



## **KAJIAN KESESUAIAN LARVA *HERMETIA ILLUCENS* (DIPTERA: STRATIOMYIDAE) PADA PERBANYAKAN NEMATODA ENTOMOPATOGEN *STEINERNEMA* SPP. SECARA IN VITRO**

### ***STUDY ON THE COMPATIBILITY OF HERMETIA ILLUCENS LARVA (DIPTERA: STRATIOMYIDAE) IN THE PROPAGATION ENTOMOPATHOGENE NEMATODE OF STEINERNEMA SPP. BY IN VIVO***

Wildan Muhlisson\*, Hari Purnomo, dan Tri Wahyu Saputra  
Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jember, Jawa Timur, Indonesia  
\*Email: wildan.muhlisson@unej.ac.id

\* Corresponding Author, Diterima: 26 Apr. 2022, Direvisi: 20 Jul. 2022, Disetujui: 23 Sept. 2022

#### **ABSTRACT**

*Entomopathogenic nematodes (EPN) are parasites that are effective in controlling plant pests that can be propagated in vivo. In vivo propagation requires a host because EPN is an obligate parasite, one of which is the larvae of Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae). These larvae are easy to obtain, easy to cultivate, easy to use, have a short life cycle, and have a high nutritional content. This study aimed to examine the suitability of H. illucens larvae in the entomopathogenic nematode Steinernema spp. in vivo propagation. This research was conducted by examining the mortality rate and infection rate of EPN in H. illucens larvae with variations in wounds, concentrations of infective nematodes, and larval size. The test results were compared with the larvae of T. molitor which are commonly used as hosts. The results of the mortality rate study showed that injured H. illucens larvae were more susceptible to the entomopathogenic nematode Steinernema spp. There was a significant difference in mortality rates between uninjured and injured although there was no difference in results due to variations in EPN concentrations. The infection rate test showed a significant difference in wound variation and larval size of H. illucens although the results were not good enough when compared to the level of infection of T. molitor larvae.*

*Keywords: Entomopathogenic nematodes, Hermetia illucens, in vivo, Steinernema spp., Tenebrio molitor*

#### **ABSTRAK**

Nematoda entomopatogen (NEP) merupakan parasit yang efektif dalam menanggulangi hama tanaman yang dapat diperbanyak dengan cara *in vivo*. Perbanyakan secara *in vivo* memerlukan inang karena NEP adalah parasit obligat yang salah satu inangnya adalah larva *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). Larva ini mudah diperoleh, mudah dibudidayakan, mudah digunakan, memiliki siklus hidup yang pendek, dan memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kesesuaian larva *H. illucens* pada perbanyakan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. secara *in vivo*. Penelitian ini dilakukan dengan menguji tingkat mortalitas dan tingkat infeksi NEP pada larva *H. illucens* dengan variasi pelukaan, konsentrasi nematoda infeksi, dan ukuran larva. Hasil uji tersebut dibandingkan dengan larva *T. molitor* yang umum digunakan sebagai inang. Hasil penelitian tingkat mortalitas menunjukkan larva *H. illucens* yang dilukai akan lebih rentan terhadap nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. Ada perbedaan tingkat mortalitas yang signifikan antara tanpa luka dan dilukai walaupun tidak ada perbedaan hasil akibat variasi pemberian konsentrasi NEP. Uji tingkat infeksi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada variasi pelukaan dan ukuran larva *H. illucens* walaupun hasilnya tidak cukup baik apabila dibandingkan dengan tingkat infeksi larva *T. molitor*.

*Kata kunci: Hermetia illucens, in vivo, nematoda entomopatogen, Steinernema spp., Tenebrio molitor*

## 1. PENDAHULUAN

Salah satu komponen dalam pengendalian hayati adalah augmentasi yaitu upaya pengadaan, pelestarian, dan perbanyakan secara massal musuh alami yang telah ada di sekitar lokasi hama target dan dilepas dalam waktu tertentu (Susilo, 2007). Augmentasi penting untuk dilakukan karena banyak musuh alami yang tidak bisa bertahan akibat penggunaan pestisida kimia yang berlebihan dan ketiadaan habitat.

Nematoda entomopatogen (NEP) merupakan parasit yang efektif dalam menanggulangi serangga yang hidup di dalam tanah dan habitat tersembunyi (Indrayani *et al.*, 2019). Keefektifan nematoda entomopatogen bergantung pada pasokan nematoda yang memadai dan pemahaman tentang perilaku biologisnya (Dolinski *et al.*, 2012). Nematoda entomopatogen dapat membunuh hama sasaran dalam waktu yang relatif cepat yaitu 24-48 jam menggunakan bantuan bakteri simbiosis yang dimiliki sedangkan patogen lain seperti bakteri dan jamur membutuhkan waktu lebih lama yaitu 3-7 hari (Shapiro-Ilan & Gaugler, 2002).

Nematoda entomopatogen umumnya diperbanyak dengan dua cara yaitu secara *in vitro* untuk perbanyakan skala besar dan secara *in vivo* untuk perbanyakan skala kecil. Perbanyakan secara *in vivo* memerlukan penggunaan inang serangga karena nematoda entomopatogen adalah parasit obligat serangga. Kunci keberhasilan dalam perbanyakan pada karakteristik kandungan nutrisi yang dimiliki inang dan ketersediaan inang alternatif. Perbanyakan secara *in vivo* ini relevan untuk diterapkan pada petani atau praktisi pertanian karena lebih mudah dan lebih ekonomis.

Serangga inang yang umum digunakan dalam perbanyakan *in vivo* adalah larva *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Tenebrio molitor* dan *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Shapiro-Ilan & Gaugler, 2002). Pada penerapannya, ketiga jenis larva tersebut tidak ekonomis apabila digunakan untuk perbanyakan nematoda terlebih inang *G. Mellonella* dan *A. diaperinus* sulit disediakan dalam jumlah besar (Chaerani, 2011). Perlu ada upaya mendapatkan inang alternatif untuk pembiakan NEP secara *in vivo* yang mudah disediakan dan bernilai ekonomis dengan tetap memperhatikan kandungan nutrisi yang sesuai.

Salah satu kandidat inang alternatif untuk pembiakan NEP tersebut adalah larva *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). Larva *H. illucens* dikenal sebagai serangga pengurai atau detritivor yang memiliki kemampuan dalam

mendekomposisi bahan organik termasuk limbah pertanian (Sheppard *et al.*, 1994; Muhlison *et al.*, 2021). Siklus hidup *H. illucens* yang tergolong pendek, mudah untuk dibudidayakan, dan memiliki kandungan nutrisi yang tinggi membuat larva ini digunakan sebagai alternatif pakan ternak (Barragan-Fonseca *et al.*, 2017; Miranda *et al.*, 2020).

Hambatan umum yang mempengaruhi keberhasilan pembiakan nematoda entomopatogen adalah pencarian makan inang, penetrasi inang, keberhasilan reproduksi inang, dan perbanyakan kembali (Webster, 2009). Nematoda entomopatogen yang pernah diinokulasikan pada larva *H. illucens* menunjukkan sekitar setengah dari populasi larva terbunuh oleh infeksi nematoda namun hanya ada beberapa nematoda entomopatogen yang muncul dari larva *H. illucens*. Hal ini diduga karena larva *H. illucens* dilapisi dengan kutikula yang tebal sehingga sulit diinfeksi (Tourtois, 2014).

Berdasarkan uraian sebelumnya, maka perlu adanya kajian kesesuaian larva *Hermetia illucens* pada perbanyakan nematoda entomopatogen *steinernema* spp. secara *in vivo*. Metode perlakuan larva *Hermetia illucens* yang sesuai dapat menjadi solusi untuk pembiakan NEP yang mudah, ekonomis, dan dapat diaplikasikan oleh petani atau praktisi. Penelitian ini diharapkan dapat memberi dampak positif berupa perlindungan tanaman yang alami dari serangan hama secara intensif karena menggunakan musuh alami.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Perbanyakan Larva *Hermetia illucens*

Larva *Hermetia illucens* berasal dari hasil perbanyakan yang dipelihara dalam kotak plastik berukuran 15 x 15 x 8 cm dan diberi kain kasa di bagian atas untuk sirkulasi udara. Setiap kotak berisi 50 ekor larva yang diberi pakan sebesar 1 gram/larva dengan penambahan pakan sebesar 1 gram/larva tiap 3 hari sekali berupa ampas tahu (Muhlison *et al.*, 2021). Apabila larva yang dipelihara telah mencapai fase pupa maka akan dipindahkan ke media inkubasi pupasi. Media tersebut berupa media kering dan diletakkan pada kandang berukuran 100×40×30 cm. Sekitar 15 hari kemudian, pupa akan berubah menjadi imago dan dipindahkan ke media *attract* dan tempat peneluran. Telur di tempat peneluran dipindahkan ke wadah penetasan menggunakan media fermentasi pur ayam. Telur akan menetas setelah 5 hari dan dipindahkan ke kotak plastik. Apabila larva tersebut telah mencapai kategori instar 2 maka sudah siap

digunakan sebagai sampel penelitian. Instar 2 merupakan kategori larva dengan karakteristik umur 3-4 hari setelah menetas.

## 2.2 Perbanyakan Larva *T. molitor*

Larva *T. molitor* berasal dari hasil perbanyakan yang dipelihara dalam kotak plastik berisi pur jagung yang merupakan pakan larva dan imago serta sebagai media untuk bertelur. Setelah imago melakukan kopulasi dan menghasilkan telur, imago dipindah ke tempat biakan lainnya, telur diletakkan pada wadah kering dan ditempatkan pada tempat gelap, kurang lebih 10-14 hari telur akan menetas menjadi larva (Purwaningrum, 2006). Larva awal (instar 1 kemudian dipindahkan ke wadah pemeliharaan yang telah diberikan pakan pur jagung. Larva *T. molitor* yang diujikan adalah larva instar 2.

## 2.3 Perbanyakan Nematoda Entomopatogen *Steinernema* spp.

Nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. merupakan hasil isolat yang diperbanyak secara *in vivo*. Perbanyakan dilakukan dengan cara menginokulasikan Juvenil Infektif (JIs) pada larva *T. molitor* kemudian dipindahkan ke *white trap* untuk masa inkubasi (White, 1927). *White trap* berbentuk cawan petri berdiameter 5 cm yang ditutup dengan kertas saring berdiameter 9 cm. *White trap* diletakkan di tengah cawan petri berdiameter 15 cm diberi sedikit air sehingga ujung kertas saring menyentuh permukaan air. Masa inkubasi berlangsung selama 7 hari pada kondisi gelap di ruangan dengan suhu kamar. Setelah masa inkubasi, Juvenil Invektif (JIs) akan bermigrasi keluar dari tubuh *T. molitor* dan tertampung pada air di sekitar *white trap*. Selanjutnya, air yang mengandung JIs akan dipindahkan ke dalam *beaker glass* dan siap untuk diujikan.

## 2.4 Uji Tingkat Mortalitas

Uji tingkat mortalitas menggunakan dua variasi pelukaan yaitu larva *H. illucens* yang tidak dilukai dan dilukai sebelum inokulasi NEP. *H. illucens* dilukai sebanyak tiga titik pada bagian dorsal, satu di bagian toraks dan dua di bagian abdomen menggunakan jarum (Tourtois, 2014). Setiap variasi pelukaan diinokulasi dengan NEP menggunakan konsentrasi sebesar 400, 600, dan 1000 JIs/mL sebanyak 20 ulangan. Pengamatan tingkat mortalitas

dilakukan pada setiap larva *H. illucens* yang mati selama masa inkubasi yaitu antara 7-10 hari.

## 2.5 Uji Tingkat Infeksi NEP

Ada dua perlakuan dalam uji tingkat infeksi NEP pada penelitian yaitu perlakuan dengan variasi ukuran larva dan perlakuan dengan variasi pelukaan larva. Perlakuan dengan variasi ukuran larva menggunakan larva *H. illucens* dan *T. molitor* yang berukuran 0,05, 0,1 dan 0,15 gr/ekor. Khusus pada larva *H. illucens* dilakukan dua variasi pelukaan seperti pada uji tingkat mortalitas. Setiap variasi diinokulasi dengan NEP menggunakan konsentrasi 600 JIs/mL sebanyak tujuh ulangan. Setiap unit percobaan diinkubasi selama 72 jam lalu dipindah ke *white trap* dengan jumlah satu larva per cawan petri. Pengamatan uji infeksi dilakukan dengan menghitung jumlah NEP yang dihasilkan dari setiap unit percobaan selama 10 hari.

Uji tingkat infeksi NEP pada perlakuan variasi pelukaan larva dilakukan dengan empat variasi yaitu tidak luka, luka sebelum inokulasi, luka setelah inokulasi dan kombinasi pelukaan (luka sebelum dan sesudah inokulasi). Pelukaan hanya dilakukan pada larva *H. illucens* sebanyak tiga titik pada bagian dorsal, satu di bagian toraks dan dua di bagian abdomen menggunakan jarum serta pelukaan setelah inokulasi dilakukan delapan hari setelah masa inokulasi. Variasi pelukaan larva *H. illucens* ini juga dibandingkan dengan larva *T. molitor* tanpa luka.

Uji tingkat infeksi NEP menggunakan ukuran larva sebesar 0,15 gr/ekor, konsentrasi NEP sebesar 600 JIs/mL, dan 10 ulangan pada setiap variasi perlakuan. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi selama 5-7 hari menggunakan *white trap* dengan 1 larva per cawan petri. Cara pengamatan uji infeksi yaitu dengan menghitung jumlah NEP yang dihasilkan dari setiap panen selama 10 hari setelah diinkubasi.

## 2.6 Analisis Data

Data akan dianalisis menggunakan tiga jenis uji statistik yaitu uji t, uji Anova, dan uji DMRT. Uji t digunakan apabila hanya terdapat dua perlakuan. Uji Anova digunakan apabila terdapat tiga atau lebih variasi perlakuan. Sedangkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) digunakan apabila hasil uji Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan. Ketiga uji statistik tersebut menggunakan taraf kepercayaan sebesar 95%.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Tingkat Mortalitas Larva *H. illucens*

Hasil pengamatan larva selama masa inkubasi menunjukkan persentase mortalitas pada perlakuan tanpa luka larva *H. illucens* sebesar 7,4% sedangkan pada perlakuan dengan luka sebesar 70,4%. Tingkat mortalitas larva pada dua variasi pelukaan diuji uji t dan menunjukkan hasil  $t_{hitung} > t_{tabel}$  yaitu sebesar  $6,1 > 1,7$  yang berarti ada perbedaan nyata antara tanpa luka dan luka setelah inokulasi NEP. Sedangkan hasil uji Anova satu arah pada tingkat mortalitas larva *H. illucens* menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada setiap konsentrasi NEP yang diberikan. Hasil uji Anova yang tanpa luka sebesar  $0,5 < 3,4$  dan dengan luka sebesar  $1,2 < 3,4$  untuk perbandingan  $F_{hitung}$  vs  $F_{tabel}$ . Perbandingan tingkat mortalitas pada larva *H. illucens* ditunjukkan pada Gambar 1.

#### 3.2 Tingkat Infeksi NEP pada Larva *Hermetia illucens* dan Larva *T. molitor*

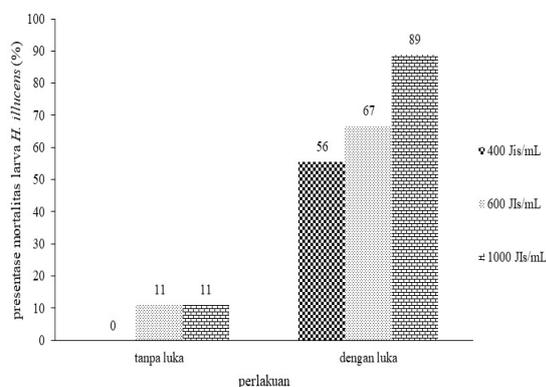
Pengujian tingkat infeksi pada larva *H. illucens* dan *T. molitor* berdasarkan variasi ukuran larva menunjukkan hasil yang ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil uji anova menunjukkan bahwa variasi ukuran larva memberikan perbedaan yang nyata pada tingkat infeksi NEP sehingga dilakukan uji lanjut DMRT. larva *H. illucens* yang dilukai pada ukuran 0,05 gr/ekor tidak berbeda nyata dengan ukuran 0,1 gr/ekor sedangkan keduanya berbeda nyata dengan ukuran 0,15gr/ekor. Hasil uji pada larva *T. molitor* berbeda nyata pada setiap perlakuan yang dibuktikan dengan perbedaan notasi huruf DMRT dengan jumlah nematoda sebesar

8.970, 13.200, dan 18.621 secara berturut-turut pada ukuran 0,05, 0,1, dan 0,15 gr/ekor.

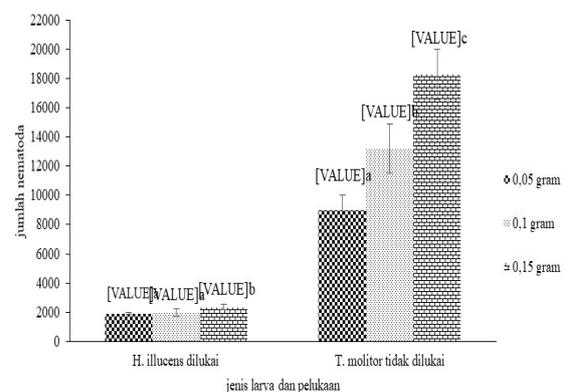
Gambar 3 menunjukkan uji pengaruh pelukaan larva *H. illucens* secara signifikan mempengaruhi jumlah nematoda yang dibiakkan namun jumlah ini tetap di bawah hasil uji larva *T. molitor* yang setidaknya berjumlah 6 kali lebih banyak daripada nematoda pada *H. illucens*. Pelukaan *H. illucens* saat sebelum dan sesudah infeksi NEP menunjukkan peningkatan nematoda yang dibiakkan. Namun secara notasi DMRT, pelukaan pasca infeksi merupakan perlakuan paling efisien apabila dibandingkan dengan semua perlakuan pelukaan. Terlebih, perlakuan pasca infeksi tidak berbeda nyata pada pelukaan kombinasi (pra dan pasca infeksi).

Penelitian ini juga mengamati jumlah nematoda yang keluar dari inang setiap harinya selama sepuluh hari pengamatan seperti pada Gambar 4. Jumlah nematoda mengalami peningkatan sampai puncak pada hari kelima pada variasi sebelum pelukaan, setelah pelukaan dan kombinasi pelukaan kemudian menurun sampai pada hari ke sepuluh. Adapun larva *T. molitor* tetap mengalami peningkatan sampai jumlah nematoda tertinggi pada hari kedelapan kemudian menurun sampai hari ke sepuluh.

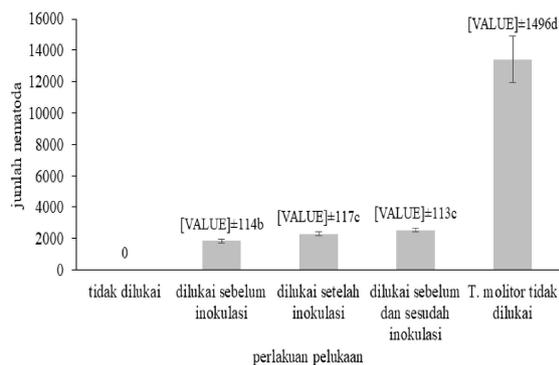
Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kesesuaian penggunaan larva *H. illucens* sebagai inang dalam pembiakan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. terkait dengan modifikasi fisik berupa pelukaan. Pertimbangan dalam penggunaan *H. illucens* sebagai inang pemeliharaan karena memiliki kegunaan dalam proses pertanian termasuk pengomposan dan pakan ternak. Larva *H. illucens* yang tidak dilakukan pelukaan tidak terlalu rentan terhadap nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. (Gambar 1) sehingga modifikasi inang meningkatkan tingkat infeksi, tetapi tidak cukup meningkatkan kualitas inang untuk



Gambar 1. Tingkat mortalitas larva *H. illucens* pada variasi konsentrasi NEP.



Gambar 2. Jumlah Nematoda di setiap ukuran larva pada *H. illucens* dan *T. molitor*.

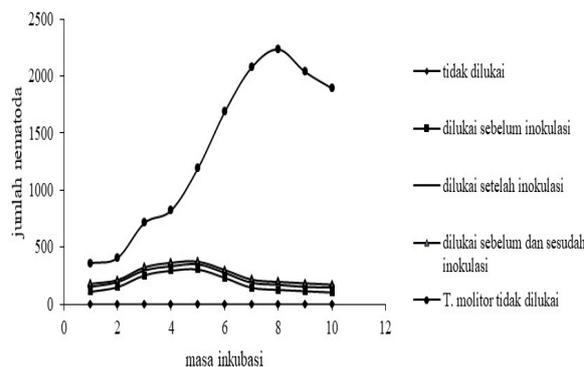


Gambar 3. Grafik jumlah nematoda yang keluar dari inangnya pada tiap variasi pelukaan *H. illucens* dan *T. molitor* tanpa pelukaan.

dijadikan sebagai sebagai inang alternatif bagi nematoda entomopatogen.

Tingkat mortalitas larva *H. illucens* dengan status pelukaan menunjukkan bahwa larva *H. illucens* memiliki kutikula yang sulit untuk ditembus oleh *Steinernema* spp. Pelukaan pada larva *H. illucens* sebelum aplikasi nematoda meningkatkan mortalitas (Gambar 1) dan tingkat infeksi (Gambar 2). Namun tingkat kematian pada larva *H. illucens* yang dilukai tidak berbeda nyata pada beberapa konsentrasi nematoda (JIs) yang diberikan. Dengan demikian, kutikula *H. illucens* merupakan penghalang utama pertama bagi masuknya nematoda (JIs) pasca infeksi nematoda entomopatogen.

Nematoda entomopatogen menginfeksi melalui beberapa celah yang ada di tubuh serangga, diantaranya adalah melalui mulut, spirakel dan bukaan alami lainnya. Semakin banyak celah yang dimiliki oleh serangga maka semakin cepat nematoda untuk dapat melakukan penetrasi dan mengakibatkan kematian serangga. Hal ini menunjukkan bahwa *H. illucens* diduga memiliki kutikula yang tebal dibandingkan dengan larva lainnya yang umum digunakan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Barros *et al.* (2019) dan Ushakova *et al.* (2017) bahwa jumlah spirakel dari larva *H. illucens* lebih sedikit dan kutikula yang lebih tebal. Kutikula *H. illucens* tersusun dari kitin dan asam amino dengan kadar yang lebih tinggi dari pada serangga dari golongan ordo Lepidoptera dan Coleoptera. Hal ini didukung dari penelitian (Lewis *et al.*, 1996) bahwa kesesuaian nematoda *Steinernema carpocapsae* pada serangga dari ordo Diptera yang diwakili oleh *Musca domestica* menghasilkan tingkat mortalitas yang rendah dibandingkan serangga dari ordo Lepidoptera, Coleoptera, Orthoptera dan Blattodea. Selain itu, kutikula larva *H. illucens* tersusun dari kitin, kalsium



Gambar 4. Grafik periodik jumlah nematoda pada tiap variasi pelukaan *H. illucens* dan *T. molitor* tanpa pelukaan.

dan adanya kandungan melanin yang berfungsi sebagai pertahanan dari masuknya infeksi pathogen (Johannsen, 1922; Ushakova *et al.*, 2017).

Spirakel pada larvae *H. illucens* dapat menutup ketika kondisi dalam kondisi basah (Lalander *et al.*, 2020). Larva *H. illucens* memiliki lebih sedikit spirakel daripada *Galleria mellonella*, sehingga lebih sedikit bukaan alami bagi nematoda untuk masuk dan keluar (Tourtuais *et al.*, 2014). Hal ini terkait dengan habitat hidup dari larva *H. illucens* yang hidup pada limbah organik dan jasad organik, mekanisme tersebut dapat menunjang untuk tetap dapat hidup diantara banyaknya mikroba patogen dan menunjang pada kondisi media organik yang basah dan berair. Infeksi nematoda entomopatogen pada larva *H. illucens* tidak dipengaruhi oleh jumlah awal nematoda entomopatogen yang diberikan. Faktor utama pertama ada pada kutikula larva uji. Hal ini menunjukkan dengan adanya pelukaan memberikan akses bagi nematoda untuk dapat masuk, penetrasi dan menginfeksi serangga uji (Tourtuais *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian menjelaskan bahwa respon nematoda entomopatogen terhadap inang yang terluka atau dimodifikasi. Dalam sebuah penelitian dengan *bollworm pink Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), pupa tidak terinfeksi oleh *S. carpocapsae* kecuali kutikula ditusuk (Henneberry *et al.*, 1995; Lindegren *et al.*, 1993). Stresor kimia dan termal juga telah dievaluasi potensinya untuk membuat inang lebih rentan. Sebaliknya van Zyl & Malan (2014) menemukan bahwa melukai *H. illucens* tidak diperlukan untuk masuknya nematoda untuk *H. bacteriophora*, *Steinernema riobrave* atau *Steinernema feltiae* tetapi sangat meningkatkan masuknya *S. carpocapsae*.

Pada pengujian dengan *H. illucens* dengan tanpa luka dan dengan luka serta *T. molitor* tanpa luka pada setiap perlakuan ukuran larva yang digunakan menunjukkan jumlah nematoda yang keluar pada setiap perlakuan (Gambar 2). Pada *H. illucens* tanpa luka tidak menunjukkan kematian, sehingga tidak ada nematoda yang keluar. Pada *H. illucens* yang dilukai pada setiap ukuran menunjukkan pada ukuran 0.05 gram tidak berbeda nyata pada ukuran 0,1 gram dan berbeda nyata dengan ukuran 0,15 gram. Sedangkan pada *T. molitor* berbeda nyata pada setiap perlakuan, dengan hasil nematoda pada setiap ukuran.

Ukuran serangga menentukan jumlah nutrisi dan kandungan yang dibutuhkan bagi nematoda entomopatogen untuk tumbuh dan memperbanyak diri. Hal ini termasuk pada serangga *H. illucens* yang dilukai dan *T. molitor* tanpa pelukaan. Menurut de Leij (1995) dan Baliadi *et al.* (2012) melaporkan bahwa ukuran larva *T. molitor* memengaruhi fekunditas dan jumlah nematoda yang dipanen. Namun, jumlah nematoda yang dihasilkan pada larva *H. illucens* yang dilukai masih lebih kecil dibandingkan pada larva *T. molitor* pada ukuran yang sama. Jumlah nematoda yang dipanen ini terkait dengan kemampuan dari nematoda entomopatogen untuk berkembang biak di dalam tubuh serangga.

Perlakuan pelukaan inang secara signifikan mempengaruhi jumlah nematoda yang dipanen. Pada pelukaan pra infeksi dimaksudkan untuk memberikan jalan bagi nematoda entomopatogen untuk dapat menginfeksi ke dalam nematoda, sedangkan perlakuan pasca infeksi untuk memberikan jalan bagi nematoda entomopatogen untuk keluar dari tubuh serangga, begitu pula dengan perlakuan kombinasi (Gambar 3 dan Gambar 4). Pelukaan *H. illucens* pada pra infeksi tidak berbeda nyata dengan pelukaan setelah infeksi, sedangkan pelukaan setelah infeksi tidak berbeda nyata dengan pelukaan kombinasi. Pelukaan *H. illucens* pra dan pasca infeksi menunjukkan peningkatan nematoda yang keluar dari inang.

Pada perbandingan *H. illucens* yang dilukai dengan beberapa perlakuan berbeda nyata dengan *T. molitor* yang tidak dilukai. Setidaknya enam kali lebih banyak nematoda yang dipanen pada *T. molitor* daripada *H. illucens* (Gambar 3). Begitu pula dengan jumlah nematoda yang keluar setiap harinya, larva *H. illucens* mengalami jumlah nematoda tertinggi pada hari kelima sedangkan pada larva *T. molitor* pada hari kedelapan.

Rendahnya mortalitas dan jumlah nematoda yang keluar dari inang pada larva *H. illucens* tidak

hanya dipengaruhi oleh faktor akses masuk namun juga ada faktor lain yang mengakibatkan nematoda entomopatogen tidak berkembang biak dengan baik di dalam tubuh larva *H. illucens*. Perkembang biakan nematoda entomopatogen di dalam tubuh serangga inang dipengaruhi beberapa faktor diantaranya adalah kesesuaian nutrisi, ukuran larva, dan adanya faktor penghambat. Kesesuaian nutrisi yang memengaruhi perkembangan biakan nematoda entomopatogen adalah adanya kandungan protein dan karbohidrat. Dari segi kesesuaian nutrisi berdasarkan kandungan proksimat antara larva *H. illucens* dan *T. molitor* menunjukkan *H. illucens* sebesar 37%-63% (Zozo *et al.* 2022) dan *T. molitor* sebesar 25-46% (Ravzanaadii *et al.*, 2012).

Tingginya kandungan protein *H. illucens* tidak menjadi salah satu faktor dari keberlangsungan dan produksi nematoda entomopatogen di dalam tubuh inang. Faktor lain yang memengaruhi adalah adanya senyawa yang bersifat racun atau adanya imunitas dari serangga dari adanya infeksi. Seperti yang dijelaskan oleh (Brivio & Mastore, 2018) bahwa dasar dari perkembangan nematoda entomopatogen adalah kesesuaian inang termasuk di dalamnya adalah imunitas dari serangga uji. Larva *H. illucens* diduga memiliki senyawa antimikroba yang menunjang larva *H. illucens* untuk hidup di antara limbah dan bahan organik untuk tidak mudah terinfeksi oleh mikroba tidak baik.

Nematoda entomopatogen memiliki hubungan simbiosis dengan bakteri yang sangat toksik bagi serangga. Pada *Steinernema* spp. memiliki bakteri simbiosis yaitu bakteri *Xenorhabdus*. Bakteri ini dilepaskan dari usus nematoda remaja infeksi setelah memasuki serangga inang melalui anus, mulut, spirakel, atau kutikula, bakteri cepat berkembang biak menyebabkan kematian inang dalam waktu 24-48 jam. Nematoda remaja memakan bakteri, berkembang menjadi dewasa, dan bereproduksi menghasilkan penyelesaian satu hingga tiga generasi di dalam inang. Ketika sumber daya inang habis, ribuan remaja infeksi (IJs) muncul dari serangga inang yang telah mati (Kaya & Gaugler, 1993).

Adanya senyawa antimikroba dalam bentuk Peptida antimikroba fungsional (AMPs) menunjang bagi larva *H. illucens* untuk dapat hidup di limbah organik tanpa terinfeksi patogen dan senyawa ini dapat menginduksi ketahanan dari *H. illucens* dari patogen (Xia *et al.*, 2021). Selain itu penelitian lainnya menjelaskan bahwa kandungan senyawa antimikroba yang terdiri dari anti jamur dan antimikroba dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan dari *Salmonella typhimurium* dan

*E. coli* (Auza et al., 2020). Selain adanya senyawa antimikroba di dalam tubuh larva *H. illucens*, juga didukung dengan adanya aktifitas aktivitas lisozim di lumen daerah anterior dan tengah usus tengah, enzim ini bersama dengan pH luminal asam kuat memainkan peranan penting dalam mengeliminasi adanya bakteri yang masuk ke dalam tubuh (Bonelli et al., 2019).

Keberhasilan infeksi ini tergantung pada seberapa kuatnya bakteri simbiosis nematoda dalam menekan dan mengeliminasi ketahanan dari tubuh serangga inang, ketika bakteri simbiosis ini tidak dapat mengeliminasi adanya bentuk ketahanan dari serangga uji maka nematoda tidak dapat berkembang biak (Devi, 2018). Senyawa melatonin yang mengakibatkan adanya enkapsulasi pada bakteri simbiosis nematoda entomopatogen di dalam tubuh inang (Dunphy & Thurston, 1990). Bakteri simbiosis nematoda ini dapat disekresi oleh Nematoda setelah berhasil masuk ke tubuh inang, yang kemudian bakteri ini akan melakukan perombakan jaringan inang atau dikenal dengan istilah septisemia. Dengan adanya antimikroba ini, membuat bakteri simbiosis nematoda mengalami enkapsulasi sehingga tidak dapat bekerja secara optimal. Hal ini membuat nematoda tidak dapat maksimal dalam berkembang biak. Seperti hasil penelitian Castillo et al. (2015) bahwa lalat *Drosophila melanogaster* memiliki respon imun melawan adanya infeksi dari bakteri *Photobacterium luminescens* yang merupakan bakteri simbiosis dari nematoda *H. bacteriophora*.

#### 4. KESIMPULAN

Kajian kesesuaian larva *H. illucens* pada perbanyakan nematoda entomopatogen *steinernema* spp. secara *in vivo* berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa (1) hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan pelukaan dan ukuran larva memberikan pengaruh signifikan dalam pembiakan NEP sedangkan tidak untuk perlakuan konsentrasi NEP pada tingkat mortalitas dan tingkat infeksi NEP, (2) modifikasi inang dengan pelukaan mampu meningkatkan tingkat mortalitas dan infeksi *Steinernema* spp., tetapi tidak meningkatkan kualitas inang jika dibandingkan dengan larva *T. Molitor*, (3) larva *H. illucens* dapat menjadi inang dalam pengembangbiakkan nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. secara *in vivo*, namun tingkat kesesuaian inangnya masih lebih rendah dibandingkan dengan larva *T. molitor*.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Jember melalui skema Hibah Penelitian Dosen Pemula dari PNPB tahun 2021 yang telah memberi dukungan finansial sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- Auza, F. A., S. Purwanti, J. A. Syamsu & A. Natsir. 2020. Antibacterial Activities of Black Soldier Flies (*Hermetia illucens*. l) Extract Towards the Growth of *Salmonella typhimurium*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 492 (1): 12–24.
- Barragan-Fonseca, K. B., M. Dicke, & J. J. van Loon. 2017. Nutritional Value of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) and Its Suitability as Animal Feed—a Review. *Journal of Insects as Food and Feed*. 3 (2): 105–120.
- Barros, L. M., A. L. N. Gutjahr, R. L. Ferreira-Keppler, & R. T. Martins. 2019. Morphological Description of the Immature Stages of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae). *Microscopy Research and Technique*. 82 (3): 178–189.
- Baliadi, Y., I. R. Sastrahidayat, S. Djauhari, & B. T. Rahardjo. 2012. Pathogenicity, Development and Reproduction of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema* sp., in Mealworm *Tenebrio molitor*. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*. 33 (3): 233–244.
- Bonelli, M., D. Bruno, S. Caccia, G. Sgambetterra, S. Cappellozza, C. Jucker, G. Tettamanti, & M. Casartelli. 2019. Structural and Functional Characterization of *Hermetia illucens* Larval Midgut. *Frontiers in physiology*. 10 : 204.
- Brivio, M. F. & Mastore. 2018. Nematobacterial Complexes and Insect Hosts: Different Weapons for the Same War. *Insects*. 9 (3): 117.
- Castillo, J. C., T. Creasy, P. Kumari, A. Shetty, U. Shokal, L. J. Tallon, & I. Eleftherianos. 2015. *Drosophila* Anti-nematode and Antibacterial Immune Regulators Revealed by RNA-Seq. *BMC genomics*. 16 (1): 1–21.
- Chaerani, C. 2011. Pembiakan Nematoda Patogen Serangga (Rhabditida: Heterorhabditis dan *Steinernema*) pada Media Semi Padat. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 11 (1): 69–77.

- deLeij, F.A.A.M. 1995. Survival of Entomopathogenic Nematodes in Soil. *Biotechnology, Ecology and Transmission Strategies of Entomopathogenic Nematodes* (CT Griffin, RL Gwynn, and JP Masson, Eds.). pp. 1–6.
- Devi, G. 2018. Mass Production of Entomopathogenic Nematodes - a Review. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. 3 (3): 1032-1043.
- Dolinski, C., H. Y. Choo, & L. Duncan. 2012. Grower Acceptance of Entomopathogenic Nematodes: Case Studies on Three Continents. *Journal of Nematology*. 44 (2): 226.
- Dunphy, G. B. & G. S. Thurston. 1990. Insect Immunity. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. pp 301–323.
- Henneberry, T. J., J. E. Lindegren, F. L. Jech, & R. A. Burke. 1995. Pink Boll Worm (Lepidoptera: Gelechiidae), Cabbage Looper, and Beet Army Worm (Lepidoptera: Noctuidae) Pupal Susceptibility to Steinernematid Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of economic entomology*. 88 (4): 835–839.
- Indrayani, I. G. A. A., S. Subiyakto, & C. Chaerani. 2019. Patogenisitas Nematoda Entomopatogen terhadap Hama Uret Tebu Lepidoptera stigma (Coleoptera: Scarabaeidae). *Buletin Plasma Nutfah*. 24 (2): 83–88.
- Johannsen, O. A. 1922. Stratiomyiid Larvae and Puparia of the North Eastern States. *Journal of the New York Entomological Society*. 30 (4): 141–153.
- Kaya, H. K. & R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic Nematodes. *Annual review of entomology*. 38 (1): 181–206.
- Lalander, C., E. Ermolaev, V. Wiklicky & B. Vinneras. 2020. Process Efficiency and Ventilation Requirement in Black Soldier Fly Larvae Composting of Substrates with High Water Content. *Science of the Total Environment*. 729 : 138968.
- Lewis, E. E., M. Ricci, & R. Gaugler. 1996. Host Recognition Behaviour Predicts Host Suitability in the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Parasitology*. 113 (6): 573–579.
- Lindegren, J. E., K. F. Meyer, T. J. Henneberry, P. V. Vail, L. J. Forlow Jech, & K. A. Valero. 1993. Susceptibility of Pink Bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) Soil Associated Stages to the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *The Southwestern entomologist (USA)*.
- Miranda, C. D., J. A. Cammack, & J. K. Tomberlin. 2020. Mass Production of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae) Reared On Three Manure Types. *Animals*. 10 (7): 1243.
- Muhlison, W., L. Purnamasari, I. Sucipto, T. W. Saputra, & N. K. N. Ahmad. 2021. Study of the Bioconversion Process of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae in Decomposition of Various Variations of Organic Waste. *Techno: Jurnal Penelitian*. 10 (2): 115–124.
- Purwaningrum, W. 2006. Pengaruh Tiga Jenis Mangsa terhadap Biologi Kepik Predator *Sycanus annulicornis* Dohrn. (Hemiptera: Reduviidae). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Ravzanaadii, N., S. H. Kim, W. H. Choi, S. J. Hong, & N. J. Kim. 2012. Nutritional Value of Mealworm, *Tenebrio molitor* as Food Source. *International Journal of Industrial Entomology*. 25 (1): 93–98.
- Shapiro-Ilan, D. I. & R. A. N. D. Y. Gaugler. 2002. Production Technology for Entomopathogenic Nematodes and Their Bacterial Symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 28 (3): 137–146.
- Sheppard, D. C., G. L. Newton, L. S. A. Thompson, & S. Savage. 1994. A Value Added Manure Management System Using the Black Soldier Fly. *Bioresource technology*. 50 (3): 275–279.
- Susilo, F. X. 2007. *Pengendalian Hayati: dengan Memberdayakan Musuh Alami Hama Tanaman*. Graha Ilmu.
- Tourtois, J. S. 2014. *On Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae): A Potential Rearing Host, Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae) and Compatibility with a Predatory Beetle, *Dalotia coriaria* (Kraatz) (Coleoptera: Staphylinidae)*. Michigan State University.
- Ushakova, N. À., A. E. Dontsov, N. L. Sàkina, E. S. Brodsky, I. A. Ratnikova, N. N. Gavrilova, A. I. Bàstrakov, A. A. Kozlova, & R. V. Nekrasov. 2017. Melanin Properties at the

- Different Stages Towards Life Cycle of the Fly *Hermetia illucens*. *Ukrainian Journal of Ecology*. 7 (4): 424–431.
- Webster, J. P. 2009. *Natural History of Host-Parasite Interactions*. Academic Press.
- White, G. F. 1927. A Method for Obtaining Infective Nematode Larvae from Cultures. *Science*. 66 (1709): 302–303.
- Xia, J., C. Ge, & H. Yao. 2021. Antimicrobial Peptides from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Potential Antimicrobial Factors Representing an Alternative to Antibiotics in Livestock Farming. *Animals*. 11 (7): 1937.
- Zozo, B., M. M. Wicht, V. V. Mshayisa, & J. van Wyk. 2022. The Nutritional Quality and Structural Analysis of Black Soldier Fly Larvae Flour Before and After Defatting. *Insects*. 13 (2): 168.
- van Zyl, C. & A. P. Malan. 2014. Optimization of Inoculation Techniques for *in vivo* Mass Culture of Entomopathogenic Nematodes Through Nematode and Insect Host Manipulation. *African Entomology*. 22 (2): 405–416.