21	0.00
171.18	81.93	70.40	0.00	
100.78	11.53	0.00		
89.25	0.00			

R4	R5	R3	R1
89.25	100.78	171.18	482.38
a	a	b	c

Ket : angka yang dilukis huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 16. Analisa Data Mortalitas *Tenebrio Molitor* (Dalam Arcsin Pada Uji Patogenositas (Two by one assay)

Analisa RAL Uji Patogenositas Hasil Ekstraksi Hari Ke-10

komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2			
R1	63.43	88.72		152.15	76.075
R3	88.72	63.43		152.15	76.08
R4	63.43	63.43		126.86	63.43
R5	63.43	63.43		126.86	63.43
kontrol	12.92	12.92		25.84	8.61
			583.86		

$t = \dots$ 5
 $r = \dots$ 2
 $FK = 34089.25$
 $JKT = 5793.416$
 $JKP = 5153.832$
 $JKG = 639.5841$
 $dbt = \dots$ 9
 $dbp = \dots$ 4
 $dbg = \dots$ 5
 $KTP = 1288.458$
 $KTG = 127.9168$
 $F\text{-hitung} = \dots$ 10.07

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Peragaman	4	5153.832	1288.458	10.07	4.07	7.59
Galat	5	639.5841	127.9168			
Total	9	5793.416				

$F\text{-tabel } 5\% (4.07) < F\text{-hitung } (10.07)$

Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = t_a(t; dbg)$ $x = KTG/r$ Koef. Kera: 23.25

2	3	4	5		
3.15	3.3	3.37	3.43	*	7.9974
25.19	26.39	26.95	27.43		

	kontrol	R4	R5	R1	R3
R3	76.08	67.46	12.65	12.65	0.00
R1	76.08	67.46	12.65	12.65	0.00
R5	63.43	54.82	0.00	0.00	
R4	63.43	54.82	0.00	0.00	
kontrol	8.61	0.00			

kontrol	R4	R5	R1	R3
8.61	63.43	63.43	76.08	76.08
a	b	b	b	b

*Notasi Yang Sama Menunjukkan Berbeda Tidak Nyata

Lampiran 17. Analisa Data Mortalitas *Tenebrio Molitor* (Dalam Arcsin Pada Uji Patogenisitas (Two by one assay)

Analisa RAL Uji Patogenisitas Hasil Ekstraksi Hari Ke-14

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2			
R1	88.72	88.72		177.44	88.72
R3	88.72	88.72		177.44	88.72
R4	88.72	88.72		177.44	88.72
R5	88.72	88.72		177.44	88.72
Kontrol	12.92	12.92		25.84	12.92
				735.6	

t =	5
r =	2
FK =	54110.74
JKT =	8859.171
JKP =	8859.171
JKG =	0
dbt =	9
dbp =	4
dbg =	5
KTP =	2214.793
KTG =	0
F-hitung =	0.00

ANOVA

Sumber	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	8859.171	2214.793	0.00	4.07	7.59
Galat	5	0	0			
Total	9	8859.171				

F-tabel 5% (4.07) < F-hitung (0)

Perlakuan berbeda tidak nyata

Uji Jarak Duncan

5%

$$UJD = ta(t; dbg) \times KTG/r$$

Koef. Kera

0.00

	2	3	4	5	
3.15	3.15	3.3	3.37	3.43	*
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

	Kontrol	R5	R3	R4	R1
R1	88.72	75.80	0.00	0.00	0.00
R4	88.72	75.80	0.00	0.00	0.00
R3	88.72	75.80	0.00	0.00	
R5	88.72	75.80	0.00		
Kontrol	12.92	0.00			

Kontrol	R5	R3	R4	R1
12.92	88.72	88.72	88.72	88.72
a	b	b	b	b

*Notasi yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Lampiran 18. Analisa Data Mortalitas *Tenebrio Molitor* (Dalam Arcsin Pada Uji Patogenositas (Two by one assay)

Analisa RAL Uji Patogenositas Hasil Ekstraksi Hari Ke-21

Komposisi	Rata-rata jumlah NEP			Total	Rata-rata
	1	2	3		
R1	88.72	63.43	26.56	178.71	59.57
R3	26.56	63.43	63	153.42	51.14
R4	63.43	50.77	50.77	164.97	54.99
R5	50.77	50.77	50.77	152.31	50.77
Kontrol	12.92	12.92	12.92	25.84	8.61
				675.25	

$t = \dots$ 5
 $r = \dots$ 3
 $FK = \dots$ 30397.5
 $JKT = \dots$ 7866.026
 $JKP = \dots$ 4898.628
 $JKG = \dots$ 2967.397
 $dbt = \dots$ 14
 $dbp = \dots$ 4
 $dbg = \dots$ 10
 $KTP = \dots$ 1224.657
 $KTG = \dots$ 296.7397
 $F\text{-hitung} = \dots$ 4.13

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	4898.628	1224.657	4.13	4.07	7.59
Galat	10	2967.397	296.7397			
Total	14	7866.026				

F-tabel 5% (4.07) < F-hitung (4.13)

Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%

$$UJD = ta(t; dbg) \times KTG/r$$

Koef. Keragaman 30.61

	2	3	4	5	
3.15	3.3	3.37	3.43	*	9.945514
31.33	32.82	33.52	34.11		

	Kontrol	R5	R3	R4	R1
R1	59.57	50.96	8.80	8.43	4.58
R4	54.99	46.38	4.22	3.85	0.00
R3	51.14	42.53	0.37	0.00	
R5	50.77	42.16	0.00		
Kontrol	8.61	0.00			

Kontrol	R5	R3	R4	R1
8.61	50.77	51.14	54.99	59.57
a	b	b	b	b

*Notasi yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

**Lampiran 19. Analisa Data Mortalitas *Tenebrio Molitor* (Dalam Arcsin) Pada Uji Patogenisitas (Two by one assay)
Dengan Nematoda *H.indicus* Dari Resep 1, 3, 4, 5 Ekstraksi Hari ke-30**

Komposisi	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
	R1	26.56	50.77	63.43	140.76
R3	50.77	63.43	50.77	164.97	54.99
R4	39.23	63.43	39.23	141.89	47.30
R5	50.77	39.23	50.77	140.77	46.92
Kontrol	12.92	12.92	12.92	38.76	12.92
Total				627.15	

$t =$ 5
 $r =$ 3
 FK = 26221.14
 JKT = 4059.33
 JKP = 2771.34
 JKG = 1287.99
 dbt = 14
 dbp = 4
 dbg = 10
 KTP = 692.8349
 KTG = 128.799
 F-hitung = 5.38

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	2771.34	692.8349	5.38	4.07	7.59
Galat	10	1287.99	128.799			
Total	14	4059.33				

F-hitung (5.38)> F-Tabel 5%(4.07)

Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg)$ x KTG/r Koef. keraç 27.14

	2	3	4	5	*	
	3.15	3.3	3.37	3.43	*	6.552329
	20.64	21.62	22.08	22.47		

		Kontrol	R1	R5	R4	R3
		12.92	46.92	46.92	47.30	54.99
R3	54.99	42.07	8.07	8.07	7.69	0.00
R4	47.30	34.38	0.38	0.37	0.00	
R5	46.92	34.00	0.00	0.00		
R1	46.92	34.00	0.00			
Kontrol	12.92	0.00				

Kontrol	R1	R5	R4	R3
12.92	46.92	46.92	47.30	54.99
a	b	b	b	b

Notasi yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata