

PENGARUH FILTRAT BIAKAN *Trichoderma* spp. TERHADAP PENETASAN TELUR NEMATODA PURU AKAR (*Meloidogyne* sp.)

Aji Santoso, Toto Himawan, Hagus Tarno

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia

Abstract

Root knot nematodes are difficult to control because they complete their life cycle both in and outside roots. Various control measures have been carried out, including the use of biological agent *Trichoderma* sp. Therefore, it is necessary to investigate the effect of culture filtrate of *Trichoderma* spp. to suppress RKNs egg hatching. Research was conducted at Pest Laboratory, Nematology sub laboratory, Department of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. *Trichoderma harzianum* (Tr/015/HPTUB), *T. viride* (Tr/m3/viride/UB), and *T. koningii* (Tr/016/HPTUB) were used as treatments. *Meloidogyne incognita* was used as object for each treatment. The culture filtrates of three isolates, *T. harzianum*, *T. koningii* and *T. viride* suppressed the hatching of *M. incognita* eggs with range 15.42-47.47%, 12.37-35.05% and 18.58-33.00% respectively. In addition, LC₅₀ of three culture filtrates *T. harzianum*, *T. koningii* and *T. viride* were 144.16, 195.14, and 477.08 ml/l respectively. In conclusion, the culture filtrate of *T. harzianum* was highest based on toxicity to control *M. incognita*.

Keywords: Root knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, culture filtrate, *Trichoderma* spp.

Abstrak

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) sulit untuk dikendalikan karena sebagian hidupnya berada didalam jaringan akar dan sebagian berada diluar jaringan tanaman akar. Berbagai upaya pengendalian telah dilakukan, diantaranya penggunaan agen hayati *Trichoderma* sp. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh perlakuan filtrate biakan *Trichoderma* spp. untuk menekan penetasan telur *Meloidogyne* sp. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hama, Sub Laboratorium Nematologi jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Isolat jamur yang digunakan ialah *Trichoderma harzianum* (Tr/015/HPTUB), *T. viride* (Tr/m3/viride/UB), dan *Trichoderma koningii* (Tr/016/HPTUB). Nematoda yang digunakan untuk perlakuan adalah *Meloidogyne incognita*. Filtrat biakan *T. harzianum* mampu menekan penetasan telur *M. incognita* antara 15.42-47.47%, sedangkan filtrate biakan *T. koningii* mampu menekan penetasan telur *M. incognita* antara 12.37-35.05%, dan filtrate biakan *T. viride* mampu menekan penetasan telur *M. incognita* antara 18.58-33.00%. Nilai LC₅₀ filtrat biakan *T. harzianum* ialah 144.16 ml/l, sedangkan filtrate biakan *T. koningii* ialah 195.14 ml/l, dan filtrate biakan *T. viride* ialah 477.08 ml/l. Filtrat biakan *T. harzianum* memiliki toksisitas lebih tinggi dari pada filtrate biakan *T. viride* dan *T. koningii*.

Kata kunci: Nematoda puru akar, *Meloidogyne incognita*, filtrate biakan, *Trichoderma* spp.

PENDAHULUAN

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) merupakan nematoda parasit yang menyerang menyerang lebih dari 2000 jenis tanaman budidaya di dunia. (Agrios, 2005). Pengendalian nematoda yang umum dilakukan adalah menggunakan pestisida kimia sintesis. Metode pengendalian alternatif yang lebih aman dan ramah lingkungan banyak dicari diantaranya dengan pengendalian hayati (Yulianti, 2012). Agen hayati untuk mengendalikan nematoda antara lain *Trichoderma harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. koningii* Oudem., *T. hamatum* (Bonord.) Bainier, *T. virens* (Miller *et al.*) dan *T. polysporum* Rifai (Benitez *et al.*, 2004).

Meloidogyne sp. sebagian hidupnya berada didalam jaringan akar tanaman dan sebagian berada diluar jaringan tanaman, sehingga sulit untuk dikendalikan. Pengendalian yang umum dilakukan adalah pada juvenil 2 atau tahap infeksi menyerang tanaman, sehingga perlu upaya pengendalian lain sebelum nematoda memasuki fase infeksi.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh filtrat biakan *T.harzianum*, *T. viride*, dan *T. koningii* dalam menekan penetasan telur *Meloidogyne* sp. Selain itu untuk mengetahui perbedaan toksisitas filtrat biakan *T. harzianum*, *T. viride*, dan *T. koningii* terhadap telur *Meloidogyne* sp.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hama, Sub Laboratorium Nematologi jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari sampai bulan Mei 2014.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah bibit nilam, bibit tomat, klorok (NaOCl) 1%, kertas whatman no.42, aquades, alkohol 70%, aluminium foil, kapas, isolat jamur *T. harzianum* (Tr/015/HPTUB), *T. viride* (Tr/m3/viride/UB), dan *T. koningii* (Tr/016/HPTUB), media *Potato Dekstrose Agar* (PDA), media Ekstrak Kentang Dekstrosa (EKD).

Perbanyak Nematoda

Nematoda *Meloidogyne* sp. diperoleh dari akar tanaman nilam di kebun pembibitan tanaman nilam Program Hibah Kompetisi (PHKI) Tema - C Universitas Brawijaya di Kecamatan Kesamben, Kabupaten Blitar. Sampel akar yang diperoleh dari lahan dicuci menggunakan air kemudian direndam menggunakan air selama 48 jam. Akar hasil rendaman yang terdapat puru diambil nematoda betina dan massa telurnya menggunakan jarum.

Nematoda betina yang diperoleh diidentifikasi menggunakan pedoman identifikasi Eisenback *et al.* (1981). Massa telur yang diperoleh dikumpulkan pada cawan Petri, untuk dilakukan tahap pemisahan telur dari massa telurnya. Setelah itu direndam di larutan klorok (NaOCl 1%) selama 10-15 detik. Selanjutnya massa telur tersebut dicuci menggunakan air sampai aroma klorok tidak berbau. Telur yang telah terpisah diinokulasikan pada tanaman tomat yang ditanam pada media tanah steril dan berumur 18 hari setelah tanam untuk perbanyak nematoda. Setelah 45 hari tanaman tomat diekstrak untuk diambil nematodanya dan digunakan sebagai bahan penelitian (Nailufar, 2007).

Pengambilan nematoda betina dan massa telur dari akar tomat dilakukan

secara langsung menggunakan jarum. Setelah itu dilakukan pemisahan telur nematoda dari massa telurnya dengan cara yang sama seperti tahap pemisahan telur nematoda dari massa telurnya pada tahap persiapan perbanyak nematoda dari tanaman nilam yang akan diperbanyak pada tanaman tomat.

Persiapan inokulum *Trichoderma* spp.

Isolat *T. Harzianum* dan *T. koningii* diperoleh dari jurusan HPT FP UB sedangkan *T. viride* diperoleh dari jurusan Biologi FMIPA UB. Isolat tersebut diperbanyak pada media PDA. Setelah itu diinkubasi selama 7 hari, kemudian diperbanyak pada media EKD. Isolat *Trichoderma* spp. dari media PDA dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer 250 ml yang berisi media EKD. Isolat *Trichoderma* spp diambil menggunakan bor gabus sebanyak 3 potong, kemudian digojlog dengan kecepatan 110 rpm selama 48 jam. Setelah itu diinkubasi selama 7 hari, kemudian dilakukan pemisahan *Trichoderma* spp. dengan media perbanyakannya. Pemisahan dilakukan melalui cara sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 20 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman nomor 42. Penyaringan diulang 3 kali agar spora jamur terpisah dari media perbanyakannya.

Pelaksanaan Penelitian

Suspensi media hasil penyaringan digunakan untuk perlakuan pada 25 telur *Meloidogyne* sp. pada setiap cawan Petri. Penghitungan telur dilakukan dengan cara mengambil telur yang sudah dipisahkan dari masa telurnya menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan pada cawan Petri dan dihitung di bawah mikroskop, menggunakan *hand counter*. Setelah itu pada cawan Petri ditambahkan aquades dan filtrat biakan sesuai dengan

konsentrasi pada setiap perlakuan sampai 10 ml.

Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 16 perlakuan. Filtrat biakan *T. harzianum* (T1), *T. koningii* (T2), *T. viride* (T3) dikombinasikan dengan 5 taraf konsentrasi filtrat biakan yang berbeda yaitu 30 ml/l (K1), 50 ml/l (K2), 70 ml/l (K3), 90 ml/l (K4), dan 110 ml/l (K5). Selain itu digunakan 1 perlakuan menggunakan aquades sebagai kontrol (T0K0), setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Pengamatan Percobaan

Pengamatan dilakukan pada 3, 5, 7 Hari Setelah Perlakuan (HSP) untuk mengetahui jumlah telur *Meloidogyne* sp. yang tidak menetas. Jika pada kontrol terdapat kematian (telur tidak menetas) maka perlu dikoreksi menggunakan rumus Abbott (1925).

$$P = \frac{X-Y}{X} 100\%$$

Keterangan :

- P : Presentase kematian terkoreksi.
- X : Jumlah telur nematoda pada kontrol yang menetas.
- Y : Jumlah telur nematoda pada perlakuan yang menetas.

Analisis Data

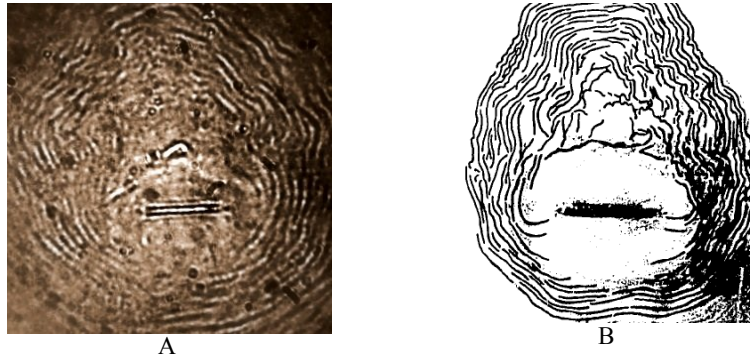
Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F pada taraf kepercayaan 95%. Apabila terdapat beda nyata, maka nilai rata-rata dibandingkan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Sedangkan untuk mengetahui Median Lethal Concentrate (LC₅₀) dari perlakuan filtrat biakan *Trichoderma* spp. terhadap penetasan telur *Meloidogyne* sp. digunakan aplikasi probit yang dikembangkan Chi (1997).

HASIL

Identifikasi

Hasil pengamatan pola sidik pantat dari spesimen yang diidentifikasi diperoleh memiliki kemiripan dengan pola

sidik pantat *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Tylenchida: Heteroderidae). Pola sidik pantat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pola sidik pantat *M. incognita*; A. Pola sidik pantat hasil pengamatan; B. Pola sidik pantat *M. incognita* menurut Eisenback *et al.* (1981).

Pengaruh perlakuan filtrat biakan *T. harzianum*, *T. viride* dan *T. koningii* terhadap penetasan telur *M. incognita*

Berdasarkan hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa filtrat biakan dengan konsentrasi yang berbeda untuk menekan penetasan telur *M. incognita* menunjukkan

hasil yang berbeda nyata. Rerata persentase mortalitas telur *M. incognita* karena pengaruh filtrat biakan *Trichoderma* spp. dengan berbagai konsentrasi yang berbeda disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata persentase mortalitas telur *M. incognita*.

No.	Filtrat biakan	Konsentrasi (ml/l)	Rerata Mortalitas (%)
1	<i>T. harzianum</i>	30	15.42 <i>ab</i>
2	<i>T. harzianum</i>	50	20.63 <i>bcd</i>
3	<i>T. harzianum</i>	70	26.74 <i>def</i>
4	<i>T. harzianum</i>	90	32.00 <i>ef</i>
5	<i>T. harzianum</i>	110	47.47 <i>g</i>
6	<i>T. koningii</i>	30	12.37 <i>a</i>
7	<i>T. koningii</i>	50	20.63 <i>bcd</i>
8	<i>T. koningii</i>	70	28.89 <i>def</i>
9	<i>T. koningii</i>	90	33.00 <i>ef</i>
10	<i>T. koningii</i>	110	35.05 <i>f</i>
11	<i>T. viride</i>	30	18.58 <i>abc</i>
12	<i>T. viride</i>	50	25.68 <i>cde</i>
13	<i>T. viride</i>	70	26.74 <i>def</i>
14	<i>T. viride</i>	90	28.89 <i>ef</i>
15	<i>T. viride</i>	110	33.00 <i>ef</i>

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji beda nyata jujur (BNJ) taraf 5%.

Nilai Median Lethal Concentrate 50 (LC₅₀) perlakuan filtrat biakan *T. harzianum*, *T. viride*, dan *T. koningii* terhadap penetasan telur *M. incognita*.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada mortalitas telur *M.*

incognita dapat dihitung LC₅₀ untuk mengetahui tingkat toksisitasnya. Nilai LC₅₀ dan persamaan regresi dari 3 jenis filtrat biakan *Trichoderma* spp. terhadap penetasan telur *M. incognita* disajikan pada pada Tabel 2.

Tabel 2. Median Lethal Concentrate (LC₅₀) dan persamaan regresi filtrat biakan *Trichoderma* spp. terhadap penetasan telur *M. incognita*.

No	Filtrat biakan	LC ₅₀ (ml/l)	Persamaan regresi
1	<i>T. harzianum</i>	144.16	$y = 1.307 + 1.711x$
2	<i>T. koningii</i>	195.14	$y = 1.858 + 1.372x$
3	<i>T. viride</i>	477.08	$y = 3.067 + 0.721x$

PEMBAHASAN

Pada pola sidik pantat dari spesimen yang diamati (Gambar 1A) terlihat bahwa pola sidik pantat tersebut memiliki ciri lengkungan dorsal tinggi dan agak meruncing, tidak memiliki garis lateral, anus tidak melebar, tidak melengkung dan tidak sejajar dengan vulva. Taher *et al.* (2012) menyatakan pada pola sidik pantat *M. incognita* pada lengkungan dorsal paling luar sedikit melebar dan agak mendatar, selain itu *M. incognita* tidak memiliki garis lateral serta pada bagian stria terlihat jelas.

Rerata persentase mortalitas telur *M. incognita* akibat perlakuan filtrat biakan *Trichoderma* spp. menunjukkan bahwa filtrat biakan *Trichoderma* spp. memiliki kemampuan untuk menekan penetasan telur *M. incognita* meskipun pengaruhnya kecil. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan telur *M. incognita* yang tidak menetas karena perlakuan filtrat biakan *Trichoderma* spp. lebih mudah pecah. Hal ini diduga adanya enzim dan metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh *Trichoderma* spp. yang dapat mendegradasi lapisan kulit telur *M. incognita* sehingga kulit telur menjadi tipis. Menurut Suarez *et al.* (2001) *Trichoderma* dapat menghasilkan enzim protease. Hasil penelitian Chen *et al.* (2009) enzim protease dapat menipiskan kulit telur nematoda. Kulit telur nematoda

yang semakin tipis menyebabkan telur nematoda mudah pecah.

Trichoderma spp. dapat mengeluarkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh *Trichoderma* spp. beberapa bersifat racun terhadap telur *M. incognita*. Hal ini dapat meningkatkan kemampuan filtrat biakan *Trichoderma* spp. untuk menekan penetasan telur *M. incognita*. Stoppacher *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Trichoderma* spp. dapat menghasilkan senyawa volatile dari proses metabolit sekundernya. Senyawa volatile yang dihasilkan oleh *Trichoderma* diantaranya adalah 6-pentyl-a-pyrone (6-PAP) (Siddiquee *et al.* 2012), 1β-vinylcyclopentane-1α, 6-pentyl-2H-pyran-2-one, dan 4-(2-hydroxyethyl) phenol (Yang *et al.* 2012).

Berdasarkan data LC₅₀ (Tabel 1) filtrat biakan *Trichoderma* spp. yang memiliki nilai LC₅₀ paling kecil adalah filtrat biakan *T. harzianum*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa filtrat biakan *T. harzianum* memiliki kandungan racun yang lebih tinggi dari pada filtrat biakan *T. koningii* dan filtrat biakan *T. viride* terhadap telur *M. incognita*. Hal ini diduga disebabkan oleh *T. harzianum* yang mengeluarkan senyawa metabolit sekunder yang hanya dimiliki oleh *T. Harzianum* dan dapat meningkatkan kemampuan filtrat biakan *T. harzianum*

untuk menekan penetasan telur *M. incognita*. Menurut Sawa *et al.* (1994) *T. harzianum* dapat menghasilkan asam harzianic, selain itu menurut Kubicek dan Harman, (2002) *T. harzianum* juga mengeluarkan senyawa trichoharzin. Asam harzianic memiliki sifat antibiotik terhadap mikroorganisme lain (Vinale *et al.*, 2008). Trichoharzin merupakan senyawa peptida yang bersifat racun terhadap nematoda (Zhang *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Filtrat biakan *T. harzianum* (Tr/015/HPTUB), *T. viride* (Tr/m3/viride/UB), dan *T. koningii* (Tr/016/HPTUB) mampu menekan penetasan telur *M. incognita*.
2. Filtrat biakan *T. harzianum* (Tr/015/HPTUB) memiliki toksisitas lebih tinggi dari padafiltrat biakan *T. viride* (Tr/m3/viride/UB) dan filtrat biakan *T. koningii* (Tr/016/HPTUB) terhadap telur *M. incognita*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas bantuan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, dan Tim PHKI Tema-C Universitas Brawijaya di Kecamatan Kesamben, Kabupaten Blitar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W. S. 1925. A Method of Computing The Effectiveness of An Insecticide. Journal of The American Mosquito Control Association. 3: 302-303.
- Agrios, N. G. 2005. Plant Pathology-Fifth Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of America.

Benitez, T., A.M. Rincon, M.C. Limon, A.C. Codon. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Department of Genetics. University of Sevilla. Spain. Journal of International Microbiology. 7: 249 – 260.

Chen, LL. LJ Liu, M Shi, XY Song, CY Zheng, XL Chen, YZ Zhang. 2009. Characterization and gene cloning of a novel serine protease with nematocidal activity from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2. Journal of Microbiology letters. 299: 135-142.

Chi, H. 1997. Probit Analysis. National Chung Hsing University. Taichung. Taiwan.

Eisenback, J.D., H. Hirschman, J.N. Sasser, A.C. Triantaphyllou. 1981. A Guide to the Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.), with a Pictorial Key. Washington DC (US): North Carolina State University Graphics. USA.

Kubicek, C.P., G.E. Harman. 2002. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor & Francis e-Library. USA.

Nailufar, S. 2007. Kepekaan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) terhadap ekstrak daun paitan (*Tithonia diversifolia*), biji mimba (*Azadirachta indica*) dan daun kenikir (*Tagetes patuta*). [Skripsi]. Universitas Brawijaya. Malang.

Sawa, R., Y. Mori, H. Inuma, H. Naganawa, M. Hamada, S. Yoshida, H. Furutani, Y. Kajimura, T. Fuwa, T. Takeuchi. 1994. Harzianic Acid, A New Antimicrobial Antibiotic From A Fungus. The Journal of Antibiotics. 47: 731-732.

- Stoppacher N, B Kluger, S Zeilinger, R Krska, R Schuhmacher. 2010. Identification and Profiling of Volatile Metabolites of the Biocontrol Fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *Journal of Microbiological Methods*. 81: 187-193.
- Suarez, MB., L. Sanz, MI Chamorro, M Rey, FJ Gonzalez, A Llobell, E Monte. 2005. Proteomic analysis of secreted proteins from *T. harzianum* Identification of a Fungal Cell Wall-Induced Aspartic Protease. *Journal of Fungal Genetics and Biology*. 42: 924-934.
- Taher, M., Supramana, G Suastika. 2012. Identifikasi Meloidogyne Penyebab Penyakit Umbi Bercabang pada Wortel di Dataran Tinggi Dieng. *Journal of Fitopathology Indonesia*. 8: 16-21.
- Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, R. Marra, S.L. Woo, M. Lorito. 2008. *Trichoderma* Plant Pathogen Interactions. *Journal of Soil Biology & Biochemistry*. 40: 1-10.
- Yang, Z., Z Yu, L Lei, Z Xia, L Shao, K Zhang, G Li. 2012. Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 15: 647-650.
- Zhang, K., G. Li, J. Xu, J. Dong, Y. Liu. 2007. Nematicidal Substances from Fungi. *Journal Recent Patents on Biotechnology*. 1:212-233.