

Potensi dan Upaya Mempertahankan Kefektifan Beberapa Entomopatogen dalam Mengendalikan Larva *Oryctes rhinoceros* Linn. di Perkebunan Kelapa Sawit

The Potential and Efforts to Maintain the Effectiveness of Several Entomopathogens in Controlling Oryctes rhinoceros Larvae in Oil Palm Plantations

Henny Hendarjanti^{1*)}

¹PT. Astra Agro Lestari Tbk. Industrial Area, East Jakarta 13930, Indonesia

^{*)}Penulis untuk korespondensi: henny.hendarjanti@gmail.com

Sitasi: Hendarjanti H. 2021. The potential and efforts to maintain the effectiveness of several entomopathogens in controlling oryctes rhinoceros larvae in oil palm plantations. In: Herlinda S *et al.* (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-9 Tahun 2021, Palembang 20 Oktober 2021. pp. 411-425. Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

ABSTRACT

Oryctes rhinoceros Linn. (Coleoptera: Scarabaeidae) is an essential oil palm pest. In the field, entomopathogenic control is less than optimal because the environmental conditions are not suitable. The purpose of this study was to determine the potential and efforts to maintain the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* and Entomopathogens Nematodes (EPNs) for controlling *O. rhinoceros* larvae in oil palm plantations. The research has been conducted in immature oil palm plantations in Indragiri Hulu, Riau. The study used a non-factorial randomized block design with five treatments and three replications (EPNs: palm fronds mulch + no watering, palm fronds mulch + watering, palm fronds mulch + gunny sack + watering, *Metarhizium anisopliae*: palm fronds mulch + gunny sack + watering and control). Application of *M. anisopliae* with conidia density (1×10^6) with a dose of 0.15 l/m^2 and EPNs $20,000 \text{ ij/m}^2$. The application was carried out at the breeding site of rhinoceros beetle by spraying using a knapsack sprayer in the afternoon. The results showed that the pathogenicity of EPNs and *M. anisopliae* to larvae was 70.00 – 76.67% on the 24th day after application. On the first day after treatment, there was the death of larvae by EPNs. Application of *M. anisopliae* on larvae achieved death four days after application. The process of pathogenicity of EPNs in larvae was faster than that of *M. anisopliae*. The results showed that EPNs and *M. anisopliae* had an excellent opportunity to control *O. rhinoceros* and could be developed as an environmentally friendly and sustainable biological control.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, NEP, oil palm, pathogenicity, sustainability

ABSTRAK

Oryctes rhinoceros Linn. (Coleoptera: Scarabaeidae) merupakan hama penting kelapa sawit. Efektifitas pengendalian entomopatogen dilapang kurang optimal. Karena lingkungan mikro yang dibutuhkan oleh mikroorganisme tersebut kurang stabil sehingga sulit untuk berkembang. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi dan upaya mempertahankan keefektifan *Metarhizium anisopliae* dan nematoda entomopatogen (NEP) dalam mengendalikan larva *O. rhinoceros* diperkebunan kelapa sawit. Penelitian ini telah dilakukan di Perkebunan Kelapa sawit areal tanaman TBM-0 replanting di Indragiri Hulu, Riau. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) non faktorial yang terdiri dari 5 perlakuan (NEP: mulsa pelepah + tanpa penyiraman, mulsa pelepah +

Editor: Siti Herlinda *et. al.*

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

penyiraman, mulsa pelepah + karung goni + penyiraman, *Metarhizium anisopliae*: mulsa pelepah + karung goni + penyiraman, dan kontrol) dengan tiga ulangan. Aplikasi *M. anisopliae* dengan kerapatan konidia (1×10^6) dengan dosis 0.15 l/m² dan dosis NEP adalah 20,000 ij/ m². Aplikasi dilakukan pada tempat perkembangbiakan *O. rhinoceros* melalui penyemprotan dengan menggunakan knapsack sprayer pada sore hari. Hasil aplikasi menunjukkan patogenisitas NEP dan *M. anisopliae* terhadap larva *O. rhinoceros* adalah 70.00 – 76.67% pada hari ke-24 setelah aplikasi. Pada hari pertama setelah perlakuan, terjadi kematian larva *O. rhinoceros* oleh NEP. Sedangkan pada aplikasi *M. anisopliae*, larva *O. rhinoceros* mencapai kematian pada empat hari setelah aplikasi. Proses patogenitas NEP pada larva *O. rhinoceros* lebih cepat dibandingkan oleh *M. anisopliae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa NEP dan *M. anisopliae* memiliki peluang besar untuk mengendalikan *O. rhinoceros* dan dapat dikembangkan sebagai pengendalian biologi yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Kata kunci: berkelanjutan, kelapa sawit, *Metarhizium anisopliae*, NEP, patogenitas

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elais quinensis*) merupakan salah satu komoditas ekspor penting dari Indonesia. Saat ini Industri pertanian Indonesia sangat bergantung kepada produksi perkebunan kelapa sawit. Luas perkebunan Kelapa Sawit Indonesia mencapai 14.85 juta hektar. Sementara produksi kelapa sawit Indonesia mencapai 48.29 juta ton dengan rata-rata produksi 3,25 ton per hektar (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2021). Kumbang badak *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae) merupakan hama penting yang menyerang tanaman kelapa sawit di Indonesia, khususnya di areal sawit. Serangga ini menggerek pucuk kelapa sawit yang mengakibatkan rusaknya titik tumbuh dan terhambatnya pertumbuhan yang akhirnya membuat tanaman mati. Serangan hama kumbang badak merupakan salah satu faktor pembatas penyebab penurunan produksi kelapa sawit. Serangan hama kumbang badak pada kelapa sawit dapat menyebabkan kematian tanaman muda hingga 20% dan menurunkan produksi tandan buah segar hingga 69% pada tahun pertama (Apriyaldi, 2015). Kerusakan parah sebanyak 15% daun rusak dan menyebabkan penurunan hasil sebesar 25% (Kalidas, 2012).

Hama *O. rhinoceros* sehingga menimbulkan kerugian yang besar sehingga diperlukan cara pengendalian yang efisien, efektif, aman dan ramah lingkungan. Beberapa teknik pengendalian telah diterapkan di lapangan namun hanya bersifat parsial sehingga problem hama tersebut belum tuntas. Pengendalian *O. rhinoceros* L. yang telah dilakukan di perkebunan kelapa sawit adalah secara mekanis dengan mengutip stadia praimago kumbang badak di areal breeding site. Aplikasi perangkap stadia imago menggunakan feromon (*Ethyl 4-methyloctanoate*) (Hosang & Salim, 2014; Manjeri *et al.*, 2014. Norman & Basri, 2014; Bedford, 2014; Witjaksono *et al.*, 2015; Indriyanti *et al.*, 2018b). Metode sintesis dari feromon agregasi *O. rhinoceros* L. telah dikembangkan (Bedford, 2014). Penggunaan perangkap feromon yang ditempatkan pada luasan 2 ha/perangkap merupakan metode pengendalian yang ekonomis di areal peremajaan kelapa sawit. Perangkap feromon juga berfungsi sebagai monitoring stadia imago *O. rhinoceros* (Sahetapy *et al.*, 2018, Pradipta *et al.*, 2020). Pengendalian secara kimiawi menggunakan insektisida berbahan aktif.

Pengendalian secara biologi dengan aplikasi entomopatogen seperti virus, cendawan, bakteri, dan nematoda sebagai bioinsektisida juga telah banyak dimanfaatkan dan memiliki prospek yang baik karena memiliki patogenitas yang tinggi terhadap hama sasaran dan dapat menekan populasi hama yang ramah lingkungan. *Metarhizium anisopliae* merupakan

agens biocontrol yang baik pada semua stadia hama (Kalidas, 2012; Latifian & Rad, 2012; Lukmana dan Alamudi, 2018; Indrayanti *et al.*, 2018). Di Asia Tenggara, aplikasi cendawan *Metarhizium* spp. pada lokasi tempat perkembangbiakan larva *O. rhinoceros* (misalnya, tumpukan kompos) adalah metode yang umum digunakan (Ramle & Norman 2014, Chandrika *et al.*, 2016, Indriyanti *et al.*, 2017a). Pemanfaatan nematoda entomopatogen (NEP) dari famili *Steinernematidae* dan *Heterorhabditis* telah banyak dimanfaatkan. Hasil penelitian Manton *et al.* (2012) menunjukkan nematoda *Steinernema* mampu berpenetrasi dan menginfeksi larva, pupa dan imago *H. hampei* yang berada di dalam buah kopi segar atau yang jatuh di permukaan tanah. NEP lain dilaporkan sebagai agens pengendali biologi *O. rhinoceros* adalah *Steinernema carpocapsae* Weiser (*Chromadorea: Steinernematidae*), *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David (*Secernentea: Heterorhabditidae*), dan *Heterorhabditis* spp. (*Secernentea: Heterorhabditidae*) (Patil *et al.*, 2014; Indriyanti *et al.*, 2017b; Manandhar *et al.*, 2020).

Pada beberapa kasus penggunaan entomopatogen sebagai pengendali hayati di lapangan dalam skala yang luas, hasilnya kurang memuaskan sehingga perlu dilakukan uji mutu dan efikasinya terhadap hama sasaran (Siswanto & Trisawa, 2018). Demikian juga dengan pendapat Panjaitan (2015) menyatakan bahwa implementasi nematoda entomopatogen *Steinernema* di lapang pada musim kemarau menyebabkan pertumbuhan menjadi lambat atau berhenti (mati) karena kondisi suhu yang tinggi dengan kelembaban yang rendah pada tempat perkembangbiakan serangga inang. Kelembaban tanah merupakan salah satu faktor penting yang penting untuk pergerakan dan mendorong efektifitas nematoda, yang dapat dipertahankan dengan menjaga kandungan air dalam jumlah yang tepat melalui irigasi secara berkala (Banu, 2017). Kondisi lingkungan yang optimal sangat penting untuk meningkatkan efektifitas entomopatogen. Pengelolaan kondisi lingkungan tempat perkembangbiakan *O. rhinoceros* perlu menjadi perhatian. Pengendalian secara hayati merupakan pendekatan yang ramah lingkungan. Tuntutan keberkelanjutan kelapa sawit menjadi komitmen yang harus dijalankan. Indonesian Sustainable Palm Oil (ISPO), Roundtable on Sustainable Palm Oil (RSPO), dan International Sustainability and Carbon Certification (ISCC) merupakan sertifikasi yang menjadi standar keberlanjutan dalam menyeimbangkan struktur lingkungan, ekonomi dan sosial dalam perkebunan kelapa sawit.

Penelitian ini dilakukan di areal perkebunan kelapa sawit Sungai Sagu, Lirik Kabupaten Indragiri Hulu, Riau. Pengujian dan informasi potensi nematoda entomopatogen dan cendawan *M. anisopliae* dalam skala lapang secara luas pada tanaman kelapa sawit belum banyak dipublikasikan. Penulis melihat peluang untuk mengkaji hal ini dan mengharapkan menjadi salah satu alternatif dalam pengendalian *Oryctes rhinoceros* secara berkelanjutan dengan memenuhi kondisi lingkungan yang sesuai bagi perkembangbiakan entomopatogen dalam meningkatkan efektifitasnya. Penelitian ini merupakan hasil pengujian tentang potensi dan upaya mempertahankan keefektifan entomopatogen dalam mengendalikan larva *Oryctes rhinoceros* L. di Perkebunan Kelapa Sawit. Tujuannya adalah mengetahui potensi dan upaya mempertahankan keefektifan beberapa entomopatogen dalam mengendalikan larva *Oryctes rhinoceros* L. di Perkebunan Kelapa Sawit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan aplikasi entomopatogen yaitu nematoda entomopatogen (NEP) dan *Metarhizium anisopliae* untuk mengendalikan serangan kumbang badak (*Oryctes rhinoceros* L.) pada tanaman kelapa sawit areal replanting umur TBM-0 (Tanaman Belum Menghasilkan). Aplikasi dilakukan diareal perkembangbiakan (*breedingsite*) pra dewasa hama kumbang badak berupa rumpukan batang kelapa sawit yang telah diisi dengan 20

larva *O. rhinoceros* dalam setiap perlakuan dan ulangan. NEP yang digunakan merupakan insektisida biologi produk komersial berbentuk cair yang dikemas dalam media spons berisi 10×10^6 juvenil infeksi (JI)/bungkus. NEP diencerkan dengan cara memeras spons berulang kemudian dilarutkan dalam 15 liter air/bungkus. Aplikasi NEP melalui penyemprotan menggunakan knapsack sprayer dengan dosis 0.03 l/m^2 ($20,000 \text{ ij/m}^2$) areal *breeding site*. *M. anisopliae* yang digunakan adalah hasil pengembangbiakan lokal cadaver larva *O. rhinoceros* terinfeksi *M. anisopliae* dalam media jagung dengan kerapatan spora 1×10^6 cfu, dosis aplikasi 0.15 l/m^2 . Aplikasi ke-2 jenis entomopatogen dilakukan pada sore hari agar kondisi tanah berada pada suhu rendah dan kelembaban tinggi untuk menyesuaikan dengan kondisi yang ideal bagi pertumbuhan cendawan dan pergerakan nematoda. Monitoring temperature tanah dengan menggunakan alat pengukur digital untuk mencatat suhu dan kelembaban tanah. Status kelembaban tanah terdiri dari: 1) Sangat kering (DRY+), 2) Kering (DRY), 3) Lembab (NOR), dan 4). Basah (WET). Pengukuran Curah hujan harian dan menentukan karakteristik Tipe Curah Hujan berdasarkan Metode Oldeman dan Schmidt-Ferguson (Wahid & Usman, 2017).

Rancangan dalam penelitian ini menggunakan rancangan kelompok (RAK) non faktorial dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, aplikasi NEP dan *M. anisopliae* dilakukan pada areal *breedingsite* yang diberikan mulsa dan penyiraman untuk menjaga kelembaban dan suhu yang optimal bagi perkembangan entomopatogen di lapang. Perlakuan aplikasi sebagai berikut: 1). NEP: mulsa pelepah + tanpa penyiraman (NEP-0); 2). NEP: mulsa pelepah + penyiraman (NEP-1); 3). NEP: mulsa pelepah + karung goni + penyiraman (NEP-2); 4). *M. anisopliae*: dengan mulsa pelepah + karung goni + penyiraman (MET) dan 5) Kontrol: tanpa perlakuan.

Adapun parameter yang diamati adalah waktu awal kematian, *Lethal Time* (LT_{50}), persentase mortalitas larva, dan persentase mortalitas total. Pengamatan mortalitas larva dimulai satu hari setelah aplikasi selama 24 hari. Persentase mortalitas larva dihitung dengan rumus:

$$P = a / b \times 100\%$$

Keterangan :

P = Persentase kematian *O. rhinoceros* (%)

a = Jumlah *O. rhinoceros* yang mati

b = Jumlah *O. rhinoceros* yang diamati seluruhnya

Jika pada kontrol ditemukan larva mati, maka persentase kematian yang diperoleh kemudian di koreksi menggunakan Abbott's dengan rumus sebagai berikut:

$$P = (Po - Pc) / (100 - Pc) \times 100\%$$

Keterangan:

P = Persentase *O. rhinoceros* uji yang mati setelah dikoreksi

Po = Persentase *O. rhinoceros* uji yang mati pada perlakuan

Pc = Persentase uji *O. rhinoceros* mati dalam kendali

Data persentase mortalitas larva dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk grafik, sedangkan data lainnya dianalisis dengan menggunakan Anova kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

HASIL

Waktu Awal Kematian Larva *Oryctes rhinoceros* (Jam)

Hasil varians menunjukkan bahwa perlakuan entomopatogen dengan pemberian mulsa dan atau tanpa penyiraman pada “breedingsite” berpengaruh nyata terhadap waktu awal kematian larva *O. rhinoceros*. Hasil waktu awal kematian larva setelah uji BNT 5% dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu Awal Kematian Larva *Oryctes rhinoceros* Setelah Pemberian Perlakuan Aplikasi Entomopatogen Dengan Mulsa dan Penyiraman

Perlakuan Pemberian Mulsa dan Penyiraman	Waktu Kematian (Jam)
NEP-0 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + tanpa penyiraman)	24.0 a
NEP-1 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + penyiraman)	24.0 a
NEP-2 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiraman)	48.0 a
MET (Aplikasi <i>Metarhizium anisopliae</i> dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiramar)	120.0 b
Kontrol (Tanpa aplikasi entomopatogen)	520.0 c

Keterangan : *Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada taraf nyata 5%.

Lethal Time 50 (LT₅₀) Pada Larva *Oryctes rhinoceros* (Jam)

Hasil varians menunjukkan bahwa perlakuan entomopatogen dengan pemberian mulsa dan atau tanpa penyiraman pada “breedingsite” berpengaruh nyata terhadap lethal time 50 larva *O. rhinoceros*. Hasil waktu awal kematian larva setelah uji BNT 5% dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Lethal Time 50 (LT₅₀) Pada Larva *Oryctes rhinoceros* Setelah Aplikasi Entomopatogen Dengan Mulsa dan Penyiraman

Perlakuan Pemberian Mulsa dan Penyiraman	Lethal Time 50 (Jam)
NEP-0 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + tanpa penyiraman)	248.0 b
NEP-1 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + penyiraman)	224.0 b
NEP-2 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiraman)	224.0 b
MET (Aplikasi <i>Metarhizium anisopliae</i> dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiramar)	288.0 b
Kontrol (Tanpa aplikasi entomopatogen)	0.0 a

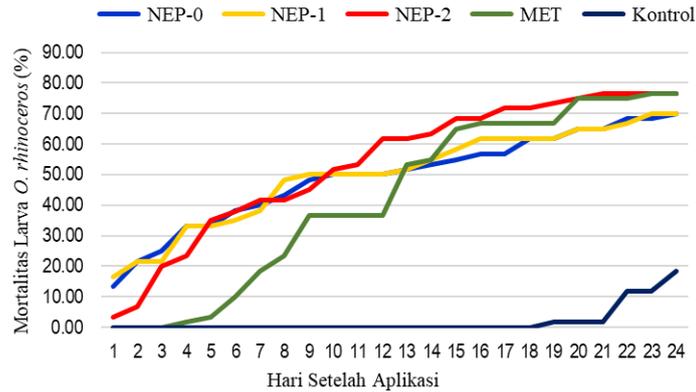
Keterangan: *Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada taraf nyata 5%.

Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* (%)

Pengamatan mortalitas larva *O. rhinoceros* dengan perlakuan entomopatogen dengan pemberian mulsa dan atau tanpa penyiraman pada “breedingsite” berpengaruh nyata terhadap mortalitas harian larva *O. rhinoceros*. Hasil mortalitas larva setelah uji BNT 5% dapat dilihat pada Gambar 1.

Total Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* (%)

Analisis menunjukkan bahwa perlakuan entomopatogen dengan pemberian mulsa dan atau tanpa penyiraman pada “breedingsite” berpengaruh nyata terhadap kematian harian (%) larva *O. rhinoceros*. Total mortalitas larva setelah uji BNT 5% dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 1. Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* (%) Setelah Aplikasi Entomopatogen Dengan Mulsa dan Penyiraman

Tabel 3. Total mortalitas (%) larva *Oryctes rhinoceros* setelah aplikasi Entomopatogen dengan mulsa dan penyiraman pada hari ke-24

Perlakuan Pemberian Mulsa dan Penyiraman	Total Mortalitas (%)
NEP-0 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + tanpa penyiraman)	70.0 b
NEP-1 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + penyiraman)	70.0 b
NEP-2 (Aplikasi NEP dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiraman)	76.7 b
MET (Aplikasi <i>Metarhizium anisopliae</i> dengan mulsa pelepah + mulsa karung + penyiraman)	76.7 b
Kontrol (Tanpa aplikasi entomopatogen)	18.3 a

Keterangan: *Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada taraf nyata 5%.



Gambar 2. Aplikasi Nematoda Entomopatogen dan Cendawan *Metarhizium anisopliae* Dengan Mulsa dan Penyiraman: (a) Tempat perkembangbiakan (*breeding site*) pra imago *O. rhinoceros* yaitu rumpukan batang dan tandan kosong kelapa sawit; (b) Mulsa pelepah kelapa sawit; (c) Mulsa karung sebelum ditambahkan mulsa pelepah di atasnya.



Gambar 3. Tahapan infeksi Nematoda Entomopatogen pada Larva *Oryctes rhinoceros*: (a) Larva sehat; (b1- b2) Larva terinfeksi *Heterohabditidae*; (c1-c2) Larva terinfeksi *Steinernematida*



Gambar 4. Tahapan Infeksi *Metarhizium anisopliae* pada Larva *Oryctes rhinoceros*: (a) Larva sehat; (b) Laju infeksi meningkat, larva mengalami kematian dengan kutikula berwarna pucat merata, tubuh mengeras dan kaku; (c) Larva terinfeksi lebih lanjut, permukaan tubuh larva nampak hifa berwarna putih dan (d) Larva berwarna hijau yang merupakan sporulasi lanjut dari cendawan *M. anisopliae*. Gejala ini merupakan ciri khas dari cendawan *M. anisopliae* yang disebut *green muscardine*.

Pada gambar 3 dan 4 menunjukkan gejala serangan pada larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi entomopatogen. Gejala serangan larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi oleh nematoda entomopatogen (gambar 3) ditunjukkan dengan adanya perubahan warna kemerahan pada bagian kutikula (gambar 3.b1-b2) jika terinfeksi *Heterohabditidae* yang disebabkan oleh reaksi bakteri simbiosis *Photorhabdus*. Gejala serangan larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi *Steinernematidae* (gambar 3.c1-c2) menunjukkan perubahan warna coklat kehitaman pada bagian kutikula yang disebabkan adanya reaksi bakteri simbiosis *Xenorhabdus* spp. Reaksi perubahan warna terjadi karena nematoda mengeluarkan bakteri simbiosis *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus* spp. saat berada didalam tubuh serangga inang. Tahapan gejala serangan larva *O. rhinoceros* yang terinfeksi oleh *M. anisopliae* disajikan pada Gambar 4.

PEMBAHASAN

Waktu Awal Kematian Larva *Oryctes rhinoceros* (Jam)

Pada Tabel 1. dapat diketahui bahwa setelah aplikasi entomopatogen dengan pemberian mulsa dan penyiraman berpengaruh nyata terhadap waktu awal kematian larva *O. rhinoceros* dengan rentang waktu 24- 120 jam setelah aplikasi. Pada kontrol terjadi kematian larva 1.67% pada 520 jam yang disebabkan oleh faktor fisik. Perlakuan aplikasi Nematoda Entomopatogen (NEP) pada dosis 0.03 l/m^2 ($20,000 \text{ ij/m}^2$) di areal *breeding site* dengan pemberian mulsa pelepah tanpa penyiraman (NEP-0) dan penyiraman (NEP-1) menunjukkan waktu awal kematian larva *O. rhinoceros* cenderung paling cepat yaitu terjadi pada 24 jam setelah aplikasi dengan mortalitas 13.33 – 16.67% (Gambar 1). Hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan aplikasi NEP-2 dengan mulsa pelepah + karung dan penyiraman yang terjadi pada 48 jam setelah aplikasi dengan mortalitas 3.3%. Waktu awal kematian larva karena aplikasi NEP berbeda secara nyata dengan aplikasi *Metarhizium anisopliae* pada dosis 0.15 l/m^2 (kepadatan spora $1 \times 10^6 \text{ cfu}$) dengan pemberian mulsa pelepah dan penyiraman yang terjadi pada 120 jam. Kematian larva *O. rhinoceros* pada aplikasi NEP dipengaruhi oleh kecepatan jumlah NEP yang masuk ke dalam tubuh larva. Keberadaan bakteri simbiosis dalam tubuh nematoda yang mempengaruhi efektivitas NEP. Setelah aplikasi, nematoda sudah berhasil masuk kedalam haemocoel larva *O. rhinoceros*. Setelah berada dalam haemocoel NEP akan melepaskan sel-sel bakteri simbiotik dari ususnya, juga memperbanyak diri di dalam hemolimfa serangga. Bakteri memperbanyak diri, yang mengakibatkan septisemia, dan membunuh serangga inang dalam waktu 24-48 jam (Kachhawa, 2017; Alramadani dan Mamay, 2019; Brivio dan Mastore, 2020) Hasil ini juga sejalan dengan penelitian Sunarto dan Irwan (2019) bahwa dalam kurun waktu 24-48 jam nematoda *Steinernema* spp. mampu

menimbulkan mortalitas pada serangga inang. Pada hasil penelitian Panjaitan (2015) menunjukkan bahwa larva instar-1 *O. rhinoceros* yang diberi NEP 60,000 ij/0.1m³ dan dipelihara dalam kotak kayu berukuran 1.00 x 0.50 x 0.25 m di perkebunan kelapa sawit areal terbuka menyebabkan mortalitas tertinggi sebesar 23,3% pada 24 jam dan 63.3% pada 144 jam setelah aplikasi. Khairunnisa *et al.* (2014) melaporkan bahwa kepadatan populasi nematoda 200 ij/ml dan 250 ij/ml pada 144 jam setelah aplikasi efektif dalam mengendalikan larva *O. rhinoceros* dengan mortalitas 85,71% dan 100% (di laboratorium). Waktu kematian larva tercepat terdapat pada perlakuan 250 ij/ml yaitu 24 jam setelah aplikasi. Beberapa *Heterorhabditis* spp. lokal dari O'ahu, Hawaii juga menyebabkan kematian larva instar pertama kumbang badak pada 2-7 hari setelah aplikasi (Manandhar *et al.*, 2020). Khalaf *et al.* (2018) melaporkan bahwa nematoda entomopatogen *Rhabditis* sp. dengan konsentrasi 1000 ij/ml menyebabkan kematian larva *Oryctes agamemnon arabicus* sebanyak 6.67% pada 48 jam setelah perlakuan di laboratorium.

Rerata awal kematian larva *O. rhinoceros* pada aplikasi perlakuan *M. anisopliae* dengan pemberian mulsa pelepah dan penyiraman terjadi pada 120 jam setelah aplikasi dengan mortalitas larva 3.33% Kematian ini lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan NEP. Hal ini karena konidia memerlukan waktu untuk menempel pada integumen dan berkecambah. Menurut Yuningsih dan Widyaningrum (2014) bahwa cendawan *M. anisopliae* dalam perkembangannya memerlukan tahapan waktu infeksi, mekanisme infeksi entomopatogen dimulai dengan penempelan konidia jamur ke kutikula serangga, kemudian konidia tersebut berkecambah dan menembus tubuh serangga. Tahap selanjutnya, cendawan tumbuh dan berkembang di dalam darah serangga. Cendawan akan mempercepat reproduksi untuk melawan resistensi serangga inang. Pada saat yang sama, toksin antibiotik yang dihasilkan cendawan akan melemahkan dan membunuh serangga inang dengan cepat. Tahap selanjutnya hifa akan tumbuh dan memenuhi seluruh tubuh serangga. Cendawan mulai berkembang, serangga menunjukkan gejala nyeri, seperti gerakan yang tidak terkoordinasi dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian. Siswanto dan Trisawa (2018) melaporkan bahwa waktu kematian awal larva *O. rhinoceros* setelah diaplikasi *M. anisopliae* adalah 4.2 ± 0.45 hari setelah perlakuan dengan kerapatan konidia 1×10^6 cfu. Sedangkan menurut Sitingjak (2018) kematian tercepat larva *O. rhinoceros* dengan aplikasi *M. anisopliae* konsentrasi 5g/l secara *in vivo* pada chiping kelapa sawit dicapai pada 13.67 hari setelah aplikasi. Waktu dan persentase kematian serangga inang ditentukan oleh berbagai faktor seperti patogenisitas, media tumbuh, jenis dan instar serangga, kerapatan konidia, waktu dan frekuensi aplikasi, ketahanan serangga terhadap senyawa toksin patogen, dan faktor lingkungan (Manurung *et al.*, 2012).

Berbeda dengan cendawan entomopatogen, mekanisme patogenitas nematoda entomopatogen pada serangga inang lebih cepat. Seperti yang disampaikan Dziedziech *et al.* (2020) bahwa NEP *Heterorhabditis bacteriophora*, masuk setelah 1.5 jam melalui kutikula serangga inang dengan gerakan memutar seperti bor. NEP mulai melepaskan bakteri dalam satu jam pertama masuk. Setelah sekitar 6 jam, bakteri simbiosis, *Photorhabdus luminescens*, terdeteksi di seluruh rongga larva. Kecepatan proliferasi bakteri semakin meningkat dengan jumlah NEP yang lebih tinggi. Brivio dan Mastore (2020) juga melaporkan bahwa setelah NEP menembus kutikula serangga inang, bakteri simbiosis akan dilepaskan dengan periode yang bervariasi dari 30 menit hingga 2 jam. Bakteri akan berkembang biak dan membunuh inang dalam waktu 24-72 jam. Pada 12-24 hari setelah infeksi, NEP akan meninggalkan tubuh serangga inang dan mulai mencari inang baru.

Lethal Time 50 (LT₅₀) Pada Larva *Oryctes rhinoceros* (Jam)

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa beberapa perlakuan aplikasi entomopatogen NEP maupun *M. anisopliae* dengan mulsa dan atau tanpa penyiraman tidak berbeda nyata terhadap waktu Lethal Time 50 larva *O. rhinoceros*, LT₅₀ terjadi pada 224-288 jam. Nilai Lethal Time 50 merupakan waktu (jam) yang dibutuhkan untuk mematikan 50% serangga uji (Hasyim *et al.* 2016). Aplikasi NEP-1 dan NEP-2 merupakan perlakuan yang menyebabkan kematian 50% larva *O. rhinoceros* tercepat yaitu pada 224 jam, kemudian perlakuan NEP-0 mematikan 50% larva pada 248 jam dan perlakuan *M. anisopliae* pada 288 jam (12 hari). Latifian dan Red (2012) mengestimasi LT₅₀ dari perlakuan cendawan *M. anisopliae* terhadap imago *O. elegans* berkisar antara 6.05-10.89 hari. Menurut Kapriyanto *et al.* (2014) Patogenisitas *M. anisopliae* dengan kerapatan konidia 1×10^6 terhadap larva *Lepidiotia stigma* berdasarkan nilai LT₅₀ adalah 48.60 hari. Dalam penelitian ini nilai LT₅₀ pada aplikasi cendawan *M. anisopliae* adalah 288 jam, cenderung paling lambat karena waktu awal kematian larva juga terlambat dibandingkan dengan aplikasi NEP.

Tidak adanya perbedaan yang nyata terhadap Lethal Time 50 pada aplikasi entomopatogen NEP dan *M. anisopliae* karena sejak entomopatogen berhasil menginfeksi serangga inang, mereka akan melanjutkan aktivitas dan perannya dalam menginfeksi dan membunuh inang. Patogenisitas (virulensi) cendawan dipengaruhi oleh jumlah konidia (Wahyuni *et al.*, 2013). Konidia memiliki peran utama dalam proses infeksi. Semakin banyak jumlah *M. anisopliae*, semakin banyak konidia yang menempel pada integument larva *O. rhinoceros*. Konidia kemudian berkecambah menjadi hifa, menyerang larva dan mengganggu system metabolisme larva *O. rhinoceros* (Holong *et al.*, 2015) Larva *O. rhinoceros* didalam tempat perkembangbiakannya akan terus mencari substrat bahan organik untuk makan, sehingga larva akan terinfeksi cendawan *M. anisopliae*. Bedford (2013a), melaporkan bahwa stadium larva *O. rhinoceros* aktif mencari substrat yang banyak mengandung bahan organik sebagai sumber makanan. Larva keluar dari tempat perkembangbiakannya (*breeding site*) untuk mencari sumber bahan organik sebagai sumber pakan bahan organik yang lebih melimpah di luar. Proses infeksi *M. anisopliae* paling sering terjadi ketika terjadi curah hujan dan kelembaban optimum. Air akan membantu dalam proses perkecambahan dan membawa spora lebih dalam ke tempat perkembangbiakan larva *O. rhinoceros*. Menurut Pujiastuti (2010) larva *O. rhinoceros* dapat hidup pada kedalaman tanah 20-30 cm apabila bahan organik sebagai makanannya tercukupi. Kondisi lingkungan yang optimum bagi pertumbuhan spora *M. anisopliae* akan meningkatkan efektifitas dalam membunuh larva *O. rhinoceros*. Menurut Kapriyanto *et al.* (2014) Batasan suhu untuk pertumbuhan cendawan antara 25-35°C, pertumbuhan optimal terjadi pada suhu 23-25°C.

NEP memiliki kemampuan membunuh larva inang tercepat. Kemampuan ini tidak hanya ditentukan dari simbiosis antara NEP dan bakteri simbiosis, tetapi juga pertahanan diri dari larva *O. rhinoceros*. Larva akan menjauhi tempat perkembangbiakan yang sudah diaplikasii NEP sebagai bentuk pertahanan diri agar tidak terinfeksi. Kondisi lingkungan yang optimal seperti suhu dan kelembaban tanah, serta curah hujan mempengaruhi aktivitas NEP di dalam tanah. menyatakan bahwa Kondisi lingkungan yang optimal sangat penting untuk mendapatkan meningkatkan efektifitas maksimal dari nematoda. Pengukuran suhu tanah dalam penelitian ini berkisar antara 25-29°C dan kelembaban tanah dominan pada kondisi basah (WET), yang masih memungkinkan untuk aktivitas NEP. Hal itu dibuktikan dengan adanya larva mati yang terinfeksi NEP. Menurut Suyanto dkk. (2012), kelembaban merupakan hal terpenting yang mempengaruhi aktivitas NEP di dalam tanah. Kelembaban tanah yang sesuai berkisar antara 40-90%. Nematoda dapat meningkatkan aktivitasnya sebesar 80% pada suhu 21-30°C dan menurun pada suhu 12-

16°C. Guo *et al.* (2015). Banu (2017) menyatakan bahwa areal tanah berpasir dengan kelembaban 17% dan suhu 17-27°C, disukai juvenil infektif nematoda karena memudahkan dalam penyebaran dan infeksi inang. Aplikasi NEP di lapangan dilakukan pada bulan Nopember dengan curah hujan 242 mm. Berdasarkan Metode Oldeman dan Schmidt-Ferguson, karakteristik sifat curah hujan adalah Bulan Basah (curah hujan > 200 mm). Air berperan penting bagi nematoda entomopatogen, yang digunakan sebagai media untuk bergerak dan berpindah (Chaerani dan Griffin, 2017)

Waktu yang diperlukan entomopatogen untuk membunuh 50% larva *O. rhinoceros* dengan kisaran 224-288 jam, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu efektivitas entomopatogen pada tempat perkembangbiakan larva dalam membunuh larva *O. rhinoceros*, diantaranya patogenisitas dan resistensi serangga. Sitinjak (2018) menyampaikan bahwa LT_{50} larva *O. rhinoceros* dengan aplikasi *M. anisopliae* konsentrasi 5g/l secara *in vivo* pada chiping kelapa sawit dicapai pada 30.33 hari setelah aplikasi. Selanjutnya Ibrahim (2017) melaporkan bahwa LT_{50} larva instar-1 *Oryctes agamemnon arabicus* yang diaplikasi *M. anisopliae* produk komersial (EC emulsifiable oil) dengan kerapatan konidia 5.5×10^7 conidia/ml dicapai pada 13.4 hari di laboratorium. Athifa *et al.* (2018) berpendapat bahwa waktu yang diperlukan cendawan entomopatogen untuk menginfeksi serangga dipengaruhi oleh isolat yang digunakan, jenis inang dan kondisi lingkungan.

Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* (%)

Mortalitas larva *O. rhinoceros* menunjukkan tren peningkatan selama 24 hari pengamatan (gambar 1). Aplikasi nematoda entomopatogen dengan perlakuan penutupan mulsa dengan atau tanpa penyiraman pertama kali (hari ke-1) yang menginfeksi larva *O. rhinoceros* dengan tingkat mortalitas larva 13.33% (NEP-0); 16.67% (NEP-1) dan 3.33% (NEP-2). Mortalitas larva pada aplikasi *M. anisopliae* terjadi pada hari ke-4 yaitu 1.67%. Aplikasi *M. anisopliae* menunjukkan mortalitas larva yang rendah dan terlambat dibandingkan NEP dikarenakan cendawan *M. anisopliae* memerlukan waktu untuk melakukan infeksi dan membunuh larva *O. rhinoceros*. Kematian larva lebih lambat jika infeksi *M. anisopliae* melalui integumen, karena konidia cendawan entomopatogenik pada umumnya membutuhkan waktu untuk berkecambah dengan kisaran 2 hari sampai 2 minggu (Tanada dan Kaya, 2013). Dalam mekanisme patogenitas dan perkembangannya cendawan entomopatogen *M. anisopliae* memerlukan tahapan waktu. Mekanisme infeksi entomopatogen dimulai dengan kontak konidia cendawan pada kutikula serangga, kemudian konidia tersebut berkecambah dan menembus tubuh serangga. Tahap selanjutnya, cendawan mengalami pertumbuhan dan berkembang di dalam haemocoel serangga. Reproduksi cendawan dipercepat untuk melawan resistensi serangga, pada saat yang sama, toksin antibiotik yang dihasilkan cendawan akan melemahkan dan membunuh serangga dengan cepat, kemudian hifa akan tumbuh dan memenuhi seluruh tubuh serangga. Cendawan *M. anisopliae* semakin berkembang dalam tubuh inang yang mengakibatkan Gerakan tidak terkoordinasi dan menimbulkan kematian serangga hama (Yuningsih & Widyaningrum, 2014) Kematian larva lebih lambat jika infeksi *M. anisopliae* melalui integumen, sebab konidia cendawan entomopatogenik umumnya memerlukan waktu 2 hari sampai 2 minggu untuk berkecambah (Tanada & Kaya, 2013).

Pada hari ke-13 setelah perlakuan, menunjukkan bahwa mortalitas larva *O. rhinoceros* akibat infeksi *M. anisopliae* telah menyusul perlakuan aplikasi NEP. Rerata mortalitas larva akibat *M. anisopliae* adalah 53.33% lebih tinggi dari perlakuan NEP-0 (51.67%) dan NEP-1 (51.67%). Mortalitas tertinggi pada hari ke-13 setelah aplikasi, adalah NEP-2 (61.67%). Setelah cendawan *M. anisopliae* menginfeksi larva pertama kali pada hari ke-4 setelah perlakuan, cendawan akan melakukan perkecambahan dan menembus kulit serangga

kemudian menghasilkan toksin. Dengan kondisi lingkungan biotik dan abiotik yang mendukung, maka perkecambahan spora cendawan semakin meningkat yang pada akhirnya dengan cepat dapat menginfeksi dan membunuh larva. Rendahnya mortalitas larva pada perlakuan NEP-0 dan NEP-1 dipengaruhi oleh efikasi dari NEP itu sendiri. Efikasi NEP dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: mekanisme pencarian inang, adaptasi terhadap lingkungan dan adanya inang yang terjangkau (Banu, 2017).

Pada hari ke-24 setelah perlakuan, tidak terdapat perbedaan terhadap mortalitas larva *O. rhinoceros* yang disebabkan oleh aplikasi nematoda entomopatogen (NEP-0, NEP-1, dan NEP-2) dan cendawan *M. anisopliae*. Rerata mortalitas adalah 70.00-76.7%. Fauzana *et al.* (2021) melaporkan bahwa larva *O. rhinoceros* yang di aplikasi dengan *M. anisopliae* dengan konsentrasi terendah 10 g.l^{-1} ($33,6 \times 10^6 \text{ conidia.ml}^{-1}$) dan tertinggi 50 g.l^{-1} ($302.4 \times 10^6 \text{ conidia.ml}^{-1}$) menyebabkan total mortalitas larva 24% dan 56% sampai hari ke-21 setelah aplikasi di laboratorium. Mortalitas yang disebabkan oleh perlakuan NEP-2 dan cendawan *M. anisopliae* (MET) cenderung lebih tinggi (76.7%). Pada aplikasi NEP-2 terdapat pemberian 2 jenis mulsa yaitu karung dan mulsa dengan penyiraman yang menyebabkan kondisi tempat perkembang biakan larva uji selalu terjaga kelembabanya. Penyesuaian kondisi lingkungan diperlukan agar agens biocontrol menjadi efektif (Del Pino *et al.*, 2018). Selain kelembaban yang merupakan salah satu dari faktor abiotik, tingkat mortalitas juga dipengaruhi oleh faktor biotik. Hal ini sesuai dengan pendapat Shapiro-Ilan *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa efek faktor biotik (seperti spesies NEP, fauna tanah, umur serangga inang) dan faktor abiotik (kelembaban, suhu, jenis tanah dan aerasi) berpengaruh terhadap patogenitas NEP.

Total Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* (%)

Hasil analisis sidik ragam mortalitas total larva *O. rhinoceros* menunjukkan bahwa perlakuan nematode entomopatogen (NEP) dan cendawan entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dengan pemberian mulsa dan atau tanpa penyiraman tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase mortalitas total larva *O. rhinoceros*. Pada Tabel. 3 menunjukkan bahwa aplikasi NEP-2 dan MET menyebabkan mortalitas total larva *O. rhinoceros* 76.7 %, cenderung lebih tinggi dibandingkan perlakuan NEP-0 dan NEP-1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kecepatan NEP dalam menginfeksi larva tidak sebanding dengan kecepatan pergerakan larva menghindari NEP. Nematoda entomopatogen secara alami berada di lingkungan tanah dan menemukan inangnya melalui respon terhadap karbon dioksida, getaran, dan isyarat kimia lainnya (Kachhawa, 2017). NEP membutuhkan waktu untuk menemukan larva inang dan masuk ke dalam tubuh melalui lubang alami, kemudian menginfeksi larva. Larva yang terinfeksi NEP adalah yang tidak menjauh dari lokasi. Nematoda memiliki efek membunuh pada inangnya karena NEP bersimbiosis dengan bakteri yang diinduksi NEP. Seperti yang disampaikan Lewis dan Clarke (2012) bahwa juvenil infektif nematoda yang berada dalam tanah akan mencari larva inang yang sesuai untuk menembus kedalam tubuh inang. Setelah berhasil menembus tubuh inang melalui bukaan alami spirakel, kutikula, mulut, atau anus, juvenil akan pindah ke haemocoel dan melepaskan bakteri simbiosis. Dziedziech *et al.* (2020) melaporkan bahwa pada 1 hingga 6 jam setelah infeksi, sebagian besar NEP ditemukan berada pada bagian ujung anterior larva. Dalam kondisi infeksi sedang NEP ditemukan berjalan di sepanjang sisi punggung larva inang dari posterior ke anterior. Hal ini bisa dilihat pada gambar 3.b1-b2 yang memperlihatkan perubahan warna tubuh larva dimulai dari bagian anterior larva. Sebaliknya pada gambar 3.c1 nampak terjadi perubahan warna dimulai dari bagian posterior menuju ke anterior. Perubahan warna pada tubuh larva *O. rhinoceros* menunjukkan infeksi NEP. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Afifah *et al.* (2013) dan Latifian dan Rad (2012) bahwa gejala serangga yang terinfeksi NEP ditandai dengan

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

perubahan warna, tubuh menjadi lunak karena jaringan dalam tubuh menjadi cair. Penampilan larva yang terinfeksi NEP yang disajikan pada Gambar 3.

Tidak adanya perbedaan terhadap mortalitas larva pada aplikasi NEP dan *M. anisopliae* menunjukkan bahwa tempat perkembangbiakan (*breeding site*) larva *O. rhinoceros* sesuai bagi habitat dan perkembangan entomopatogen. Moore (2018) menyatakan bahwa *Metarhizium majus* dapat menginfeksi larva *coconut rhinoceros beetle* (CRB) dengan tingkat mortalitas 10 - 38% pada 3 minggu setelah aplikasi. Keberhasilan cendawan *M. anisopliae* menginfeksi larva *O. rhinoceros* dalam penelitian ini dapat dilihat pada gejala serangan yang ditimbulkan yaitu gejala tidak mau makan, gerakan yang lambat dan akhirnya mati kaku, selanjutnya berkembang miselium berwarna putih yang muncul dari permukaan kutikula dan akhirnya terjadi perubahan warna menjadi hijau pada larva. Gejala ini merupakan ciri khas dari infeksi cendawan *M. anisopliae* yaitu disebut dengan *green muscardine* (Gambar 4).

KESIMPULAN

Nematoda entomopatogen (NEP) dan cendawan *Metarhizium anisopliae* dengan pemberian mulsa pelepah kelapa sawit, mulsa karung dan atau tanpa penyiraman memberikan pengaruh yang sama terhadap rerata mortalitas larva *Oryctes rhinoceros* pada hari ke-24 setelah perlakuan dengan tingkat mortalitas 70.00 – 76.7%. Pada awal, NEP lebih cepat membunuh larva *O. rhinoceros* pada 24-48 jam setelah perlakuan. Entomopatogen NEP dan *M. anisopliae* merupakan agens hayati yang dapat membunuh 50% larva *O. rhinoceros* dalam waktu 224-288 jam. Pemberian mulsa dan penyiraman diareal perkembangbiakan larva merupakan usaha dalam memenuhi kondisi lingkungan optimum yang sesuai bagi perkembangbiakan dan meningkatkan efektifitas entomopatogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Manajemen PT. Tunggal Perkasa Plantation yang menjadi lokasi berlangsungnya penelitian ini. Ucapan serupa juga saya sampaikan kepada Ahmad Subandi, Kadul, Hugeng Tambunan, Tri Andoko, Hendri Gunawan (teknisi dilapang dan laboratorium) yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyaldi R. 2015. Analisis intensitas serangan hama kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) pada kelapa sawit di PTPN V Sei. Galuh Kabupaten Kampar Provinsi Riau. Padang: Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh.
- Alramadan A, Mamay M. 2019. The importance of entomopathogenic bacteria in the control of agricultural pests and promoting these entomopathogens in the field application. 1st International Gobeklitipe Agriculture Congress, p. 258-265.
- Athifa S, Anwar S, Kristanto BA .2018. Effect of variant of *Metarhizium anisopliae* fungus on mortality of pest larvae of *Oryctes rhinoceros* and *Lepidiota stigma*. *J. Agro Complex*. 2(2): 12-127.
- Banu JG. 2017. Efficacy of entomopathogenic nematodes against coleopteran pests. In: Abd-Elgawad, M. M. M., Askary, T. H., Coupland, J. (eds.) *Biocontrol Agents: Entomopathogenic and Slug Parasitic Nematodes*. CABI, Wallingford, UK.

- Bedford GO. 2013a. Biology and management of palm dynastid beetles. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 353-372.
- Bedford GO. 2013b. Long-term Reduction in Damage by Rhinoceros Beetle *Oryctes rhinoceros* (L.) (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) to Coconut palm at *Oryctes Nudivirus* release Site on Viti Levu, Fiji. *African Journal of Agricultural.* 8(49): 6422-6425.
- Bedford GO. 2014. Advances in the control of Rhinoceros Beetle, *Oryctes rhinoceros* in oil palm. *Journal of Oil Palm Reseach.* 26: 183-194.
- Brivio MF, Mastore M. 2020. When Appearance Misleads: The Role of the Entomopathogen Surface in the Relationship with Its Host. *Insects.* 11(387): 1-24.
- Chandrika M, Anithakumari P, Muralidharan K. 2016. Impact of area-wide extension approach for bio-management of rhinoceros beetle with *Metarhizium anisopliae*. *J. Plant. Crops.* 44: 16–22.
- Chaerani, Griffin CT. 2017. Perbanyak Massal Nematoda Patogenik Serangga. *Heterohabditis indicus* Secara in Vivo. Prosiding Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. p. 869-882.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2021. Statistic Perkebunan Unggulan idonesia 2019-2020. https://drive.google.com/file/d/1ZpXeZogAQYfCINBOgVLhYi8X_vujJdHx/view. [Diakses 17 September 2021].
- Del Pino FG, Morton A, Shapiro-Ilan D. 2018. Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents of Tomato Pests. – In: Wakil, W., Brust, G. E., Perring, T. M. (eds.) Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato. Elsevier.
- Dziedzic A, Shivankar S, Theopold U. 2020. High-Resolution Infection Kinetics of Entomopathogenic Nematodes Entering *Drosophila melanogaster*. *Insects.* 11(60): 1-15.
- Fauzana H, Arda F, Nelvia, Rustam R, Puspita F. 2020. Test on several concentrations *Metarhizium anisopliae* (Metsch) sorokin in palm oil empty fruit bunch compost (metankos) to infecting oryctes rhinoceros larvae. *Journal of Physics: Conference Series.* 1655: 1-13.
- Guo W, Yan X, Zhao G, Chen J, Han R. 2015. Efficacy of entomopathogenic *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematodes against *Holotrichia obliata*. *J Pest Sci.* 88: 359-368.
- Hasyim A, Setiawati W, Hudayya A, Luthfy .2016. Sinergisme Jamur entomopatogen *Metarhizium anisopliae* dengn insektisida kimia untuk meningkatkan mortalitas ulat bawang *Spodoptera exigua*. *J. Hort.* 26(2): 257-266.
- Holong EM, Syahrial O, Fatimah Z. 2015. Uji Efektifitas Suspensi *Baculovirus oryctes* dan *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin terhadap *Brontispa longissima* Gestro. (Coleoptera: Chrysomelidae) di Laboratorium. *Jurnal Online Argoekoteknologi.* 3(1): 124-128.
- Hosang MLA, Salim. 2014. Penekanan Populasi *Oryctes rhinoceros* dan *Rhynchophorus ferrugineus* dengan perangkap feromon. *Di dalam Prosiding Konferensi Nasional Kelapa VII. 21-22 Mei 2014.* Jambi: Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. p. 65-72.
- Ibrahim RA. 2017. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi, Commercial Formulations, against the Rhinoceros Beetle, *Oryctes agamemnon arabicus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control.* 27(1): 49-55.
- Indriyanti DR, Putri R, Widiyaningrum P, Herlina L. 2017a. Density viability conidia and symptoms of *Metarhizium anisopliae* infection on *Oryctes rhinoceros* larvae, p. 012058. In, *Journal of Physics: Conference Series*, 2017, Semarang, Indonesia. IOP Publishing.

- Indriyanti DR, Widiyaningrum P, Maryuni MS, Maretta YA. 2017b. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* and entomopathogenic nematodes to control *Oryctes rhinoceros* larvae in the rainy season. *Pak. J. Biol. Sci.* 20: 320-327.
- Indriyanti DR, Rahmawati R, Priyono B, Slamet MT, Huyop FZ. 2018a. Ecological studies of *Oryctes rhinoceros* Larva Controlled by *Metarhizium* and Entomopathogenic Nematodes. *JPII.* 7(3): 286-292.
- Indriyanti DR, Lutfiana JE, Widiyaningrum P, Susilowati E, Slamet M. 2018b. Aggregation Pheromones for Monitoring the Coconut Rhinoceros Beetle (*Oryctes rhinoceros*) in Jerukwangi Village, Jepara, Indonesia. IOP Conf. Series: *Journal of Physics: Conf. Series* 983. 012177. *Di dalam* International Conference on Mathematics, Science and Education 2017 (ICMSE2017), Semarang, September 18–19, 2017.
- Kachhawa D. 2017. Microorganisms as a biopesticides. *Journal of Entomology and Zoology Studies.* 5(3): 468-473.
- Kalidas P. 2012. Pest Problems of Oil Palm and Management Strategies for Sustainability. *Agrotechnol.* 11: 1-3.
- Kapriyanto, Haryadi NT, Hasjim S. 2014. Patogenesitas Isolat Cendawan *Metarhizium anisopliae* Entomopatogen terhadap Larva Uret Famil Scarabaiedae. *Berkala Ilmiah Pertanian.* 1(1): 1-8.
- Khalaf MZ, Tareq AM, Naher FH, Salman AH, Khalaf HS. 2018. Biological control of the date palm tree borers, *Oryctes agamemnon arabicus* (Coleoptera: Scarabaidae: Dynastinae). *Pak. Entomol.* 40: 1-6.
- Khairunnisa S, Pinem MI, Zahara F. 2014. Uji Efektifitas Nematoda Entomopatogen Sebagai Pengendali Penggerek Pucuk Kelapa Sawit (*Oryctes rhinoceros* L.) (Coleoptera: Scarabaidae) di Laboratorium. *Jurnal Online Agroteknologi.* 2(2): 607-620.
- Latifian M, Rad B. 2012. Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillmin, *Beauveria brongniartii* Sac-cardo and *Metarhizium anisopliae* Metsch to Adult *Oryctes elegans* Prell and Effects on Feeding and Fecundity. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences.* 4(14): 1026-1032.
- Lewis EE, Clarke DJ. 2012. Nematodes parasites and entomopathogens *In* Vega FE, and Kaya HK (eds.), *Insect pathology*, 2nd ed. Academic Press, Amsterdam, Netherlands.
- Manjeri G, Muhamad R, Tan SG .2014. *Oryctes rhinoceros* Beetles, an Oil Palm Pest in Malaysia. *Annual Research & Review in Biology.* 4(22): 3429-3439.
- Manandhar R, Li J, Cheng Z. 2020. Survey of entomopathogenic nematodes in various landscape systems on Oahu, Hawaii, and their pathogenicity against coconut rhinoceros beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Nematropica.* 50: 36-44.
- Manurung EM, Tobing MC, Lubis L, Priwiratama H. 2012. Efikasi beberapa formulasi *Metarhizium anisopliae* terhadap larva *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) di insektarium. *Jurnal Online Agroekoteknologi.* 1(1): 47-63
- Moore A. 2018. Failed attempts to establish IPM for Asian cycad scale and coconut *rhinoceros* beetle on Guam. Presented at the Entomological of America, Annual Meeting, Vancouver, Canada. <https://zenodo.org/record/2545065#.X-Sj0Ngza70> . [Diakses 20 September 2021].
- Panjaitan T. 2015. Penelitian Nematoda Entomopatogen *Steinernema* sp. (Rhabdtida: Steinernematidae) isolate Lokas Sebagai Agens Hayati Kumbang Tanduk *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) di Laoratorium dan Lapangan [Tesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara.

- Patil J, Rajkumar, Kesavan S. 2014. Virulence of *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis indica* against coconut rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* L. (Scarabaeidae: Coleoptera). *Indian J. Nematol.* 44: 73-81.
- Pradipta AP, Wagiman FX, Witjaksono. 2020. The Coexistence of *Oryctes rhinoceros* L. and *Xylotrupes gideon* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) on Immature Plant in Oil Palm Plantation. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia.* 24(1): 82-88.
- Pujiastuti Y. 2010. Tingkat Populasi dan Kebugaran *Oryctes rhinoceros* L (Coleoptera: Scarabaeidae) di Perkebunan Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq). In: *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Bidang Pertanian.* 2.
- Ramle M, Norman K. 2014. The use of palm kernel cake in the production of conidia and blastospores of *Metarhizium anisopliae* var. major for control of *Oryctes rhinoceros*. *J. Oil Palm Res.* 26: 133-139.
- Sahetapy B, Masauna ED, Luhukay R. 2018. Uji Efektivitas Perangkap Feromon Terhadap Hama *Oryctes rhinoceros* L. dan Intensitas Kerusakan pada Tanaman Kelapa di Desa Latuhalat, Kecamatan Nusaniwe, Pulau Ambon. *Jurnal Agrikultura 2018.* 29(1): 19-25.
- Shapiro-Ilan DI, Han R, Dolinski C. 2012: Entomopathogenic nematode production and application technology. *Journal of Nematology.* 44: 206-217.
- Sitinjak ES. 2018. Uji Jamur Entomopatogenik *Metarhizium anisopliae* dan *Beauveria bassiana* Terhadap Mortalitas larva Kumbang Tanduk (*Oryctes rhinoceros*) Pada Chipping Batang Kelapa sawit [Skripsi]. Medan: Universitas Medan Area.
- Siswanto, Trisawa IM. 2018. Uji Mutu dan Keefektifan *Metarhizium anisopliae* Isolat Kalimantan Tengah Terhadap *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Buletin Palma.* 19(2): 79-88.
- Sunarto T, Irwan AW. 2019. Testing of Entomopathogenic Nematode *Steinernema* spp. Concentration on Mortality of *Lepidiota Stigma* F. (Coleoptera: Scarabaeidae). *CROPSAVER - Journal of Plant Protection.* 2(2): 77-81.
- Tanada Y, Kaya HK. 2013. Insect Pathology. San Diego Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publisher. New York.
- Wahid H, Usman. 2017. Analysis of the Characteristics and Classification of Rainfall in Polewali Mandar Regency. *H Jurnal Sainsmat.* VI(1): 15-27.
- Wahyuni DT, Isnawati, Suparno G. 2013. Patogenitas Cendawan Entomopatogen *Lecanicillium lecanii* (Zimmermann) terhadap Larva Instar III *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Lentera Bio.* 2(2): 173-178.
- Witjaksono, Wijonarko A, Harjaka T, Harahap I, Sampurno WB. 2015. Tekanan *Metarhizium anisopliae* dan Feromon terhadap Populasi dan Tingkat Kerusakan oleh *Oryctes rhinoceros*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia.* 19: 73-79.
- Yuningsih, Widyaningrum T. 2014. pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* fungal spores to the mortality of *Oryctes rhinoceros* larvae as biology class X high school biology teaching material *JUPEMASI-PBIO.*1(1): 53-59.