

Uji Toksisitas Nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung).....(Nugrohorini) 1

UJI TOKSISITAS NEMATODA *Steinernema sp.* (ISOLAT TULUNGAGUNG) PADA HAMA TANAMAN SAWI (*Brassica juncea*) DI LABORATORIUM

Nugrohorini¹⁾

ABSTRACT

Green Mustard cabbage is one of vegetable that is needed by Indonesian people. Recently, production of green mustard cabbage (*Brassica juncea*) is decrease because of the pest (*Spodoptera litura*). The control of *Spodoptera litura* depend on using of chemical element. Negatif effect from using of synthetic chemical element is the appearance of secondary pest, the death of useful insect and there is high pesticide residue in biotic also abiotic component in agroecosystem. The residue of pesticide will disturb of human health and environment balance.

The purpose of the research are using mass production technology of entomopathogenic nematodes as a biological control agents to pest (*Spodoptera litura*), get the optimal dose of *Steinernema* sp. Isolat Tulungagung for pest control in the field, giving to farmer an alternative controle of *Spodoptera litura* which save to environment, increasing corn product, make good quality of living people.

The research do in HPT laboratory, Agriculture Faculty of Jember University. In Laboratory is done mass production of NEP and toxicity test of NEP to *Spodoptera litura*.

The result of the research is knowing that the optimal concentration of *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) to control *Spodoptera litura* is determined by LC₉₀ value = 129,24 Infective Juvenile/ml

PENDAHULUAN

Dalam pengembangan pertanian, khususnya tanaman sawi tidak terlepas dari gangguan hama. Salah satu hama yang menyerang tanaman sawi adalah *Spodoptera litura*. Akibat serangan *Spodoptera litura*, produksi sawi merosot tajam.

Selama ini, pengendalian *Spodoptera litura* sering bertumpu pada penggunaan bahan kimia. Dampak negatif dari penggunaan bahan-bahan kimia sintetis dapat menyebabkan munculnya hama-hama sekunder, musnahnya jenis-jenis yang bermanfaat, serta adanya residu pestisida yang tinggi pada komponen biotik dan abiotik dalam agroekosistem sehingga mengganggu

kesehatan manusia dan keseimbangan lingkungan.

Bertumpu pada kejadian-kejadian tersebut, maka dilakukan pengembangan cara pengendalian dengan menggunakan agens hayati yang memiliki patogenisitas tinggi terhadap inangnya. Salah satu jenis agens hayati tersebut adalah nematoda entomopatogen. Nematoda entomopatogen sangat potensial untuk mengendalikan serangga hama ordo Lepidoptera, Coleoptera dan Diptera (Chaerani, Finegan, Downes dan Griffin, 1995).

Weiser (1991) juga mengemukakan bahwa nematoda entomopatogen merupakan parasit yang potensial bagi serangga-serangga yang hidup di dalam tanah atau di atas

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan HPT, Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Jawa Timur

permukaan tanah. Kelebihan lain yaitu nematoda entomopatogen dapat membunuh inangnya dengan cepat (24 – 72 jam), mempunyai kisaran inang yang luas, tidak berbahaya bagi organisme bukan sasaran, dapat diproduksi secara masal baik dalam media *in vitro* maupun *in vivo* dengan biaya yang relatif murah, dapat diaplikasikan dengan mudah, serta kompatibel dengan agens pengendali hayati lain (Ehlers, 1996).

Pengendalian hayati di dalam konsep dasar Pengendalian Hama Terpadu (PHT) memegang peranan yang sangat penting. Nematoda entomopatogen merupakan salah satu alternatif untuk mengendalikan serangga hama *Spodoptera litura* tanpa menimbulkan dampak negatif pada lingkungan. Berkaitan dengan hal tersebut di atas, maka penerapan bioteknologi pembiakan massal nematoda entomopatogen sebagai agens pengendali hayati serangga hama *Spodoptera litura* sangatlah penting.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium. Dengan adanya suatu agens hayati dan cara pembiakan massalnya yang tepat, petani dapat dengan mudah mengaplikasikan ke lapangan sebagai alternatif pengendalian serangga hama *Spodoptera litura* pada tanaman sawi yang aman terhadap lingkungan, sehingga kesehatan manusia dan keseimbangan lingkungan selalu terjaga. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan nilai LC₉₀ nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung).

METODE PENELITIAN

A. Persiapan Penelitian

Perbanyak Nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung)

Perbanyak nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) dilakukan secara *in vivo* dalam larva serangga *Tenebrio molitor* (Poinar, 1979). Larva *Tenebrio molitor* diinokulasi nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung). Setelah larva mati, dipindahkan dalam cawan Petri dengan metode White Trap. Setelah 1-2 minggu, infektif juvenil yang dihasilkan dituang dalam Beaker Glass, selanjutnya IJs tersebut disimpan dalam tabung penyimpan pada suhu 4°C.

B. Pelaksanaan

Pengujian Tingkat Toksisitas Nematoda *Steinernema* sp.(Isolat Tulungagung)

Tingkat toksisitas ditentukan berdasarkan nilai LC₉₀. Pengujian dilakukan terhadap larva *Spodoptera litura*, masing-masing larva diletakkan dalam vial berdiameter 5 cm yang telah dilapisi kertas saring lembab (kertas saring telah ditetesi air steril 200µl), dan diberi daun sawi sebagai pakan. Larva dalam vial diaplikasi nematoda entomopatogen *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) dengan konsentrasi 50, 100, 200, 400 dan 800 IJ/ml. Pada perlakuan kontrol, larva *Spodoptera litura* diaplikasi dengan air steril. Percobaan ini menggunakan 10 ekor larva *Spodoptera litura* instar II pada masing-masing konsentrasi dan diulang sebanyak 5 kali (n=50). Persentase mortalitas larva dihitung 72 jam setelah aplikasi. Penentuan nilai LC₉₀ dilakukan dengan menghitung rerata mortalitas larva *Spodoptera litura* terlebih dahulu menggunakan rumus Abbot (1925) dan selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit (Finney, 1971).

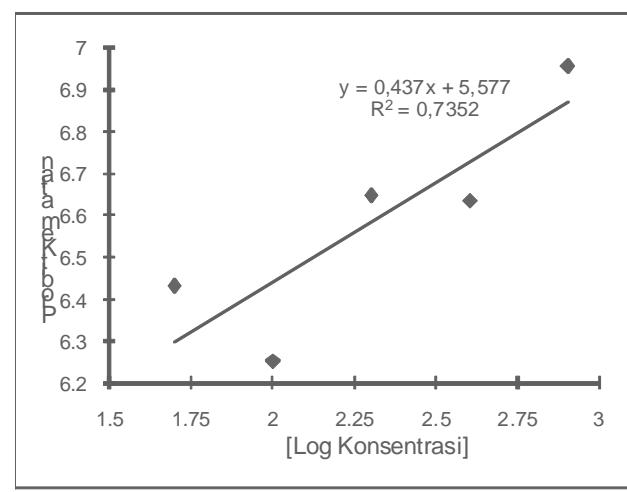
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Perbanyakan Nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung)

Hasil perbanyakan nematoda entomopatogen dengan metode White Trap diperoleh rata-rata jumlah nematoda 240 IJ/ml. Nematoda yang diperoleh disimpan dalam tabung penyimpanan pada suhu 4°C.

B. Hasil Pengujian Tingkat Toksisitas Nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung)

Hasil uji toksisitas nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung) terhadap larva *Spodoptera litura* menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kematian pada setiap peningkatan konsentrasi perlakuan.



Gambar 1. Grafik Hubungan antara konsentrasi nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung) dengan mortalitas larva *Spodoptera litura*

Hubungan antara konsentrasi nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung) yang diaplikasikan dengan kematian larva *Spodoptera litura* (Gambar 1) dapat diketahui bahwa terjadi korelasi positif antara konsentrasi nematoda (*Steinernema sp.* Isolat Tulungagung) yang diaplikasikan dengan persentase kematian larva *Spodoptera litura*. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya peningkatan kematian larva *Spodoptera litura* pada setiap peningkatan konsentrasi nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung), sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung)

yang diaplikasikan berpengaruh positif terhadap persentase kematian larva *Spodoptera litura*.

Pada saat melakukan pengamatan tampak bahwa sebelum terjadi kematian pada *Spodoptera litura* yang telah terserang nematoda *Steinernema sp.* (Isolat Tulungagung), *Spodoptera litura* mengalami perubahan perilaku menjadi hiperaktif. Hasil pengamatan penulis ini didukung oleh laporan Simoes *et al.* (1996), bahwa serangan nematoda entomopatogen menyebabkan perubahan perilaku pada serangga inang. Sebelum serangga yang terserang nematoda entomopatogen mengalami kematian,

serangga akan bergerak hiperaktif selama lebih kurang tujuh menit, kemudian akhirnya mengalami kematian.

Setelah larva *Spodoptera litura* mati (tubuhnya tidak bergerak dan kaku) akibat terinfeksi nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung), selanjutnya pada tubuh larva *Spodoptera litura* menampakkan gejala, yaitu terjadinya perubahan warna pada kutikula. Warna larva sehat yang semula coklat muda berubah menjadi coklat karamel. Gejala lain adalah struktur jaringan tubuh larva *Spodoptera litura* menjadi lunak. Meskipun demikian, bentuk tubuh larva *Spodoptera litura* tetap utuh dan tidak berbau busuk. Hasil pengamatan penulis mengenai gejala serangan nematoda *Steinernema* sp. pada tubuh serangga inang ini juga pernah dilaporkan oleh Simoes *et al.* (1996), bahwa gejala serangan yang diakibatkan oleh *Steinernema* sp. ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada kutikula serangga inang, semula kutikula berwarna coklat muda berubah menjadi coklat karamel/coklat tua, tubuh serangga menjadi lunak dan apabila dibedah jaringan tubuh menjadi cair tetapi tidak berbau busuk.

Mekanisme patogenisitas nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung) diawali dengan terjadinya penetrasi nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung) ke dalam tubuh *Spodoptera litura*, yang diduga melalui lubang-lubang alami seperti spirakel, mulut, anus dan stigma, kemudian diakhiri dengan terjadinya kematian pada *Spodoptera litura*. Dugaan bahwa terjadinya penetrasi nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung) ke dalam tubuh *Spodoptera litura* melalui lubang-lubang alami ini didukung oleh laporan Tanada dan Kaya (1993), bahwa

mekanisme patogenisitas diawali dengan nematoda yang memarasit serangga inang dengan jalan penetrasi secara langsung melalui kutikula ke dalam haemocoel serangga (hanya untuk *Heterorhabditis* spp.) atau melalui lubang-lubang alami seperti mulut, anus, spirakel dan stigma. Setelah masuk ke dalam tubuh inang, nematoda melepaskan bakteri simbion ke dalam haemolymph (Ehlers, 1996). Bakteri simbion menghasilkan enzim dan toksin yang dapat menyebabkan kematian pada serangga (Boemare *et al.*, 1996).

Untuk mempertahankan diri terhadap serangan nematoda entomopatogen, serangga mempunyai senyawa anti bakteri. Terjadinya kematian dalam penelitian ini, diduga disebabkan karena *Spodoptera litura* tidak mampu mempertahankan diri melawan serangan nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung), sehingga nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung) mampu berkembang dan bereproduksi di dalam tubuh *Spodoptera litura*, yang akhirnya menyebabkan *Spodoptera litura* mengalami kematian. Ketidakmampuan *Spodoptera litura* untuk mempertahankan diri diduga disebabkan karena senyawa anti bakteri yang terdapat di dalam tubuh *Spodoptera litura* berhasil dihancurkan oleh nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung). Dugaan bahwa terjadinya kematian disebabkan karena senyawa anti bakteri di dalam tubuh *Spodoptera litura* berhasil dihancurkan oleh nematoda *Steinernema* sp. (isolat Tulungagung) ini didukung oleh hasil penelitian Simoes dan Rosa (1996), bahwa serangga mempunyai ketahanan internal yang berupa senyawa kimia anti bakteri. Senyawa ini menyebabkan terjadinya pengkapsulan nematoda di dalam haemocoel, apabila nematoda tidak

berhasil melawan ketahanan serangga inang. Apabila nematoda berhasil menghancurkan senyawa anti bakteri yang diproduksi oleh serangga, maka nematoda akan berhasil mencapai haemocoel, dapat berkembang menjadi dewasa dan bereproduksi di dalam haemocoel. Senyawa anti bakteri akan dihancurkan oleh enzim ekstraseluler yang dilepaskan oleh nematoda bersamaan dengan saat nematoda melakukan penetrasi ke dalam haemocoel serangga.

. Penentuan nilai LC₅₀ merupakan penentuan konsentrasi optimal, dimaksudkan agar nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) efektif untuk mengendalikan larva *Spodoptera litura*. Apabila konsentrasi nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) melebihi sejumlah konsentrasi tertentu, diduga akan terjadi kompetisi dalam hal ruang dan makanan antar nematoda itu sendiri. Dugaan mengenai pengaruh penggunaan konsentrasi nematoda entomopatogen, termasuk *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung), yang melebihi batas optimal telah dilaporkan oleh Kaya dan Koppenhofer (1996), bahwa konsentrasi nematoda entomopatogen (termasuk *Steinernema* sp.) yang digunakan harus sesuai dengan batas konsentrasi optimalnya. Apabila konsentrasi yang digunakan melebihi batas optimal, maka akan menciptakan suatu kompetisi dalam hal ruang dan makanan antar nematoda entomopatogen itu sendiri. Kompetisi ini yang menyebabkan nematoda entomopatogen kurang efektif apabila diaplikasikan melebihi batas konsentrasi optimalnya.

KESIMPULAN

Konsentrasi optimal nematoda *Steinernema* sp. (Isolat Tulungagung) untuk mengendalikan serangga hama *Spodoptera litura* ditentukan dengan nilai LC₉₀ sebesar 129,24 Infektif Juvenile/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbot, W.S. (1925) A method for computing the effectivenes of an insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 18 : 265 – 267.
- 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.
- Chaerani, Finegan, M.M., Downes, M.J. dan Griffin, C.T. (1995) Pembibitan massal nematoda entomopatogen serangga *Steinernema* dan *Heterorhabditis* isolat Indonesia secara *in vitro* untuk pengendalian hama penggerek padi secara hayati. *Poster Ilmiah pada Pekan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Puspitek Serpong* 28-29 Nopember 1995. 11 p.
- Ehlers, R.U. (1996) Current and future use of nematodes in biocontrol : practice and comercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology* 6 : 303-316.
- Ehlers, R.U. (2001) Mass production of entomopathogenic nematodes for

- plant protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56 : 623-633.
- Finney, N.D. (1971) *Probit Analysis 3rd ed.* Cambridge University Press. Cambridge. England.
- Gaugler, R. and Kaya, H.K. (1990) *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control.* CRC Press. Boca Raton. Florida.
- Kaya, H.K. and Koppenhofer, A.M. (1996) Effect of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology.* 357-371.
- Poinar, G.O. (1990) Taxonomy and biology of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae.* *Entomopathogenic Nematodes in biological Control of Insect.* CRC Press. Boca Raton. Florida. P. 23-60.
- Simoes, N. and Rosa, J.S. (1996) Pathogenecity and host specificity of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6 : 403-412.
- Weiser, J. (1991) *Biological Control of Vectors Manual for Collecting, Field Determination and Handling of Biofactors for Control Vectors.* John Wiley and Sons. Chichester. England.