

PERBANYAKAN NEMATODA ENTOMOPATOGEN (NEP) PADA BERBAGAI MEDIA BUATAN ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (ENPS) REARING ON VARIOUS ARTIFICIAL CULTURE MEDIA

Dyah Rini Indriyanti, Nurul Fitria Awalliyah, Priyantini Widiyaningrum

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil perkembangbiakan nematoda entomopatogen pada berbagai media buatan. Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, tujuh perlakuan dan lima ulangan. Tujuh perlakuan media yaitu media A (tepung kedelai), B (hati ayam), C (*dog food*), D (campuran hati ayam dan tepung kedelai 1:1), E (campuran tepung kedelai dan *dog food* 1:1), F (hati ayam dan *dog food* 1:1) dan G (campuran tepung kedelai, hati ayam dan *dog food* 1:0,5:0,5). Sebanyak $1,2 \times 10^3$ JI/ml di biakkan pada setiap media rearing selama empat minggu. Populasi NEP diamati setiap minggu. Hasil menunjukkan media terbaik untuk perbanyak NEP adalah media E (campuran tepung kedelai dan *dog food*) dengan populasi tertinggi $3,5 \times 10^4$ JI/ml. media E mengandung karbohidrat 1,27%, protein 1,52% dan lipid 1,09%.

Kata kunci: nematoda entomopatogen, perbanyak, media buatan

PENDAHULUAN

Pengendalian hama yang ramah lingkungan sudah saatnya digalakkan mengingat pengendalian dengan pestisida pada produk pertanian menyebabkan berbagai dampak negatif. Salah satu pengendalian yang ramah lingkungan yaitu pengendalian hayati dengan menggunakan Nematoda Entomopatogen (NEP). NEP terbukti dapat mengendalikan berbagai larva serangga hama. Menurut Chaerani (2011) dan Wagiman *et al.* (2003), peranan NEP dalam pengendalian hayati sangat penting karena NEP mempunyai kemampuan mencari inang yang tinggi, menginfeksi dan membunuh serangga sasaran dalam waktu singkat hanya 24-48 jam.

Pengendalian NEP pada larva Coleoptera banyak diteliti dari berbagai aspek (Mahar *et al.* 2005; dan Nderitu *et al.* 2009), juga pada larva Lepidoptera (Nyasani *at al.* 2008; Subagiya 2005). Nematoda ini tidak berbahaya bagi mamalia dan vertebrata, tidak meracuni lingkungan, kompatibel dengan sebagian besar pestisida kimia (Chaerani, 2000 dalam Wagiman *et al.* 2003; Malik 2012).

Namun demikian aplikasi NEP di lapangan terkendala dengan penyediaan NEP yang siap pakai. NEP dapat diperoleh melalui isolasi dari tanah, namun memerlukan waktu dan ketrampilan khusus (Indriyanti *et al.* 2014). NEP dapat diperoleh dengan cara membeli sebagai biopestisida, namun Biopestisida NEP ternyata tidak tahan lama, banyak yang mati setelah dua minggu jika tidak diberi media pakan.

Selama ini pembiakan NEP masih terbatas menggunakan cara *in vivo* yaitu pembiakan dengan menggunakan larva serangga, diantaranya ulat hongkong (*Tenebrio molitor*) atau ulat bambu (*Galeria melonella*) dan ulat jagung (*H. armigera*) (Kamariah *et al.* 2013; Wagiman *et al.* 2003). Kendala menggunakan cara pembiakan secara *in vivo* adalah ketergantungan pada stok serangga inang. Oleh sebab itu perlu dicari media pengembangbiakan NEP secara *in vitro* yang murah dan mudah digunakan petani. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan media yang cocok untuk perbanyak NEP secara *in vitro*.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, Mei sampai Juli 2014. Metode penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan tujuh perlakuan dan lima kali ulangan. NEP yang digunakan diperoleh dari isolasi dari tanah dengan menggunakan serangga umpan *Tenebrio molitor* lalu diperbanyak dengan metode *White Trap*.

Media perbanyak yang disiapkan untuk perlakuan terdiri dari: media A (tepung kedelai), media B (hati ayam), media C (*dog food*), media D (campuran tepung kedelai dan hati ayam 1:1), media E (campuran tepung kedelai dan *dog food* 1:1), media F (campuran hati ayam dan *dog food* 1:1), media G (campuran tepung kedelai, hati ayam dan *dog food* 1:0,5:0,5). Komposisi lengkap media tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Media Pakan NEP

Komposisi media	Tepung kedelai (g)	Bubuk Hati ayam (g)	Bubuk <i>Dog food</i> (g)	Agar-agar (g)	Aquadest (ml)
Tepung kedelai (A)	2	-	-	0,2	30
Bubuk hati ayam (B)	-	2	-	0,2	30
Bubuk <i>dog food</i> (C)	-	-	2	0,2	30
Media D (A+B)	1	1	-	0,2	30
Media E (A+C)	1	-	1	0,2	30
Media F (B+C)	-	1	1	0,2	30
Media G (A+B+C)	1	0,5	0,5	0,2	30

Bahan baku media yang berbentuk padat dioven (suhu 70°C) sampai kering kemudian dihaluskan. Masing-masing media dicampur dengan agar-agar bubuk sebanyak 0,2 gram dan ditambah aquades 30 ml, diaduk lalu dimasukkan ke dalam botol kaca ukuran tinggi 11 cm, dan diameter 6,5 cm. Di bagian bawah botol diberi spon ukuran diameter 6 cm, tebal 1 cm.

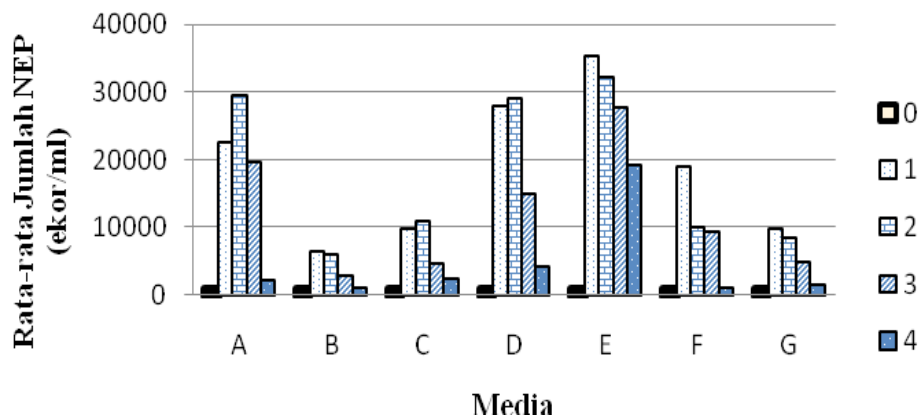
Media dimasukkan dalam botol ditutup dengan plastik, lalu disterilkan dengan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121⁰ C (1,5 Atm).Setelah botol dan media dingin, masing-masing media diinokulasi dengan NEP awal sebanyak 1 ml yang berisi 1,2x 10³ ekor.Populasi NEP dihitung setiap minggu selama empat minggu. Penghitungan dilakukan dengan bantuan mikroskop dan *hand counter*. Penghitungan kelimpahan NEP dilakukan dengan cara mengambil cairan sampel yang mengandung nematoda dari masing - masing media sebanyak 0,05 ml. Cairan diteteskan pada gelas benda yang telah diberi garis bantu.Perhitungan dilakukan minimal tiga kali supaya valid lalu dirata-rata.

$$Populasi\ NEP\ J / t_n = \frac{sampel\ air\ dalam\ media\ (t_n)}{sub\ contoh\ volume\ air(t_n)} \times Jumlah\ NEP$$

Data yang diamati adalah kelimpahan NEP pada tiap media perbanyakkan.Data dianalisis secara statistik menggunakan bantuan software SPSS versi 16. Mediatertbaik untuk pertumbuhan NEP dianalisis kandungan nutrisi karbohidrat, protein dan lemak di Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri (BBTPPI), Semarang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata kelimpahan NEP pada berbagai media pakan selama empat minggu pembiakan tercantum pada Gambar 1.



Gambar 1. Kelimpahan NEP pada berbagai media buatan selama empat Minggu. media A (tepung kedelai); B (hati ayam); C (dog food); D (campuran A+B); E (campuran A+C); F (campuran B+C); G (campuran A+B+C)

Data kelimpahaan NEP pada Gambar 1, secara umum tampak populasi NEP tertinggi terjadi pada minggu pertama.Oleh sebab itu analisis data difokuskan pada minggu pertama.

Uji normalitas data kelimpahan NEP minggu pertamaberdistribusi normal ($P > 0,05$). Hasil uji ANOVA satu arah dengan taraf 5% menunjukkan nilai $P = 0.00$. Nilai P yang diperoleh < 0.05 , berarti terdapat perbedaan rata-rata jumlah NEP antara media pakan. Hasil analisis uji Tukey dapat diringkas pada Tabel 2.

Hasil analisis uji Tukey seperti tersaji di Tabel 2 menunjukkan bahwa kelimpahan NEP minggu pertama terjadi pada media E, media yang terdiri dari campuran tepung kedelai dan *dog food*. Media E termasuk kategori media terbaik untuk perkembangbiakan NEP. Sebaliknya kelimpahan NEP terendah terjadi pada media B (hati ayam). Media F, D, dan A secara statistik tidak berbeda nyata, artinya NEP yang dibiakkan pada ketiga media ini tidak berbeda nyata kelimpahannya. Ketiga media termasuk kategori sedang untuk media NEP. Begitu pula kelimpahan NEP pada media C, G dan F tidak berbeda nyata menurut statistik, ketiga media ini termasuk kategori rendah untuk media perbanyakkan NEP, artinya ketiga media tersebut kurang cocok untuk perkembangbiakan NEP. Hasil pembiakan NEP pada ketujuh media, menunjukkan bahwa NEP dapat berkembangbiak pada media selain larva serangga. Kelimpahan NEP yang berbeda-beda pada masing masing media disebabkan karena komposisi nutrisi pada tiap media yang berbeda.

Tabel 2. Analisis uji Tukey data kelimpahan NEP pada berbagai media pada minggu pertama

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Media B	5	9552.00			
Media C	5	1.46E4	1.46E4		
Media G	5	1.89E4	1.89E4		
Media F	5		2.27E4	2.27E4	
Media D	5			2.94E4	
Media A	5			3.07E4	
Media E	5				4.40E4
Sig.		.078	.169	.188	1.000

Keterangan : Angka yang terdapat dalam “kolom subset” yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%, dan berbeda nyata pada kolom subset yang berbeda.

Kelimpahan NEP secara umum pada minggu pertama - kedua meningkat dibanding populasi awal. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang terkandung pada masing-masing media masih mencukupi kebutuhan NEP untuk berkembang biak. Menurut Wagiman *et al.* 2003 siklus hidup nematoda dari telur sampai dewasa memerlukan waktu kurang lebih 14 hari, jika nutrisinya melimpah maka siklus hidupnya cepat. Hal ini terlihat pada minggu kedua rata-rata kelimpahan NEP meningkat (Gambar 1), berarti terjadi perkembangbiakan NEP.

Kelimpahan tertinggi NEP terjadi pada media E campuran tepung kedelai dan *dog food* 1:1 (NEP = $3,5 \times 10^4$ ekor/ml). Pada media tepung kedelai (A) saja populasi NEP pada minggu pertama

hanya ($2,2 \times 10^4$ ekor/ml), NEP pada media *dog food* ($9,7 \times 10^3$ ekor/ml) tetapi jika kedua media dicampur dengan perbandingan 1:1, maka populasi NEP meningkat menjadi ($3,5 \times 10^4$ ekor/ml). Hal ini berarti campuran media tersebut sinergis atau cocok untuk pertumbuhan NEP. Hal tersebut disebabkan karena pada campuran media E terdapat berbagai nutrisi seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral yang diperlukan bagi perkembangbiakan NEP. Tepung kedelai mengandung protein tinggi. *Dog food* merupakan bahan makanan bagi anjing yang dijual dalam bentuk kemasan dengan berbagai merk dagang. Kandungan nutrisi dari *dog food* yang digunakan pada penelitian ini tertulis pada kemasan mengandung karbohidrat 30,8 %, protein 29,4 % dan lemak 29,1 %. Menurut Uhan (2008) komponen utama dari *dog food* adalah campuran daging ayam, sapi, minyak sayur, serat sayuran, agar-agar, vitamin dan mineral. Menurut Somwong dan Petchara (2012) makanan anjing atau *dog food* yang mengandung banyak lemak berperan dalam peningkatan produksi JI nematoda entomopatogen dibandingkan bubuk ikan. Wagiman *et al.* (2001) melaporkan bahwa media *dog food* secara nyata menghasilkan produksi juvenil infektif yang paling tinggi bila dibandingkan dengan kotoran kambing, kompos, ulat kubis, dan air.

Oleh sebab itu mengapa tepung kedelai dan *dog food* baik untuk NEP karena kedua media campuran tersebut mengandung nutrisi yang dibutuhkan NEP. Hal tersebut didukung dengan adanya hasil analisis kandungan nutrisi pada media E yang dilakukan di BBT PPI Semarang menunjukkan bahwa media campuran tepung kedelai dan *dog food* hasil uji mengandung karbohidrat 1.27 %, protein 1.52 % dan lemak 1.09 %.

Kelimpahan NEP pada berbagai media perbanyak berturut-turut pada minggu pertama adalah sebagai berikut. Pada media E (campuran kedelai dan *dog food*) dengan jumlah NEP sebesar $3,5 \times 10^4$ ekor/ml, media D (campuran kedelai dan hati ayam) (NEP = $2,7 \times 10^4$ ekor/ml), media A (kedelai) (NEP = $2,2 \times 10^4$ ekor/ml), media F (campuran hati ayam dan *dog food*) (NEP = $1,8 \times 10^4$ ekor/ml, media G (campuran kedelai, hati ayam dan *dog food*) (NEP = $9,9 \times 10^3$ ekor/ml, media C (*dog food*) (NEP = $9,7 \times 10^3$ ekor/ml, dan media B (hati ayam) (NEP = $6,5 \times 10^3$ ekor/ml).

Selain media E, ada kecenderungan media yang ditambah tepung kedelai menghasilkan kelimpahan NEP yang cukup tinggi terlihat pada media D. Menurut Chaerani *et al* (2012) minyak kedelai yang merupakan protein nabati dengan kandungan asam-asam amino yang sedikit berbeda dari protein hewani berperan dalam peningkatan produksi JI nematoda entomopatogen. Populasi JI *H. indicus* terus meningkat pada media Han yang mengandung tepung kedelai, produksi JI tertinggi $1,6 \times 10^5$ ekor/g media yang terjadi dalam 2 minggu.

Media yang kurang cocok untuk perbanyak NEP adalah media B (hati ayam). Menurut Nio (2008) kandungan nutrisi hati ayam meliputi Karbohidrat 6 %, Protein 19,7 % dan Lemak 3,2 %. Pada media yang mengandung protein tinggi, selama perlakuan perbanyak NEP terjadi degradasi senyawa protein menjadi gas ammonia. Semakin tinggi kandungan protein maka semakin

banyak amonia yang terbentuk di dalam botol, sehingga menjadi racun bagi perkembangbiakan NEP. Hal ini nampak pada media hati ayam yang banyak mengandung protein dengan kelimpahan NEP terendah. Hal ini sesuai yang dilaporkan Sutrisno dan Suciastuti (2002), menyatakan bahwa amonia dapat terbentuk dari dekomposisi bahan-bahan organik yang mengandung nitrogen yang berasal dari feses.

Hasil pengamatan pH pada masing-masing media perbanyak nematoda entomopatogen yaitu pH awal sebesar 5-5,5 dan pH akhir sebesar 5,5-8,5. Pengukuran pH pada awal pengamatan menunjukkan bahwa pH pada semua media dalam suasana asam, sedangkan pengukuran pH pada akhir pengamatan (minggu keempat) menunjukkan bahwa pH pada semua media dalam suasana basa. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas NEP selama penelitian berlangsung. Hal tersebut kemungkinan disebabkan adanya aktivitas NEP di dalam botol media pakan tertutup yang menyebabkan peningkatan kadar konsentrasi karbondioksida (CO_2) yang mengakibatkan peningkatan nilai pH pada akhir pengamatan. Peningkatan nilai pH pada media pakan juga dapat disebabkan terjadinya penguraian protein dan adanya senyawa nitrogen berupa amonia. Menurut Prihantini *et al.* 2005, menjelaskan bahwa gas amonia yang menimbulkan bau menyengat dan bersifat racun dapat ditemukan pada pH tinggi (basa).

Cahaya sangat berpengaruh terhadap perkembangbiakan NEP. Selama masa inkubasi, botol yang digunakan disimpan pada tempat yang tidak terkena matahari langsung, karena NEP lebih sensitif dengan sinar matahari langsung terutama UV. Sinar UV dapat menurunkan aktivitas NEP bahkan dapat menimbulkan kematian (Novizan 2002). Pengukuran intensitas cahaya dilakukan pada setiap minggunya dengan mengukur setiap pagi, siang dan sore. Intensitas cahaya di ruang penelitian berkisar antara 4.8 Lux – 34 Lux.

Kelembaban adalah salah faktor yang mempengaruhi aktivitas nematoda entomopatogen. Nematoda entomopatogen memerlukan kelembaban yang cukup untuk kelangsungan hidup dan pergerakannya (Afifah 2013). Menurut Ariana (2002) kelembaban yang rendah akan menyebabkan NEP tidak mampu untuk bergerak karena kelembaban yang teramat kering dapat menimbulkan kematian bagi NEP. Kelembaban di ruang penelitian berkisar antara 65-85%.

Untuk mendukung adanya kelangsungan hidup nematoda di luar habitat alaminya, nematoda sangat bergantung pada air dan cadangan makanan sebagai sumber energinya (Chen & Glazer 2004). Menurut Nugrohorini (2010), nematoda dapat melakukan aktivitas dengan kelembaban kadar air \pm 60-70% untuk mempermudah pergerakan nematoda. Berbagai media buatan yang telah dimodifikasi untuk pembiakan nematoda pada dasarnya mengandung bahan-bahan yang kaya akan nutrisi yang dapat mempercepat perkembangbiakannya dengan kadar air yang disesuaikan kelembabannya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Sebanyak tujuh media yang digunakan dalam penelitian ini, media terbaik untuk perkembangbiakan NEP adalah media E yang terdiri dari campuran tepung kedelai dan dog food 1:1. Media E menghasilkan kelimpahan NEP tertinggi pada minggu pertama pembiakan sebesar $3,5 \times 10^4$ ekor/ml. Analisis nutrisi media E mengandung karbohidrat 1,27 %, protein 1,52 % dan lemak 1,09 %.

Saran

Berdasarkan hasil pengamatan selama 4 minggu, disarankan apabila akan membiakkan NEP pada media, sebaiknya NEP dipanen pada minggu pertama atau minggu kedua, saatnya populasi NEP dalam jumlah banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Affiah, L, Bambang TR & Hagus T. 2013. Eksplorasi Nematoda Entomopatogen Pada Lahan Tanaman Jagung, Kedelai dan Kubis Di Malang Serta Virukensinnya Terhadap *Spodoptera litura* Fabricius. *Jurnal HPT* 1:2.
- Ariana. 2002. Keefektifan Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp dan *Heterorhabditis indica* Sebagai Agen Hayati Pengendali Rayap Tanah *Coptotermes curvighantus* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Chen S and I Glazer. 2004. A novel method for longterm storage of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* at room temperature. *Biological Control*. 32: 104-110.
- Chaerani. 2011. Pembiakan Nematoda Patogen Serangga (Rhabditida: *Heterorhabditis* dan *Steinernema*) Pada Media Semi Padat. *J. HPT* 11(1): 69-77.
- _____, M. Ace Suhendar & J. Harjosudarmo. 2012. Perbanyak Nematoda Patogenik Serangga (Rhabditida: *Steinernema* dan *Heterorhabditis*) pada Media *In vitro* Cair Statik. *Agro Biogen* 8 (1): 19-26.
- Indriyanti DR & Widiyaningrum P. 2014. Eksplorasi Nematoda Entomopatogen dari Tanah untuk Agensi Pengendalian Hayati Serangga. *Prosiding Seminar Nasional Profesi HPTI, PEI, PFI*. Surabaya 19 Maret 2014. Fakultas Pertanian UPN “ Veteran ” Jawa Timur.
- Mahar AN, Darban DA, Lanjar AG, Munir M. 2005. Influence of temperature on the production and infectivity of entomopathogenic nematodes against larvae and pupae of *Otiorhynchus syleatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology* 2(1):92-96, 2005.
- Nugrohorini. 2010. Eksplorasi Nematoda Entomopatogen Pada Beberapa Wilayah di Jawa Timur. *J. Pertanian MAPETA XII* (2): 72-144.
- Novizan. 2002. Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan. *Agro Media Pustaka*. Jakarta: 50-60 pp.

- Nderitu J, Sila M, Nyamasyo G and Kasina M. 2009. Effectiveness of entomopathogenic nematodes against sweet potato *Cylas puncticollis* (Coleoptera: Apionidae) under semi-field condition in Kenya. *Journal of Entomology*, 6(3): 145-154.
- Nio OK. 2008. Daftar Analisis Bahan Makanan. Balai Penerbit FK-UI. Jakarta.
- Nyasani JO, Kimenyu JW, Olubayo FM, Shibairo SI. 2008. Occurrence of entomopathogenic nematodes and their potential in the management of Diamondback moth in Kale. *Asian Journal of Plant Science* 7(3): 314-318.
- Kamariah, Burhanuddin N & Johanis P. 2013. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Nematoda Entomopatogen (*Steinernema* sp) Terhadap Mortalitas Larva *Spodoptera exigua* Hubner. *Agrotekbis* 1 (1) : 17-22
- Prihantini NB, Putri B & Yuniati R. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak taug (Met) dengan Variasi pH Awal. *Makara Sains* 9(1): 1-6.
- Subagiya. 2005. Pengendalian hayati dengan nematoda entomogenus *Steinernema carpocapsae* strain lokal terhadap hama *Crocidolomia binotalis* di Tawangmangu. *Agrosain* 7(1):34-39.
- Somwong, P & J Petcharat. 2012 Culture Of The Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) On Artificial Media. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 7:4
- Wagiman, FX, B Triman, TS Uhan & TK Moekasan. 2001. Evaluasi Penggunaan Nematoda *Steinernema carpocapsae* dalam Pengendalian Hayati Hama *Spodoptera* spp. Pada Tanman Bawang. *Laporan Hasil Penelitian*. Universitas Gadjah Mada. 40 Hlm.