

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biologi Nematoda Entomopatogen Heterorhabditis

Nematoda dari famili Heterorhabtidae merupakan salah satu dari sekian banyak nematoda yang telah dipelajari untuk digunakan sebagai agen pengendali hama. Nematoda ini mempunyai reseptor kimiawi terhadap inang yang tinggi dan bersifat motil, sedangkan sifat yang mendukung nematoda ini sebagai patogen adalah daya virulensinya yang tinggi dan dapat membunuh inangnya dengan cepat. Nematoda famili Heterorhabtidae tersebut berasosiasi secara mutualistik dengan bakteri genus *Xenorhabdus* (Kaya and Gaugler, 1993). Bakteri ini bersifat patogen dan bakteri inilah yang sebenarnya dapat membunuh serangga inang dalam waktu 24 - 48 jam, sedangkan nematoda berperan sebagai vektornya.

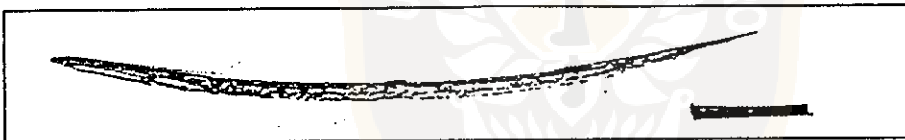
2.1.1 Morfologi dan Anatomi Nematoda Entomopatogen Heterorhabditis

Nematoda Heterorhabditis dewasa bersifat hermaphrodit dan amfimiktik dan populasinya di alam hanya ditemukan pada bangkai serangga yang terinfeksi. Nematoda ini tidak mempunyai *stylet* (alat pengkait). Bagian posteriornya ("kepala") berbentuk kerucut. Mempunyai 6 bibir pada mulutnya. *Nerve ring* atau cincin syaraf terlihat jelas di dekat pertengahan *isthmus* pada betina dan pada *basal bulb* pada jantan.

Pada betina dewasa (betina hermaphrodit) terdapat vulva *amphidelphic* yang terletak di bagian tengah tubuh. Pada pengamatan dengan mikroskop ovarium terlihat dengan jelas di dekat mulut vulva tersebut. Betina dewasa ini

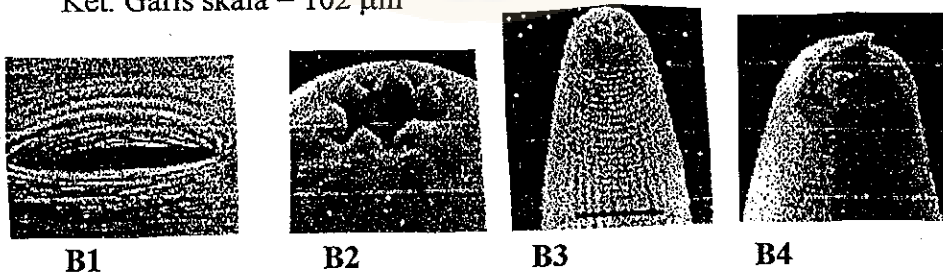
bersifat ovipar yang kemudian menjadi ovovivipar ketika semakin tua. Betina hermafrodit mempunyai sperma pada bagian proximal oviduct, vulva tidak berfungsi untuk bertelur, hanya berfungsi untuk proses *mating* atau kawini. Perkawinan hanya dapat dilakukan dengan *copious deposit* atau *plug* (alat kopulasi). Nematoda ini juga mempunyai ekor dan pada bagian posteriornya terdapat kelenjar anus.

Juvenil infeksi mempunyai mulut dan anus tertutup. *Farink* dan *intestinum* dari juvenil infeksi rusak atau tersamar. Saluran ekskresi terletak pada bagian *anterior* dari sel syaraf. Pada saluran pencernaan yaitu di dalam lumen ditemukan adanya sel bakteri, yaitu bakteri *Xenorhabdus* sp.. Juvenil infeksi mempunyai ekor yang tegak. Juvenil infeksi selalu berkembang menjadi nematoda betina hermaphrodit (Kaya and Gaugler, 1990).



Gambar 1. Morfologi Juvenil Infektif *Heterorhabditis* sp. (Gaugler and Kaya, 1990)

Ket. Garis skala = 102 μ m



Gambar 2. Morfologi bagian posterior dan anterior *Heterorhabditis* sp.
Ket. B1 = Posterior nematoda dewasa B3 = Posterior JI nematoda
B2 = Anterior nematoda dewasa B4 = Anterior JI nematoda

2.1.2 Sistematika Nematoda Entomopatogen Heterorhabditis

Sistematika nematoda Heterorhabditis dalam Kaya and Woodring (1998) adalah sebagai berikut:

Filum: Nematoda

Kelas: Secernentea

Ordo: Rhabditida

Subordo: Rhabditina

Superfamilia: Rhabditoidea

Familia: Heterorhabditidae

Genus: Heterorhabditis

Species: *Heterorhabditis* sp.

Menurut Kaya dan Gaugler (1993) genus Heterorhabditis mempunyai tiga species yaitu: *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. heliothidis* dan *H. zealandica*, kemudian di dalam Nguyen dan Grover (1998) disamping ketiga jenis tersebut ada 4 jenis lagi berdasarkan ukuran tubuhnya, yaitu: *Heterorhabditis megidis*, *H. argentinensis*, *H. marelata*, dan *H. hawaiiensis*.

2.1.3 Siklus Hidup

Siklus hidup Nematoda Entomopatogen Heterorhabditis pada keadaan normal meliputi fase embrio, empat fase juvenil ((J)-1, J-2, J-3, J-4) dan fase dewasa. Jika berada pada keadaan kekurangan makanan atau lingkungan buruk maka nematoda akan menjadi fase Juvenil Infektif (J-3 atau JI). Fase juvenil infektif disamping mampu bertahan pada kondisi lingkungan eksternal yang buruk juga mampu bertahan hidup untuk waktu yang lama didalam tanah. Pada waktu

keadaan lingkungan menjadi normal atau menemukan inang yang cocok fase juvenil infeksi ini kemudian berubah menjadi fase juvenil ke-empat kembali (Cranshaw and Zimmermann, 1999).

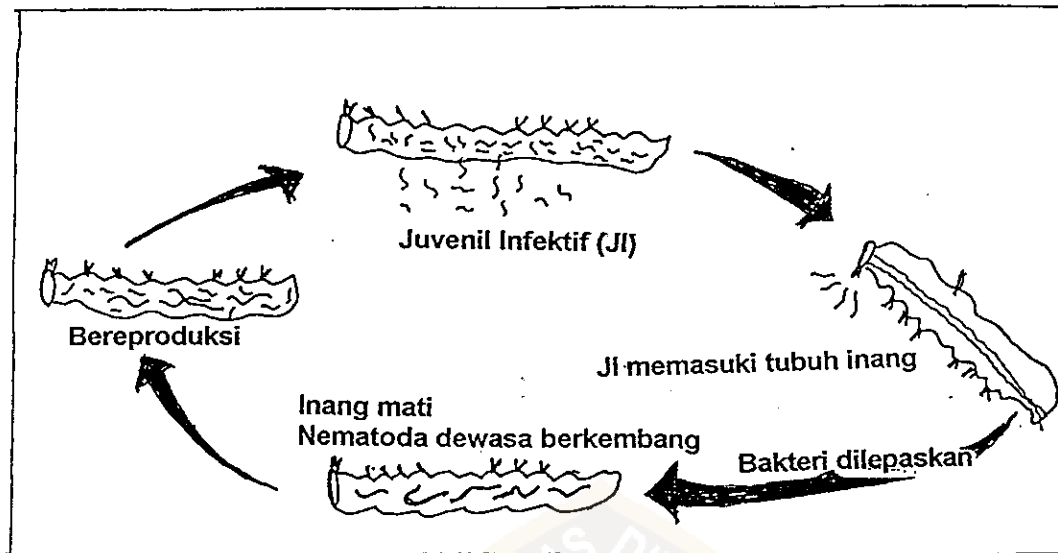
Tahap-tahap dari nematoda dalam menginfeksi inangnya adalah sebagai berikut : Tahap pertama Juvenil Infektif (JI) Heterorhabditis masuk ke dalam tubuh inang melalui mulut serangga inang, kemudian masuk ke dalam tembolok dan usus tengah inang menuju saluran pencernaan. Tahap kedua, kemudian menembus dinding usus. Setelah kurang lebih 11 jam dari nematoda tersebut menginfeksi serangga nematoda tersebut dapat ditemukan pada *hemocoel* serangga. Pada bagian *hemocoel* ini JI mulai melepaskan bakteri *Xenorhabdus* yang sebelumnya terdapat pada bagian lumen intestinumnya. Bakteri dilepaskan melalui bagian anteriornya. Pada bagian *hemocoel* inang, bakteri mulai berkembang secara cepat dengan menggunakan *hemocoel* inang sebagai sumber energinya. Hal tersebut mengakibatkan populasi bakteri pada tubuh serangga inang menjadi banyak sehingga kebutuhan makan dari nematoda dapat terpenuhi dan dapat melanjutkan fase hidup berikutnya.

Didalam *hemocoel* yang sudah tersedia makanan berupa bakteri dan sisa-sisa metabolisme bakteri tersebut, fase JI mengalami perubahan menjadi bentuk fase parasit juvenil (J4), tubuh dari nematoda menjadi membesar, farink bulbus mulai melebar, dan saluran pencernaan menjadi terbuka. Tahap ketiga dan tahap keempat nematoda kemudian memasuki badan lemak bagian esofagus, dan kira-kira 18 jam setelah masuk kedalam usus nematoda ini ditemukan didalam *silk glands* dan serabut-serabut otot (Weiser, 1991).

Inang secara keseluruhan mati kira-kira 24 jam setelah masuknya nematoda-nematoda ke dalam saluran pencernaan. Nematoda masih terus berkembang dari fase ke fase menuju generasi pertama dewasa didalam inang. Nematoda tersebut tumbuh dan berkembang menjadi dewasa, kemudian hidup berpasangan antar individu dewasa, dan betina hermaphrodit mulai menghasilkan telur, kemudian telur-telur tersebut ditetaskan didalam tubuh individu betina. Telur akan menetas menjadi juvenil yang berkembang menjadi generasi kedua dewasa didalam tubuh inang. Seiring dengan perkembangan nematoda di dalam tubuh inang, *hemocoel* dari tubuh inang akan terus berkurang sampai habis, sehingga pada pengamatan dengan mikroskop tubuh serangga inang hanya berisi kumpulan nematoda yang terus mengadakan aktifitas (yaitu bergerak dan makan) Setelah perkawinan, generasi kedua dewasa didalam inang ini bertelur dan menjadi juvenil semuanya dalam bentuk fase infeksi. Fase infeksi ini terbentuk pada kondisi dimana pada tubuh serangga inang sudah tidak tersedia lagi makanan bagi nematoda. Juvenil infeksi dapat bertahan hidup untuk waktu yang lama dalam kondisi kekurangan makanan tanpa adanya inang baru, sampai pada suatu saat juvenil infeksi akan bermigrasi guna memperoleh inang yang baru (Poinar dan Leutenegger, 1968).

Menurut Weiser (1966) dan Tringgiani and Poinar (1976) juvenil infeksi nematoda entomopatogen dapat masuk kedalam rongga tubuh beberapa serangga melalui spirakel dan trakea. Juvenil infeksi secara umum memasuki tubuh inangnya melalui pembukaan tubuh alami inang seperti: mulut, anus atau spirakel (Poinar, 1990 dalam Gaugler dan Kaya, 1990). Lebih lanjut dinyatakan nematoda

entomopatogen *Heterorhabditis* dapat juga memasuki tubuh inangnya dengan cara penetrasi oleh giginya pada membran intersegmen serangga.



Gambar 3. Siklus Hidup Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis* sp. (Woodring and Kaya, 1988)

2.1.4 Asosiasi Mutualistik Antara Nematoda Patogen Serangga dan Bakteri

Nematoda famili Heterorhabditidae berasosiasi secara mutualistik dengan bakteri dari genus *Xenorhabdus* (Kaya dan Gaugler, 1990). Bakteri tersebut bersifat gram negatif, anaerob fakultatif, berbentuk batang dan termasuk kedalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri simbiotik tersebut ditemukan pada bagian intestinum ventrikular, lumen intestinum dan lumen faring.

Bakteri genus *Xenorhabdus* yang sering berasosiasi dengan nematoda *Heterorhabditis* adalah *Xenorhabdus luminescent*. Bakteri *Xenorhabdus* mengalami dimorfisme, yaitu mengalami bentuk pertama (fase primer) dan bentuk kedua (fase sekunder). Kedua fase ini dapat diketahui perbedaannya dari

morfologi koloninya yang spesifik terhadap media tertentu. Pada fase primer bakteri memproduksi antibiotik (Akhust and Boemare,1990 dalam Kaya and Gaugler, 1990).

Bentuk asosiasi antara nematoda dan bakteri adalah sebagai berikut :
Bakteri merupakan penyedia makanan bagi nematoda, yaitu nematoda memakan bakteri dan sisa-sisa metabolisme bakteri. Sedangkan peranan nematoda adalah sebagai penyedia perlindungan bagi bakteri terhadap kondisi alam yang kurang mendukung. Bakteri *Xenorhabdus* pada habitat tanah atau air daya ketahanan hidupnya sangat lemah, sehingga bakteri ini memerlukan nematoda sebagai pelindungnya untuk membawa bakteri dari satu tempat ketempat lain untuk mencari sumber makanan. Disamping itu bakteri jika termakan secara langsung oleh serangga daya virulensinya menjadi berkurang bahkan tidak lagi toksik bagi serangga, sehingga tidak mampu untuk membunuh inang (Kaya and Gaugler, 1990).

2.2. Faktor Ekologi yang Berpengaruh bagi Nematoda Heterorhabditis

2.2.1. Suhu

Nematoda Heterorhabditis dapat hidup pada kisaran suhu antara 15°C – 28°C, sedangkan suhu optimum bagi perkembangbiakannya adalah berkisar 23°C – 28°C (Molyneux, 1984). Lebih lanjut dinyatakan nematoda tersebut tidak dapat hidup pada suhu dibawah 10°C dan diatas 33°C.

Menurut Schmiege (1963), penempatan fase juvenil infeksi dalam air pada suhu 35°C menyebabkan kematian yang tinggi, dan apabila mampu bertahan

hidup nematoda tersebut tidak akan dapat kembali melakukan aktifitas normalnya seperti bergerak cepat dan menginfeksi serangga. Perlakuan penempatan nematoda didalam air selama 16 jam pada suhu 37°C dan selama 1 jam pada suhu 41°C menyebabkan kematian 100%. Lebih lanjut menurut Schiege (1963) penempatan nematoda pada suhu 10°C selama 18 jam akan menyebabkan kematian nematoda sebesar 70 %.

2.2.1. Kelembaban

Kelembaban merupakan faktor yang berperan besar terhadap kehidupan nematoda dan merupakan salah satu faktor pembatas gerak nematoda *Heterorhabditis*. Dutky (1959), menyebutkan bahwa nematoda entomopatogen tidak tahan terhadap kekeringan dan cepat mati karenanya. Fase juvenil infeksi nematoda entomopatogen dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang lama pada kondisi dimana kelembaban relatifnya 100% (Schimiege, 1963), sedangkan pada kelembaban relatif berkisar antara 26% - 27% pada suhu 22°C, juvenil infeksi dapat bertahan hidup selama 3 jam (Molyneux, 1985).

2.3. Pemiakan Massal Nematoda *Heterorhabditis*

Salah satu keistimewaan dari nematoda patogen serangga adalah dapat dibiakan dengan menggunakan media buatan (dibiakan secara *in vitro*). Pemiakan massal nematoda secara *in vitro* bertujuan untuk mendapatkan jumlah nematoda yang besar sehingga dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati hama.

Pembiakan massal nematoda entomopatogen secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai media buatan. Media pembiakan nematoda tersebut dapat berupa media padat maupun media cair. Media padat biasanya berupa campuran agar dengan berbagai komponen seperti: ekstrak *yeast*, pepton, atau ekstrak daging. Sedangkan media cair berupa bahan yang dihaluskan seperti usus babi atau ginjal babi ditambahkan dengan lemak dan air dengan komposisi tertentu menurut species nematoda (Woodring and Kaya, 1988).

Prinsip dasar dari pembiakan massal nematoda entomopatogen secara *in vitro* adalah kandungan nutrisi media harus memenuhi kebutuhan nutrisi dari nematoda dan bakteri seperti karbohidrat, protein dan lemak, kemudian media tersebut diperlakukan sedemikian rupa sehingga suhu dan kelembabannya sesuai bagi kehidupan nematoda. Disamping itu keaseptisan media juga perlu dijaga agar tidak terjadi kontaminasi oleh bakteri asing atau jamur yang dapat menurunkan produktifitas nematoda (Gaugler and Kaya, 1990).

Salah satu teknik pembiakan massal nematoda entomopatogen adalah Teknik Bedding (Bedding, 1981). Teknik ini memanfaatkan ginjal, usus, dan lemak babi sebagai komponennya. Adapun prinsip-prinsip dari teknik ini adalah sebagai berikut :

1. Prinsip pertama : komponen media berupa usus dan ginjal babi yang dicampur secara homogen dengan lemak dan ditambahkan air, kemudian dicampurkan secara homogen dengan potongan-potongan spons. Kemudian dilakukan sterilisasi.

2. Prinsip kedua adalah penginokulasian bakteri asosiatik nematoda kedalam media yang telah disterilkan, kemudian diinkubasi selama 48 jam untuk memberi kesempatan kepada bakteri untuk berkembang. Adapun tujuan dari langkah ini adalah untuk memberikan persediaan makanan bagi nematoda sewaktu nematoda diinokulasi kedalam media, sehingga dengan tersedianya makanan yang berupa bakteri dan sisa-sisa metabolisme bakteri, JI nematoda diharapkan akan cepat memasuki fase parasit dan fase dewasa untuk kemudian berkembangbiak.
3. Prinsip ketiga adalah menginokulasi nematoda kedalam media yang telah tersedia bakteri asosiatiknya dan menginkubasinya pada suhu dan kelembaban yang sesuai bagi nematoda. Waktu inkubasi bertujuan untuk memberi kesempatan kepada nematoda untuk berkembang menjadi generasi selanjutnya sampai kandungan nutrisi dalam media habis dan nematoda mencapai fase Infektif Juvenil.
4. Adapun prinsip yang keempat adalah prinsip pemanenan. Poduksi dari pembiakan massal nematoda entomopatogen berupa Juvenil Infektif nematoda. Prinsip dari pemanenan adalah dengan memanfaatkan sifat JI nematoda yang akan bermigrasi dari habitatnya jika pada tempat hidupnya tersebut sudah tidak tersedia sumber energi, JI bermigrasi menuju ketempat-tempat yang berkelembaban lebih tinggi, sehingga pada proses pemanenan digunakan jebakan air dengan asumsi bahwa JI akan bermigrasi dari tempat hidupnya yang telah habis persediaan makannya menuju keair yang sengaja

ditempatkan disekitar tempat nematoda tersebut dibiakan dan Ji akan tersedimen didalam air tersebut.

2.4. Kandungan Nutrisi Usus Ayam, Hati Ayam, Putih Telur dan “Dog Food”

Usus ayam dan hati ayam merupakan hasil dari peternakan ayam pedaging, dan bahan-bahan tersebut merupakan bahan makanan yang mudah didapat pada pasar di Indonesia. Putih telur merupakan bahan makanan yang mengandung protein yang tinggi. Kandungan nutrisi dari usus ayam, hati ayam dan putih telur adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Usus Ayam, Hati Ayam dan Putih Telur

Jenis Bahan	Karbohidrat (%)	Protein (%)	Lemak (%)
Usus Ayam	1,5	14	7,2
Hati Ayam	6	19,7	3,2
Putih Telur	0,8	10,8	0,9

Sumber: Daftar Analisis Makanan (Nio, 1992).

“Dog food” merupakan bahan makanan bagi anjing yang dijual dalam bentuk kemasan kaleng dengan berbagai merk dagang. Komponen utama dari “dog fod” adalah daging sapi dengan mutu yang rendah. Kandungan nutrisi dari “dog food” secara umum mencakup karbohidrat, protein, dan lemak yang sesuai bagi pertumbuhan anjing.

2.5. Hipotesa Penelitian

Usus ayam, hati ayam, putih telur dan “dog food” merupakan bahan-bahan yang mudah didapatkan dan ketiga bahan tersebut masih mengandung bahan-bahan yang diperlukan bagi nematoda untuk perkembangbiakannya. Prinsip dasar dari pembiakan secara massal nematoda entomopatogen adalah memodifikasi media buatan sehingga media tersebut mengandung bahan-bahan yang diperlukan nematoda dalam perkembangbiakannya dan menjaga kondisi media agar sesuai bagi kelangsungan hidup nematoda (Gauler and Kaya, 1990). Dari prinsip tersebut dapat dibuat hipotesa bahwa usus ayam, hati ayam, putih telur dan “dogfood” dapat digunakan sebagai komponen media pembiakan nematoda *Heterorhabditis* sp, kemudian penggunaan komponen media yang berbeda akan memberikan hasil jumlah juvenil infeksi nematoda yang berbeda.

