

Uji Pengaruh Beberapa Herbisida Terhadap *Trichoderma* sp Secara in Vitro

In Vitro Test on the Effect of Some Herbicides Application towards *Trichoderma* sp

Muhammad Majid, Hasanuddin, Mukhtar Iskandar Pinem

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU, Medan 20155

Corresponding author: E-mail: hasanuddin@usu.ac.id

ABSTRACT

In Vitro Test on the Effect of Some Herbicides Application towards *Trichoderma* sp. This research's objective is to study effect of herbicide ingredient with different concentration to growth of mycelium colony and spore density of *Trichoderma* sp. *Trichoderma* sp was inoculated in PDA which have been added with six different herbicide ingredients, there are paraquat, glyphosate, fenoxaprop-ethyl, triclopyr, 2,4D, and fluroxypyr at three different concentrations, there are 100%, 75%, and 50% from recommended concentration. This research was conducted from May until October 2013 at Phytopathology Laboratory, Agriculture Faculty, University of Sumatera Utara, by using factorial completely randomized design with three replications. The result have showed that highest extensive of mycelium colony was observed at fluroxypyr 50% concentration, meanwhile the lowest extensive of mycelium colony was observed at glyphosate 50% concentration. Highest spore density was observed at fluroxypyr 50% concentration, meanwhile the lowest spore density was observed at paraquat 100% concentration. Herbicide ingredient interaction with concentration of herbicide very significantly affected growth of mycelium colony and spore density of *Trichoderma* sp.

Keywords: *Trichoderma* sp, herbicide, biological agent

ABSTRAK

Uji Pengaruh Beberapa Herbisida Terhadap *Trichoderma* sp secara In Vitro. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh herbisida dengan konsentrasi berbeda terhadap *Trichoderma* sp. *Trichoderma* sp diinokulasi pada media PDA yang mengandung enam jenis herbisida yaitu parakuat, glifosat, fenoksaprop-etil, triklopir, 2,4D, dan fluroksipir dengan tiga konsentras yaitu 100%, 75%, dan 50% dari konsentras rekomendasi Penelitian ini dilaksanakan pada Mei – Oktober 2013 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, USU, menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan luas koloni jamur tertinggi di temukan pada perlakuan fluroksipir konsentrasi 50% sedangkan luas koloni jamur terendah ditemukan pada perlakuan glifosat konsentrasi 75%. Kepadatan spora tertinggi ditemukan pada perlakuan fluroksipir konsentrasi 50% sedangkan kepadatan spora terendah ditemukan pada perlakuan parakuat konsentrasi 100%. Interaksi herbisida dengan konsentrasi herbisida berpengaruh sangat signifikan terhadap *Trichoderma* sp.

Keywords: *Trichoderma* sp, herbisida, agens hayati

PENDAHULUAN

Penjualan pestisida terus meningkat dari tahun ke tahun. Peningkatan paling besar terjadi pada herbisida. Proporsi herbisida yang digunakan meningkat pesat, dari 34,8% pada

1960 menjaddi 47,5% pada 2000 (Zhang *et al*, 2011).

Pemakaian herbisida yang tidak tepat dan penggunaan herbisida yang sama secara terus menerus dapat memberikan pengaruh negatif terhadap kesehatan manusia, tumbuhan,

dan hewan. Berdasarkan studi yang dilakukan, diketahui jika populasi bakteri pengikat nitrogen *Azotobacter* menurun drastis setelah 7-14 hari aplikasi herbisida (Milosevic dan Godaverica, 2002).

Kekeliruan aplikasi herbisida dan residunya dapat memberikan efek negatif terhadap diversitas biota tanah dan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa aplikasi herbisida Parakuat membuat gejala penyakit busuk pangkal batang pada lada muncul lebih cepat, meningkatkan keparahan penyakit, mengurangi pertumbuhan lada, dan mengurangi populasi agens hayati (*Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp.) di dalam tanah (Bande dan Rahman, 2008).

Di Indonesia, penelitian mengenai pengaruh herbisida dan konsentrasinya terhadap mikroorganisme masih terbatas, terutama jamur bermanfaat seperti *Trichoderma* sp sehingga penulis merasa tertarik untuk meneliti pengaruh herbisida terhadap *Trichoderma* sp.

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara dari bulan Mei hingga Oktober 2013. Bahan yang digunakan antara lain PDA, isolat murni *Trichoderma*, herbisida Parakuat, herbisida Glifosat, herbisida Fenoksaprop-etil, herbisida Triklolpir, herbisida 2,4-D, herbisida Fluroksipir, air destilasi, Alat yang digunakan antara lain cawan petri, tabung reaksi, beaker glass, tabung erlenmeyer, hot plate, mikro pipet, laminar air flow, haemocytometer, gelas ukur, mikroskop cahaya, autoklaf, timbangan analitik, dan lampu Bunsen.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor Faktor pertama adalah bahan aktif herbisida (H) dengan 7 perlakuan yaitu kontrol (H_0), parakuat (H_1), glifosat (H_2), fenoksaprop (H_3), triklolpir (H_4), 2,4 D (H_5), dan fluroksipir (H_6). Faktor kedua adalah konsentrasi herbisida dari konsentrasi anjuran (D) dengan 3 perlakuan

yaitu konsentrasi 100% dari konsentrasi anjuran (D_1), konsentrasi 75% dari konsentrasi anjuran (D_2), dan konsentrasi 50 % dari konsentrasi anjuran (D_3)

Sumber isolat *Trichoderma* sp. berasal dari hasil eksplorasi di Hutan Taman Nasional Gunung Leuser. Tanah yang diambil diaduk rata agar homogen lalu diambil sebanyak 1 mg. Tanah ini kemudian diencerkan dengan air destilasi steril 9 ml lalu di ambil 1 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain yang berisi air destilasi steril 9 ml. Pengenceran dilanjutkan hingga 1:10.000 lalu 0,1 ml dari suspensi ini dituang ke PDA dan diaduk perlahan, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (Islam et al, 2008).

Hasil eksplorasi yang telah tumbuh diidentifikasi lalu dimurnikan hingga didapatkan biakan murni *Trichoderma* sp. Spora tunggal diperoleh dengan mengencerkan suspensi jamur sampai 1:10.000. Pada pengenceran 1:1.000 dan 1:10.000, masing-masing di *plating* 0,1 ml pada media *water agar* (WA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Spora yang berkecambah diamati di mikroskop *compound*, ditandai dan spora langsung dipindahkan pada media PDA.

Herbisida diencerkan dengan menggunakan air destilasi steril sesuai perlakuan. Hasil pengenceran lalu dimasukkan ke dalam media PDA untuk mendapatkan media PDA yang mengandung herbisida sesuai konsentrasi perlakuan sesuai tabel berikut

Tabel 1. konsentrasi herbisida pada PDA (ppm)

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)
(H_1D_1) Parakuat 100%	3000
(H_1D_2) Parakuat 75%	2250
(H_1D_3) Parakuat 50%	1500
(H_2D_1) Glifosat 100%	4000
(H_2D_2) Glifosat 75%	3000
(H_2D_3) Glifosat 50%	2000
(H_3D_1) Fenoksaprop 100%	1500
(H_3D_2) Fenoksaprop 75%	1125
(H_3D_3) Fenoksaprop 50%	750
(H_4D_1) Triklolpir 100%	1000
(H_4D_2) Triklolpir 75%	750

(H ₄ D ₃) Triklopir 50%	500
(H ₅ D ₁) 2,4 D 100%	4000
(H ₅ D ₂) 2,4 D 75%	3000
(H ₅ D ₃) 2,4 D 50%	2000
(H ₆ D ₁) Fluroksipir 100%	2000
(H ₆ D ₂) Fluroksipir 75%	1500
(H ₆ D ₃) Fluroksipir 50%	1000

Trichoderma sp di tanam di media PDA yang telah ditambahkan herbisida sesuai perlakuan. Selanjutnya, setiap 8 jam koloni jamur difoto dan digambar pada plastik mika bening. Hasil replika koloni lalu direplikasi pada kertas A4 70gram. Setelah itu, replika koloni jamur pada kertas digunting sesuai ukuran yang telah digambar, kemudian diukur beratnya dengan timbangan analitik. Luas koloni jamur diukur dengan menggunakan perbandingan berat kertas replika koloni jamur dengan berat kertas standar yang telah diketahui luasnya (Handajani dan Purwoko, 2007).

Setelah selesai pengamatan luas koloni jamur, koloni jamur di bor dengan coker bore berdiameter 0.5 cm sebanyak 5 kali lalu dimasukkan ke dalam air steril 5 ml. Perhitungan kepadatan spora koloni jamur dilakukan dengan *haemocytometer*. *Haemocytometer* dibersihkan dengan alkohol lalu diangin-anginkan lalu diletakkan *cover glass* di atas *haemocytometer*. Suspensi spora jamur lalu dipipet sebanyak 0.1 ml lalu ditetaskan pada parit kaca *haemocytometer* dan dibiarkan menyebar. *Haemocytometer* lalu diamati dengan mikroskop pada perbesaran 40x10, apabila terlihat dalam satu kotak terdapat sel-sel yang banyak dan bertumpuk

dilakukan pengenceran suspensi spora jamur dengan perbandingan 1:5.

Sampel pada *haemocytometer* dihitung sebanyak 5 kotak sedang, lalu hasil perhitungan dimasukkan ke dalam rumus

$$K = \frac{T}{N} 2.5 \times 10^5$$

Keterangan:

K= konsentrasi spora

T= jumlah spora yang diamati

N= jumlah kotak yang diamati

(Sudibyo, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Luas Koloni Jamur

Pengamatan telah dilakukan dari 8 jam setelah inokulasi sampai dengan 120 jam setelah inokulasi. Hasil sidik ragam menunjukkan interaksi antara jenis bahan aktif herbisida dengan konsentrasi bahan aktif tersebut adalah sangat nyata pada seluruh pengamatan luas koloni jamur, kecuali pada pengamatan 8 jam. Hal ini menunjukkan jika pengaruh bahan aktif herbisida dan pengaruh konsentrasi bahan aktif herbisida tidak berpengaruh secara bebas terhadap rataan luas koloni jamur *Trichoderma* sp, yang berarti pengaruh bahan aktif herbisida spesifik pada berbagai level konsentrasi bahan aktif tersebut.

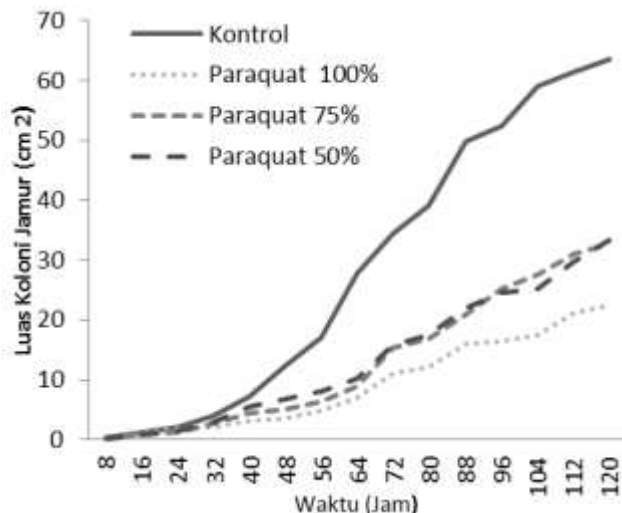
Berikut ini adalah tabel yang menunjukkan luas koloni jamur *Trichoderma* sp yang diamati mulai 8 hingga 120 jam.

Perlakuan	Luas koloni jamur (dihitung per jam)														
	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96	104	112	120
(H ₁ D ₁) Parakuat 100%	0.33 ab	1.29 efg	2.14 abcde	4.02 bcde	7.19 bcd	12.35 efgh	17.07 efgh	27.72 hi	34.43 hi	39.18 ghi	49.84 g	52.45 h	58.94 gh	61.3 h	63.59 h
(H ₁ D ₂) Parakuat 75%	0.33 ab	1.18 cdef	2.1 abcde	3.91 bcde	6.93 bcd	10.98 defg	16.15e fg	24.07 efgh	29.97 fgh	34.24 efgh	43.68 defg	46.08 fgh	51.42 fg	55.59 gh	59.38 gh
(H ₁ D ₃) Parakuat 50%	0.29 ab	1.29 efg	2.17 bcde	3.94 bcde	6.27 bcd	11.57 efg	15.85 efg	25.54 ghi	31.88 fghi	36.6 fgh	47.73 fg	51.2 gh	57.95 gh	60.08 h	62.48 h
(H ₂ D ₁) Glifosat 100%	0.22 ab	1.25 def	1.95 abcd	2.1 a	3.06 ab	3.69 ab	4.94 a	6.93 ab	10.98 ab	12.09 ab	15.92 ab	16.48 ab	17.51 ab	21.08 bc	22.52 abc
(H ₂ D ₂) Glifosat 75%	0.18 ab	0.96 bcde	1.25 a	2.69 ab	4.53 abc	5.12 abc	6.27 ab	8.92 abc	15.37 abcd	16.88 bc	20.94 b	25.21 bc	27.58 bcd	30.9 d	32.77 cde
(H ₂ D ₃) Glifosat 50%	0.22 ab	0.77 ab	1.43 ab	2.95 abc	5.46 abc	6.75 abcd	8.18 abc	10.32 abcd	15.7 abcd	17.47 bcd	22.04 bc	24.55 bc	25.23 bc	29.71 cd	33.29 de
(H ₃ D ₁) Fenoksaprop 100%	0.15 a	1.22 cdef	1.7 abc	2.1 a	2.99 ab	3.24 a	4.13 a	5.01 a	6.19 a	6.63 a	7.9 a	9.26 a	10.8 a	12.31 ab	12.9 a
(H ₃ D ₂) Fenoksaprop 75%	0.15 a	1.66 gh	1.81 abc	1.99 a	2.62 a	3.58 ab	4.02 a	5.16 a	5.86 a	6.71 a	7.97 a	8.96 a	10.28 a	11.72 a	12.35 a
(H ₃ D ₃) Fenoksaprop 50%	0.15 a	1.81 hi	2.1 abcde	2.28 a	2.95 ab	3.69 ab	4.94 a	6.38 ab	7.78 ab	8.92 ab	10.82 ab	12.1 a	13.56 a	15.81 ab	17.73 a
(H ₄ D ₁) Triklopir 100%	0.37 b	1.47 fgh	3.24 f	6.08 fgh	11.24 f	17.14 ij	21.86 hi	28.53 hi	36.53 hi	41.51 i	47.88 fg	53.66 h	62.6 gh	63.24 h	63.59 h
(H ₄ D ₂) Triklopir 75%	0.33 ab	0.48 a	1.7 abc	2.28 a	4.64 abc	6.38 abcd	7.67 abc	9.77 abcd	11.68 abc	12.13 ab	14.41 ab	15.33 ab	17.54 ab	20.79 abc	22.24 ab
(H ₄ D ₃) Triklopir 50%	0.33 ab	2.14 i	3.5 g	6.3 gh	11.39 f	16.33 hij	20.75 ghi	28.42 hi	35.9 hi	39.88 hi	50.2 g	55.12 h	58.69 gh	62.77 h	63.59 h
(H ₅ D ₁) 2,4 D 100%	0.18 a	0.88 bcd	2.21 bcde	4.35 cde	6.56 bcd	8.49 cde	12.27 cde	15.26 bcde	16.92 bcde	18.3 bcd	22.45 bc	25.65 bcd	29.3 cd	32.38 de	31.18 bcd
(H ₅ D ₂) 2,4 D 75%	0.22 ab	1.81 i	2.29 bcde	5.34 efgh	9.4 ef	13.6 fghi	15.81 efg	20.27 efgh	23.11 defg	26.35 cde	33.1 cd	34.65 cde	37.14 de	40.19 ef	42.17 ef
(H ₅ D ₃) 2,4 D 50%	0.33 ab	1.21 cdef	2.25 bcde	6.12 fgh	10.95 f	15.15 ghij	18.19 fgh	23.55 efgh	26.76 efg	29.41 efg	34.78 de	36.22 def	42.09 ef	45.38 f	45.84
(H ₆ D ₁) Fluroksipir 100%	0.26 ab	0.85 abc	1.99 abcd	3.21 abc	5.9 abc	8.99 cdef	12.72 cde	18.02 defg	22.39 def	27.37 def	35.39 de	35.63 cde	41.47 ef	45.34 f	51.03 fg
(H ₆ D ₂) Fluroksipir 75%	0.29 ab	0.7 ab	1.92 abcd	4.09 bcde	7.26 cd	10.43def	13.75 def	18.5 defg	22.94 defg	25.58 cde	33.4 cd	38.63 ef	42.02 ef	44.89 f	50.17 fg
(H ₆ D ₃) Fluroksipir 50%	0.26 ab	0.88 bcd	3.69 g	6.71 h	12.2 f	18.1 j	23.41 i	33.32 i	40.99 i	47.59 i	54.21 g	56.43 h	59.6 gh	62.33 h	63.11 h
(H ₁ D ₁) Parakuat 100%	0.29 ab	1.51 fgh	2.4 cdef	3.76 bcd	6.23 bcd	8 bcde	10.54 bcd	15.89 cdef	21.97 cdef	24.95 cde	36.71 def	42.91 efg	44.91 ef	47.92 fg	62.55 h
(H ₁ D ₂) Parakuat 75%	0.26 ab	1.56 fgh	2.65 def	5.2 defg	9.22 ef	11.57 efg	16.31 efg	24.38 fgh	33.29 ghi	42.28 i	46.06 efg	52.48 h	57.69 gh	60.56 h	62.96 h
(H ₁ D ₃) Parakuat 50%	0.33 ab	1.51 fgh	2.99 ef	5.16 defg	8.96 df	13.34 fghi	16.35 efg	24.88 ghi	33.92 i	40.22 i	53.01 g	56.29 h	63.59 h	63.59 h	63.59 h

Tabel 2. Luas Koloni Jamur *Trichoderma* sp (cm²)

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji HSD Tukey pada taraf 1%

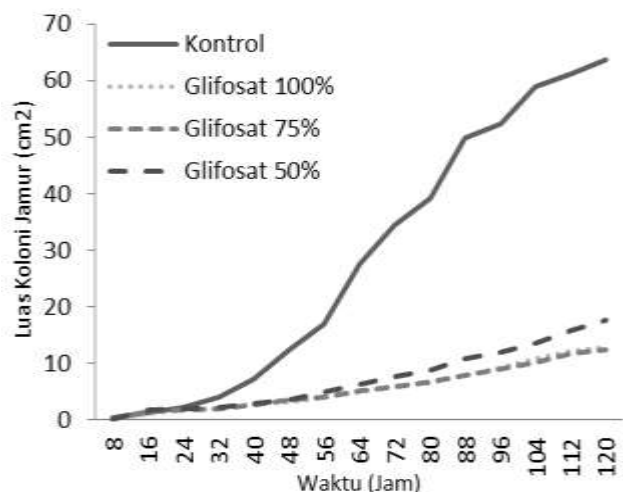
Dari hasil pengamatan pada Tabel 2 terlihat perbedaan pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₁D₁ (parakuat 100%), H₁D₂ (parakuat 75%), dan H₁D₃(parakuat 50%). Tidak terlihat perbedaan nyata akibat konsentrasi herbisida pada H₁D₁ (parakuat 100%), H₁D₂ (parakuat 75%), dan H₁D₃ (parakuat 50%). Hal ini jelas terlihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Grafik perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan parakuat

Pertumbuhan *Trichoderma* sp terhambat pada perlakuan parakuat mulai dari konsentrasi 100% sampai 50% karena terjadi penurunan kalium, fosfat, dan tingkat pengambilan oksigen. Sahid *et al* (1981) menyatakan bahwa parakuat menghambat menurunkan kalium dan fosfat pada jamur. Tingkat kehilangan zat-zat ini semakin besar seiring konsentrasi yang makin besar. Parakuat juga meningkatkan jumlah *malondialdehyde*, hasil sampingan dari hancurnya membran asam lemak, pada *Zygorrynychus* dan *Mucor*. Selain itu, Wilkinson dan Lucas (1969) menyatakan bahwa pemberian parakuat mempengaruhi tingkat pengambilan oksigen *Trichoderma viride*, dimana konsentrasi parakuat berbanding terbalik dengan tingkat pengambilan oksigen *Trichoderma viride*. Penurunan ini mulai terlihat pada konsentrasi parakuat 10 ppm.

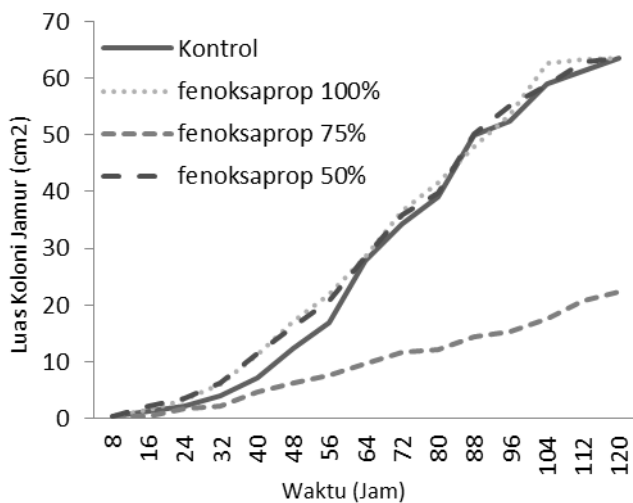
Dari Tabel 2 jelas terlihat perbedaan pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₂D₁ (glifosat 100%), H₂D₂ (glifosat 75%), dan H₂D₃ (glifosat 50%), namun tidak ada perbedaan nyata karena konsentrasi antar H₂D₁ (glifosat 100%) dengan H₂D₂ (glifosat 75%), dan H₂D₃ (glifosat 50%) selain pada pengamatan 16 jam. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Grafik perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan glifosat

Pertumbuhan *Trichoderma* sp terhambat pada perlakuan glifosat mulai dari konsentrasi 100% sampai 50% karena pembentukan proteinnya terhambat. Pfeiffer (2009) menyatakan glifosat mengendalikan gulma dengan menghambat fungsi enzim *5-enolpyruvylsikimate-3-phosphate synthase (EPSP synthase)* yang berbentuk protein dan menyebabkan *EPSP synthase* yang bertanggung jawab dalam pembentukan enzim *EPSP* tidak berfungsi. Enzim *EPSP* dibutuhkan untuk sintesis asam amino esensial *tryptophan*, *phenylalanine* dan *tyrosine*. Tanpa ketiga asam amino ini, tumbuhan tidak dapat membentuk protein yang dibutuhkannya dan akan mati. *EPSP synthase* hanya ditemukan pada tumbuhan, jamur, dan bakteri

Dari Tabel 2 terlihat perbedaan nyata pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₃D₃ (fenoksaprop-etil 50%). Sedangkan perbedaan nyata pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₃D₁ (fenoksaprop-etil 100%) dan H₃D₂ (fenoksaprop-etil 75%) terlihat pada pengamatan 16 hingga 48 jam seperti yang terlihat pada Tabel 2, dimana terlihat perlakuan H₃D₁ (fenoksaprop-etil 100%) dan H₃D₂ (fenoksaprop-etil 75%) tumbuh lebih cepat daripada kontrol, berbanding terbalik dengan perbedaan nyata pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₃D₃ (fenoksaprop-etil 50%). Hal ini terlihat jelas pada Gambar 3 dibawah ini.



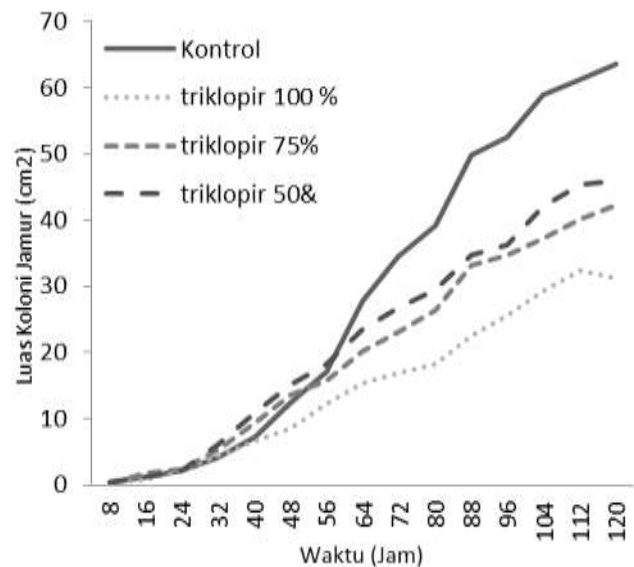
Gambar 3. Grafik perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan fenoksaprop-etil

Pertumbuhan *Trichoderma* sp tidak terhambat pada perlakuan H₃D₁ (fenoksaprop-etil 100%) dan perlakuan H₃D₃ (fenoksaprop-etil 50%), karena fenoksaprop-etil sebagai herbisidakelas *aryloxy phenoxy-propionate* hanya menghambat enzim *AcCase* khusus pada tumbuhan. DiTomaso (2005) menyatakan herbisida kelas *aryloxy phenoxy propionate* dan *cyclohexanedione* adalah graminisida paska tanam yang bekerja dengan menghambat sintesis lemak. Target utamanya adalah enzim *acetyl-coenzyme A-carboxylase(ACCase)*, enzim yang berada di *plastid* yang mengkatalisasi konversi *ACCo-A* menjadi *malonyl Co-A*. Adapun *ACCase* pada jamur dan tumbuhan sangat berbeda. Podkowinski dan Thorak (2011) menyatakan sel tumbuhan memiliki 2 jenis *AcCase* sekaligus yaitu *AcCase* tipe eukariotik di dalam *cytosol* dan *AcCase* tipe prokariotik di dalam *plastid*. Sementara itu, hewan dan jamur hanya memiliki *AcCase* tipe eukariotik, kecuali satu jenis nematoda *Turbatrix aceti*.

Pertumbuhan *Trichoderma* sp pada perlakuan H₃D₂ (fenoksaprop-etil 75%) terhambat dibandingkan dengan kontrol, H₃D₁ (fenoksaprop-etil 100%) maupun perlakuan H₃D₃ (fenoksaprop-etil 50%) karena zat anti jamur yang muncul akibat interaksi khusus antara *Trichoderma* sp, media PDA dan fenoksaprop-etil dengan konsentrasi 75% (1125 ppm). Fenoksaprop-etil mengandung senyawa *benzoxazol* yang termasuk ke dalam jenis senyawa *azole* yang dapat menghambat jamur. Modiya dan Patel (2012) menyatakan bahwa sejumlah senyawa *azole* dilaporkan sebagai agens antibakteri dan antijamur. *Benzoxazolinone* muncul secara alami pada tumbuhan. Mereka memainkan peran sebagai senyawa pertahanan melawan jamur, bakteri, dan serangga.

Dari Tabel 2 terlihat perbedaan nyata antara kontrol dengan H₄D₁ (Triklampir 100%), H₄D₂ (Triklampir 75%), maupun H₄D₃(Triklampir

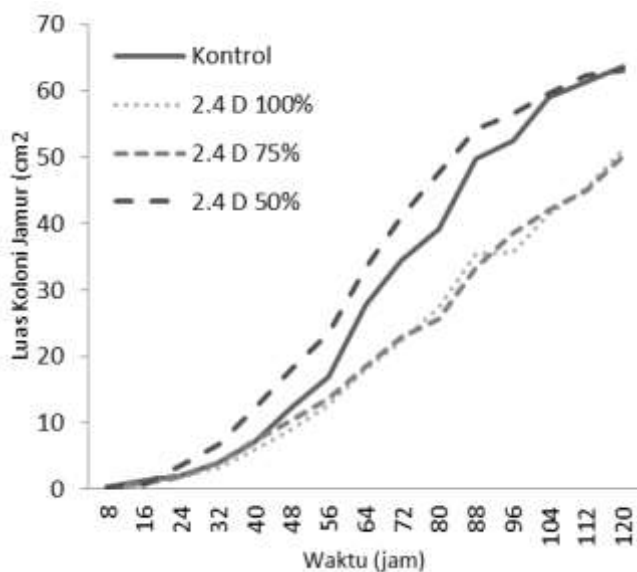
50%). Perbedaan nyata mulai terlihat saat *Trichoderma* sp. mencapai umur 64 jam hingga 120 jam. Perbedaan nyata juga terlihat antara perlakuan H₄D₁ dengan H₄D₂ dan H₄D₃, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4. Perbedaan konsentrasi triklampir pada ketiga perlakuan tersebut menyebabkan perbedaan luas koloni *Trichoderma* sp, yang menunjukkan bahwa konsentrasi triklampir berbanding terbalik dengan pertumbuhan koloni *Trichoderma* sp.



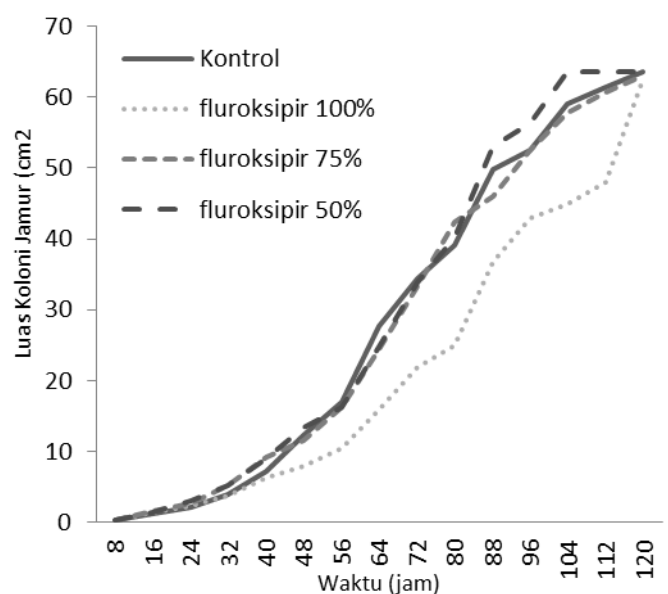
Gambar 4 . Grafik perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan triklampir

Pertumbuhan *Trichoderma* sp terhambat pada perlakuan H₄D₁ (Triklampir 100%), H₄D₂ (Triklampir 75%), dan H₄D₃ (Triklampir 50%) karena triklampir termasuk kedalam herbisida kelas *picolinic acid* yang memiliki aktivitas antimikroba. Cai *et al* (2006) menyatakan bahwa walaupun mekanismenya belum diketahui dengan jelas, namun aktivitas antimikroba *picolinic acid* dapat disebabkan adanya metabolisme zat besi di dalam *macrophage* mikroba serta efek-efek gabungan lainnya.

Dari Tabel 2 terlihat perbedaan nyata pertumbuhan koloni *Trichoderma* sp antara kontrol dengan perlakuan H₅D₁ (2,4 D 100%) dan H₅D₂(2,4 D 75%), dimulai dari 64 jam hingga 120 jam seperti yang terlihat pada Tabel 2. Sementara itu, perlakuan H₅D₃(2,4 D 50%) berbeda nyata dengan perlakuan H₅D₁ (2,4 D 100%) dan H₅D₂ (2,4 D 75%), namun tidak berbeda nyata dengan kontrol pada umur 56 jam hingga 120 jam seperti yang terlihat pada Tabel 2. Perbedaan nyata antara H₅D₃ dengan kontrol hanya terjadi pada pengamatan koloni *Trichoderma* sp pada umur 24 sampai 56 jam. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Grafik Perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan 2.4D



Gambar 6. Grafik perbandingan pertumbuhan koloni jamur antara kontrol dengan fluroksipir

Trichoderma sp tidak terhambat pada perlakuan H₅D₁ (2,4 D 100%) dan H₅D₂(2,4 D 75%) pada umur 8 – 48 jam dan H₅D₃ (2.4 D 50%) karena 2,4D tidak bersifat antimikroba terhadap jamur. Devi *et al* (2008) menyatakan bahwa penyemprotan 2,4 D pada tanah sawah menguntungkan jamur tanah, namun menurunkan populasi bakteri pada awal penyemprotan. Tu *et al* (2001) menyatakan bahwa pada tanah dengan jumlah mikroba yang cukup, 2,4D dapat di degradasi dalam hitungan jam.

Ketika 2,4D terurai dalam hitungan jam oleh *Trichoderma* sp, asam asetat akan terlepas. Jourdier *et al* (2013) menyatakan bahwa asam asetat adalah salah satu inhibitor utama potensial yang dapat berasal dari perlakuan asam untuk produksi biomassa lignoselulosa. Berdasarkan proses industri, efek asam asetat terhadap *Trichoderma reesei* yang ditumbuhkan pada glukosa, diketahui jika asam asetat berpengaruh besar terhadap tingkat pertumbuhan dan hasil *Trichoderma reesei*. Pada perlakuan H₅D₁ dan H₅D₂, konsentrasi 2,4D lebih tinggi daripada H₅D₃ sehingga konsentrasi asam asetat yang tersedia lebih tinggi dan menyebabkan pertumbuhan *Trichoderma* sp lebih terhambat pada perlakuan H₅D₁ dan H₅D₂ dibandingkan dengan H₅D₃ dan kontrol.

Dari Tabel 2 tidak terlihat perbedaan nyata antara pertumbuhan antara kontrol dengan perlakuan H₆D₃ (fluroksipir 75%) dan H₆D₃ (fluroksipir 75%). Sementara itu perbedaan nyata antara kontrol dengan H₆D₁ (fluroksipir 100%) hanya terjadi pada saat *Trichoderma* sp berumur 56 sampai 112 jam, sedangkan sisanya tidak nyata, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 6.

Hal ini menunjukkan fluroksipir tidak memberikan pengaruh negatif terhadap *Trichoderma* sp. Durkin (2009) menyatakan bahwa sebuah ringkasan laporan yang dikeluarkan Komisi Eropa menunjukkan tidak adanya dampak negatif yang terlihat pada metabolisme karbon dan nitrogen dari pengujian biologis mikroorganisme yang diberikan perlakuan fluroksipir dan substansi tidak dikenal lainnya, dimana jumlah perlakuan setara dengan 2 kg / hektar.

2. Kepadatan spora *Trichoderma* sp.

Pengamatan kepadatan spora koloni jamur *Trichoderma* sp telah dilakukan setelah pengamatan luas koloni jamur selesai (120 jam). Hasil sidik ragam menunjukkan interaksi antara jenis bahan aktif herbisida dengan konsentrasi bahan aktif tersebut adalah nyata pada tingkat kepercayaan 0,01. Hal ini menunjukkan jika pengaruh bahan aktif herbisida dan pengaruh konsentrasi bahan aktif herbisida tidak berpengaruh secara bebas terhadap kepadatan spora koloni jamur *Trichoderma* sp, yang berarti pengaruh bahan aktif herbisida spesifik pada berbagai level konsentrasi bahan aktif tersebut.

Berikut ini adalah tabel yang menunjukkan kepadatan spora koloni jamur *Trichoderma* sp yang diamati setelah 120 jam.

Tabel 3. Kepadatan spora (x 10⁸ / cm²)

Perlakuan	Kepadatan spora
(H ₀ D ₁) Kontrol	17.65 d
(H ₀ D ₁) Kontrol	18.9 d
(H ₀ D ₁) Kontrol	18.95 d
(H ₁ D ₁) Parakuat 100%	1.45 a
(H ₁ D ₂) Parakuat 75%	2.05 a
(H ₁ D ₃) Parakuat 50%	3.6 a

(H ₂ D ₁) Glifosat 100%	10 b
(H ₂ D ₂) Glifosat 75%	11.25 bc
(H ₂ D ₃) Glifosat 50%	11.1 bc
(H ₃ D ₁) Fenoksaprop 100%	18.75 d
(H ₃ D ₂) Fenoksaprop 75%	2.65 a
(H ₃ D ₃) Fenoksaprop 50%	19.55 d
(H ₄ D ₁) Triklolpir 100%	9.7 b
(H ₄ D ₂) Triklolpir 75%	10 b
(H ₄ D ₃) Triklolpir 50%	12.95 c
(H ₅ D ₁) 2,4 D 100%	12.95 c
(H ₅ D ₂) 2,4 D 75%	12.8 c
(H ₅ D ₃) 2,4 D 50%	13.45 c
(H ₆ D ₁) Fluroksipir 100%	17.8 d
(H ₆ D ₂) Fluroksipir 75%	19.7 de
(H ₆ D ₃) Fluroksipir 50%	21.1 e

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji HSD Tukey pada taraf 1%

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan H₁D₁, H₁D₂, H₁D₃ (parakuat) menunjukkan kepadatan spora paling rendah, Selain itu, tidak terdapat perbedaan nyata antara perlakuan H₁D₁, H₁D₂, H₁D₃, walaupun perlakuan H₁D₃ (parakuat 50%) memiliki kepadatan spora lebih tinggi dari H₁D₂ (parakuat 75%), dan H₁D₂ (parakuat 75%) memiliki kepadatan spora lebih tinggi dari H₁D₁ (parakuat 100%) dan Hal ini disebabkan penurunan tingkat respirasi, sehingga terjadi penurunan aktivitas sel jamur yang berujung pada pembentukan spora jamur yang terhambat. Wilkinson dan Lucas (1969) menyatakan bahwa pemberian parakuat mempengaruhi tingkat pengambilan oksigen *T.viride*, dimana konsentrasi parakuat berbanding terbalik dengan tingkat pengambilan oksigen *T.viride*

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa koloni *Trichoderma* sp pada perlakuan H₂D₁, H₂D₂, H₂D₃ (glifosat) memiliki kepadatan spora paling rendah setelah H₁D₁, H₁D₂, H₁D₃(parakuat). Namun, antara ketiga perlakuan H₂D₁, H₂D₂, H₂D₃tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hal ini disebabkan terhambatnya produksi protein yang dibutuhkan *Trichoderma* sp untuk menghasilkan spora. Pfeiffer, (2009) menyatakan bahwa glifosat mengendalikan gulma dengan menghambat fungsi enzim *5-enolpyruvylsikimate-3-phosphatesynthase (EPSP synthase)* yang berbentuk protein dan menyebabkan *EPSP synthase* yang bertanggung jawab dalam pembentukan enzim *EPSP* tidak berfungsi. Enzim *EPSP* dibutuhkan untuk sintesis asam amino esensial *tryptophan*, *phenylalanine* dan *tyrosine*. *EPSPsynthase* hanya ditemukan pada tumbuhan, jamur, dan bakteri.

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa kepadatan sporakoloni *Trichoderma* sp pada perlakuan H₃D₁(fenoksaprop100%) dan H₃D₃ (fenoksaprop 50%) tidak berbeda nyata

dengan kontrol, sedangkan H₃D₂(fenoksaprop75%) berbeda nyata dengan kontrol. Kemungkinan penyebab hal ini sangat beragam, salah satunya adalah terlepasnya senyawa *azole* dari fenoksaprop-etil dengan kemampuan antimikroba yang kuat, Modiya dan Patel (2012) maenytakan bahwa sejumlah senyawa *azole* dilaporkan sebagai agens antibakteri dan antijamur.

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan H₄D₁, H₄D₂, H₄D₃ (triklopir) menunjukkan kepadatan spora lebih rendah dan berbeda nyata dengan kontrol, Selain itu, terdapat perbedaan nyata antara perlakuan H₄D₁, H₄D₂, H₄D₃, dimana perlakuan H₄D₃(triklopir 50%) memiliki kepadatan spora yang lebih tinggi dan berbeda nyata dengan H₄D₁(triklopir 100%)dan H₄D₂(triklopir 75%). Hal ini disebabkan efek negatif triklopir sebagai herbisida turunan dari *picolinic acid* terhadap pertumbuhan jamur. Cai *et al* (2006) menyatakan bahwa walaupun mekanismenya belum diketahui dengan jelas, aktivitas antimikroba *picolinic acid* dapat disebabkan adanya metabolisme zat besi di dalam *macrophage* serta efek-efek gabungan lainnya.

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan H₅D₁, H₅D₂, H₅D₃ (2,4D) menunjukkan kepadatan spora lebih rendah daripada kontrol. Namun, diantara ketiga perlakuan H₅D₁, H₅D₂, H₅D₃ tidak ada perbedaan yang nyata. 2,4D adalah herbisida dengan tingkat degradasi luar biasa cepat pada tanah dengan kepadatan mikroba yang tinggi (Tu *et al*, 2001) dan tidak menimbulkan efek negatif pada jamur tanah (Devi *et al*, 2008) namun pada keadaan tertutup di cawan petri, senyawa pengikat gugus fungsi 2,4D yaitu asam asetat dapat menumpuk ketika gugus fungsi 2,4D diserap *Trichoderma* sp. Jourdir *et al* (2013) menyatakan asam asetat adalah salah satu inhibitor utama potensial yang dapat berasal dari perlakuan asam untuk produksi biomassa lignoselulosa. Berdasarkan proses industri, efek asam asetat terhadap *Trichoderma reesei* yang ditumbuhkan pada glukosa, diketahui jika sam asetat berpengaruh besar terhadap tingkat pertumbuhan dan hasil *T.reesei*.

Pengamatan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa koloni *Trichoderma* sp. pada perlakuan H₆D₁ (fluroksipir 100%) dan H₆D₂ (fluroksipir 75%) memiliki kepadatan spora yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan H₆D₃ (fluroksipir 50%) menunjukkan kepadatan spora yang lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol. Penyebab hal ini belum jelas diketahui sehubungan sedikitnya penelitian tentang efek fluroksipir terhadap mikroba tanah. namun beberapa penelitian menyebutkan efek unik enzim *indole*

acetid acid (IAA) pada jamur, dimana fluroksipir adalah herbisida dengan cara kerja meniru enzim IAA (Durkin, 2009). Efek enzim IAA dapat mengakibatkan pertumbuhan berlebihan pada jamur. Prusty *et al* (2004) menyampaikan bahwa jamur harus mengenali ciri khas yang dihasilkan tumbuhan untuk memulai perubahan morfogenetik seperti filamentasi yang bertujuan menginfeksi tumbuhan. Pada penelitian ini , terlihat jika hormon IAA menginduksi adhesi dan filamentasi *Saccharomyces cerevisiae*. Genom yang mengeksperesikan perubahan sel yang diberi perlakuan IAA di identifikasikan sebagai Yap1, sebuah faktor kunci untuk transkripsi yang menjadi mediator respon jamur terhadap IAA

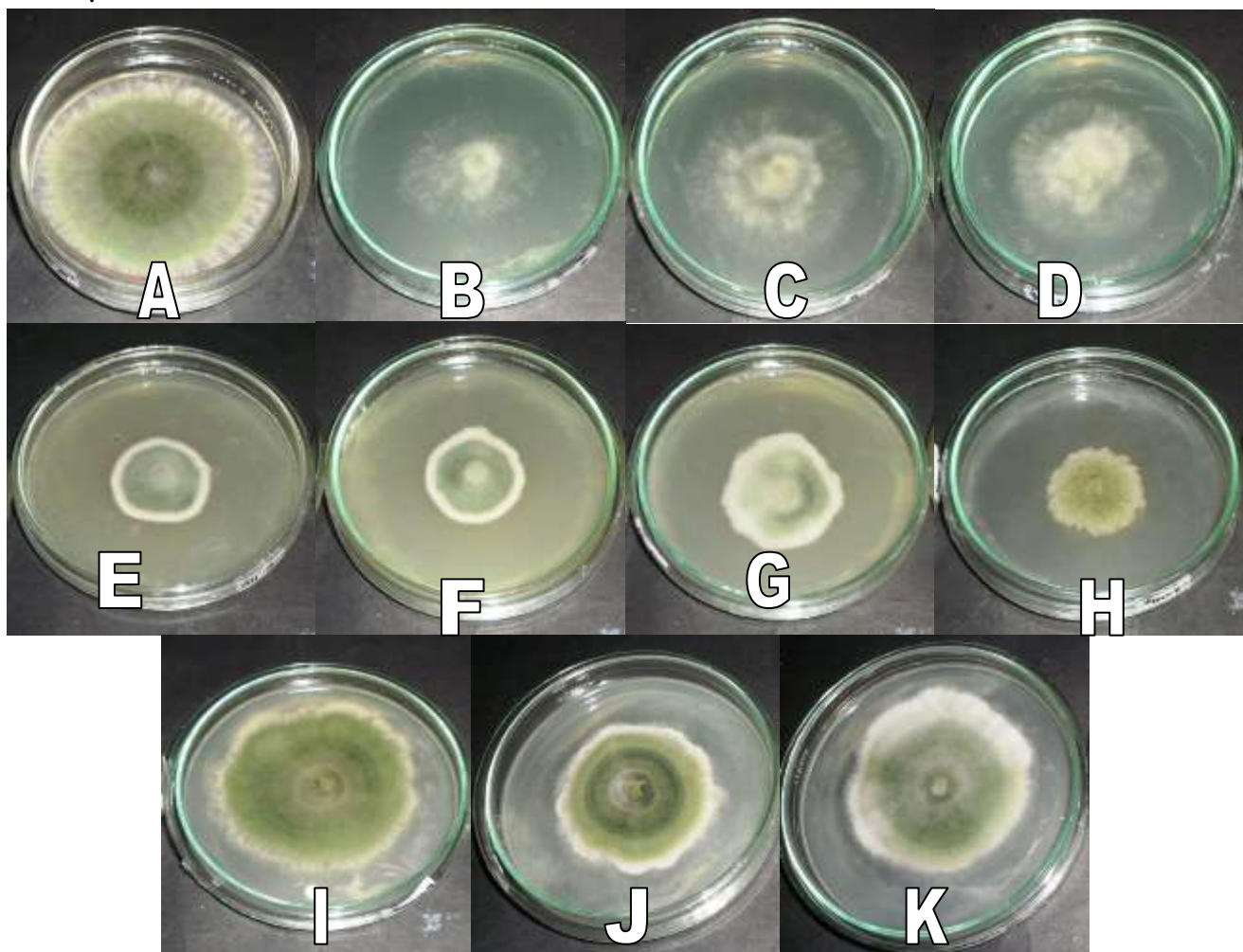
3. Pengamatan makroskopis jamur

Pengamatan makroskopis koloni jamur *Trichoderma* sp. menunjukkan adanya perbedaan antara kontrol dengan perlakuan lainnya, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 9. Perbedaan ditemukan pada perlakuan H₁D₁

(Parakuat 100%), H₁D₂ (Parakuat 75%), H₁D₃ (Parakuat 50%), H₂D₁ (Glifosat 100%), H₂D₂ (Glifosat 75%), H₂D₃ (Glifosat 50 %), H₃D₂ (Fenoksaprop 75%), H₄D₁ (Triklampir 100 %), H₄D₂ (Triklampir- 100%) dan H₄D₃ (Triklampir 50%).

Trichoderma sp. pada perlakuan kontrol seperti yang terlihat pada Gambar 8 A tumbuh dengan cepat, berwarna keputihan dengan hifa yang nampak berbulu halus dan tumbuh seragam, kemudian membentuk lingkaran konsentris berwarna hijau pucat yang perlahan berubah menjadi hijau tua, sehingga terlihat gradasi perbedaan warna lingkaran konsentris muda dengan lingkaran konsentris yang lebih tua.

Trichoderma sp. pada perlakuan parakuat seperti yang terlihat pada Gambar 8 B, C, dan D di atas tumbuh lambat, berwarna putih pucat dengan hifa yang nampak berbulu halus dan tumbuh bertumpuk-tumpuk, dan tidak membentuk lingkaran konsentris ataupun mengalami perubahan warna. Massa hifa tidak padat sehingga koloni jamur terlihat nyaris transparan,



Gambar 8. Perbandingan pengamatan makroskopis koloni Jamur *Trichoderma* sp A. Kontrol. B. Parakuat 100%. C. Parakuat 75%. D. Parakuat 50 %. E. Glifosat 100%. F. Glifosat 75 % G. Glifosat 50 %. H. Fenoksaprop-etil 75%. I. Triklampir 100% J. Triklampir 75%. K. Triklampir 50%

Trichoderma sp. pada perlakuan glifosat seperti yang terlihat pada Gambar8 E, F, dan G

tumbuh dengan hifa tebal di pinggiran koloni, berwarna putih lalu tiba-tiba melambat dan

mulai membentuk lingkaran konsentris berwarna hijau muda dengan cepat. Lingkaran konsentris ini lalu berubah warna menjadi hijau tua dan dengan cepat menyatu dengan lingkaran konsentris lainnya. Hifa yang tumbuh di luar lingkaran perlahan menebal, menumpuk dan mulai menimpa koloni yang tumbuh lebih dulu.

Trichoderma sp. pada perlakuan fenoksaprop-etil konsentrasi 75% seperti yang terlihat pada Gambar 8H tumbuh lambat, berwarna putih susu dengan hifa yang kelihatan berair dan tumbuh bertumpuk-tumpuk, kemudian membentuk kerak tipis yang perlahan berubah warna menjadi kehijauan. Perubahan warna pada koloni terjadi secara tidak seragam dan tidak membentuk lingkaran konsentris.

Trichoderma sp. pada perlakuan triklopir seperti yang terlihat pada Gambar 8 I, J, dan K tumbuh cepat namun tidak teratur dan tidak berbentuk lingkaran. Hifa nampak berbulu halus dan dengan cepat membentuk lingkaran

konsentris berwarna hijau muda yang lalu berubah menjadi hijau tua. Hifa yang tumbuh di luar lingkaran konsentris perlahan menebal dan membentuk lapisan yang menyerupai busa. Pertumbuhan lingkaran konsentris lambat.

SIMPULAN

Pengaruh bahan aktif herbisida terhadap luas koloni dan kepadatan spora jamur *Trichoderma* sp. spesifik pada berbagai level konsentrasi bahan aktif tersebut. Fluroksipir dan fenoksaprop-etil pada konsentrasi tertentu tidak memberikan pengaruh negatif terhadap pertumbuhan koloni dan kepadatan spora *Trichoderma* sp sedangkan glifosat, parakuat, dan triklopir memberikan pengaruh negatif terhadap luas koloni *Trichoderma* sp. Fluroksipir dengan konsentrasi 1000 ppm meningkatkan kepadatan spora koloni *Trichoderma* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Bande, L.O.S & A. Rahman. 2008. Pengaruh Herbisida Parakuat Terhadap Jamur Agens Hayati Dan Keparahan Penyakit Busuk Pangkal Batang Lada. Petra Christian University Research Centre. Surabaya.
- Cai, S., K. Sato, T. Shimizu, S. Yamabe, M. Hiraki, C. Sano, & H. Tamioka. 2006. Antimicrobial activity of picolinic acid against extracellular and intracellular *Mycobacterium avium* complex and its combined activity with clarithromycin, rifampicin and fluoroquinolone. *Journal Antimicrob. Chemother* 57,1,85-93..
- DiTomaso, J.M, 2005. Understanding Herbicide: What They Are and How They Work. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources.
- Durga Devi, K.M., S. Beena., & C.T. Abraham. 2007. Shortcommunication Effect of 2,4-D residues on soil microflora. *Journal of Tropical Agriculture* 46 (1-2): 76-78, 2008.
- Durkin, R.P. 2009. Fluroxypyr Human Health and Ecological Risk Assessment. Syracuse Environmental Research Associates, Inc. New York.
- Handajani, N.S. & T. Purwoko. 2007. Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus* spp. Penghasil Aflatoksin dan *Fusarium moniliforme*. Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Islam, M.S., M.R. Amin, A.K. Saha, M.M. Islam, & H.Q.M. Mosaddeque. 2008. In vitro Studies on the Reaction of fungi *Trichoderma* to Different Herbicides Used in Tea Plantation. *Int. J. Sustain. Crop Prod* 3(5):27-30.
- Jourdier, E., L. Poughon, C. Larroche, & F.B. Chaabane. 2013. *Comprehensive Study and Modeling of Acetic Acid Effect on Trichoderma reesei Growth*. Industrial Biotechnology. June 2013, 9(3): 132-138.
- Milosevic, N.A. & M.M. Govedarica. 2002. Effect of Herbicides on Microbiological Properties of Soil. *Proceedings for Natural Sciences*. 102, 5-21.
- Modiya, P.R & C.N. Patel. 2012. Synthesis and Screening of antibacterial and antifungal activity of 5-chloro-1,3-benzoxazol-2(4 h)-one derivatives. *Organic and Medicinal Chemistry Letters* 2:29.
- Pffeifer, M. 2009. Glyphosate: Mode of Action. Pesticide Training Resource. Arizona.

- Podkowinski, J. & A.Tworak. 2011. Acetyl-coenzyme A carboxylase-an attractive enzyme for biotechnology. *BioTechnologia Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology* vol 92(4).321-335.
- Prusty, R., P. Grisafi,& G.R. Fink, 2004. The Plant hormone indoleacetic acid induced invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *PNAS* vol 101 (12) 4153-4157.
- Sahid, I.B., A.J.E. Lyon, &S.N. Smith.1981. The Effect of Bipyrindyl Herbicides on The Loss of Nutrients From Fungi. *New Phytol.*(1981)89, 401-409.
- Sudibyo, D. 1994. Petunjuk Praktis Cara Menghitung Jumlah, Kerapatan, dan Viabilitas Spora Jamur. Laboratorium Utama Pengendalian Hayati Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur.
- Tu, M., C. Hurd, R. Robison, J.M. Randall. 2001. Weed Control Methods Handbook, The Nature Conservancy, accessed from www.invasive.org at 12 april 2012.
- Wilkinson, V & R.L. Lucas. 1969. Effect of Herbicide on the Growth of Soil Fungi. *New Phytol.*(1969)68, 701-719.
- Zhang, W., F, Jiang,& J. Ou. 2011. Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. Article. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 1(2):125-144.