

PATOGENISITAS NEMATODA *Heterorhabditis* sp. TERHADAP KUMBANG DAUN KELAPA *Brontispa longissima* GESTRO

Nematode Pathogenicity of Heterorhabditis sp.
against Coconut Leaf Beetle of Brontispa longissima Gestro

WIRATNO¹⁾ dan ROHIMATUN²⁾

¹⁾ **Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan**
Jalan Tentara Pelajar No. 1 Bogor 16111

e-mail: wiratno02@yahoo.com

²⁾ **Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat,**
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
e-mail:hitoxann@yahoo.com

(Diterima Tgl. 21-11-2011 - Disetujui Tgl. 15-10-2012)

ABSTRAK

Suatu bioassay telah dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor, dari bulan November 2010 sampai dengan Maret 2011, yang bertujuan untuk mengetahui potensi *Heterorhabditis* sp. dalam mengendalikan *Brontispa longissima*. Nematoda dianpan dengan cara meletakkan larva *Tenebrio molitor* mati terinfeksi nematoda patogen serangga (NPS) di atas kertas saring yang diletakkan di dalam cawan petri berisi 30 ml air. Juvenil infektif (JI) yang ada di dalam tubuh larva akan keluar dan hidup di dalam air. Suspensi JI kemudian dilarutkan 1.000 kali lalu populasinya dihitung di bawah mikroskop binokuler dan diulang 3 kali. Populasi JI diperoleh dengan molarutkan 10 ml suspensi dengan sejumlah air sehingga diperoleh populasi 7.000, 3.500, 1.750, 875, 438, dan 0 JI/ml air. Masing-masing perlakuan diujikan pada 10 ekor larva, pupa, dan imago dengan menyemprotkan 2 ml suspensi JI. Pengamatan mortalitas *B. longissima* dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah infestasi (JSI). Hasil penelitian menunjukkan bahwa patogenisitas *Heterorhabditis* sp. tertinggi pada stadia larva diikuti imago dan pupa. Pada populasi 3.500 JI/ml air kematian larva, imago, dan pupa pada 24 JSI berturut-turut sekitar 73, 63, dan 10%, berbeda tidak nyata dengan perlakuan 7.000 JI/ml air. LC₅₀ *Heterorhabditis* sp. terhadap larva, imago, dan pupa pada 72 JSI berturut-turut 1.492, 2.622, dan 800.818 JI/ml air.

Kata kunci: *Brontispa longissima*, kelapa, *Heterorhabditis* sp., patogenisitas

ABSTRACT

In order to evaluate the potential of *Heterorhabditis* sp. in controlling *B. longissima* bioassays was conducted in Indonesian Research Institute for Spices and Medicinal Crops, Bogor from November 2010 until March 2011. Infective juveniles (JI) of the nematodes were harvested by putting dead *Tenebrio molitor* on a filter paper placed in a petri dish containing 30 ml of water. JIs in the larval body will then go out and live in the water. The suspension was then diluted 1,000 times and then population counted under a binocular microscope and repeated 3 times. JI population is obtained by dissolving 10 ml suspension to obtain 7,000; 3,500; 1,750; 875; 438; and 0 JIs/ml of water. Each treatment was tested on 10 larvae, pupae, and adults by spraying 2 ml JI suspension. Mortality observations were made at 24, 48, and 72 hours after infestation (HAI). The results showed that the highest *Heterorhabditis* sp. pathogenicity was found in larvae stadium followed by pupae and adult stadia. In the 3,500 JI population/ml of water, larvae, imago, and pupae mortalities in 24 HAI were approximately 73, 63, and 10%, respectively

and were not significantly different with 7,000 JI/ml of water. LC₅₀ values of *Heterorhabditis* sp. on the larvae, adult, and pupae in 72 HAI were 1,492; 2,622; and 800,818 JI/ml of water, respectively.

Key words: *Brontispa longissima*, *Cocos nucifera*, *Heterorhabditis* sp., pathogenicity

PENDAHULUAN

Brontispa longissima Gestro adalah salah satu hama utama tanaman kelapa. Wilayah serangannya meliputi Pulau Jawa, Maluku, Sumatera, dan Sulawesi (KALSHOVEN, 1981). Penyebaran hama ini di lapangan sangat cepat karena pengaruh musim kering, tiupan angin yang kencang, dan jarak tanam yang berdekatan atau tidak beraturan sehingga imago mudah berpindah dari satu tanaman ke tanaman lain. Jika kerusakan daun mencapai 40% (8-10 pelepas rusak) maka penurunan produksi kelapa dapat mencapai 60% (MAWIKERE dan LOLONG, 2006). Bahkan NAKAMURA *et al.* (2007) menyebutkan bahwa serangan *B. longissima* mampu menurunkan produksi hingga 30–40% per pohon dan menyebabkan kerugian US \$ 40 juta di seluruh daerah penanaman kelapa setiap tahunnya.

Melihat penyebaran *B. longissima* begitu cepat dan dampak yang ditimbulkannya cukup besar, maka kehadiran hama ini di pertanaman perlu dikendalikan. Salah satu cara pengendalian yang dapat diterapkan adalah melalui pemanfaatan musuh alami, seperti parasitoid *Tetrastichus brontispae* dan cendawan patogen serangga, seperti *Metarhizium anisopliae* (LOC *et al.*, 2004) dan *Beauveria bassiana* (HOSANG *et al.*, 1996). Parasitoid *T. brontispae* dapat menekan 10-30% larva (RETHINAM dan SINGHT, 2007; SIAHAAN dan SYAHNEN, 2010) dan 60-90% pupa (RETHINAM dan SINGHT, 2007; SIAHAAN dan SYAHNEN, 2007).

2010; HOSANG *et al.*, 2004). *M. anisopliae* diketahui dapat menginfeksi 100% larva dan 65% imago, sedangkan *B. bassiana* dapat menginfeksi larva sebesar 100% dan imago 73,75% (HOSANG *et al.*, 2004). Walaupun agensi-agensi hayati tersebut efektif menekan populasi *B. longissima*, pada kenyataannya populasi hama ini di lapangan masih sulit dikendalikan. Oleh karena itu, untuk meningkatkan efektifitas pengendalian perlu dikaji musuh alami lain yang mudah dibiakkan dan efektif menekan keberadaan *B. longissima* di pertanaman. Salah satu agensi hayati yang menjanjikan adalah Nematoda Patogen Serangga (NPS). SHAPIRO-ILAN *et al.* (2002), NGUYEN *et al.* (2003), dan KAO (2007) menyatakan bahwa NPS efektif sebagai agensi hayati dalam menekan populasi hama.

NPS berpotensi digunakan untuk mengendalikan hama pertanian karena dapat secara aktif mencari inang sasarnya dan memiliki tingkat virulensi tinggi. Dengan demikian, agensi ini dapat digunakan untuk mengendalikan hama-hama yang berada dalam jaringan tanaman, seperti hama pengorok daun (*leafminer*) dan penggerek batang (*stemborer*), serta hama yang tersebunyi di antara lipatan daun, seperti *B. longissima*. Selain itu, NPS mudah dijumpai pada serangga-serangga yang berada di tanah (GRIFFIN *et al.*, 2005), mudah dibiakkan pada media buatan, mudah diaplikasikan, dan aman terhadap lingkungan sehingga dapat menekan dampak negatif penggunaan pestisida sintetik (KAYA dan GAUGLER, 1993).

Salah satu NPS potensial adalah nematoda *Heterorhabditis* sp. Kisaran inang *Heterorhabditis* sp. cukup luas, meliputi ordo Coleoptera, Lepidoptera, dan Dyctyotera (POINAR, 1990). Hasil-hasil penelitian sebelumnya membuktikan bahwa NPS ini efektif mengendalikan beberapa spesies hama, seperti *Cnaphalocrosis medianalis* (SANKAR *et al.*, 2009a), *Galleria melonella* (SANKAR *et al.*, 2009b), dan *Scirphophaga innonata* (SURYADI *et al.*, 2008; CHAERANI dan NURBAETI, 2006). Di tingkat laboratorium, *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan mampu menyebabkan mortalitas larva instar dua sebesar 100% dan 38% larva instar tiga kumbang *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae) (LEE *et al.*, 2002). Sementara itu, NPS *Heterorhabditis* sp. dengan kerapatan JI 1.500 ml/l dapat mengendalikan larva penggerek batang lada *Lophobaris piperis* Marsh (Coleoptera: Curculionidae) sebesar 61,24% (INDRIATI dan TRISAWA, 2011).

Heterorhabditis sp. hidup bersimbiose mutualisme dengan bakteri gram negatif dari famili Enterobacteriaceae dan membawa satu spesies bakteri simbion bernama *Photorhabdus luminescens*, bakteri simbion yang hidup di dalam saluran pencernaan nematoda dalam kondisi dorman. Penetrasi nematoda ke dalam *hemocoel* serangga dilakukan pada stadia infektif, yaitu *Juvenile Infective* (JI), melalui mulut, anus, spirakel, atau langsung menembus kutikula (POINAR, 1990). Bakteri simbion tersebut akan aktif dan berkembang biak pesat setelah nematoda menginfeksi tubuh inangnya. Setelah mencapai *hemocoel* dalam satu

jam, *Heterorhabditis* sp. mengaktifkan sistem pencernaannya dan melepaskan sel-sel bakteri simbion yang dibawanya kemudian berkembang biak dalam hemolimfa serangga sambil memproduksi racun untuk melawan sistem kekebalan tubuh inangnya (CHAERANI *et al.*, 2001). Racun yang dihasilkan oleh bakteri tersebut berupa TccC3 dan TccC5 (bentuk dari *adenosine diphosphate/ADP-ribosyltransferase*) (LANG *et al.*, 2010). Produksi racun-racun tersebut diatur oleh beberapa gen kompleks, yaitu *tea*, *tcb*, *tcc*, dan *tcd* (BOWEN *et al.*, 1998). Dalam tujuh jam jaringan tubuh serangga mulai terdisintegrasi dan melemah hingga mengalami kematian setelah 24-48 jam (POINAR, 1990; CHAERANI *et al.*, 2001).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenitas *Heterorhabditis* sp. terhadap stadia larva, pupa, dan imago *B. longissima* sehingga dapat dipergunakan sebagai acuan untuk pengendalian di lapang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan November 2010 sampai dengan Maret 2011 di Laboratorium Hama, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitetro), Bogor. *B. longissima* diperoleh dari pertanaman kelapa di Kebun Percobaan Sukamulya, Sukabumi. *Heterorhabditis* sp. berasal dari Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri) yang dibiakkan pada ulat hongkong (*Tenebrio molitor*) hasil perbanyakan massal di Laboratorium Hama, Balittri, Sukabumi. Rata-rata temperatur dan kelembapan udara pada pukul 08.00 sekitar 19°C dan 85% sedangkan pada pukul 13.00 sekitar 30°C dan 50%.

B. longissima dipelihara di dalam kotak plastik berukuran 20 x 15 x 15 cm³ dan diberi pakan daun kelapa yang masih muda yang diganti setiap 2 hari. Sisa-sisa daun kelapa yang diduga mengandung telur serangga dimasukkan ke dalam kotak pemeliharaan terpisah. Larva instar III, pupa, dan imago yang berumur sekitar 1 minggu dipergunakan sebagai bahan penelitian.

Fase JI diperoleh dengan cara meletakkan larva *T. molitor* mati yang telah terinfeksi *Heterorhabditis* sp. di atas kertas saring yang diletakkan di dalam cawan petri berisi 30 ml air. Larva *T. molitor* dibiarkan selama 24 jam agar JI *Heterorhabditis* sp. yang ada di dalam tubuh larva keluar dan hidup di dalam air. Air tersebut selanjutnya ditampung di dalam botol kaca kemudian diencerkan 1.000 kali dengan air mineral. Suspensi tersebut diambil sebanyak 500 µl kemudian dimasukkan ke dalam 12 well plates dan populasi JI dihitung menggunakan mikroskop binokuler. Prosedur dan penghitungan populasi JI diulang tiga kali. Populasi uji untuk perlakuan diperoleh dengan mengencerkan suspensi JI dengan sejumlah air sehingga diperoleh kepadatan populasi 7.000, 3.500, 1.750, 875, 438, dan 0 JI/ml air. Penelitian menggunakan Rancangan Acak

Lengkap dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Masing-masing perlakuan diujikan secara terpisah terhadap 10 ekor larva, pupa, dan imago *B. longissima* dalam cawan petri berdiameter 9 cm yang diberi alas kertas saring Whatman No.1. Pada cawan petri, larva dan imago *B. longissima* diberi potongan daun kelapa segar sepanjang 5 cm dan diganti setiap pagi hari.

Perlakuan dilaksanakan dengan menyemprotkan 2 ml suspensi JI menggunakan *hand sprayer* ke tubuh serangga uji. Pengamatan kematian serangga uji dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah infestasi (JSI). Besarnya LC₅₀ dihitung menggunakan program STARTM. Sidik ragam kematian larva, pupa, dan imago *B. longissima* dianalisis dengan program SPSS 11,5 selang kepercayaan 95%. Apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilakukan pengujian lanjutan dengan Uji Duncan/Duncan Multiple Range Test (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa kematian larva, pupa, dan imago *B. longissima* setelah aplikasi semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu pempararan dan populasi JI *Heterorhabditis* sp. Kematian larva, pupa, dan imago dicirikan dengan berubahnya warna tubuh dari kecoklatan menjadi agak kehitam-hitaman dan tidak merespon apabila disentuh. Patogenisitas NPS tertinggi dijumpai pada stadia larva diikuti imago dan pupa. Selama penelitian dilaksanakan tidak terjadi kematian serangga pada perlakuan kontrol.

Kematian larva *B. longissima* pada pengamatan 24 dan 48 JSI masih rendah, tetapi secara visual larva sudah menunjukkan gejala terinfeksi, yaitu pergerakannya sangat lemah apabila disentuh. Pada pengamatan 72 JSI, tingkat kematian larva pada perlakuan 3.500 JI/ml air meningkat sebesar 70% dari pengamatan 48 JSI. Rata-rata kematian larva pada perlakuan 7.000 JI/ml air berbeda tidak nyata dengan perlakuan 3.500 JI/ml air meskipun mengalami

peningkatan kematian sebesar 80% dari pengamatan 48 JSI. Kematian pupa *B. longissima* pada perlakuan 7.000 JI/ml air pada 72 JSI sangat rendah dibandingkan stadia larva dan imago, yaitu hanya mencapai 16,7%. Kematian imago *B. longissima* sudah terjadi pada pengamatan 24 JSI yaitu berkisar antara 3,33 sampai dengan 6,67% dan meningkat pada periode-periode pengamatan berikutnya. Pada 72 JSI tingkat kematian imago pada kepadatan 3.500 JI/ml air lebih tinggi 6,66% dan berbeda tidak nyata dengan perlakuan tingkat kepadatan 7.000 JI/ml air (Tabel 1).

Dalam mengenali dan menemukan inangnya, NPS menggunakan tanda-tanda biokimia yang dikeluarkan oleh inangnya, seperti CO₂, feses, amoniak, asam urik, dan asam organik. Pada stadia pupa, bahan-bahan kimia tersebut sangat kecil bahkan tidak dihasilkan sehingga tidak dapat dideteksi oleh NPS dan menyebabkan rendahnya kematian pada stadia ini. Dengan demikian, tingkat patogenisitasnya pun menjadi rendah. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi mortalitas serangga uji adalah cara NPS menyerang. NPS menyerang serangga secara enzimatis, yaitu menghasilkan enzim proteolitik yang mampu mendegradasi struktur kutikula inangnya. Kutikula pada stadia pupa relatif lebih keras daripada stadia larva dan imago (KOPPENHOFER dan KAYA, 2002). Dengan demikian, pada stadia pupa tingkat patogenisitas NPS menjadi rendah.

Patogenisitas nematoda *Heterorhabditis* sp. terhadap *B. longissima* ternyata relatif lebih rendah daripada patogenisitas terhadap *G. mellonella* dan *C. medinalis* tetapi lebih tinggi dari *S. innonata*. Nematoda ini efektif mampu membunuh 100% larva *G. mellonella* (SANKAR *et al.*, 2009b) dan 60% larva *C. medinalis* pada kepadatan 20.000 JI/ml air (SURYADI *et al.*, 2008). Akan tetapi, pada tingkat kepadatan populasi 3.500 JI/ml air (5,7 kali lebih rendah dari kepadatan populasi 20.000 JI/ml air) JI *Heterorhabditis* sp. sudah mampu menyebabkan kematian lebih dari 60% larva *B. longissima*. Hal ini menunjukkan bahwa patogenisitas NPS sangat bergantung pada kepadatan populasinya. Lebih lanjut, menurut AKHURST dan DUNPHY (1993), perbedaan tingkat patogenisitas NPS juga dikarenakan efektivitas bakteri dalam membunuh serangga yang

Tabel 1. Rata-rata kematian (%) larva, pupa, dan imago *B. longissima* pada 6 tingkat kepadatan populasi JI pada 24, 48, dan 72 jam setelah infestasi
Table 1. Average mortality (%) of larvae, pupae, and adult of *B. longissima* treated by six JI population densities at 24, 48, and 72 hours after infestation

Kepadatan nematoda (JI/ml air) Nematodes density (JI/ml water)	Jam setelah infestasi (JSI) Hours after infestation (HAI)									
	Larva Larvae			Pupa Pupae			Imago Adult			
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	
7.000	0,00 a	0,00 a	80,00 a	0,00 a	0,00 a	16,67 a	3,33 a	23,3 a	56,67 a	
3.500	0,00 a	3,33 a	73,33 a	0,00 a	0,00 a	10,00 ab	0,00 a	10,0 ab	63,33 a	
1.750	0,00 a	0,00 a	46,67 ab	0,00 a	0,00 a	10,00 ab	3,33 a	13,3 ab	40,00 b	
875	0,00 a	0,00 a	30,00 bc	0,00 a	0,00 a	10,00 ab	6,67 a	13,3 ab	40,00 b	
438	0,00 a	0,00 a	33,33 bc	0,00 a	0,00 a	3,33 b	0,00 a	3,33 b	26,67 b	
0	0,00 a	0,00 a	0,00 c	0,00 a	0,00 a	0,00 b	0,00 a	0,00 b	0,00 c	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5%
Note : Numbers followed by the same letters in the same columns are not significantly different at 5% DMRT

bergantung pada spesies, tingkat kekebalan, fisiologi serangga inang, dan spesies bakteri yang bersimbiose pada NPS tersebut. DADANG dan PRIJONO (2008) juga menjelaskan bahwa perbedaan kepekaan antar spesies serangga terhadap senyawa bioaktif tertentu, dalam penelitian ini adalah racun yang dikeluarkan bakteri simbion, dapat disebabkan oleh perbedaan sifat sistem penghalang masuknya senyawa tersebut ke dalam tubuh serangga (misalnya perbedaan ketebalan kutikula), ketahanan bagian sasaran, atau kemampuan metabolismik serangga dalam menguraikan atau menyingkirkan bahan racun dari dalam tubuhnya.

Perbedaan kepekaan terhadap senyawa bioaktif di antara stadia perkembangan yang berbeda dalam daur hidup serangga (antara telur, larva, pupa, dan imago) dapat dikaitkan dengan perubahan anatomi, fisiologi, dan ukuran serangga yang terjadi selama perkembangan serangga tersebut. Perbedaan kepekaan di antara serangga pradewasa dan dewasa lebih mungkin terjadi pada serangga yang mengalami metamorfosis sempurna (holometabola) daripada yang mengalami metamorfosis bertahap (paurometabola). Hal ini disebabkan karena bentuk serangga dewasa pada serangga paurometabola tidak jauh berbeda dengan nimfa instar akhir (DADANG dan PRIJONO, 2008).

Perbedaan kepekaan terhadap senyawa bioaktif di antara serangga pradewasa dengan umur yang berlainan kemungkinan disebabkan oleh pertumbuhan dan perubahan yang berkaitan dengan proses ganti kulit. Pada stadia yang tidak aktif (telur atau pupa), reorganisasi anatomi dan perubahan dalam metabolisme merupakan faktor penting yang mempengaruhi pengujian. Sementara itu, kepekaan serangga dewasa terhadap senyawa bioaktif dipengaruhi oleh perubahan cara makan, kematangan seksual, dan proses penuaan (DADANG dan PRIJONO, 2008).

Persamaan regresi probit *Heterorhabditis* sp. terhadap larva *B. longissima* pada 72 JSI adalah $y = 1,2013x + 1,1878$ dengan nilai LC₅₀ yang dihasilkan 1.492 JI/ml. Persamaan regresi probit *Heterorhabditis* sp. terhadap pupa *B. longissima* pada 72 JSI adalah $y = 0,4860x + 2,1312$ dengan nilai LC₅₀ yang dihasilkan 800.818 JI/ml. Sedangkan persamaan regresi probit *Heterorhabditis* sp. terhadap imago *B. longissima* pada 72 JSI adalah $y = 0,7104x + 2,5714$ dengan nilai LC₅₀ yang dihasilkan 2.622 JI/ml. Dari semua persamaan regresi probit, koefisien x menunjukkan nilai positif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi perlakuan, semakin tinggi pula kematian serangga uji (Tabel 2).

Semakin kecil nilai LC suatu pestisida menunjukkan semakin beracun pestisida tersebut (SINGGIH *et al.*, 2006). Berdasarkan nilai LC₅₀ di atas, efektifitas *Heterorhabditis* sp. tertinggi untuk mengendalikan *B. longissima* terdapat pada stadia larva, diikuti imago dan pupa. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC₅₀ *Heterorhabditis* sp. yang lebih

rendah daripada imago dan pupa. Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil pengendalian yang efektif dan efisien penggunaan NPS *Heterorhabditis* sp. dilakukan pada awal serangan yaitu ketika hama masih berada pada stadia larva. Jika pengendalian *B. longissima* dilakukan pada stadia imago dan pupa, masing-masing membutuhkan konsentrasi JI sebanyak 1,76 dan 536,74 kali lipat dibanding pengendalian pada stadia larva.

Tabel 2. Nilai LC₅₀ *Heterorhabditis* sp. terhadap *B. longissima* pada 72 JSI

Table 2. LC₅₀ values of *Heterorhabditis* sp. against *B. longissima* at 72 HAI

Stadia serangga Insect stages	log LC ₅₀ log of LC ₅₀	LC ₅₀ (JI/ml air) LC ₅₀ (JI/ml water)	Persamaan regresi probit Equation of probit Regression
Larva Larvae	3,17	1.492	$y = 1,2013x + 1,1878$
Pupa Pupae	5,90	800.818	$y = 0,4860x + 2,1312$
Imago Adult	3,42	2.622	$y = 0,7104x + 2,5714$

Keterangan : y = kematian probit, x = log konsentrasi, JI = Juvenil Infektif

Note : y = probit mortality, x = log concentration, JI = Infective juvenile

KESIMPULAN

Nematoda parasit serangga, *Heterorhabditis* sp., efektif digunakan untuk mengendalikan hama pemakan daun kelapa *B. longissima*, khususnya pada stadia larva dan imago. Patogenitas *Heterorhabditis* sp. tertinggi terdapat pada stadium larva, diikuti stadia imago dan pupa dengan nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 1.491, 2.622, dan 800.818 JI/ml air. Semakin tinggi kepadatan nematoda yang diaplikasikan maka tingkat keberhasilan pengendalian semakin tinggi. Kepadatan optimal nematoda untuk mengendalikan *B. longissima* adalah 3.500 JI/ ml air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Saudara Abdul Rojak yang telah membantu pelaksanaan penelitian sehingga kegiatan dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- AKHURST, R.J. and G. DUNPHY. 1993. Tripartite interactions between symbiotically associated entomopathogenic bacteria, nematodes, and their insect hosts. Pp. 1-23. In N. Beckage, S. Thompson, and B. Federici (Eds.). Parasites and Pathogens of Insects Vol 2. Academic Press. New York.
 BOWEN, D., T.A. ROCHELEAU, M. BLACKBURN, O.L. ANDREEV, E. GOLUBEVA, R. BHARTIA, and R.H. FFRENCH-

- CONSTANT. 1998. Insecticidal toxins from the bacterium *Photobacterium luminosus*. Science. Vol. 280: 2129-2132. www.sciencemag.org. (26 Maret 2012).
- CHAERANI, J., HARJOSUDARMO, M.A. SUHENDAR, dan D. KOSWANUDIN. 2001. Produksi masal dan formulasi nematoda patogen serangga *Steinernema* dan *Heterorhabditis* untuk pengendalian penggerek batang padi. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. Hlm. 217-227.
- CHAERANI dan B. NURBAETI. 2006. Efektivitas nematoda patogenik serangga (Rhabditida: *Steinernema* dan *Heterorhabditis*) terhadap penggerek batang padi putih (*Scirpophaga innotata*). J. Perlind. Tanaman Indonesia. (12)2: 92-103.
- DADANG dan D. PRIJONO. 2008. Insektisida Nabati: Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan. Departemen Proteksi Tanaman. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 163 hlm.
- GRIFFIN, C.T., N.E. BOEMARENE, and E.E. LEWIS. 2005. Biology and behavior. In Grewal, P.S., R.U. Ehlers, and D.I. Shapiro-Ilan (Eds.). Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing. Wallingford. UK. pp. 47-59.
- HOSANG, M.L.A., S. SABBATOELLAH, F. TUMEWAN, dan J.C. ALOUW. 1996. Musuh alami hama *Brontispa longissima* Gestro. Prosiding Seminar Regional Hasil-hasil Penelitian Kelapa dan Palma Lain. Manado, 19-20 Maret 1996. Buku I. Hlm. 30-39.
- HOSANG, M.L.A., J.C. ALOUW, dan H. NOVARIANTO. 2004. Biological control of *Brontispa longissima* (Gestro) in Indonesia. Report of the Expert Consultation on Coconut Beetle Outbreak in APPPC Member Countries. <http://www.fao.org/docrep/007/ad522e/ad522e08.htm> (11 Juni 2012).
- INDRIATI, G. dan I.M. TRISAWA. 2011. Nematoda patogen serangga *Heterorhabditis* sp. untuk mengendalikan hama penggerek batang lada. Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri. 2(3):291-296.
- KAO, S-S. 2007. Current status of bio-pesticide development, farmer's acceptance and utilization, and future Perspective in Taiwan. http://www.fttc.agnet.org/htmlarea_file/library/20110712072918/eb599.pdf. (22 September 2012).
- KALSHOVEN, L.G.E. 1981. Pest of Crops in Indonesia. Revised and translated by P.A. Van Der Laan and G.H.L. Rothschild. PT. Ichthiar Baru – Van Hoeve. Jakarta. 701 pp.
- KAYA, H.K. and R. GAUGLER. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology. 38: 181–206.
- KOPPENHOFER, A.M. and H.K. KAA. 2002. Microbial Biopesticides: Entomopathogenic Nematodes and Insect Pest Management. T.J. Internastional Ltd. London. pp. 277-300
- LANG, A.E., G. SCHMIDT, A. SCHLOSSER, T.D. HEY, I.M. LARRINUA, J.J. SHEET, H.G. MANNHERZ, and K. AKTORIES. 2010. *Photobacterium luminescens* toxins ADP-Ribosylate actin and RhoA to force actin clustering. Science. Vol. 327: 1139-1142. www.sciencemag.org. (26 Maret 2012).
- LEE, D.W., H.Y. CHOO, H.K. KAYA, S.M. LEE, D.R. SMITLEY, H.K. SHIN, and C.G. PARK. 2002. Laboratory and field evaluation of Korean entomopathogenic nematode isolates against the oriental beetle *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). J. of Economic Entomology. 95(5): 918-926.
- LOC, N.T., V.T.B. CHI, N.T. NHAN, N.D. THANH, T.T.B. HONG, and P.Q. HUNG. 2004. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* against coconut beetle, *Brontispa longissima*. Omonrice. 12: 85-91
- MAWIKERE, J. dan A.A. LOLONG. 2006. Serangan hama kelapa (*Brontispa longissima*) di Kabupaten Parigi Moutong, Sulawesi Tengah. WARTA Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. (12)2: 16-18.
- NAKAMURA, S., K. KONISHI, and K. TAKASU. 2007. Invasion of the coconut hispine beetle, *Brontispa longissima*: Current situation and control measures in Southeast Asia. Proceedings of International Symposium for Invasive Alien Species in Monsoon Asia. pp. 1-7. [Http://www.agnet.org/activities/sw/2006/589543823/paper-899851121.pdf](http://www.agnet.org/activities/sw/2006/589543823/paper-899851121.pdf). (27 Mei 2012).
- NGUYEN, K.B., A.P. MALAN, and U. GOZEL. 2003 *Steinernema khoisanae* sp. (Rhabditida: Steinernematidae) a new entomopathogenic nematode from South Africa. Nematology. 8: 157–175.
- POINAR, G.O. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In Gaugler, R. and H.R. Kaya (Eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press. Boca Raton. pp. 23-61.
- RETHINAM, P. and S.P. SINGHT. 2007. Current Status of Coconut Beetle Outbreaks in The Asia-Pasific Region. Asian and Pasific Coconut Community (APCC). Jakarta. <http://www.fao.org>. (8 Juni 2012).
- SANKAR, M., J.S. PRASAD, A.P. PADMAKUMARI, G. KATTI, and K. DIVYA. 2009a. Combined application of two entomo-pathogenic nematodes, *Heterorhabditis indica* and *Steinernema asiaticum* to control the rice leaf folder, *Cnaphalocrosis medialis* (Goen.). Journal of Biopesticides. (2)2: 135-140.
- SANKAR, M., V. SETHURAMAN, M. PALANIYANDI, dan J.S. PRASAD. 2009b. Entomopathogenic nematoda *Heterorhabditis indica* and its compatibility with other biopesticides on the greater wax moth *Galleria*

- mellonella (L.). Indian Journal of Science and Technology. 2(1): 57-62.
- SHAPIRO-ILAN, D.I., D.H. GOUGE, and A.M. KOPPENHÖFER. 2002. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf, and citrus. In Gaugler, R. (Ed.). Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing. New York. USA. pp. 333-356.
- SIAHAAN, I.R.T.U. dan SYAHNEN. 2010. Uji coba pengendalian hama *Brontispa longissima* dengan melepaskan *Tetrastichus brontispae* (parasitoid larva dan pupa). www.ditjenbun.deptan.go.id. (8 Juni 2012).
- SINGGIH, H.S., F.X. KOESHARTO, U.K. HADI, J. GUNANDINI, S. SOVIANA, I.A. WIRAWAN, M. CHALIDAPUTRA, M. RIVAI, S. PRIYAMBODO, S. YUSUF, dan S. UTOMO. 2006. Hama pemukiman Indonesia: Pengenalan, biologis, dan pengendalian. Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. 478 hlm.
- SURYADI, Y., T.P. PRIyatno, dan I M. SAMUDRA. 2008. Deteksi bakteri simbion-nematoda entomopatogen *Photorhabdus luminescens* penghasil toksin dengan antibodi poliklonal. Berkala Ilmiah Biologi. 1(7): 33 -41.