



TOKSISITAS METABOLIT SEKUNDER PENICILLIUM SP. PADA BERBAGAI MEDIA KULTUR UNTUK MENGENDALIKAN SPODOPTERA SP. SECARA IN VITRO

Eko Muri Sanjaya

Program Studi Agroteknologi

Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan 2016, Indonesia

ekomurisanjaya@gmail.com

Abstract

This research was aimed to study the secunder metabolit toksicity of Penicillium sp on various media of culture for controlling Spodoptera sp. (Lepidoptera: Noctudae) by in vitro. This reseach was done in Plant Disease Laboratory of Agriculture Faculty, North Sumatera University from January till August, 2016. A Non Factorial Complexitiy Randomized Design with 5 (five) treatment (Potato Dextrose Agar, Sabouraud Dextrose Agar, DOC2, Czapek Dox Agar, and the flour which derived from the Spodoptera sp. body) and four replication was applied in this research. The result shown that the highest mortality of Spodoptera sp. (100%) was found on the treatment which used flour which derived from the body of Spodoptera sp.as media on the 6th hours observation after application and Lt50 was occured on the 3,545th hours after application.

Abstrak

Penelitian untuk mempelajari toksisitas metabolit sekunder Penicillium sp. pada berbagai media kultur untuk mengendalikan Spodoptera sp. (Lepidoptera: Noctuidae) secara in vitro. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara mulai bulan Januari hingga Agustus 2016. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan 5 perlakuan (Potato Dextrose Agar, Sabouraud Dextrose Agar, D0C2, Czapek Dox Agar, dan tepung yang berasal dari tubuh Spodoptera sp.) dan empat ulangan. Hasil penelitian menunjukkan mortalitas Spodoptera sp. tertinggi (100%) terdapat pada perlakuan media tepung yang berasal dari tubuh Spodoptera sp. pada pengamatan 6 jam setelah aplikasi dan Lt50 terjadi 3,545 jamsetelah aplikasi.

Kata kunci : Spodoptera sp, Penicillium sp. metabolit sekunder, media kultur.

1. Pendahuluan

Ulat grayak (Spodoptera sp.) merupakan hama utama pemakan daun pada tanaman pangan, perkebunan dan hortikultura. Hama ini merusak pertanaman kapas, jatar (Sesbania sesban), kembang kol dan arum (Colocasia esculenta) dengan intensitas serangan 70-98% serta menyebabkan gagal panen di negara Pakistan (Ahmad et al., 2013). Di Indonesia hama ini merusak 112 jenis tanaman antara lain : tembakau sebesar 30 %, kedelai 80%, sawi 90%, kubis 98%, kacang tanah 30%, kentang 60% cabai 53% dan sayuran lainnya sebesar 34%.

Serangan terberat Spodoptera sp. terdapat pada instar 3, 4 dan 5, hama ini dapat menyerang tulang daun hingga tangkai daun menyebabkan tanaman menjadi botak dan mati (Hasnah et al., 2012).

Berbagai upaya yang dilakukan untuk mengendalikan hama ini antara lain: pemakaian insektisida kimia dapat menekan sebesar 30-70% (Amir, 2009) dan pemakaian insektisida nabati dapat menekan 20-30% (Tohir, 2011) pada pertanaman tembakau. Agens hayati yang sering digunakan untuk mengendalikan hama ini antara lain: *Beauveria bassiana*, *Entomophthora* spp., *Metarizium* spp., *Aspergillus* sp. dapat membunuh Spodoptera sp. sebesar 50-78% pada skala laboratorium dan 35-50% pada lahan pertanian (Pasarut et al., 2014). . Berbagai cara telah dilakukan untuk meningkatkan virulensi berbagai cendawan entomopatogen namun suhu udara dan keadaan tanah adalah faktor pembatas perkembangan cendawan entomopatogen. Cendawan entomopatogen yang dapat bertahan pada suhu ekstrim adalah cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. Suhu pertumbuhan kapang tersebut adalah 20-80°C (Kathiresan dan Manivannan, 2006, Nwodo et al., 2008) dan dapat tumbuh pada kisaran pH antara 2-9 (Sindhu, 2011).

Efektivitas dan virulensi pertumbuhan cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. sangat bergantung pada jenis medium yang digunakan. Media yang dipakai untuk menumbuhkan cendawan entomopatogen sangat menentukan laju pembentukan koloni dan jumlah konidia selama pertumbuhan. Jumlah konidia akan menentukan keefektifan cendawan entomopatogen dalam mengendalikan serangga (Widayat dan Rayati, 1993). Adanya perbedaan sporulasi atau jumlah konidia yang dihasilkan oleh masing-masing substrat terkait dengan banyak atau sedikitnya kandungan nutrisi yang terdapat pada medium.

Medium yang sering digunakan untuk menumbuhkan *Penicillium* sp. entomopatogen antara lain : medium kultur umum kompleks mikroorganisme PDA (Potato Dextrose Agar) medium ini sering digunakan untuk mengisolasi khamir, molds, actinomycetes dan bakteri (Koch, 1881). Medium diperkaya seperti SDA (Sabouroud 's Dextrose Agar) merupakan medium kaya nutrisi untuk menstimulasi pertumbuhan optimum cendawan dermatofungi yang menyerang integument makhluk hidup (Sabouroud, 1892).

Berbagai jenis medium memiliki komposisi yang berbeda sehingga menunjukkan pertumbuhan dan virulensi yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut maka dianggap perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui penggunaan media yang paling berpotensi menghasilkan virulensi yang tinggi sebagai media perbanyak cendawan entomopatogen *Penicillium* sp. dan paling efektif mengendalikan serangga hama Spodoptera sp. di laboratorium.

2. Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan. (\pm 25 m di atas permukaan laut) mulai Januari– Agustus 2016.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Penicillium* sp. yang berasal dari Spodoptera sp. yang terinfeksi, Spodoptera sp., air destilasi, dextrose, agar, kentang,

alkohol 96%, sukrose, bacto peptone, glukose, yeast extract agar, gelatin, CuCl₂, kristal violet, PDA, CDA, SDA, D0C2-4, dan tepung tubuh Spodoptera sp. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah hameositometer, cawan petri, autoclave, timbangan, beaker glass, laminar air flow, inkubator, oven, hand counter, gelas ukur, burnsen, cling wrap, aluminium foil, kapas, cork borer, handsprayer, blender, saringan, kain muslim, gunting, sungkup, corong dan seluruh alat yang mendukung penelitian ini.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial 3. Perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Data dianalisa menggunakan SPSS 21, terhadap data yang berbeda nyata dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan (UJGD) taraf 5 %.

Peubah amat yang dilakukan antara lain: Perilaku dan Morfologi Spodoptera sp. persentase Mortalitas (%) dan Waktu Kematian Spodoptera sp. (LT 50).

3. Hasil dan Pembahasan

Perilaku dan Morfologi Spodoptera sp

Hasil pengamatan yang dilakukan terlihat jelas bahwa terjadi perubahan perilaku dan morfologi larva Spodoptera sp. setelah dilakukan aplikasi metabolit sekunder *Penicillium* sp. Perubahan perilaku yang terjadi pada larva satu hari setelah aplikasi menunjukkan gerakan yang mulai melambat, aktifitas makan mulai menurun, larva banyak yang menempel pada permukaan atas tanaman.

Perubahan pada Spodoptera sp. yang terinfeksi toksin adalah pecahnya dan menghitamkan jaringan di bagian abdomen larva, larva menyusut berubah menjadi kuning pucat kemudian berubah lagi menjadi coklat kehitaman, bentuk tubuh larva mengkerut, kaku dan mengeras. Hal ini sesuai dengan penelitian Boucias dan Pandland (1998) menyatakan perubahan warna hitam yang terjadi pada tubuh serangga disebabkan oleh proses melanisasi yang merupakan suatu bentuk pertahanan tubuh serangga melawan patogen. Miselium awalnya muncul antara ruas-ruas tubuh larva pada bagian abdomen. Menurut Trizelia (2005) bahwa akibat terjadinya mekanisme infeksi serangga secara enzimatik dan kimia akan menyebabkan terjadinya kenaikan pH darah, penggumpalan darah dan terhentinya peredaran darah pada serangga sehingga akan menyebabkan kematian dan larva yang sudah mati akan berubah menjadi berkerut dan hitam.

Mortalitas Larva Spodoptera sp. (%)

Hasil pengamatan terhadap mortalitas larva Spodoptera sp. dengan perlakuan berbagai medium kultur metabolit sekunder *Penicillium* sp. yang berbeda menunjukkan fluktuasi terhadap kematian larva Spodoptera sp. Persentase mortalitas larva Spodoptera sp. dapat dilihat pada Tabel 1 menjelaskan fluktuasi mortalitas yang berbeda-beda setiap jam. Tingkat mortalitas terendah yaitu pada perlakuan kontrol yaitu 0%. Sedangkan tingkat mortalitas tertinggi terdapat pada perlakuan ekstrak tubuh yaitu 100%, DOC, CDA, SDA memiliki nilai mortalitas 90%, dan PDB 80%.

Tabel 1. Mortalitas *Spodoptera* sp. 1-10 jsa (jam setelah aplikasi) di laboratorium.

perlakuan	Mortalita spodoptera 1-10 JSA									
	Jam Setelah Pengamatan									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	0	0b	0b	0	0e	0e	0d	0c	0c	0c
Potato dextrose	0	7a	27a	30	30d	33d	73c	80b	83b	83b
Czapek Dox Agar	0	10a	30a	50	60b	70c	90ab	90ab	90ab	90ab
Sabaaround Dextrose Agar	0	10a	30a	50	60b	80b	90ab	90ab	90ab	90ab
DOC2		10a	30a	50	53c	80b	90ab	90ab	90ab	90ab
Ekstrak Tubuh <i>Spodoptera</i> sp	0	10a	30a	50	80a	100a	100a	100a	100a	100a

Keterangan : Angka - angka yang diikuti notasi yang berbeda pada setiap baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji Duncan dengan taraf 5%.

Nilai mortalitas *Spodoptera* tertinggi terdapat pada komposisi medium ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. hal ini dikarenakan medium ekstrak tubuh mengandung senyawa paling kompleks dalam susunan protein lemak dan senyawa mineral yang berasal dari *Spodoptera* sp. itu sendiri. Jamur yang dikulturkan pada medium ini akan mengabsorpsi substansi yang paling menyamai dengan tubuh serangga uji. Hal ini yang menyebabkan toksisitas metabolik menjadi sangat meningkat. Hal yang sama juga dinyatakan tubuh *Spodoptera* mengandung senyawa utama sebagai substrat obligat pada cendawan entomopatogen. Tubuh *Spodoptera* mengandung protein, polyphenol, hydrocarbon, faty acid, ester, khitin dan tannin (Clarkson dan Charnely, 1996).

Medium terbaik kedua dalam menghasilkan toksisitas terhadap *Spodoptera* adalah medium DOC, SDA, CDA. Medium ini dilaporkan mengandung komposisi karbohidrat dan protein yang tinggi sebagai bahan yang digunakan untuk menghasilkan nutrient sebagai perangsang metabolik skunder. D0C2-4 merupakan medium diferensial selektif untuk cendawan entomopatogen. Medium ini mengandung beberapa fungisida (seperti oxgall, tembaga sulfat, tembaga (II) klorida (CuCl), benomyl dan dodine) dan antibiotik (seperti cholramphenicol, tetracycline dan streptomisin) serta media selektif (Beilhartz et al, 1982; Chase et al., 1986; Shimazu dan Sato, 1996 Mark dan Douglas, 1997 ; Keller et al., 2003; Shimazu et al.,2002; Meyling dan Eilenberg 2006;). Di antara medium tersebut, dodine dan CuCl telah dievaluasi karena lebih efektif untuk isolasi cendawan entomopatogen dari tanah (Chase et al, 1986; Shimazu dan Sato, 1996).

Pepton dipakai dalam kultur media sebagai sumber nitrogen, banyak senyawa nitrogen dan asam amino esensial sederhana terkandung dalam pepton, sehingga mudah dilepas unsur nitrogennya (Sutarma, 2000). Glukosa merupakan senyawa sumber karbohidrat pada biakan jamur Agar berfungsi sebagai pematat pada substrat yang telah di homogenkan (Robert Koch, 1881)

Lethal time 50 (LT50). (Jam)

Hasil penelitian menunjukkan waktu kematian tercepat terdapat pada perlakuan medium tubuh Spodoptera dengan waktu 3,545 jam, diikuti perlakuan DOC sebesar 4,121 jam, kemudian SDA dan CDA memiliki waktu kematian yang sama yaitu 4,138 dan terendah terdapat pada perlakuan PDB yaitu 5,66 jam (Tabel 2)

Tabel 2. LT50 Metabolit sekunder *Penicillium* pada berbagai medium terhadap *Spodoptera* sp.

Perlakuan	Kisaran		
	Lt50 (Jam)	Terendah	Tertinggi
Kontrol	0	0	0
Pottato Dextrose Broth (PDB)	5,66	4,588	7,159
Czapek Dox Agar (CDA)	4,138	3,295	4,922
Sabouroud's	4,138	3,295	4,922
DOC2	4,121	3,289	4,892
Ekstrak Tubuh <i>Spodoptera</i> sp.	3,545	2,984	4,066

Keterangan : Angka - angka yang diikuti notasi yang berbeda pada setiap baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada Uji Duncan dengan taraf 5%.

Hal ini disebabkan medium tubuh *Spodoptera* mengandung makro dan mikronutrient penting yang tidak terdapat pada medium uji yang lainnya. Senyawa ini membentuk ikatan yang sistemik pada jamur yang dibiakkan pada medium ini dan merangsang cendawan biakan untuk dapat beradaptasi dengan medium ini. Hal ini mempermudah jamur untuk dapat mencerna medium ini dan meningkatkan toksisitasnya terhadap nutrisi medium dan menyebabkan jamur mengalami kondisi obligat. Perubahan sistem biokimia jamur pun merangsang cendawan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang toksisitasnya tinggi untuk dapat membunuh *Spodoptera* uji pada waktu tercepat. Seperti yang dinyatakan oleh Clarkson dan Charnely (1996) bahwa perubahan sistem biokimia jamur merangsang cendawan untuk menghasilkan metabolit sekunder yang toksisitasnya tinggi untuk dapat membunuh *Spodoptera* uji pada waktu tercepat. Hal ini berkorelasi positif terhadap substrat dan host yang diuji.

Medium DOC2 merupakan medium selektif entomopatogen. Medium ini akan menghambat pertumbuhan cendawan ke periode vegetatif dengan senyawa tembaga didalamnya, sehingga toksin akan segera dihasilkan pada metabolisme sekunder. Namun medium ini tidak meningkatkan selektifitas obligat jamur sehingga waktu kematian di bawah medium ekstrak tubuh *Spodoptera*.

Medium SDA dan CDA memiliki nilai yang sama dikarenakan medium ini kaya nutrisi jamur dermatofit. Rangsangan ini menyebabkan jamur hanya memparasit namun tidak menghasilkan toksin pada sel. hal yang sama juga dinyatakan Thom dan Church (1926) bahwa kedua medium tersebut digunakan untuk isolasi jamur dermatofit manusia yang merangsang pamparasitan sel namun tidak merangsang jamur masuk ke fase kimiawi penghasil toksin.

Medium PDB memiliki waktu kematian terendah karena medium ini merupakan medium umum isolasi mikroba termasuk jamur dan bakteri. Medium ini kaya karbohidrat dan sedikit protein sehingga jamur akan terangsang untuk membentuk hifa dan sedikit toksin.

Hal yang sama juga dinyatakan Nio (1992) bahwa Potato Dextrose Broth juga digunakan untuk pertumbuhan, isolasi dan enumerasi dari kapang serta khamir pada bahan makanan dan bahan lainnya. Hal yang sama juga dinyatakan Faridaz (1998) bahwa pati ekstrak kentang setiap 100 g mengandung energi 85 kal, air 77,8 g, protein 2g, lemak 0,2g, karbohidrat 19,1g, mineral 1g, kalsium 11mg, fosfor 56 mg, besi 0,7 mg, thiamine 0,11mg, asam askorbat 17 mg berfungsi sebagai sumber nitrogen dan vitamin bagi cendawan. Tingginya kadar karbohidrat menyebabkan meningkatkan laju vegetatif jamur dan menghambat pembentukan metabolik sekunder. Senyawa pada medium ini akan merangsang vegetatif jamur dan menghambat pembentukan metabolit sekunder (Koch, 1881)

4. Simpulan

Medium yang memiliki toksisitas tertinggi terhadap *Spodoptera* sp. adalah medium ekstrak tubuh *Spodoptera* sp. dengan mortalitas 100 % pada pengamatan jam ke enam dan LT 50 pada 3,545 jam setelah aplikasi.

5. Referensi

- Ahmad M, A Ghaffar and M Rafiq. 2013. Host plants of leaf worm, *Spodoptera litura* (fabricius) (lepidoptera: noctuidae) in Pakistan. *Asian J. Agr. Biol.* 1(1):23-28.
- Hasnah, Husni and F. Ade. 2012. Pengaruh ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap mortalitas ulat grayak *Spodoptera litura* F. J. *Floritek.* 7:115-124.
- Amir AM. 2009. Pemantauan Resistensi Hama Tembakau Terhadap Insektisida. Balai Penelitian Tanaman Tembakau Dan Serat Malang. *J. Ilmiah Tan. Tembakau* 8(3):376–380.
- Tohir. 2010. Teknik ekstraksi dan aplikasi beberapa pestisida nabati untuk menurunkan palatabilitas ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di Laboratorium. *Bul. Teknik Pertanian.* 15(1):37–40.
- Pasaru F, Alam A, Tutik K, Mahfud and Shahabuddin. 2014. Prospective of Entomopathogenic Fungi Associated with *Helopeltis* Spp. (Hemipter : Miridae) on Cacao Plantation. *Int. J. Curr. Res. Acad. Rev.* 2(11) 227 - 234.
- Kathiresan K and S Manivannan. 2006. Cellulase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated from Coastal Mangrove Rhizosphere Soil. *Res. J. Microbiol.* 1(5):438-442.
- Nwodo Chinedu S, C Obinna Nwinyi and VI Okochi. 2008. Properties of Endoglucanase of *Penicillium chrysogenum* PCL501. *Austr. J. Basic Appl. Sci.* 2(3):738-746.
- Sindhu R, Nair G. Suprabha dan S. Shashidhar. 2011. Media Engineering For The Production Of Cellulase From *Penicillium* Species (SBSS 30) Under Solid State Fermentation. *Research Article, Biotechnol. Bioinf. Bioeng.* 343-349.
- Widayat W dan DJ Rayati. 1993. Hasil penelitian jamur entomopatogenik local dan prospek penggunaannya sebagai insektisida hayati. Dalam E Martono, E Mahrub, NS Putra, & Y Trisetyawati (Eds.). *Simposium Patologi Serangga I.* Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 12–13 Oktober 1993. hlm. 61-74.
- Sabouraud R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite destrichophytens de l'homme. *Ann. Dermatol. Syphil.* 3:1061-1087

- Clarkson JM and AK Charnley. 1996. New insight into mechanisms of fungal pathogenesis insect. *Trends microbiology* 4(5). Volume 4, Issue 5, 197–203, May 1996.
- Beilharz VC, Parberry DG and HJ Swart. 1982. Dodine: A selective agent for certain soil fungi. *Trans. British Mycol. Soc.* 79:507-511.