



**FORMULASI BIOPESTISIDA NEMATODA ENTOMOPATOGEN ISOLAT LOKAL SERTA
TOKSISITASNYA PADA HAMA TANAMAN KEDELAI (*Spodoptera* sp.)
BIOPESTICIDE FORMULATION OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES LOCAL ISOLATE WITH
IT'S TOXICITY TO SOYBEAN PEST (*Spodoptera* sp.)**

Nugrohorini dan Wiwin Windriyanti
Progdi Agroteknologi FP UPN “Veteran” Jawa Timur

ABSTRACT

The residue of pesticide will disturb of human health and environment balance. Negatif effect from using of pesticide is the appearance of secondary pest, the death of useful insect and there is high pesticide residue in biotic also abiotic component in agroecosystem. Because of that, so be done developing of control method with use biological agents which have pathogenicity to host. One of biological agents is entomopathogenic nematodes. The aim of the research is making formulation of entomopathogenic nematodes Local Isolate and knowing presistention of entomopathogenic nematodes from that formulation. The research do in laboratory of HPT UPN “Veteran” East Java. The result of the research is the sponge medium in plastic have the highest presistention rate until 80.01% than Kaolin and Alginate medium (at 75 days after fprmulation). Conclusion, the sponge in plastic is the best medium for the nematodes formulation than Kaolin and Alginate medium

Keyword : entomopathogenic nematodes, formulation, presistention

I. PENDAHULUAN

Teknik formulasi dan penyimpanan nematoda entomopatogen merupakan hal yang terpenting sebelum biopestisida 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 infektivitas nematoda. Sebelum diformulasikan, umumnya nematoda disimpan di refrigerator dalam suspensi larutan yang beraerasi atau di dalam spon.

Teknik penyimpanan diharapkan jangka waktu Lama yang sekaligus formulasinya merupakan rangkaian dari produksi massal nematoda. Teknik formulasi substrat tertentu akan mempermudah transportasi dan aplikasi (Georgis, 1990). Pada saat ini produk nematoda tidak sesuai dengan standart yang diharapkan. Hal ini disebabkan adanya faktor pembatas yaitu; pasar konsumen untuk produk nematoda, jenis formulasi dan kemasan, ukuran kemasan khususnya kebutuhan kelembaban dan oksigen dimana nematoda membutuhkan viabilitas yang tinggi selama penyimpanan.

II. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuat suatu formula Biopestisida berbahan aktif Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal yang toksik terhadap hama tanaman kedelai (*Spodoptera* sp.)

III. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dalam 3 (tiga) tahap. Tahap pertama adalah produksi massal nematoda entomopatogen; tahap kedua adalah membuat formula biopestisida nematoda entomopatogen serta uji persistensinya; dan tahap ketiga adalah melakukan uji toksisitas nematoda entomopatogen hasil formulasi terhadap hama tanaman kedelai (*Spodoptera* sp.)

3.1. Produksi Massal Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

Produksi massal dilakukan secara *in vitro* dalam *media spon* dengan menggunakan metode Bedding (1981), meliputi : 1) *Isolasi* dan pembiakan Bakteri Symbion *Steinernema* spp. Isolat Tulungagung.



Bakteri diisolasi dari tubuh serangga Galeria yang terserang nematoda entomopatogen, selanjutnya bakteri dibiakkan dalam media Nutrient Agar. Inokulum dari media nutrisi Agar, dibiakkan dalam media Yeast Salt; 2) Pembuatan media Spon sebagai media pembiakan nematoda. Untuk pembiakan nematoda entomopatogen digunakan metode *Bedding*; 3) Inokulasi Bakteri Symbion pada Media Spon; 4) Inokulasi Nematoda Entomopatogen pada Media Spon. Inokulasi nematoda ini dilakukan 24 jam setelah inokulasi bakteri pada media spon; 5) Panen Nematoda Entomopatogen.

3.2. Teknik Formulasi, Pengemasan, Penyimpanan serta Uji Persistensi Nematoda Entomopatogen *Isolat Lokal*

a. Teknik Formulasi Nematoda Entomopatogen *Isolat Lokal*

Nematoda diformulasi dalam tiga macam media pembawa yaitu : (1) Kaolin, (2) Alginat, (3) Spon Polyurethane. (1) Kaolin : Teknik formulasi dalam media Kaolin dilakukan dengan mengaplikasikan 500.000 infeksi juvenil (IJ) pada media *Kaolin* secara manual, dengan cara mencampurkan suspensi ke dalam 60 gram media Kaolin dan mengaduknya secara manual hingga didapatkan adonan yang kohesif dan dapat dibentuk granul berdiameter 0,5 cm – 1 cm. Granul dikeringanginkan selama 30-60 menit. (2) Alginat : Formulasi nematoda dalam gel alginat dibuat dengan cara mencampur 60 gram *Sodium alginate* dengan 500.000 IJ nematoda, selanjutnya diaduk secara kontinyu, selanjutnya dibentuk bulatan/kapsul. Kapsul yang terbentuk dibiarkan dikeringanginkan (3) Spon: Untuk memformulasi nematoda dalam spons, suspensi nematoda (500.000 IJ) dituangkan ke dalam 10 gram spons kering berukuran 1,5 cm³. Dengan bantuan pinset suspensi nematoda diserapkan dan diperas dalam gelas beaker berulang kali hingga sus pensi nematoda terserap merata ke dalam spons.

b. Teknik Pengemasan Hasil Formulasi Nematoda

Pengujian selanjutnya adalah pengemasan hasil formulasi nematoda. Pengemasan dilakukan dalam beberapa metode, yaitu : 1) Pengemasan dalam plastik berklip; 2) Pengemasan dalam aluminium foil dan 3) Pengemasan dalam botol mika.

Nematoda yang telah diformulasi dalam tiga jenis media (Kaolin, Alginat dan Spon), masing-masing dikemas dalam plastik berklip, aluminium Foil dan botol mika. Formulasi yang telah dikemas diinkubasikan selama 7, 15, 30, 45, 60, dan 75 hari.

c. Teknik Penyimpanan Hasil Formulasi Nematoda

Nematoda hasil formulasi disimpan dalam suhu tertentu yaitu 18°C dan 27 °C.

d. Uji persistensi nematoda entomopatogen isolat lokal

Uji persistensi dilakukan terhadap nematoda entomopatogen *isolat lokal* yang telah diinkubasikan selama 7, 15, 30, 45, 60, dan 75 hari. Pengamatan dilakukan terhadap nematoda entomopatogen *Steinernema* yang telah diformulasi dalam media *Kaolin* (kemasan plastik berklip), *Alginat* (kemasan plastik berklip) dan *Spon* (kemasan plastik berklip), media *Kaolin* (kemasan aluminium foil), *Alginat* (kemasan aluminium foil), *Spon* (kemasan aluminium foil), media *Kaolin* (kemasan botol Mika), *Alginat* (kemasan botol mika) dan *Spon* (kemasan botol mika), dan disimpan dalam suhu tertentu, kemudian menghitung jumlah nematoda entomopatogen *isolat lokal* yang hidup menggunakan mikroskop, countingdish dan hand caunter.

3.2. Toksisitas Nematoda Entomopatogen hasil formulasi terhadap Hama Tanaman Kedelai (*Spodoptera sp.*)

Pengujian toksisitas nematoda dilakukan dalam cawan petri dengan menginokulasikan 400 IJ nematoda entomopatogen dari berbagai media formulasi (media Kaolin dalam kemasan Plastik berklip, Alginat dalam Plastik berklip, Spon dalam Plastik berklip, media Kaolin dalam kemasan Aluminium Foil, Alginat dalam Aluminium Foil, dan Spon dalam Aluminium Foil, media Kaolin dalam kemasan mika, Alginat dalam kemasan mika, dan Spon dalam kemasan mika) pada 10 ekor larva *Spodoptera sp.* Yang



diberi pakan daun kedelai. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Pengamatan dilakukan pada 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam setelah inokulasi.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Produksi massal Nematoda entomopatogen untuk persiapan formulasi

Produksi massal nematoda entomopatogen dilakukan dengan teknik *in vitro* melalui beberapa tahapan. Tahap awal adalah inokulasi nematoda entomopatogen pada tubuh larva *Galleria melonella* yang digunakan sebagai inang nematoda. Setelah tubuh *Galleria* menunjukkan adanya gejala serangan nematoda, selanjutnya dilakukan isolasi bakteri simbion yang diambil dari tubuh *Galleria* terserang.

a. Isolasi dan pembiakan bakteri simbion

Hasil Isolasi bakteri simbion menggunakan media Nutrient Agar menunjukkan adanya koloni bakteri *Xenorhabdus* sp. yang berkembang pada media tersebut. Koloni bakteri simbion, selanjutnya dibiakkan dalam media cair *Yeast Salt*, dan dikocok pada shaker terus-menerus, pada suhu 25°C. Setelah diinkubasikan selama 24 jam, bakteri simbion berkembang dalam media *Yeast Salt*. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna pada media *Yeast Salt*, yang semula berwarna kuning jernih menjadi kuning keruh. Bakteri simbion tersebut siap digunakan untuk proses produksi nematoda secara *in vitro* dalam media spon.

b. Inokulasi bakteri simbion dan nematoda entomopatogen pada media spon.

Setelah bakteri simbion dan nematoda entomopatogen diinokulasikan pada media spon steril, selanjutnya diinkubasikan selama 14-21 hari. Selama masa inkubasi nematoda akan berkembang pesat dalam media tersebut. Pada saat pembiakan nematoda *Steinernema* spp. di dalam tabung *Erlenmeyer*, setelah 5 hari muncul nep membentuk jala-jala pada dinding tabung. Jala-jala tersebut adalah nematoda *Steinernema* spp. yang berkoloni, karena sifat dari nematoda *Steinernema* spp. adalah membentuk koloni. Selama masa in kubasi, kondisi lingkungan harus selalu disterilkan menggunakan alkohol 70% agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme lain.



Gambar 1. Pembiakan Massal NEP (*Steinernema* sp.)



c. Panen Nematoda entomopatogen

Setelah diinkubasikan selama 14-21 hari, nematoda dapat dipanen. Hasil panen selanjutnya dibuat suatu formulasi.



Gambar 2. Panen NEP (*Steinernema* sp.)

4.2. Teknik Formulasi, Pengemasan, Penyimpanan serta Uji Persistensi Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

a. Teknik Formulasi Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

Nematoda diformulasi dalam tiga macam media yaitu : (1) Kaolin, (2) Alginat, (3) Spon Polyurethane, masing-masing dikemas menggunakan bahan plastik klip, aluminium foil dan botol mika (Gambar 14).



Gb. 3. Formulasi NEP dalam Kaolin, Alginat dan Spon

b. Uji Persistensi Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

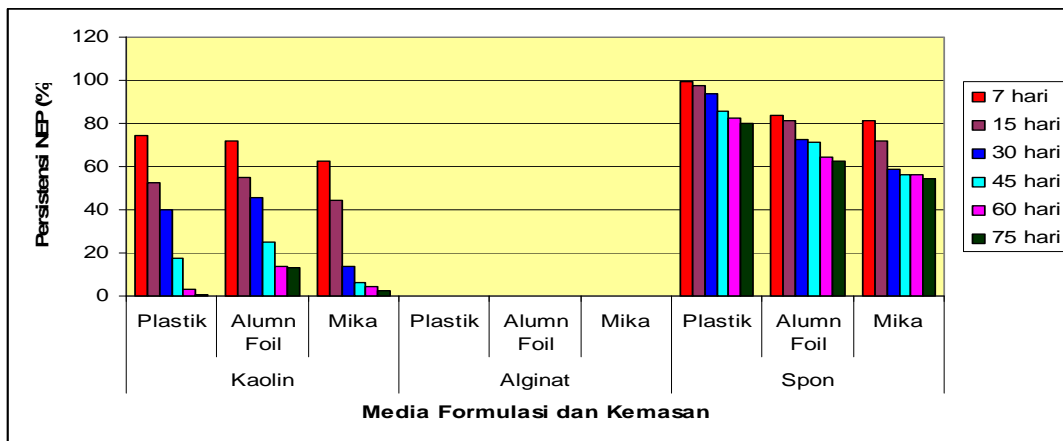
Pengamatan uji persistensi baik pada suhu 18°C maupun suhu 27°C dilakukan mulai 7 hari setelah formulasi sampai 75 hari setelah formulasi. Pada suhu 18°C (pengamatan pertama) diketahui bahwa formulasi nematoda menggunakan media Alginat, baik dengan kemasan plastik, aluminium foil maupun botol mika adalah 0 IJ (Gambar 4), artinya tidak ada satupun nematoda yang dapat hidup dalam media formulasi tersebut. Tidak bisa bertahannya nematoda di dalam media Alginat diduga disebabkan



karena media alginat sangat liat (seperti lempung), sehingga tidak terdapat pori-pori sedikitpun dalam media.

Pada media Kaolin, masih ada nematoda yang hidup sampai akhir pengamatan. Hasil uji persistensi pada pengamatan pertama (7 hari setelah formulasi) diketahui bahwa formulasi nematoda menggunakan media Kaolin, dengan kemasan plastik mempunyai tingkat persistensi lebih tinggi dibanding formulasi nep dalam kemasan aluminium foil dan mika. Akan tetapi pada pengamatan kedua sampai akhir pengamatan (75 hari setelah formulasi) Media Kaolin dengan kemasan aluminium foil lebih tahan dibanding dengan media Kaolin kemasan plastik dan botol mika. Media Kaolin merupakan media padat, akan tetapi tidak liat seperti alginat. Diduga dalam media ini masih terdapat pori-pori sehingga nematoda masih dapat bertahan hidup.

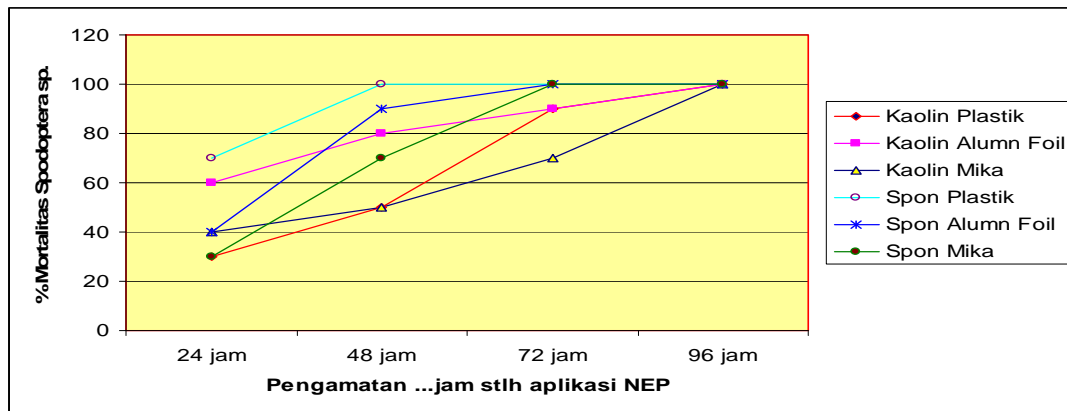
Persistensi nematoda menggunakan media Kaolin masih lebih rendah dibanding menggunakan media spon. Persistensi nematoda hasil formulasi menggunakan media spon adalah tertinggi sampai akhir pengamatan (kemasan plastik 400.220 IJ (80,01%), aluminium foil 311.520 IJ (62,3 %) dan botol mika 280.800 IJ (56,16%).



Gambar 4. Histogram Tingkat Persistensi *Steinernema* sp. pada Beberapa jenis bahan dan Kemasan pada suhu 18°C

Formulasi media spon kemasan plastik merupakan media yang memiliki kemampuan daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. yang terbaik selama 75 hari. Bedding (1984) juga melaporkan teknik penyimpanan dalam spon adalah sederhana, dimana nematoda terperangkap dalam pori-pori spon yang menyediakan cukup udara bagi nematoda. Menurut Strauch et al (2000), metode untuk penyimpanan dan formulasi infeksiif juvenile dari nematoda entomopatogen seharusnya memenuhi dua kriteria yaitu daya tahan hidup yang maksimal dan perlindungan terhadap infeksiifitas yang maksimal. Formulasi penyimpanan dalam media spon merupakan hasil yang terbaik dibandingkan dengan media penyimpanan lainnya. Tingginya daya tahan hidup nematoda dalam media spon kemasan plastik dibanding dengan media penyimpanan lainnya disebabkan karena pada kemasan plastik terdapat pori pori udara di sekitar plastik, sehingga kelembaban dalam plastik tetap terjaga. Hal tersebut kemungkinan bisa berdampak pada hidup IJ dalam formulasi, IJ membutuhkan kelembaban 72% untuk menjaga kemampuan hidupnya. Formulasi padat Alginat dan Kaolin memberikan daya tahan hidup nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. lebih rendah dibanding media spon.

4.3. Toksisitas Nematoda Entomopatogen hasil formulasi terhadap Hama Tanaman Kedelai (*Spodoptera* sp.)



Gambar 5. Grafik Tingkat Mortalitas *Spodoptera* sp. Akibat Serangan Nematoda Entomopatogen Hasil Formulasi

Grafik hubungan antara waktu pengamatan dan persentase mortalitas *Spodoptera* sp. menunjukkan bahwa semakin tinggi (bertambah) waktu/jam pengamatan, persentase mortalitas *Spodoptera* sp. semakin meningkat. Hal ini diduga disebabkan karena semakin lama, nematoda yang berada di dalam tubuh *Spodoptera* sp. semakin tumbuh dan berkembang. Apabila nematoda sudah berkembang (jumlahnya meningkat), maka kerusakan jaringan tubuh *Spodoptera* sp. akibat serangan nematoda akan semakin parah, sehingga akhirnya menyebabkan terjadinya mortalitas *Spodoptera* sp. Setelah *Spodoptera* sp. mati, maka nematoda akan mencari inang yang baru. Sebagaimana telah dikemukakan seorang peneliti bahwa nematoda *Steinernema* berada dalam tubuh hama/inang selama 10-14 hari atau sampai mati, selanjutnya nematoda keluar dari tubuh inang dan mencari inang yang baru (Anonim, 2006).

Serangga yang mati akibat serangan nematoda akan menampilkan gejala spesifik. Gejala serangan nematoda *Steinernema* spp. Isolat Tulungagung terhadap larva *Spodoptera* sp. adalah tubuh larva berubah warna menjadi kecoklatan/karamel, selanjutnya tubuh larva menjadi lunak tetapi tidak berbau busuk dan kemudian hancur, jika dibedah ditemukan nematoda *Steinernema* spp. dalam tubuh larva. Menurut Boemare *et al* (1996), gejala hama yang terinfeksi *Steinernema* spp. berwarna kecoklatan/karamel karena bakteri *Xenorhabdus* spp. yang bersimbiosis dengan nematoda *Steinernema* spp. menghasilkan enzim lekitinase, protease serta entomotoksin (eksotoksin dan endotoksin) yang mempengaruhi proses kematian pada hama. Bakteri *Xenorhabdus* spp. termasuk bakteri gram negatif, katalase negatif dan bioluminescens negatif sehingga gejala larva yang terinfeksi nematoda *Steinernema* spp. berwarna kecoklatan/karamel. Menurut Jarozs (1996) dalam Harahap (2000), tidak adanya bau busuk pada larva yang terserang nematoda *Steinernema* spp. diduga karena adanya aktifitas antibiotik yang dihasilkan bakteri *Xenorhabdus* spp. dan dapat menghambat aktifitas mikroorganisme lain.

V. KESIMPULAN

1. Formulasi nematoda entomopatogen terbaik yaitu menggunakan media spon dengan kemasan plastik dengan waktu penyimpanan 75 hari (persistensi nematoda 80,01 %).
2. Hasil uji toksisitas nematoda hasil formulasi media spon kemasan plastik dapat menyebabkan mortalitas 100 % pada 48 jam setelah aplikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bedding, R.A. (1981) Low cost *in vitro* mass production of *Neoplectana* and *Heterorhabditis* spesies (nematodes) for field control of insect pest. *Nematologica* 27 : 109-114.
- Boemare, N.E., Lanmond and Mauleon, H. (1996) The entomopathogenic nematodes *Bacterium complex*, biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology* 6 : 333-346.



SEMINAR HASIL PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT YANG DIDANAI
DP2M DIKTI, RISTEK, KKP3T, KPDT, PEMDA DAN UPNVJ TAHUN 2010

Surabaya, 15 – 16 Desember 2010

Diselenggarakan Oleh LPPM – UPN “Veteran” Jawa Timur ISBN: 978-602-98517-

2 1

- Gaugler (1993) Ecological genetic of entomopathogenic nematodes. In *Nematodes and The Biological Control of Insect Pest*. CSIRO. Australia. p.89-95.
- Georgis, R. (1992) Present and future prospect for entomopathogenic nematodes products. *Biocontrol, Science and Technology* 2 : 83-99.
- 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