

PENGARUH PENAMBAHAN GLISEROL PADA MEDIA PERBANYAKAN TERHADAP DAYA SIMPAN BIOFUNGISIDA *Trichoderma*

THE EFFECT OF GLYCEROL ADDITION IN MULTIPLICATION MEDIUM ON STORAGE LONGEVITY OF *Trichoderma* BIOFUNGICIDE

* Widi Amaria, Yulius Ferry, Samsudin, dan Rita Harni

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

* w_amarial@yahoo.com

(Tanggal diterima: 12 Agustus 2016, direvisi: 30 Agustus 2016, disetujui terbit: 6 November 2016)

ABSTRAK

Daya simpan biofungisida yang mengandung *Trichoderma virens* dan *T. amazonicum* untuk mengendalikan penyakit jamur akar putih (JAP) pada tanaman karet penting untuk diketahui agar tetap efektif ketika diaplikasikan. Komposisi media perbanyakan dalam biofungisida *Trichoderma* sp. dapat mempengaruhi lama hidup dan viabilitas konidia selama penyimpanan. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh penambahan gliserol dalam media perbanyakan terhadap daya simpan biofungisida *T. virens* dan *T. amazonicum*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Januari sampai Juli 2014. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 3 ulangan. Biofungisida yang dibuat terdiri dari: (1) penambahan gliserol (0%, 3%, 6%, dan 9%) pada media perbanyakan *T. virens* dan (2) penambahan gliserol (0%, 3%, 6%, dan 9%) pada media perbanyakan *T. amazonicum*. Masing-masing hasil perbanyakan dicampur dengan bahan pembawa talk, dikeringanginkan, selanjutnya dikemas dalam kantong plastik dan disimpan selama 4 bulan. Pengamatan dilakukan setiap bulan, meliputi: jumlah konidia dan populasi *Trichoderma* sp., serta kadar air biofungisida. Hasil penelitian menunjukkan penambahan gliserol pada media perbanyakan dapat membantu mempertahankan viabilitas *T. virens* dan *T. amazonicum* serta daya simpan biofungisida. Penambahan gliserol 6% sampai 9% pada media perbanyakan *T. virens* dan *T. amazonicum* merupakan konsentrasi terbaik, menghasilkan konidia $7,98 \times 10^7 - 8,59 \times 10^7$ konidia/g dan kelimpahan populasi $11,67 \times 10^3 - 14,67 \times 10^3$ cfu/g pada biofungisida yang disimpan selama 4 bulan.

Kata kunci: Biofungisida, daya simpan, gliserol, *T. virens*, *T. amazonicum*

ABSTRACT

The storage longevity of biofungicide containing *Trichoderma virens* and *T. amazonicum* to control the white root diseases (WRD) in rubber plants is important to know to remain effective when applied. The composition of the multiplication medium in the *T. virens* and *T. amazonicum* biofungicide can affect the longevity and viability of conidia during storage. The objective of the research was to determine the effect of glycerol addition in the multiplication medium of *T. virens* and *T. amazonicum* biofungicide during storage. The research was conducted at the Laboratory of Plant Protection, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute (IIBCRI), Sukabumi, from January to July 2014. The experiment used a completely randomized design with 8 treatments and 3 replications. The biofungicidal formula consisted of: (1) glycerol addition (0%, 3%, 6%, and 9%) in the multiplication medium of *T. virens* and (2) glycerol addition (0%, 3%, 6%, and 9%) in the multiplication medium of *T. amazonicum*. Each multiplication was mixed with a carrier (talk), dried, then packed in a plastic bag and stored for 4 months. Observations were carried out each month, including: the amount of conidia, *Trichoderma* sp. population, and water content. The results showed that the addition of glycerol to multiplication medium was able to maintain the viability of *T. virens* and *T. amazonicum* and the storage longevity of the biofungicide. The addition of 6% to 9% glycerol in the multiplication medium of *T. virens* and *T. amazonicum* showed the highest concentration, yielding conidia up to $7.98 \times 10^7 - 8.59 \times 10^7$ conidia/g and population abundance of $11.67 \times 10^3 - 14.67 \times 10^3$ cfu/g in biofungicide stored for 4 months.

Keywords: Biofungicide, glycerol, storage longevity, *T. virens*, *T. amazonicum*

PENDAHULUAN

Jamur *Trichoderma* banyak digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit tanaman, khususnya yang disebabkan patogen tular tanah (*soil borne disease*). Keunggulannya antara lain mempunyai kompetensi rizosfir dan saprofit tinggi sehingga keberadaannya di alam relatif lebih lama, antagonis patogen, mudah diperbanyak, mempunyai spektrum luas, aman terhadap lingkungan, dan kompatibel dengan agens hayati lainnya (Jeyarajan & Nakkeeran, 2000).

Trichoderma mampu menghasilkan propagul, terdiri dari hifa, struktur bertahan (klamidospora), dan konidium (Papavizas, 1985). Bentuk hifa tidak tahan terhadap proses pengeringan (Jin, Harman, & Taylor, 1991) sehingga jarang digunakan untuk perbanyakan dan formulasi biofungisida, yang banyak dipilih adalah propagul dalam bentuk konidium (Elad & Chet, 1983). Populasi dan viabilitas propagul akan menentukan kemampuannya dalam menekan patogen tanaman. Perkembangan populasi dan viabilitas *Trichoderma* dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain substrat (komposisi media perbanyakan dan bahan pembawa) yang digunakan, kadar air, serta lama penyimpanan. Sinaga (1989) menjelaskan bahwa komposisi dan konsentrasi nutrisi medium tumbuh dapat mempengaruhi daya tahan hidup, sporulasi, dan antagonisme *T. harzianum*. Dalam keadaan substrat atau lingkungan yang kurang menguntungkan, jamur *T. harzianum* membentuk klamidospora dengan kondisi pertumbuhan yang terbatas (Sastrosuwignyo, 1991).

Peningkatan keefektifan *Trichoderma* dalam menekan patogen dan untuk memperpanjang lama hidup konidia selama penyimpanan salah satunya dengan memformulasinya menggunakan bahan pembawa tertentu. Media perbanyakan *Trichoderma* banyak dibuat dalam bentuk cair karena mampu memberikan kecukupan nutrisi dan lebih optimal dalam menghasilkan konidia maupun hifa jamur (Kredics *et al.*, 2014). *Trichoderma* membutuhkan nutrisi berupa unsur utama karbon dan nitrogen sebagai sumber energi untuk meningkatkan jumlah dan viabilitas konidia (Bilgrami & Verma, 1978; Papavizas, 1985). Unsur karbon digunakan dalam pertumbuhan dan perbanyakan sel, sedangkan nitrogen diperlukan untuk proses sintesis protein (Tjokrokusumo, Hendritomo, & Widyastuti, 2004).

Komposisi media perbanyakan yang digunakan akan mempengaruhi lama hidup agens hayati pada formula biofungisida selama penyimpanan (Sriram, Roopa, & Savitha, 2011) sehingga berpengaruh pada tingkat penekanannya terhadap patogen. Untuk memperpanjang daya simpan formula biofungisida dapat digunakan bahan tambahan seperti gliserol. Gliserol

merupakan jenis senyawa untuk melindungi sel atau jaringan dari kerusakan sehingga digunakan untuk menjaga viabilitas mikroorganisme selama penyimpanan (Swain & Smith, 2010; Stevenson, 2016). Gliserol termasuk jenis *Cryoprotectants* yang efektif sebagai pelindung atau pertahanan sel jamur baik intraseluler maupun ekstraseluler. Keberadaannya pada media cair (*liquid nitrogen*) dapat mencegah kontaminasi dan memperpanjang umur simpan biakan (Nakasone, Peterson, & Shung-Chang Jong, 2004).

Hasil penelitian Santhosh (2015) menunjukkan bahwa penambahan gliserol dapat meningkatkan daya simpan *biofertilizer* pada media cair sampai 6 bulan. Hasil penelitian Sriram, Palanna, & Ramanujam (2010) dan Sriram *et al.* (2011) juga membuktikan gliserol yang ditambahkan pada media perbanyakan *Trichoderma* sp. dapat meningkatkan daya simpan formula biofungisida dengan bahan pembawa talk selama 7 sampai 12 bulan. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh penambahan gliserol pada media perbanyakan terhadap daya simpan biofungisida *T. virens* dan *T. amazonicum* sebagai agens hayati pengendali penyakit JAP pada tanaman karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Januari sampai Juli 2014.

Penyiapan Isolat *Trichoderma* sp.

Isolat *Trichoderma* sp. yang digunakan adalah *T. virens* dan *T. amazonicum*, koleksi Laboratorium Proteksi Tanaman, Balittri. Isolat tersebut telah diuji keefektifannya secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap patogen *Rigidoporus microporus* pada tanaman karet (Amaria, Taufiq, & Harni, 2013; Amaria & Wardiana, 2014; Amaria, Harni, & Samsudin, 2015).

Perbanyakan *Trichoderma* sp. pada Media Cair

Media perbanyakan *Trichoderma* sp. menggunakan media cair *potato dextrose broth* (PDB: ekstrak kentang dan dekstrosa). Masing-masing media PDB sebanyak 500 ml dituang ke dalam erlenmeyer berukuran 1.000 ml, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* (120°C; 20 menit). Erlenmeyer yang berisi PDB steril ditambahkan gliserol sesuai perlakuan (0%, 3%, 6%, dan 9%), selanjutnya masing-masing dua potong biakan murni *Trichoderma* sp. berukuran 0,8 cm diinokulasikan pada media cair PDB. Perbanyakan konidia *Trichoderma* sp. pada media cair dilakukan dengan rangkaian fermentor sederhana, terdiri atas: (1) aerator, (2) glasswool, (3) KMNO₄, (4) media cair PDB, dan (5) akuades (Nurhayatiningsih, 2013). Setiap

media cair PDB diinkubasi selama 10 hari, dan dihitung jumlah konidia sampai 10^8 konidia/ml menggunakan *haemocytometer* dan *compound microscope*. Hasil perbanyakan ini digunakan sebagai campuran pembuatan biofungisida dengan bahan pembawa talk.

Pembuatan Biofungisida

Hasil perbanyakan isolat *T. virens* dan *T. amazonicum*, masing-masing sebanyak 500 ml dicampur dengan 1 kg talk steril dan ditambahkan perekat *carboxymethyl cellulose* (CMC) pada loyang (500 ml *Trichoderma* sp. : 1.000 g talk : 50 g CMC), selanjutnya dicampur merata seperti adonan (Sriram *et al.*, 2011) dan dikeringanginkan. Adonan yang telah kering kemudian diayak menggunakan ayakan tepung berukuran 80 mesh, dikemas dalam plastik bening dan dilekatkan/ditutup dengan sealer. Setiap unit percobaan terdiri dari 12 kemasan yang berisi 50 g biofungisida. Kadar air awal biofungisida (0 bulan) adalah 5,93%–6,73%, kemudian disimpan selama 1, 2, 3, dan 4 bulan pada ruang terbuka dengan suhu ruang 25°C.

Rancangan Percobaan dan Peubah Pengamatan

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan (Tabel 1). Pengamatan terdiri dari: (1) jumlah konidia, (2) populasi *Trichoderma*, dan (3) kadar air.

Tabel 1. Perlakuan gliserol pada media perbanyakan *T. virens* dan *T. amazonicum*

Table 1. *Glycerol addition in T. virens and T. amazonicum multiplication medium*

Jenis <i>Trichoderma</i>	Perlakuan
<i>T. virens</i>	PDB + gliserol 3%
<i>T. virens</i>	PDB + gliserol 6%
<i>T. virens</i>	PDB + gliserol 9%
<i>T. virens</i>	PDB + gliserol 0% (kontrol)
<i>T. amazonicum</i>	PDB + gliserol 3%
<i>T. amazonicum</i>	PDB + gliserol 6%
<i>T. amazonicum</i>	PDB + gliserol 9%
<i>T. amazonicum</i>	PDB + gliserol 0% (kontrol)

(1) Jumlah konidia

Jumlah konidia dihitung dengan cara: sebanyak 10 g biofungisida pada setiap perlakuan dilarutkan dengan 100 ml akuades steril, kemudian dikocok menggunakan vortex selama 1 menit. Jumlah konidia dihitung menggunakan *haemocytometer* dan *compound microscope*. Pengamatan jumlah konidia dilakukan setiap bulan mulai 0 sampai 4 bulan. Jika terlalu rapat maka suspensi tersebut diencerkan menggunakan akuades steril, kemudian dikocok dan dihitung kembali dengan menggunakan rumus (Gabriel & Riyanto, 1989):

$$S = \frac{t \times d}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan:

S = jumlah konidia

t = jumlah total konidia dalam kotak sampel yang diamati (5 kotak besar)

d = tingkat pengenceran

n = jumlah kotak sampel yang diamati

(2) Populasi *Trichoderma*

Perhitungan populasi *Trichoderma* dilakukan dengan metode *dilution plate* pada media selektif (Elad & Chet, 1983). Sebanyak 10 g biofungisida pada setiap perlakuan dilarutkan dengan 100 ml akuades steril, kemudian dikocok menggunakan vortex selama 1 menit, selanjutnya dibuat suspensi dengan seri pengenceran 10^{-1} – 10^{-6} . Setiap 1 ml suspensi diinokulasikan pada media selektif *Trichoderma* dalam cawan petri sebelum memadat dan dihomogenkan. Setiap pengenceran dibuat 3 ulangan cawan petri, kemudian diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk (*colony forming unit/cfu*) setiap bulan mulai 0 sampai 4 bulan. Pada pengamatan pertama dipilih seri pengenceran yang mengandung jumlah koloni 30–300, yang akan digunakan untuk pengamatan berikutnya. Rumus perhitungan jumlah populasi *Trichoderma* sebagai berikut:

$$Pb = Jk \times \frac{1}{Fp}, \quad Fp = p \times Vs$$

Keterangan:

Pb = populasi jamur (cfu/ml)

Jk = jumlah koloni

Fp = faktor pengenceran

p = pengenceran

Vs = volume suspensi yang ditumbuhkan (ml) dalam cawan petri

(3) Kadar air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode pengeringan dalam oven (105°C; 4 jam), ditimbang sampel awal dan akhir. Perhitungan kadar air dengan rumus (*Association of Official Analytical Chemist*, 1999):

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{bobot awal (g)} - \text{bobot akhir (g)}}{\text{bobot awal (g)}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data jumlah konidia dan populasi yang diperoleh dianalisis ragam, dan bila hasilnya nyata maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menggunakan uji Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Gliserol terhadap Jumlah Konidia *T. virens* dan *T. amazonicum*

Hasil pengamatan awal (0 bulan), penambahan gliserol pada media perbanyak sebelum penyimpanan biofungisida menunjukkan jumlah konidia *T. virens* dan *T. amazonicum* hampir sama untuk semua perlakuan, yaitu $8,50 \times 10^7 - 9,79 \times 10^7$ konidia/g biofungisida. Pada penyimpanan 1, 2, dan 3 bulan penambahan gliserol 3%, 6%, dan 9% berpengaruh nyata, dapat mempertahankan jumlah konidia *T. virens*, dan *T. amazonicum* dibandingkan dengan kontrol. Pada penyimpanan 4 bulan, hanya penambahan gliserol 6% dan 9% yang mempunyai pengaruh tinggi dalam mempertahankan jumlah konidia dan berpengaruh nyata dengan perlakuan lainnya.

Semua perlakuan menunjukkan penurunan persentase jumlah konidia selama 4 bulan penyimpanan. Pada penyimpanan 0 sampai 4 bulan memperlihatkan bahwa dengan penambahan gliserol 6% dan 9% pada media perbanyak *T. virens* dan *T. amazonicum* mengakibatkan penurunan jumlah konidia sebesar 4,90%–12,19%, lebih rendah dibandingkan penambahan gliserol 3% yang penurunannya mencapai 30,39%–33,71% (Tabel 2). Walaupun terjadi penurunan, namun media perbanyak yang ditambahkan gliserol memperlihatkan jumlah konidia lebih banyak dibandingkan kontrol sehingga biofungisida dapat disimpan lebih lama.

Menurut Situmorang (2012), kemampuan spora/konidia setiap jamur berbeda dalam bertahan

hidup pada media. Selain itu, tingkat kematangan konidia juga mempengaruhi pada saat proses perbanyak. Hal ini menyebabkan perbedaan jumlah konidia yang mampu bertahan selama masa penyimpanan. Penurunan jumlah konidia diduga karena selama penyimpanan aktivitas jamur menurun, konidia tidak dapat memperbanyak diri, namun lebih banyak membentuk fase dorman. Hal ini disebabkan bahan pembawa talk yang digunakan untuk biofungisida tidak mengandung cukup nutrisi yang dibutuhkan oleh *T. virens* dan *T. amazonicum*. Sesuai yang dijelaskan oleh Berlian *et al.* (2013), bahwa *Trichoderma* dapat membentuk fase istirahat (klamidospora) untuk bertahan dari lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhannya, seperti media yang miskin nutrisi. Namun demikian, dengan penambahan gliserol pada media perbanyak dapat melindungi sel *Trichoderma* dari pengaruh lingkungan sehingga konidia dapat bertahan hidup dan memperpanjang daya simpannya (Swain & Smith, 2010; Sriram *et al.*, 2011; Stevenson, 2016) karena gliserol berperan penting sebagai salah satu sumber karbon (Jin & Custis, 2011).

Biofungisida *Trichoderma* yang dibuat selain mudah dan murah juga harus memperhatikan viabilitasnya selama penyimpanan. Situmorang (2012) mengemukakan salah satu syarat bahan pembawa yang baik untuk formula agens hayati agar dapat disimpan lebih lama adalah konidia tidak memperbanyak diri dan aktivitas agens hayati pada formula lebih stabil selama masa penyimpanan, dengan faktor lain yang memengaruhi seperti kadar air dan kelembapan.

Tabel 2. Jumlah konidia *T. virens* dan *T. amazonicum* pada penyimpanan 1–4 bulan
Table 2. Total number of *T. virens* and *T. amazonicum* conidia at 1–4 months storage

Perlakuan	Jumlah konidia (10^7 konidia/g)					Penurunan jumlah konidia (%)
	0 bulan	1 bulan	2 bulan	3 bulan	4 bulan	
1 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 3%)	8,98 ab	8,50 a	7,98 bc	7,47 bc	5,94 bc	33,71 b
2 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 6%)	8,87 ab	8,87 ab	8,72 d	8,62 d	7,98 d	9,55 a
3 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 9%)	9,07 ab	8,96 ab	8,96 d	8,42 d	8,53 d	5,85 a
4 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 0%)	8,84 ab	8,76 ab	5,26 a	5,34 a	5,19 ab	41,20 bc
5 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 3%)	9,15 ab	9,00 ab	6,46 b	6,92 b	6,33 c	30,39 b
6 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 6%)	9,79 b	9,79 b	8,80 d	8,80 d	8,59 d	12,19 a
7 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 9%)	8,50 a	8,50 a	8,42 bc	8,30 bc	8,08 d	4,90 a
8 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 0%)	8,91 ab	8,44 a	5,33 a	5,33 a	5,23 a	46,03 c

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5%

Notes : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Duncan's test at 5% levels

Pengaruh Gliserol terhadap Populasi *T. virens* dan *T. amazonicum*

Biofungisida yang disimpan selama 4 bulan secara umum menunjukkan penurunan populasi *T. virens* dan *T. amazonicum* (Tabel 3). Sebelum penyimpanan (0 bulan) jumlah populasi masih cukup tinggi ($18,67-20,33 \times 10^3$ cfu/g) dan tidak berbeda antar perlakuan, demikian juga pada penyimpanan 1 dan 2 bulan. Pada penyimpanan 3 bulan, penambahan gliserol di media perbanyakan dapat mempertahankan populasi *T. virens* dan *T. amazonicum* terutama pada perlakuan gliserol 6% dan 9%, serta pengaruhnya semakin nyata pada penyimpanan 4 bulan.

Penambahan gliserol 6% dan 9% ke dalam media perbanyakan terbukti dapat memperpanjang umur konidia pada biofungisida *T. virens* yang disimpan selama 4 bulan. Hal ini terlihat dari jumlah populasi yang masih cukup tinggi, yaitu $11,67 \times 10^3$ cfu/g dan $14,00 \times 10^3$ cfu/g. Kondisi serupa ditunjukkan oleh biofungisida *T. amazonicum* dengan tambahan gliserol 6% dan 9%, setelah 4 bulan penyimpanan masih mempertahankan populasi sebesar $11,00 \times 10^3$ cfu/g dan $14,67 \times 10^3$ cfu/g.

Persentase viabilitas *T. virens* dan *T. amazonicum* dapat dilihat dari jumlah populasi/koloni yang terbentuk pada media. Selama 4 bulan penyimpanan, terjadi penurunan viabilitas *T. virens* dan *T. amazonicum* pada semua perlakuan. Penurunan terkecil pada gliserol 9%, yaitu 25,99% dan 26,56%, tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain kecuali dengan perlakuan tanpa gliserol yaitu 80,01% dan 82,59%. Penurunan viabilitas konidia jamur antara lain disebabkan perubahan komponen nutrisi di dalam substrat/media dan kondisi lingkungan yang memengaruhi selama penyimpanan (Situmorang, 2012). Oleh karena perubahan tersebut,

konidia *Trichoderma* sp. ada yang mengalami dorman dengan membentuk klamidospora sehingga tidak mudah untuk tumbuh dan membentuk koloni pada media. Namun demikian, keadaan dorman ini dapat berfungsi kembali jika lingkungan mengalami perubahan sesuai kebutuhan hidupnya. Bentuk klamidospora dapat bertahan hidup dan tidak menurunkan potensi *Trichoderma* sebagai agens hayati (Kubicek & Harman, 2002).

Penambahan gliserol dapat mempertahankan viabilitas *T. virens* dan *T. amazonicum* sampai 4 bulan, walaupun terjadi penurunan, namun tetap memperlihatkan kelimpahan populasinya pada media. Hal ini menunjukkan bahwa biofungisida masih dalam keadaan baik selama 4 bulan penyimpanan. Penambahan gliserol sangat bermanfaat untuk penyimpanan biofungisida, dengan tujuan mempertahankan serta memperpanjang hidup konidia jamur agar tetap efektif pada saat diaplikasikan. Sriram *et al.* (2010) menggunakan gliserol pada media perbanyakan, dan menunjukkan bahwa biofungisida dengan bahan pembawa talk dapat disimpan sampai 12 bulan. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Sriram *et al.* (2011) menunjukkan bahwa penambahan gliserol 3% dan 6% pada media perbanyakan *T. harzianum* dapat menghasilkan propagul di atas 2×10^6 cfu/g formula di penyimpanan. Gliserol 3% memperpanjang lama hidup dan viabilitas *T. harzianum* sampai 7 bulan penyimpanan, sedangkan gliserol 6% sampai 12 bulan. Penambahan gliserol dapat melindungi dan memberikan pertahanan terhadap propagul untuk tetap hidup meskipun mengalami penurunan aktivitas penggunaan air selama penyimpanan sehingga dapat memperpanjang hidup konidia (Nakasone *et al.*, 2004; Swain & Smith, 2010; Sriram *et al.*, 2011; Stevenson 2016;).

Tabel 3. Jumlah populasi *T. virens* dan *T. amazonicum* pada penyimpanan 0–4 bulan

Table 3. Total population of *T. virens* and *T. amazonicum* at 0–4 months storage

Perlakuan	Jumlah populasi ($\times 10^3$ cfu/g)					Penurunan viabilitas (%)
	0 bulan	1 bulan	2 bulan	3 bulan	4 bulan	
1 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 3%)	19,67 a	15,00 a	11,00 a	9,00 ab	8,00 ab	59,90 ab
2 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 6%)	20,00 a	14,67 a	13,33 a	13,33 b	11,67 b	40,88 a
3 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 9%)	19,67 a	16,67 a	14,00 a	14,67 b	14,00 b	25,99 a
4 <i>T. virens</i> (PDB + gliserol 0%)	20,33 a	19,33 a	18,33 a	8,33 ab	4,00 a	80,01 b
5 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 3%)	20,33 a	16,33 a	14,67 a	13,33 b	9,67 ab	52,22 a
6 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 6%)	18,67 a	16,00 a	13,00 a	11,33 ab	11,00 b	39,83 a
7 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 9%)	20,00 a	18,33 a	14,33 a	14,67 b	14,67 b	26,56 a
8 <i>T. amazonicum</i> (PDB + gliserol 0%)	19,33 a	16,33 a	10,00 a	5,33 a	3,33 a	82,59 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5%

Notes : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different according to Duncan's test at 5% levels

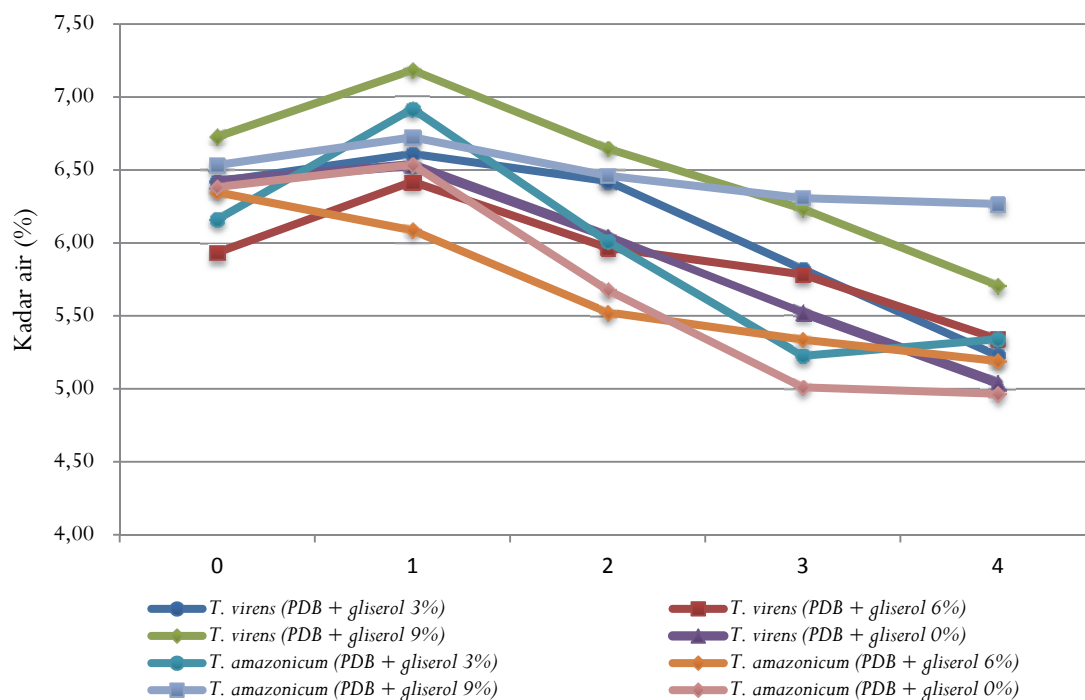
Kadar Air Biofungisida selama Penyimpanan

Perubahan kadar air biofungisida selama 4 bulan penyimpanan cenderung stabil pada semua perlakuan. Kadar air awal penyimpanan (0 bulan) adalah 5,93%–6,73% dan setelah disimpan selama 4 bulan menjadi 4,97%–6,27%. Penambahan gliserol pada media perbanyakkan *T. virens* dan *T. amazonicum* tidak memengaruhi persentase kadar air biofungisida. Secara umum, pada 1 bulan penyimpanan semua perlakuan mengalami kenaikan persentase kadar air sebesar 0,11%–0,76%, selanjutnya bulan kedua sampai keempat mengalami penurunan sebesar 0,27%–1,42%. Di antara semua perlakuan, biofungisida *T. amazonicum* dengan penambahan gliserol 9% pada media perbanyakkan yang disimpan selama 4 bulan lebih stabil dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu hanya menurun sebesar 0,27% (Gambar 1).

Persentase kadar air biofungisida berhubungan langsung dengan aktivitas jamur. Seperti diungkapkan sebelumnya bahwa bahan pembawa talk tidak mengandung nutrisi yang dibutuhkan jamur sehingga jamur tidak mengalami pertumbuhan, namun konidia jamur dapat bertahan dalam bentuk klamidospora karena kondisi lingkungan menurun. Aktivitas kadar air menggambarkan tingkat keterikatan air pada bahan yang

dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan.

Selama penyimpanan biofungisida sampai 4 bulan, terjadi peningkatan maupun penurunan persentase kadar air. Peningkatan kadar air pada penyimpanan selama 1 bulan dapat disebabkan adanya peningkatan aktivitas metabolisme jamur yang menghasilkan kelebihan air, sedangkan terjadi penurunan kadar air pada penyimpanan 2 sampai 4 bulan karena pertumbuhan konidia jamur terhambat selama penyimpanan. Situmorang (2012) menjelaskan bahwa proses metabolisme mikroorganisme menyebabkan kadar air bahan pembawa formula meningkat. Jamur yang memiliki struktur miselium lebih rapat akan menghasilkan kadar air lebih tinggi dibandingkan jamur dengan miselium tidak rapat karena salah satu fungsi miselium adalah untuk mengikat air. Sebaliknya, Allen (2003) menyebutkan bahwa persentase kadar air yang menurun disebabkan konidia jamur terhambat pertumbuhannya sehingga tidak dapat menyerap air dari media tumbuhnya. Konidia jamur tersebut sedang mengalami kondisi dorman yang menyebabkan air dari media tidak dapat diserap dengan baik oleh sel karena permeabilitas rendah saat kondisi dorman.



Gambar 1. Persentase kadar air biofungisida selama 4 bulan penyimpanan
Figure 1. The percentage of water content in biofungicide at 4 months storage

KESIMPULAN

Penambahan gliserol pada media perbanyakan dapat mempertahankan viabilitas *T. virens* dan *T. amazonicum* serta daya simpan biofungisida selama 4 bulan. Penambahan gliserol 6% dan 9% pada media perbanyakan *T. virens* dan *T. amazonicum* merupakan konsentrasi terbaik yang dapat digunakan untuk menghasilkan konidia sebesar $7,98 \times 10^7 - 8,59 \times 10^7$ konidia/g, dengan kelimpahan populasi sebesar $11,67 \times 10^3 - 14,67 \times 10^3$ cfu/g pada biofungisida yang disimpan selama 4 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Sumantri sebagai Teknisi Litkayasa di Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian serta pengumpulan data. Penelitian ini didanai oleh DIP A Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar tahun anggaran 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, P.S. (2003). When and how many? Hydrothermal models and the prediction of seed germination. *New Phytologist*, 158, 1–3.
- Amaria, W., Taufiq, E., & Harni, R. (2013). Seleksi dan identifikasi jamur antagonis sebagai agens hayati jamur akar putih *Rigidoporus microporus* pada tanaman karet. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri*, 4(1), 55–64. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v4n1.2013.p55-64>.
- Amaria, W., & Wardiana. (2014). Pengaruh waktu aplikasi dan jenis *Trichoderma* terhadap penyakit jamur akar putih pada bibit tanaman karet. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 1(1), 45–54. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v1n2.2014.p79-86>.
- Amaria, W., Harni, R., & Samsudin. (2015). Evaluasi jamur antagonis dalam menghambat pertumbuhan *Rigidoporus microporus* penyebab penyakit jamur akar putih pada tanaman karet. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 2(1), 235–244. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v2n1.2015.p51-60>
- Association of Official Analytical Chemist. (1999). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Washington, USA: Association of Official Analytical Chemist.
- Berlian, I., Setyawan, B., & Hadi, H. (2013). Mekanisme antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap beberapa patogen tular tanah. *Warta Perkaretan*, 32(2), 74–82.
- Bilgrami, K.S., & Verma R.N. (1978). *Physiology of fungi*. Vikhas Publishing House PVT Ltd.
- Elad, Y., & Chet, I. (1983). Improved selective media for isolation of *Trichoderma* spp. or *Fusarium* spp. *Phytoparasitica*, 11, 55–58.
- Gabriel, B.P., & Riyatno. (1989). *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor: Taksonomi, patologi, produksi dan aplikasinya (p. 25). Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian.
- Jeyarajan, R., & Nakkeeran, S. (2000). Exploitation of microorganisms and viruses as biocontrol agents for crop disease management. In *Biocontrol Potential and their Exploitation in Sustainable agriculture* (pp. 95–116). Upadhyay et al. (Ed.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. doi: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-4209-4_8.
- Jin, X., Harman, G.E., & Taylor, A.G. (1991). Conidial biomass and desiccation tolerance of *Trichoderma harzianum* produced at different water potentials. *Biological Control*, 1, 237–243.
- Jin, X., & Custis, D. (2011). Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* through spray drying at elevated temperatures. *Biological Control*, 56(2), 202–208.
- Kredics, L., Hatvani, L., Naemi, S., Körmöczy, P., Manczinger, L., Vagvolgyi, C., & Druzhinina, I. (2014). Biodiversity of the genus *Hypocrea/Trichoderma* in Different Habitats. In Gupta, V. K., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R.S., Druzhinina, I., Tuohy, M. G. (Eds.), *Biotechnology and Biology of Trichoderma* (pp. 3–24). Oxford, UK: Elsevier Publication.
- Kubicek, C. P., & Harman, G. E. (2002). *Trichoderma & Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics* (p. 278). Vol 1. The Taylor & Francis e-Library.
- Nurhayatiningsih. (2013). *Prospek jamur Trichoderma koningii untuk pengendalian penyakit Phytophthora palmivora pada tanaman kakao*. Retrieved from <http://ditjenbun.pertanian.go.id/bbpptpsurabaya/tinymcpuk/gambar/file/prospek%20trico%20tuk%20Kakao.pdf>.
- Papavizas, G.C. (1985). *Trichoderma and Gliocladium: Biology, ecology and potential for biocontrol*. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 23–54.
- Santhosh, G. P. (2015). Formulation and shelf life of liquid biofertilizer inoculants using cell protectants. *I J R B A T*, II, Issue (7), 243–247.
- Sastroswignyo, S. (1991). *Dasar-dasar Perlindungan Tanaman (Bagian Penyakit Tanaman)*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.
- Sinaga, M.S. (1989). *Potensi Gliocladium spp. sebagai agen pengendali hayati beberapa cendawan patogenik yang bersifat soil-borne*. Laporan Penelitian Fakultas Pertanian IPB. Bogor: Fakultas Pertanian IPB.

- Sriram, S., Palanna, K.B., & Ramanujam, B. (2010). *Indian Journal Agricultural Science*, 80, 930–932.
- Sriram, S., Roopa, K. P., & Savitha, M. J. (2011). Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. *Crop Protection*, 30, 1334–1339.
- Situmorang, E.C. (2012). *Penyimpanan spora T. asperellum T13 dan Aspergillus niger A1 dalam bahan pembawa padat dan cair* (Disertasi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor).
- Stevenson, A., Hamill, P.G., Medina, A., Kminek, G., Rummel, J.D., Dijksterhuis, J.,... Hallsworth, J.E. (2016). Glycerol enhances fungal germination at the water-activity limit for life. *Environmental Microbiology*, 00, 00–00. doi: 10.1111/1462-2920.13530.
- Swain, J.E., & Smith, G.D. (2010). Cryoprotectant. In Chian, R.C., & Quinn, P. (Eds.), *Cryopreservation in female fertility preservation* (pp. 288). Cambridge: Cambridge University Press.
- Tjokrokusumo, D., Hendritomo, H.I., & Widyastuti, N., (2004). Pengaruh penambahan dedak dan molasses pada substrat pertumbuhan jamur tiram coklat (*Pleurotus cystidiosus*). *Jurnal Biotika*, 3(2), 8–12.
- Nakasone, K.K., Peterson, S.W., & Jong, Shung-Chang. (2004). Preservation and distribution of fungal cultures. In Gregorym, M., Gerald, B., & Mercedes, S.F. (Eds.), *Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods*. USA: Elsevier Academic Press.