



Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Sirkuler

TEKNOLOGI TANAMAN REMPAH DAN INDUSTRI

Nematoda Heterorhabditis spp sebagai

AGENS HAYATI

Pengendali Hama Tanaman

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aromatik Tanaman Industri



Unit Penerbitan dan Publikasi

Balitttri 2011

KATA PENGANTAR

Pengendalian hayati merupakan salah satu upaya pengendalian hama dengan memanfaatkan musuh alami untuk menekan kerusakan yang disebabkan oleh Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Agensia hayati berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 411 tahun 1995, yaitu setiap organisme yang meliputi spesies, subspecies, varietas, semua jenis serangga, nematoda, protozoa, cendawan (fungi), bakteri, virus, mikoplasma serta organisme lainnya yang dapat dipergunakan untuk keperluan pengendalian organisme pengganggu, proses produksi, pengolahan hasil pertanian dan berbagai keperluan lainnya.

Salah satu agensia hayati yang telah dikembangkan adalah penggunaan nematoda patogen serangga (NPS) yaitu nematoda yang hidup dalam tubuh serangga dan bersifat parasit terhadap inangnya dalam pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT), NPS memberi prospek baik karena nematoda banyak ditemukan di dalam tanah.

Pedoman ini menjelaskan jenis dan proses pengendalian dari NPS tersebut terhadap hama dan penyakit tanaman sebagai informasi untuk para peneliti, penyuluh, penentu kebijakan dan atau pengusaha pestisida hayati.

Kami mengucapkan terima kasih kepada penyusun yang telah bekerja keras, semoga buku ini menjadi pedoman untuk petani, penyuluh dan penentu kebijakan dalam pembangunan pertanian kedepan, diharapkan kritik dan saran membangun untuk kesempurnaan buku ini.

Balai Penelitian Tanaman Rempah
dan Aneka Tanaman Industri
Kepala,



Dr. Ir. Agus Wahyudi, M.S.

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

1.2. Tujuan

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
PENDAHULUAN.....	1
NEMATODA PATOGEN SERANGGA SEBAGAI AGENS HAYATI	2
GENUS <i>Heterorhabditis</i> AGENS HAYATI POTENSIAL.....	4
MORFOLOGI DAN ANATOMI <i>Heterorhabditis</i> spp.	5
BIOLOGI <i>Heterorhabditis</i>	6
PENYEBARAN <i>Heterorhabditis</i> spp.	7
MEKANISME INFEKSI <i>Heterorhabditis</i> spp.	8
CARA PERBANYAKAN	11
APLIKASI NPS	13
PENUTUP	16
KEPUSTAKAAN	17

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Daftar spesies <i>Heterorhabditis</i> dan bakteri simbiionnya	4
Tabel 2. Aplikasi <i>Heterorhabditis</i> spp. pada beberapa serangga hama tanaman	14
Tabel 3. Produk nematoda yang telah diproduksi secara komersial	14

199

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Anatomi <i>Heterorhabditis</i> spp dewasa	6
Gambar 2. <i>Heterorhabditis dawnesi</i> spp. simbiionnya	6
Gambar 3. Siklus hidup <i>Heterorhabditis</i> spp.	7
Gambar 4. Uret <i>T. molitor</i> yang sehat	11
Gambar 5. Suspensi JI <i>Heterorhabditis</i> diinokulasikan	11
Gambar 6. Larva <i>T. molitor</i> dimasukkan dalam kotak	11
Gambar 7. Kotak Pemancingan NPS	12
Gambar 8. <i>Akuarium</i> tempat pemeliharaan NPS	12
Gambar 9. Produk NPS dalam bentuk spons	16

PENDAHULUAN

Salah satu kendala biologis yang sangat penting dalam budidaya tanaman adalah adanya serangan hama yang dapat menurunkan kuantitas dan kualitas produksi bahkan dapat mengakibatkan gagal panen. Upaya untuk mengatasi serangan hama tanaman budidaya telah dilakukan sejak dahulu dengan berbagai cara. Cara yang paling umum dilakukan adalah dengan menggunakan insektisida kimia sintetik secara intensif, sehingga menimbulkan dampak negatif yang jauh lebih besar dibandingkan dengan manfaat dan tujuan penggunaan insektisida kimia tersebut. Penggunaan insektisida kimia menimbulkan dampak negatif antar lain: mengakibatkan resistensi hama sasaran (Endo *et al.*, 1988), gejala resurgensi hama (Armes *et al.*, 1995), terbunuhnya musuh alami (Tengkano *et al.*, 1992), meningkatnya residu pada hasil, mencemari lingkungan dan gangguan kesehatan bagi pengguna (Oka, 1995; Schumutterer, 1995). Di samping dampak buruk terhadap lingkungan, penggunaan insektisida kimia juga memerlukan biaya yang mahal (Bedjo, 2003). Mengingat besarnya bahaya yang ditimbulkan akibat penggunaan insektisida kimia tersebut, maka upaya pengendalian hama saat ini tidak boleh dipisahkan dari aspek ekologis dan ekonomis. Secara ekologis, dalam pengambilan keputusan untuk menentukan teknik pengendalian hama yang akan digunakan harus memperhatikan kesehatan lingkungan dan keseimbangan ekosistem. Secara ekonomis, teknologi pengendalian hama yang akan diterapkan harus menghitung terlebih dahulu rasio antara biaya pengendalian dengan keuntungan yang akan diperoleh dari kehilangan hasil yang dapat diselamatkan. Oleh karena itu upaya mencari teknologi pengendalian hama alternatif pengganti insektisida kimia sangat diperlukan.

Pengendalian hayati merupakan salah satu upaya pengendalian hama dengan memanfaatkan musuh alami sebagai agensia hayati untuk menekan kerusakan yang disebabkan oleh Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Pengertian agensia hayati berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 411 tahun 1995, yaitu setiap organisme yang meliputi spesies, subspecies, varietas, semua jenis serangga, nematoda, protozoa, cendawan (fungi), bakteri, virus, mikoplasma serta organisme lainnya dalam semua tahap perkembangannya yang dapat dipergunakan untuk keperluan pengendalian hama dan penyakit atau organisme pengganggu, proses produksi, pengolahan hasil pertanian dan berbagai keperluan lainnya (Departemen Pertanian, 1995).

Dalam perkembangannya, pemanfaatan agens hayati untuk mengendalikan hama semakin menarik untuk diteliti dan memberikan harapan efektifitasnya terhadap hama sasaran sehingga dapat mengurangi input produksi pertanian.

Salah satu agensia hayati yang telah dikembangkan adalah penggunaan nematoda patogen serangga (NPS) yaitu nematoda yang hidup dalam tubuh serangga dan bersifat parasit terhadap inangnya. Penggunaan NPS dalam pengendalian OPT memberi prospek baik karena nematoda banyak terdapat di daerah tropika dan juga banyak ditemukan di dalam tanah.

NEMATODA PATOGEN SERANGGA SEBAGAI AGENS HAYATI

Salah satu teknologi alternatif pengganti insektisida kimia sintetik untuk mengendalikan hama tanaman yang ramah lingkungan, murah dan mudah dilakukan adalah penggunaan nematoda patogen serangga (*entomopathogen nematode*). Menurut Gaugler (2002) perkembangan penelitian dan pemanfaatan NPS sebagai agens hayati pengendali hama telah berkembang pesat dan melibatkan berbagai disiplin ilmu, mulai dari biologi molekuler sampai ke masalah ekologi di lapangan.

Nematoda patogen serangga (NPS) adalah nematoda (cacing) berukuran sangat kecil yang hidup dalam tubuh serangga dan bersifat parasit terhadap inangnya. Sampai saat ini telah diketahui terdapat 23 famili nematoda yang berasosiasi dengan serangga, dan 7 diantaranya telah digunakan sebagai agensia hayati potensial, yaitu: Mermithidae dan Tetradenematidae (Ordo: Stichosomida), Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae dan Sphaerulariidae (Ordo: Tylenchida), Heterorhabditidae dan Steinernematidae (Ordo: Rhabditida) (Koopenhofer & Kaya, 2002). Akan tetapi, yang telah digunakan sebagai bio-insektisida terbatas pada dua famili saja, yaitu: Heterorhabditidae dan Steinernematidae (Ordo: Rhabditida) (Pionar & Thomas, 1984; Grewal & Georgis, 1999; Koopenhofer & Kaya, 2002; Gaugler, 2002). Menurut Koopenhofer & Kaya (2002) nematoda dari famili Heterorhabditidae dan Steinernematidae inilah yang secara tegas disebut sebagai *entomopathogenic nematodes* (nematoda patogen serangga/NPS), karena mampu mematikan serangga inang dalam waktu yang sangat cepat (1–4 hari) sebagai akibat hubungan kinerja mutualismenya dengan bakteri.

Dibandingkan insektisida kimia penggunaan NPS memiliki keuntungan antara lain: tidak meracuni lingkungan, aman bagi manusia, hewan dan tanaman (Van Driesche & Bellows, 1996). Di samping itu NPS, adalah satu-satunya patogen serangga yang secara aktif mencari dan menginfeksi serangga inang. Hal itu disebabkan karena untuk dapat memperbanyak diri, NPS harus masuk dalam tubuh serangga inang, kemudian menghasilkan keturunan juvenil infektif yang baru. Juvenil infektif ini bersifat aktif mencari mangsa dan mampu mencapai serangga yang terletak

dalam habitat yang tersembunyi, dalam jaringan tanaman, atau di dalam tanah serta tidak menimbulkan bau pada inang yang mati.

Patogenisitas nematoda secara umum melalui beberapa tahap, antara lain invasi, evasi dan toksikogenesis. Tahapan-tahapan tersebut di atas akan dilalui secara berurutan, mulai saat nematoda berhasil mempenetrasi serangga inang hingga bakteri simbiosis nematoda keluar menuju bagian dalam tubuh serangga dan melepaskan racun yang dapat menyebabkan kematian serangga. Masing-masing tahapan tersebut sangat dipengaruhi oleh enzim, pH, suhu dalam tubuh serangga, dan suhu lingkungan (Gaugler, 2002).

Dalam tubuh nematoda terdapat bakteri yang hidup bersimbiosis dan memiliki senyawa racun yang efektif sehingga mampu membunuh serangga inang (Kaya & Koppenhfer, 1996). Tanpa adanya bakteri simbiosis, nematoda patogen serangga tidak dapat berkembang dengan baik. Bakteri simbiosis juga tidak dapat hidup tanpa nematoda patogen serangga. Nematoda patogen serangga menyimpan sekitar 0-250 sel bakteri simbiosis dalam ususnya. Setiap spesies nematoda bersimbiosis dengan jenis bakteri tertentu, sedangkan satu jenis bakteri dapat berasosiasi dengan lebih dari satu jenis nematoda (Burnell & Stock 2000 *dalam* Lacey *et al.*, 2001).

Nematoda masih dapat membunuh serangga inang tanpa adanya bakteri simbiosis, akan tetapi proses matinya inang akan lebih lambat. Selain itu, nematoda juga tidak dapat berkembangbiak di dalam tubuh inang karena tidak mendapat asupan nutrisi yang dihasilkan oleh bakteri. Tanpa memakan bakteri. Simbiosis mutualisme antara nematoda dengan bakteri ini saling menguntungkan bagi kedua belah pihak. Menurut Koopenhofer & Kaya (2002), keuntungan bagi nematoda yang diperoleh dari bakteri adalah: (a) mempercepat dalam mematikan serangga, (b) mengkondisikan lingkungan yang baik untuk perkembangan nematoda dengan menghasilkan antibiotik yang mampu menekan mikroorganisme sekunder, (c) menguraikan jaringan tubuh serangga inang menjadi sumber pakan. Sementara itu keuntungan bagi bakteri yang diperoleh dari nematode adalah: (a) perlindungan dari kondisi lingkungan luar, (b) membantu penetrasi ke dalam *hemocoel* inang, (c) menghambat kinerja protein antibakteri dari serangga inang.

Genus *Heterorhabditis* dari famili Heterorhabditidae telah diformulasikan menjadi bioinsektisida yang sangat efektif untuk mengendalikan berbagai serangga hama tanaman budidaya (Grewal & Georgis, 1999). Dari genus ini menurut Koopenhofer & Kaya (2002) dan Gaugler (2002) telah ditemukan 8 spesies, sedangkan menurut Hunt (2007 *dalam* Chung *et al.* (2010) telah ditemukan 15 spesies.

GENUS *Heterorhabditis* AGENS HAYATI POTENSIAL

Genus *Heterorhabditis* merupakan salah satu nematoda patogen serangga yang sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati. Nematoda dari genus ini berasosiasi dengan bakteri *Photorhabdus* (Pionar & Thomas, 1984; Grewal & Georgis, 1999; Koopenhofer & Kaya, 2002; Gaugler, 2002). Bakteri *Photorhabdus* yang terdapat dalam tubuh nematoda tersebut memiliki senyawa racun yang efektif sehingga mampu membunuh serangga inang (Kaya & Koppenhfer, 1996). Tanpa adanya bakteri simbiosis, *Heterorhabditis* tidak dapat berkembang dengan baik. Bakteri simbiosis *Photorhabdus* juga tidak dapat hidup tanpa nematoda *Heterorhabditis*. Bakteri *Photorhabdus* memiliki karakteristik dapat berbeda dengan bakteri lainnya, yaitu dapat memancarkan cahaya apabila ditempatkan pada ruangan gelap (*luminescent*) (Koopenhofer & Kaya, 2002). Bakteri *P. luminescens* adalah bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif dari famili Enterobacteriaceae. Interaksi antara nematoda dan bakteri bekerja pada tiga level, yaitu penyediaan nutrisi penting bagi nematoda oleh bakteri, penyimpanan bakteri di dalam saluran pencernaan juvenil infeksi nematoda dan patogenisitas (Chaerani *et al.*, 2001). Beberapa spesies *Heterorhabditis* dan bakteri simbiosisnya yang telah diidentifikasi terlihat dalam Tabel 1 dan beberapa spesies yang telah digunakan sebagai agensia pengendali hayati adalah *H. indicus*, *H. bacteriophora*, *H. megidis* dan *H. marelatus*.

Tabel 1. Daftar spesies *Heterorhabditis* dan bakteri simbiosisnya

Spesies <i>Heterorhabditis</i>	Bakteri simbiosis <i>Photorhabdus</i>
<i>H. argentinensis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. bacteriophora</i>	<i>P. luminescens</i> / <i>P. temperata</i>
<i>H. brevicaudis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. hawaiiensis</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. indica</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. marelatus</i>	<i>P. luminescens</i>
<i>H. megidis</i>	<i>P. temperate</i>
<i>H. zealandica</i>	<i>P. temperata</i>

Sumber: Koopenhofer & Kaya (2002)

MORFOLOGI DAN ANATOMI

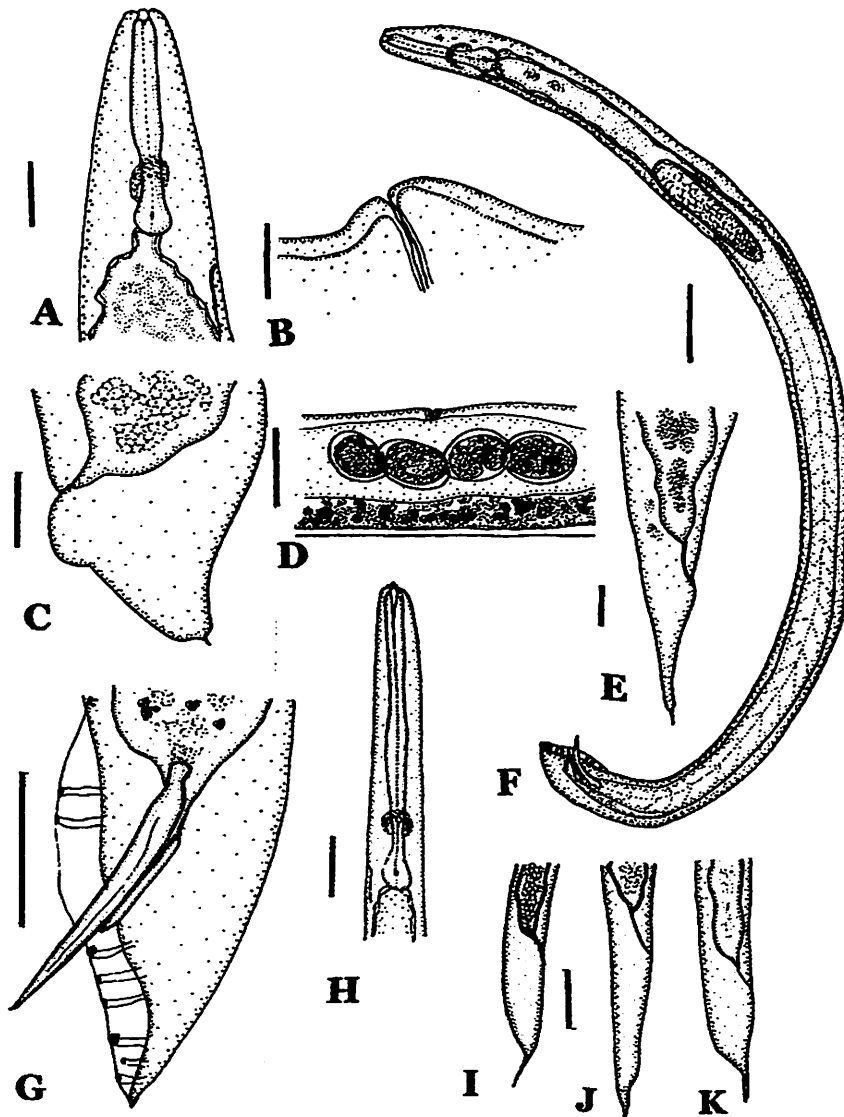
Heterorhabditis spp

Karakter morfologi dan morfometrik fase nematoda dewasa dan stadia ketiga juvenil infeksi digunakan untuk tujuan identifikasi ataupun sebagai petunjuk perbedaan morfospesies (Stock & Kaya, 1996). Struktur tubuh nematoda berbentuk sederhana berupa tabung yang disebut sebagai *pseudocoelomate*. Secara umum, tubuh nematoda tidak bersegmen, silindris memanjang dan simetris bilateral. Fase imago *Heterorhabditis* memiliki dua jenis kelamin, yaitu jantan dan hermaprodit. Hermaprodit dewasa tubuhnya lebih besar dan lebih panjang daripada jantan, pada pertengahan tubuhnya terdapat vulva yang berfungsi untuk perkawinan. Pada bagian kepala terdapat satu mulut dengan enam bibir yang menyerupai gigi dan terdapat satu papilla. Sedangkan dewasa jantan *Heterorhabditis* tubuhnya lebih kecil dan lebih pendek dari pada betina, ujung posterior melengkung dan terdapat sepasang spikula sebagai alat kopulasi. Kepala spikula pendek, berasal dari penyempitan lamina dan *gubernaculum*, berukuran setengah dari panjang spikula.

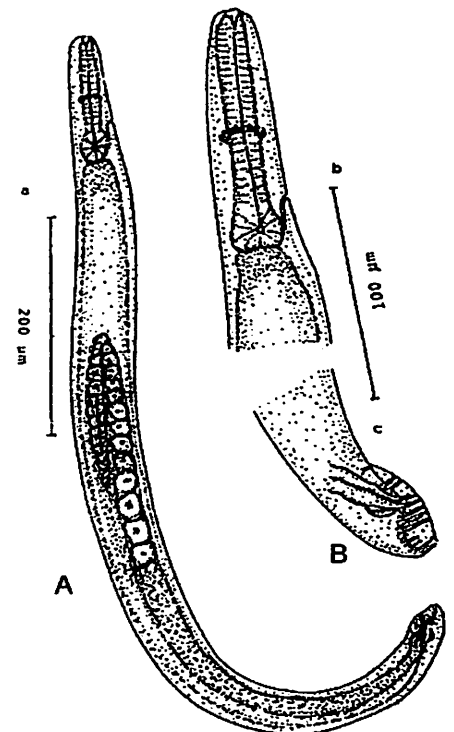
Warna tubuh *Heterorhabditis* adalah transparan. Nematoda tersebut memiliki panjang tubuh 260-715 μm dengan lebar tubuh 16-27 μm . Panjang tubuh juvenile infeksi stadia ketiga *H. downesi* n. sp. dan *H. argentinensis* adalah 637 μm , sedangkan *H. marelatus* adalah 640 μm (Stock *et al.* 2002). Menurut Grewal & Georgis (1999) ukuran *H. bacteriophora* panjangnya 512-671 μm dengan lebar 18-31 μm , dan *H. megidis* berukuran panjang 736-800 μm dan lebar 27-32 μm .

Nematoda dewasa tersusun oleh ribuan sel-sel somatik dengan ratusan sel diantaranya membentuk sistem reproduksi. Nematoda memiliki sistem pencernaan, sistem ekskresi, sistem syaraf, sistem pengeluaran dan sistem reproduksi, tetapi tidak memiliki sistem peredaran darah. Sistem pencernaan terdiri dari stoma, esofagus (terdiri atas corpus (*procorpus* dan *metacorporus*)), *isthmus* dan *basal bulbs*, usus, rektum dan anus. Nematoda patogen serangga umumnya tidak memiliki stilet. Lubang ekskretori dan *nerve ring* juvenil infeksi berada di bagian posterior.

Gambar 1 menunjukkan *H. indicus* dewasa jantan dan hermaprodit dan Gambar 2 menunjukkan morfologi salah satu jenis nematoda patogen serangga *H. downesi*



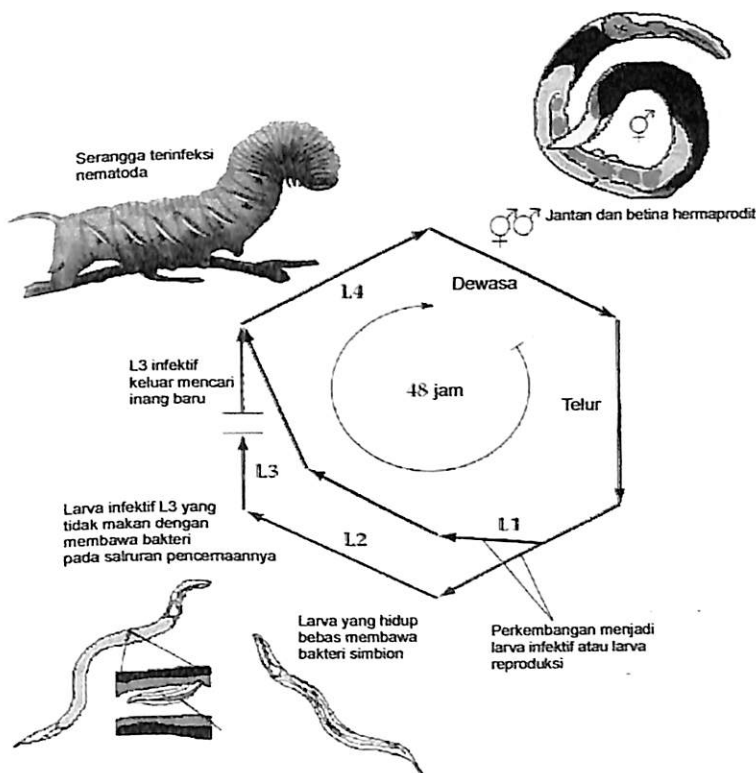
Gambar 2. *Heterorhabditis downesi* n. sp. A. Ujung anterior hermafrodit, B. Vulva hermafrodit, C. Ekor hermafrodit tampak lateral, D. Vulva betina, E. Ekor betina tampak lateral, F. Jantan, G. Ekor jantan tampak lateral, H. Ujung anterior juvenile infeksi stadia ketiga, I-K. Ekor juvenile infeksi stadia ketiga. Garis skala: A,D-F, 50 μ m; B,C,G,H, 25 μ m; I-K, 18 μ m (Stock et al., 2022)



Gambar 1. Anatomi *Heterorhabditis* spp dewasa: A) Hermafrodit, B) Jantan (Sumber: nematology.ifas.ufl.edu)

BIOLOGI *Heterorhabditis*

Siklus hidup nematoda terdiri dari telur, juvenil infeksi dan dewasa. Nguyen & Smart (1998) mengamati perkembangan juvenil infeksi *Heterorhabditis* di dalam inang *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Juvenil infeksi stadia kedua memiliki kutikula yang akan hilang selama penyimpanan atau setelah berada di dalam *hemocoel* serangga. Umumnya



Gambar 3. Siklus hidup *Heterorhabditis* spp. (Sumber: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

setelah satu atau dua hari di dalam hemosoel serangga, juvenil infektif stadia kedua akan berganti kulit menjadi juvenil infektif stadia ketiga. Ukuran tubuh nematoda pada tahap ini bertambah besar. Pada *H. bacteriophora* dan *H. megidis* hari ketiga juvenil infektif stadia ketiga akan berganti kulit menjadi juvenil infektif keempat, dan juga juvenil infektif fase hermafroditnya. Pada *H. hawaiiensis* semua juvenil infektif menjadi hermafro-

dit. Juvenil infektif umumnya pada hari keempat semua juvenil infektif menjadi juvenil infektif hermafrodit dan pada hari kelima nematoda berubah menjadi dewasa. Betina dewasa dapat berupa hermaprodit atau *amphimictic*. *Heterorhabditis* dapat berkembang menjadi hermafrodit, meskipun generasi selanjutnya akan menghasilkan jantan dan betina. Generasi pertama juvenil infektif yang dihasilkan dari hermaprodit menyelesaikan siklusnya selama enam hari. Gambar 3 menunjukkan bagan siklus hidup *Heterorhabditis*.

PENYEBARAN *Heterorhabditis* spp.

Penelitian tentang nematoda patogen serangga sudah banyak dilakukan di berbagai negara. Hal ini menunjukkan bahwa NPS tersebar secara global. Tahap yang aktif bergerak adalah tahap juvenil infektif, terutama stadia ketiga. Secara individu, penyebaran NPS sangat terbatas, yaitu sekitar 90 cm ke arah horizontal maupun vertikal selama 30 hari (Koopenhofer & Kaya,

2002). Faktor-faktor yang mempengaruhi mobilitas NPS adalah kelembaban, suhu dan struktur tanah. Nematoda membutuhkan film air yang menyelubungi area tanah. Penyebaran secara pasif dibantu oleh air, angin, inang yang terinfeksi, dan aktifitas manusia. Dengan cara demikian, NPS dapat tersebar lebih jauh.

Di Indonesia *H. indicus* telah ditemukan di daerah Jawa, Ambon, Bali dan Seram yang merupakan habitat pantai (Griffin *et al.*, 2000, Samsudin 2008). Hasil survey Chaerani *et al.* (2007) terlihat bahwa NPS banyak diperoleh pada daerah pantai berpasir lembab seperti Cisolok, Karanghau, Cibangban, Merak. NPS tidak terdeteksi pada pantai berpasir kering seperti pantai Ujung Genteng dan Parangtritis. Selain itu NPS juga dapat ditemukan pada hampir semua jenis tanaman yang dibudidayakan maupun tanaman yang tidak dibudidayakan. Steinernematidae dan Heterorhabditidae juga ditemukan di California, Tamil dan Nepal (Stock *et al.*, 1999, Umamaheswari *et al.* 2004; Hari *et al.* 2010) dan *H. megidis* ditemukan di Turki pertama kali oleh Yilmaz *et al.* (2009).

Perbedaan sebaran nematoda lebih ditentukan oleh perbedaan sebaran serangga inang dan species nematoda daripada jenis habitat (Chaerani *et al.*, 2007).

MEKANISME INFEKSI *Heterorhabditis* spp.

Juvenil infektif *Heterorhabditis* spp mencari inang dengan memindai CO₂, senyawa kimia alami, maupun ekskresi yang dihasilkan oleh serangga inang. Ketika menemukan inang yang cocok, NPS akan melakukan penetrasi langsung melalui kutikula atau lubang alami pada integumen inangnya misalnya mulut, anus, dan spirakel. Juvenil infektif *Heterorhabditis* sp. melakukan penetrasi pada integumen inang dengan tonjolan gigi pada ujung kepala. Suhu lingkungan yang kurang menguntungkan akan menggagalkan proses penetrasi nematoda ke dalam tubuh serangga, dan akan menyebabkan nematoda mengalami kematian (Griffin, 1996).

Setelah berada dalam hemosoel serangga inang, juvenil infektif *Heterorhabditis* spp. melepaskan bakteri yang dikandungnya (*Photorhabdus* spp.). Simbiosis mutualisme antara bakteri simbion dan nematoda merupakan syarat mutlak yang hampir tidak dapat dipisahkan antara keduanya. Bakteri tidak pernah dapat masuk ke dalam tubuh serangga inang tanpa nematoda sehingga antara bakteri dan nematoda saling menguntungkan satu dengan lainnya. Bakteri simbion

Photorhabdus terdapat di dalam saluran pencernaan nematoda *Heterorhabditis* spp (Sulistyanto, 1998, Boemare, 2002). Bakteri ini akan berkembangbiak dan membunuh inang serangga setelah menyerang hemolimfa. Hasil pencernaan tersebut adalah nutrisi yang dapat digunakan oleh nematoda untuk tumbuh dan berkembang. Serangga inang dapat mati dengan cepat karena terjadi septicemia (keracunan darah) dalam 1-2 hari (Grewal & Georgis, 1999). Hal ini terjadi dalam waktu dua sampai tiga hari setelah penetrasi juvenil infeksi, tergantung temperatur dan spesies nematoda (Ehlers & Peters 1995, Burman 1982 dalam Perez & Lewis 2003). Nematoda dapat berkembangbiak sampai dua generasi di dalam tubuh inang yaitu sampai nutrisi yang diperoleh dari inang habis. Ribuan juvenil infeksi baru akan muncul mencari inang baru. Jika tidak ditemukan inang baru, tahap juvenil infeksi dan dewasa akan bergerak ke dalam tanah dan dapat bertahan hidup sampai beberapa bulan.

Gejala umum dan tanda serangga inang yang terinfeksi nematoda patogen serangga adalah serangga akan berhenti bergerak dan makan. Warna tubuh juga akan berubah akibat pigmen yang dihasilkan oleh bakteri. Serangga inang yang mati (*cadaver*) dapat memancarkan cahaya (*luminescen*) pada awal kematiannya. Setelah terserang *Heterorhabditis* spp. tubuh larva *Lophobaris piperis* yang awalnya berwarna putih keruh akan berubah menjadi coklat kehitaman dan mengempis selanjutnya akan mengering.

Faktor biotik dan abiotik mempengaruhi secara langsung maupun tidak langsung terhadap nematoda patogen serangga. Faktor biotik seperti antibiosis, kompetisi, musuh alami dan faktor abiotik mencakup kelembaban, radiasi matahari, jenis tanah dan suhu. Suhu menjadi faktor utama yang sangat berpengaruh dalam perkembangan, reproduksi dan mobilitas nematoda. Suhu lingkungan yang tidak sesuai dapat menggagalkan proses penetrasi nematoda ke dalam tubuh serangga dan dapat menyebabkan kematian nematoda.

Suhu juga mempengaruhi virulensi nematoda patogen serangga. Suhu optimum untuk reproduksi *H. bacteriophora* adalah 24-30°C dan suhu optimum untuk *H. indicus* tetap infeksi adalah 7-35°C dengan kelembaban lebih dari 50%. Suhu rendah dibawah 15°C atau diatas 35°C menyebabkan terhentinya pertumbuhan dan perkembangan nematoda. Kisaran suhu untuk reproduksi dan perkembangan nematoda lebih sempit daripada kisaran suhu untuk infeksi (Chung *et al.*, 2010). Infeksi nematoda tidak selalu sesuai dengan perkembangan nematoda dan pertumbuhan bakteri.

Penggunaan nematoda patogen serangga (NPS) telah dicoba untuk mengendalikan penggerek batang padi, hama lanas (*Cylas formicarius*), *Lyriomyza*, ulat grayak (*Spodoptera litura*), penggerek tongkol jagung (*Ostrinia furnacalis*), ulat kantong, dan penggerek polong kedelai

(*Etiela zinkenella*), rayap tanah (*Coptothermes curvignathus*), hama ulat jantung kubis (*Crocidolomia binotalis*) (Erningtyas, 2006; Subagiya, 2005).

Hasil uji lapang menunjukkan bahwa nilai LC_{50} *Heterorhabditis* sp. untuk populasi rayap tanah *C. curvignathus* adalah 355 IJ/ml dan rata-rata persentase mortalitas rayap tanah *C. curvignathus* dalam satu koloni akibat serangan nematoda *Heterorhabditis* sp. sebesar 95,45 % pada kerapatan *Heterorhabditis* sp. sebesar 600 IJ/ml (Erningtyas, 2006).

ISOLASI NPS

NPS dapat diisolasi dari sampel tanah berpasir yang porositasnya tinggi. Isolasi nematoda *Heterorhabditis* sp. dapat dilakukan dengan menggunakan larva serangga sebagai umpan. Peneliti dari berbagai tempat seperti di Australia, Malaysia, Kanada, Inggris, Amerika Serikat dan Sri Lanka menggunakan larva *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Galleriidae) sebagai umpan dan larva *G. mellonella* dianggap sebagai serangga yang paling rentan terhadap NPS sehingga telah menjadi umpan standar untuk memancing nematoda. Akan tetapi di Indonesia larva *G. mellonella* sulit diperoleh. Hasil penelitian Chaerani *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ulat hongkong *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) dan “ulat cangkilung” tidak berbeda nyata efektivitasnya dalam memancing nematoda dibandingkan dengan *G. mellonella* sehingga kedua jenis ulat tersebut dapat digunakan sebagai umpan alternatif. Jika dilihat dari kemampuan memproduksi juvenil infeksi (JI) maka lebih baik menggunakan *T. molitor* dalam memancing nematoda karena ulat ini mudah diperoleh dari pedagang pakan burung dan pedagang peralatan pancing. Peneliti di Indonesia umumnya menggunakan *T. molitor* untuk memproduksi juvenil infeksi (JI) di laboratorium.

Isolasi NPS dari tanah dapat dilakukan dengan cara mengambil sampel tanah atau pasir pada kedalaman 10-15 cm lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik untuk dibawa ke laboratorium. Contoh tanah tersebut di tempatkan dalam botol selai, kemudian diinfestasi dengan ulat hongkong *T. molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) dan ditutup dengan tanah atau pasir yang telah dilembabkan hingga memenuhi botol. Setelah diinkubasikan pada suhu kamar dalam keadaan gelap selama 5 hari, ulat akan mati terinfeksi oleh nematoda. Ulat yang mati terinfeksi *Steinernema*, tubuhnya tampak berwarna coklat muda, sedangkan yang terinfeksi *Heterorhabditis* berwarna coklat tua agak kemerah-merahan.

Isolasi NPS dari tubuh ulat dilakukan dengan cara menempatkan ulat pada cawan petri

yang beralaskan kertas saring basah. Dalam waktu 2–3 hari, NPS akan keluar dari tubuh serangga dan masuk ke dalam air di cawan yang lebih besar.

CARA PERBANYAKAN

Nematoda *Heterorhabditis* dapat diproduksi massal sebagai agensia pengendali hayati secara *in vivo* dan *in vitro* (Grewal & Georgis, 1999).

Perbanyak secara *In Vivo*

Perbanyak secara *in vivo* adalah dengan memelihara dan memperbanyak NPS pada serangga inang. Cara ini relatif mudah dilaksanakan karena metodenya sederhana. Perbanyak nematoda *Heterorhabditis* sp. dapat dilakukan dengan menggunakan larva *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), “ulat cangkilung” nama lokal Sunda (Lepidoptera, famili dan species belum diketahui), *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) dan *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Menurut Chaerani *et al.*, (2007) kemampuan memproduksi juvenil infeksi (JI) pada *T. molitor* terbaik setelah *G. Mellonella*, sedangkan pada ulat cangkilung dan *S. litura* JI yang dihasilkan banyak yang mati.

Salah satu cara *in vivo* NPS *Heterorhabditis* adalah dengan menggunakan fase larva *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) sehat sebagai media pertumbuhan dan perkembangan nematoda dan bakteri simbiosis (Gambar 4). Larva *T. molitor* (ulat hongkong) mudah diperoleh karena dijual di pasaran dan biasa digunakan sebagai umpan memancing ikan. Ulat hongkong dapat dipelihara dan diperbanyak di laboratorium dalam kotak-kotak plastik yang tertutup yang diberi sedikit pur (pakan burung) sebagai makanan ulat tersebut. Bagian tutup di-



Gambar 4. Uret *T. molitor* yang sehat.



Gambar 5. Suspensi JI *Heterorhabditis* diinokulasikan secara merata



Gambar 6. Larva *T. molitor* dimasukkan dalam kotak yang diinokulasi kan JI

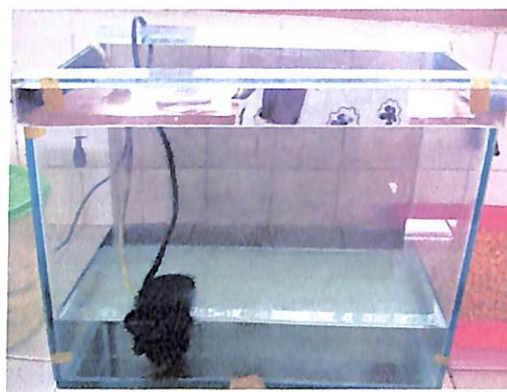
lubangi dan diberi kain kasa sehingga kondisi di dalam kotak plastik tidak lembab.

Langkah-langkah yang dilakukan untuk perbanyakan nematoda *Heterorhabditis* sp. secara *in vivo* adalah :

- Suspensi Juvenil Infektif (JI) nematoda *Heterorhabditis* sp diinokulasikan secara merata pada kotak plastik yg telah dialasi dua lapis kertas saring atau kertas koran (Gambar 5). Kemudian masukkan larva *T. molitor* dimasukkan sebanyak 50 ekor di atas kertas tersebut lalu ditaburkan sedikit pur (pakan burung) ke dalam kotak tersebut (Gambar 6). Kotak plastik ditutup rapat dengan tutup yang telah dilubangi dan diberi kain kasa. Hal ini dilakukan agar kondisi di dalam kotak plastik tidak terlalu lembab dan larva tidak dimakan semut.
- Larva *T. molitor* yang terinfeksi NPS akan mati dan berubah warna 2 hari setelah inokulasi ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat kemerahan (Gambar 7). Hasil pengamatan di laboratorium menunjukkan bahwa rata-rata larva *T. molitor* yang terinfeksi nematoda *Heterorhabditis* sp berkisar antara 80%-96,25% .
- Larva yang terinfeksi dipindahkan ke atas kain kasa pada penyangga di dalam kotak plastik yang telah diberi air (Gambar 8).
- Setelah diinkubasikan selama 8 hari, JI nematoda *Heterorhabditis* sp akan keluar dari larva *T. molitor* dan masuk ke dalam air. Selanjutnya, nematoda *Heterorhabditis* sp mulai bisa dipanen. Pemanenan dilakukan 2 hari sekali hingga hari ke 22 setelah inokulasi.
- Nematoda *Heterorhabditis* spp dapat disimpan dalam stoples atau akuarium yang diberi air (Gambar 9). Sirkulasi di dalam tempat penyimpanan tersebut diatur dengan menggunakan aerator. NPS dapat hidup dan tetap aktif selama satu bulan dalam kondisi demikian.



Gambar 7. Kotak pemancingan NPS



Gambar 8. Akuarium tempat pemeliharaan NPS

Perbanyakan secara *in vitro*

Perbanyakan cara ini relatif lebih sulit, tetapi lebih efisien untuk produksi skala besar atau komersial. Medium yang digunakan adalah bahan berprotein tinggi, seperti homogenat usus, ekstrak khamir, pepton, tepung kedelai, dan lain-lain. Perbanyakan bisa dilakukan di medium cair

atau semi padat. Medium semi padat dengan spon paling umum digunakan karena porositasnya tinggi.

Metode perbanyakan yang dilakukan Erningtyas (2006) menggunakan media agar yang dicampur dengan ampela ayam dimaksudkan sebagai suplai nutrisi bagi nematoda. Langkah-langkah yang dilakukan adalah :

- Ampela ayam direbus terlebih dahulu selama ± 10 menit kemudian di haluskan dengan blender
- Ampela ayam sebanyak 100 gram dicampurkan agar sebanyak 5 gram, dan air 500 ml lalu di-autoklaf selama 20 menit dengan tekanan 1 atm 121°C.
- Media agar yang telah di autoklaf kemudian dituang ke dalam cawan-cawan petri dan didinginkan minimal selama 2 hari sebelum digunakan. Sepasang nematoda dewasa dari perbanyakan *in vivo* kemudian di letakan pada media agar.
- Setelah 2 minggu, cawan petri berisi media *in vitro* diletakkan pada cawan lain yang lebih besar. Antara cawan berisi media dengan cawan yang lebih besar di letakkan kertas hisap. Ke dalam cawan besar diisikan air sehingga kertas hisap selalu terendam air. Cawan besar ditutup dan di letakkan dalam suhu kamar.
- Setelah 2 hari nematoda juvenile infektif yang terkumpul pada air di cawan besar dapat dipanen. Pemanenan dapat dilakukan setiap dua hari. Selain itu, nematoda patogen serangga dapat diproduksi massal secara liquid dalam fermentor dengan kapasitas 15.000 liter atau lebih dengan hasil 10^5 juvenil per millimeter (Friedman, 1990 dalam Rimansyah, 2010).

APLIKASI NPS

Strategi aplikasi di lapangan, sangat penting untuk diketahui dan strategi ini diperlukan terutama jika NPS diaplikasikan bersama dengan strategi pengendalian hama lainnya. Sifat kompatibel NPS dengan bahan-bahan kimia pertanian harus diuji terlebih dahulu agar pelepasan NPS di lapangan berhasil dengan baik.

Beberapa spesies nematoda telah diproduksi secara komersial dan digunakan dalam pengendalian hayati. Nematoda ada yang dideksikasi dan dicampur tepung atau granula seperti vermikulit atau bahan pembawa lainnya. Metode optimasi formulasi dan pengepakan adalah titik kritis bagi nematoda karena mereka harus dalam keadaan hidup ketika diaplikasikan.

Saat aplikasi penting untuk diperhatikan mengingat NPS mudah dinonaktifkan oleh sinar ultraviolet. Untuk mengurangi pengaruh sinar ultraviolet maka waktu aplikasi yang tepat adalah

suhu 4-20⁰C. Pada saat akan digunakan spons diperas dalam air dan diulangi beberapa kali lalu masukkan ke tangki penyemprotan. Pada saat penyemprotan, tangki semprot perlu digoyang-goyang beberapa saat karena nematoda tidak mengendap.



Gambar 9. Produk NPS dalam bentuk spons

PENUTUP

Heterorhabditis spp. termasuk dalam ordo Rhabditidae, famili Heterorhabditidae, merupakan salah satu jenis nematoda patogen serangga yang dapat dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati. Nematoda ini dapat diperbanyak secara *in vivo* dan *in vitro*. Nematoda ini bersifat aktif mencari inang di dalam tanah dan tempat-tempat tersembunyi dan telah dicoba digunakan untuk pengendalian beberapa hama seperti penggerek batang padi, hama lanas (*Cylas formicarius*), *Lyriomyza*, ulat grayak (*Spodoptera litura*), penggerek tongkol jagung (*Ostrinia furnacalis*), ulat kantong, dan penggerek polong kedelai (*Etiela zinkenella*), rayap tanah (*Coptothermes curvignathus*). Beberapa faktor yang mempengaruhi penggunaan nematoda patogen serangga (NPS) dalam pengendalian hayati yaitu kelembaban tanah, udara, suhu, tekstur tanah, waktu aplikasi.

KEPUSTAKAAN

- Aldomario SNJr, Mauro SG, Carla RC, Barbosa N. 2010. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Crop protection* 29 (6): 545-549.
- Armes NJ, Jadhav DR, Lonergan PA. 1995. Insecticide resistance in *Helicoverpa* (Hubner): status and prospects for its management in India. p. 522- 533. In Constable, G.A. dan N.W. Forrester (Eds.) Challenging the future: Proceedings of the World Cotton Conference I, Brisbane, Australia, February 14- 17 1994. CSIRO, Melbourne.
- Barbosa-Negrisoni, C.R.C., A.S. Negrisoni Jr., C. Dolinski, D. Bernardi. 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) to control Brazilian apple leafroller *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae). *Crop Protection* 29: 1274-1279
- Bedjo. 2003. Pemanfaatan *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus (SNPV) untuk pengendalian ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) pada tanaman kedelai. Lokakarya Pemanfaatan Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) sebagai agens hayati untuk mengendalikan hama pemakan daun kedelai *Spodoptera litura* F. 4 Nopember 2003 Balitkabi. 16 p.
- Carla, R.C. Barbosa-Negrisoni, Mauro S. Garcia, Claudia Dolinski , Aldomario S. Negrisoni Jr., Daniel Bernardi and Dori Edson Nava. 2009. Efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae), from Rio Grande do Sul Brazil, against *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. *Journal of Invertebrate Pathology* 102: 6-13
- Chaerani dan Waluyo. 2006. Pencarian nematode pathogen serangga (*Steinernema* dan *Heterorhabditis*) yang efektif untuk pengendalian hama lanas (*Cylas formicarius*) ubi jalar. *Widyariset*. 9(1): 19-27
- Chaerani dan Nurbaeti, B. 2007. Uji efektivitas nematoda entomopatogen (Rhabditida: Steinernema dan Heterorhabditis) sebagai musuh alami non-endemik penggerek batang padi kuning (*Scirpophaga incertulas*). *J. HPT Tropika*. 7(2): 71-79
- Cherani, Y. Suryadi, T.P. Priyatno, D. Koswanudin, U. Rahmat, Sujatmo, Yusuf dan C.T. Griffin. 2007. Isolasi nematode pathogen serangga *Steinernema* dan *Heterorhabditis*. *J. HPT Tropika*. 7(1): 1-9
- Chung, H.J., D.W. Lee., H.S. Yoon., S.M. Lee., C.G. Park and H.Y. Choo. 2010. Temperature and dose effects on the pathogenicity and reproduction of two Korean isolates of *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematode: Heterorhabditidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 13: 277-282

- Currant, J. 1992. Influence of application method and pest population size on the field efficacy of entomopathogenic nematodes. *Journal of nematology* 23(4): 631-636
- Departemen Pertanian. 1995. Peraturan Menteri Pertanian No. 411/Kpts/TP.120/6/1995 tentang Pemasukan Agens Hayati ke dalam Wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia. Jakarta
- Downes MJ, Griffin CT. 1996. Dispersal behavior and transmission strategies of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* and *Steinernema*. *J Biocontrol Sci and Technol.* 6:347-356
- Ehler, R. U. and A. Peters. 1995. *Entomopathogenic in Biology Control : Feasibility, Perspective and Possible Risk*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Endo S, Sutrisno, Samudra IM, Nugraha A, Soejitno J, Okada T. 1988. Insecticide Susceptibility of *Spodoptera litura* F. collected from three location in Indonesia. Seminar BORIF, 24 June 1988. 18 p.
- Erningtyas, T. 2006. Efikasi Nematoda Entomopatogen *Heterorhabditis* sp. Dan *Steinernema* sp. Isolat Bogor Sebagai Bioinsektisida Terhadap Rayap Tanah *Captothermes curvignathus* Holmgren (Isoptera:Rhinotermitidae). Tesis Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Gaugler R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. Cabi Publishing, New Jersey, USA. 388 p.
- Grewal P & Georgis R. 1999. Entomopathogenic nematodes. In Hall F.R. & Julius J.M. *Biopesticides Use and Delivery*. Humana Press. Totowa, New Jersey. p. 271-299.
- Griffin, C.T. 1996. Effect of prior storage condition on the infectivity of *Heterorhabditis* sp (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Fundamental and Applied Nematology*. 19:95-10
- Griffin, C.T., R. Chaerani, D. Fallon, A.P. Reid and M.J. Downes, Occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis indica* in Indonesia. 2000. *J. Helminthol.* 74: 143-150.
- Hall F.R. & Julius J.M. 1999. *Biopesticides Use and Delivery*. Humana Press. Totowa, New Jersey. 626 p.
- Hari BKC, Lieven W, Hira KM, Maurice M. 2010. Natural occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Nepal. *Journal of invertebrate Pathology* 103 (1): 74-78.
- HK, Gaugler R. 1993. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press. Boca Rabon Florida.
- Kaya HK and Gaugler R. 1993. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press. Boca Rabon Florida.

- Koppenhofer A.M. & Kaya H.K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. In Koul O. & Dhaliwal G.S. *Microbial Biopesticides*. Taylor & Francis. London and New York. P. 277 - 305.
- Koul O. & Dhaliwal G.S. 2002. *Microbial Biopesticides*. Taylor & Francis. London and New York. 340 p.
- Lacey, L. A., R. Frutos, H. K. Kaya, and P. Vail. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future?. *Biological Control* 21: 230-248
- Nguyen, Khuong B. and Grover C. Smart, Jr. 1998. Morphology of the Life Stages of three *Heterorhabditis* spp. from the Infective Juvenile to the Hermaphrodite. *Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings* (57): 101-107.
- Oka IN. 1995. *Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya di Indonesia*. Gadjah Mada University Press.
- Pionar O.G. Jr. & Thomas G.M. 1984. *Laboratory Guide to Insect Pathogens and Parasites*. Plenum Press, New York. 392 p.
- Samsudin, 2008. Pemanfaatan nematode *Heterorhabditis indicus* sebagai pengendali hayati hama tanaman. *Lembaga Pertanian Sehat*. Bogor.
- Schumutterer II. 1995. The Neem Tree, Source of Unique Natural Product for Integrated Pest Management, Medicine Industrial Other Purpose. VCH Verlagsgesellschaft, Vanheim. Federal Republic of Germany. Page 9.
- Subagiya. 2005. Pengendalian hayati dengan nematode entomogenus *Steinernema carpocapsae* (All) strain local terhadap hama *Cocidolomia binotalis* Zell di Tawangmangu. *Agrosains* 7(1) : 34-39
- Sulistyanto D. 1998. Entomotoksin kompleks nematoda entomopatogen. Makalah Seminar, Universitas Jember, Jember. 10 hal.
- Stock SP, Griffin CT, Burnell AM. 2002. Morphological characterisation of three isolates of *Heterorhabditis* Poinar, 1976 from the 'Irish group' (Nematoda: Rhabditida: Heterorhabditidae) and additional evidence supporting their recognition as a distinct species, *H. downesi* n. sp. *Systematic Parasitology* 51: 95-106
- Stock, S.P. & Kaya, H.K. 1996. A multivariate analysis of morphometric characters of *Heterorhabditis* species (Nemata: Heterorhabditidae) and the role of morphometrics in the taxonomy of species of the genus. *Journal of Parasitology*, 82, 806-813.
- Stock, S.P., Pryor, B.M. and Kaya, H.K. 1999. Distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in natural habitats in California, USA. *Biodiversity and Conservation*, 8, 535-549.

- Tanada Y. & Kaya H.K. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press. San Diego. California, USA. 666 p.
- Tengkano W, Harnoto, Taufik M, Iman M. 1992. Dampak negatif insektisida terhadap musuh alami pengisap polong. Seminar Hasil Penelitian Pendukung Pengendalian Hama Terpadu. Kerjasama Program Nasional PHT, BAPPENAS dengan Faperta-IPB. 29 p.
- Umamaheswari, R., M. Shivakumar and S. Subramanian, Host range of the native entomopathogenic nematodes from Tamil Nadu. 2004. *Insect Environ.* 10:151–152.
- Van Driesche R.G. & Bellows TS. Jr. 1996. *Biological Control*. Chapman & Hall, New York, USA. 539 p.
- Yilmaz, L. Waeyenberge, M. Demir, M. Moens and Z. Demirbag. 2009. First record of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* (Nematoda: Heterorhabditidae), from Turkey. *Turk. J. Agric. For.* 33: 385–391.

PEDOMAN PENULISAN

- 1. Sirkuler Teknologi Tanaman Rempah dan Industri merupakan publikasi semi ilmiah yang memuat hasil penelitian komoditas tanaman rempah dan tanaman industri yang belum pernah diterbitkan.**
- 2. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris, diketik pada kertas HVS ukuran A4 dengan jarak 1,5 sepasi, dalam format MS Word, font New Times Roman 12, 25 halaman.**
- 3. Judul ringkas, padat, jelas, menggambarkan isi dan substansi tulisan serta tidak lebih dari 15 kata.**
- 4. Penyusun ditulis tanpa gelar.**
- 5. Kata pengantar ditulis secara ringkas menghantarkan informasi dan tujuan penerbitan sirkuler ini.**
- 6. Struktural naskah terdiri dari pendahuluan, informasi teknologi dan analisa usahatani.**
- 7. Ucapan terima kasih bila dipandang perlu dapat dikemukakan diakhir naskah.**
- 8. Bahan bacaan, memuat nama pengarang, tahun penerbit, judul tulisan, terbitan, volume, nomor seri dan kota terbitan, disusun secara alfabetis, mengacu pada model standar.**
- 9. Naskah dikirim kepada Unit Penerbitan & Publikasi Balittri sebanyak satu eksemplar disertai file elektronik atau melalui e-mail: uppublikasi@gmail.com.**

