

Pembentukan Jerat dan Reduksi Larva III *Haemonchus contortus* oleh Kapang Nematofagus

**(TRAP PRODUCTION AND REDUCTION LARVAE III HAEMONCHUS CONTORTUS
BY NEMATOPHAGOUS MOULDS)**

Riza Zainuddin Ahmad

*Laboratorium Mikologi, Balai Besar Penelitian Veteriner
Jl. R.E. Martadinata 30, Bogor 16114
Telepon: (0251) 331048; E-mail: rizamiko@yahoo.co.id*

ABSTRACT

A study was carried out to determine the ability of nematophagous moulds (*Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia flagrans*) to trap and reduce the number of *H. contortus* larvae III. Tests was conducted in petri dishes containing agar medium, the moulds and *Haemonchus contortus* larvae. The ability of both mould in trapping *H. contortus* larvae III was observed 3; 4; 10; 24 and 48 hours post-incubation, whereas the ability of both mould in killing the larvae was observed 0,5; 3; 6; 9; 12; 15; 21; 24; 27 and 48 hours post-incubation. The results showed that *A. oligospora* was more capable in trapping and reducing *H. contortus* larvae III than *Duddingtonia flagrans* ($p < 0,01$). It was also evident that *A. oligospora* of Denmark origin was more capable in trapping and killing *Haemonchus* larve than that of local isolate. It is clear from this study that *A. oligospora* is potential biological method for controlling *H. contortus* infection in animals.

Key word : *Arthrobotrys oligospora*, *Duddingtonia flagrans*, *Haemonchus contortus* larvae III, trap

PENDAHULUAN

Kapang nematofagus merupakan kelompok kapang yang dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati parasit cacing nematoda. Diperkirakan lebih dari 150 spesies kapang dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati. Kapang-kapang ini umumnya tergolong cendawan bermitospora dalam kelas *Deuteromycetes*, dan sangat berpotensi dipakai dalam mengendalikan cacing nematoda, baik sebagai predator parasit maupun sebagai endoparasit yang obligat pada larva cacing. Kapang tersebut termasuk kapang tanah, hidup saprofitik dan dapat menjadi parasit fakultatif bagi larva infeksiif cacing. Oleh karena dukungan sifat biologi tersebut, pengendalian hayati merupakan salah satu metode pengendalian nematoda (Waller, 1997). Hasil penelitian sebelumnya melaporkan, meskipun terdapat banyak jenis kapang nematofagus, hanya *Arthrobotrys oligospora* dan *Duddingtonia flagrans* yang memenuhi syarat sebagai agen pengendali hayati parasit cacing pada ternak (Waller dan Larsen, 1996).

Ada 4 cara kapang membunuh nematoda, yaitu sebagai endoparasit pada larva cacing,

membentuk jerat, sebagai parasit pada telur cacing, dan menghasilkan toksin yang mematikan cacing nematoda. Kapang *A. oligospora* dan *D. flagrans* adalah kapang predator pembuat jerat. Selain merupakan kapang tanah, kedua jenis kapang ini banyak ditemukan pada dedaunan, sampah, kotoran (limbah) ternak, tinja, dan kompos pertanian (Persmark, 1977; Gronvold *et al.*, 1985). Kedua jenis kapang nematofagus tersebut cocok tumbuh pada suhu 20-30°C, kelembaban berkisar 90%, pH sedikit asam, sedikit oksigen dan mineral (Barron, 1977; Gronvold *et al.*, 1987). Spora kapang biasanya bersifat *dormant* (tidak tumbuh dan tidak mati) dan banyak ditemukan pada tumpukan tinja ternak, tetapi tidak membahayakan lingkungan dan kesehatan manusia (Waller dan Larsen, 1996).

Prinsip utama pengendalian hayati adalah dengan tidak mengeliminasi organisme (dalam hal ini nematoda) sampai habis, tetapi menekan populasinya pada kondisi normal dengan memanfaatkan musuh alaminya. Oleh karena itu, kapang nematofagus merupakan agen pengendali biologis yang tidak memusnahkan organisme sasaran, tetapi mengurangi populasinya (Larsen, 2000). Dalam proses

penjeratan, kapang tidak memilih ukuran dan jenis larva cacing, karena semua jenis parasit nematoda dapat dimangsanya (Persmark, 1977). Penelitian agen pengendali hayati terhadap cacing nematoda pada bidang pertanian dengan menggunakan kapang nematofagus telah banyak dilakukan (Gronvold *et al.*, 1985; Larsen, 2000). Namun, penelitian sejenis di bidang peternakan belum dilakukan secara tuntas karena itu harus dilakukan seleksi melalui uji *in vitro* lanjutan tentang kemampuan membuat jerat dan membunuh. Uji yang dilakukan pada percobaan ini terlebih dahulu mencakup kemampuan membuat jerat dan membunuh larva dalam waktu yang sudah ditentukan.

Kapang *A. oligospora* ditandai kemampuannya untuk membentuk jerat secara tak spontan yakni dengan membentuk konidiafora yang bercabang dan lengket sehingga terbentuk konidia berseptata, seperti buah pir dengan ukuran yang bervariasi sekitar 22-32 x 12-20 mm (Barron, 1977). Sementara itu, kapang *D. flagrans* dikarakterisasi dengan hifa membentuk jerat dalam bentuk jamak, mempunyai konidia oval gemuk berbentuk buah pir dengan ukuran bervariasi sekitar 20-30 x 10-20 mm, mempunyai klamidospora dengan bentuk agak bulat, tebal dan ada tonjolan-tonjolan, berukuran 15 x 25 mm (Gronvold *et al.*, 1996).

Dalam penanggulangan infeksi cacing nematoda pada ternak ruminansia kecil, penggunaan agen pengendali hayati, seperti kapang nematofagus, merupakan salah satu pilihan. Pada penelitian ini diuji kemampuan kedua jenis kapang tersebut dalam membentuk jerat dan mereduksi larva III *H. contortus*.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Kapang dan Konidia

Penelitian ini menggunakan kapang *A. oligospora* isolat lokal dan Denmark (Cbs. 511.81) dan kapang *D. flagrans*. Kemampuannya untuk membentuk jerat dan menekan jumlah larva III *H. contortus* diuji pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Kapang nematofagus *A. oligospora* dan *D. flagrans* yang telah dimurnikan diperbanyak pada medium PDA, dan diinkubasikan pada suhu kamar (25°C) selama 10 hari. Konidia yang dihasilkan dipanen dengan cara mencuci permukaan medium dengan air steril. Suspensi yang didapatkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung plastik 12 ml, dan disentrifugasi selama

5 menit pada 1.000 rpm. Jumlah konidia atau spora dihitung dengan hemositometer dan disimpan dalam tabung. Selanjutnya kedua kapang nematofagus tersebut diuji kemampuannya untuk membentuk jerat dan membunuh larva *H. contortus* sesuai dengan prosedur Nansen *et al.*, (1988).

Penyiapan Larva III *H. contortus*

Larva tersebut disiapkan menggunakan 2 ekor domba donor. Pertama domba dibersihkan dari infeksi cacing jenis lain dengan pemberian obat cacing sampai tidak ditemukan telur cacing dalam tinja. Selanjutnya domba diinfeksi dengan 5.000 larva III *H. contortus* per ekor domba dan dibiarkan selama 2 minggu. Jika domba telah terinfeksi cacing *H. contortus* (diketahui melalui pemeriksaan telur per gram tinja), maka domba siap dipakai sebagai donor. Penghitungan larva dilakukan dengan bantuan alat hitung *Mc Master*.

Pembentukan Jerat

Ke dalam setiap cawan petri yang berisi kapang diteteskan suspensi larva (\pm 500 larva III *H. contortus*). Pupukan kapang yang dipakai adalah yang berumur 7 hari dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 x. Pengamatan pada jerat yang terbentuk, baik yang tunggal maupun yang jamak dilakukan pada selang waktu 3 jam (pengamatan ke-1), 4 jam (pengamatan ke-2), 10 jam (pengamatan ke-3), 24 jam (pengamatan ke-4), dan 48 jam (pengamatan ke-5). Setiap bagian yang diperiksa dipilih 5 bagian secara acak. Rata-rata jumlah perangkap/jerat per milimeter persegi dihitung. Sebagai kontrol dipakai medium yang tidak diinokulasi kapang kecuali ditetesi suspensi larva. Uji ini dilakukan dengan 3 ulangan.

Efisiensi Jerat dalam Menekan Jumlah Larva

Sebelum uji efisiensi jerat dalam menurunkan jumlah larva, dilakukan induksi pembentukan jerat dengan cara menambahkan 100 ekor larva III *H. contortus* ke dalam setiap cawan petri berisi kapang uji berumur 7 hari. Jerat terbentuk setelah 4 hari. Selanjutnya, dilakukan uji efisiensi jerat dengan cara menambahkan setetes air berisi 500 larva *H. contortus* pada setiap cawan petri yang berisi kapang. Setengah jam setelah penambahan larva, cawan petri diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Pengamatan dilanjutkan 3, 6, 9, 12, 15, 21, 24, 27, dan 48

jam setelah inkubasi dan berturut-turut dinyatakan sebagai pengamatan ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9. Larva yang mati akibat jeratan dihitung. Sebagai kontrol dipakai larva yang ditambahkan pada medium yang tidak berisi kapang. Uji dilakukan sebanyak 3 ulangan. Parameter yang diukur adalah jumlah jerat yang terbentuk oleh kapang dan jumlah larva cacing yang mati akibat jeratan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan Jerat oleh Kapang

Pembentukan jerat kapang *A. oligospora* isolat lokal dan luar negeri (impor) berlangsung mulai dari pengamatan ke-1 (3 jam) sampai akhir masa pengamatan ke-5 (48 jam). Sebaliknya, kapang *D. flagrans* isolat lokal lebih cepat mati jika dibandingkan dengan *A. oligospora* isolat lokal dan impor (Cbs. 511.81) (Gambar 1). Pertumbuhan hifa dan pembentukan jerat kapang *D. flagrans* berhenti setelah 4 jam perlakuan. Kasus ini terjadi karena *D. flagrans* tidak mampu bertahan hidup dan kalah bersaing dengan kapang kontaminan jenis *Fusarium* spp. yang tumbuh lebih dominan dalam medium PDA sehingga kladospore dari *D. flagrans* tak terbentuk. Kedua jenis kapang tersebut tampak berinteraksi, tetapi lebih menguntungkan kapang kontaminan. Lagipula, kapang kontaminan tampak tumbuh lebih banyak jika dibandingkan dengan kapang *A. oligospora*, baik isolat lokal maupun isolat impor (Cbs. 511.81), meskipun keduanya mampu bertahan hidup dan tumbuh bersama kapang kontaminan.

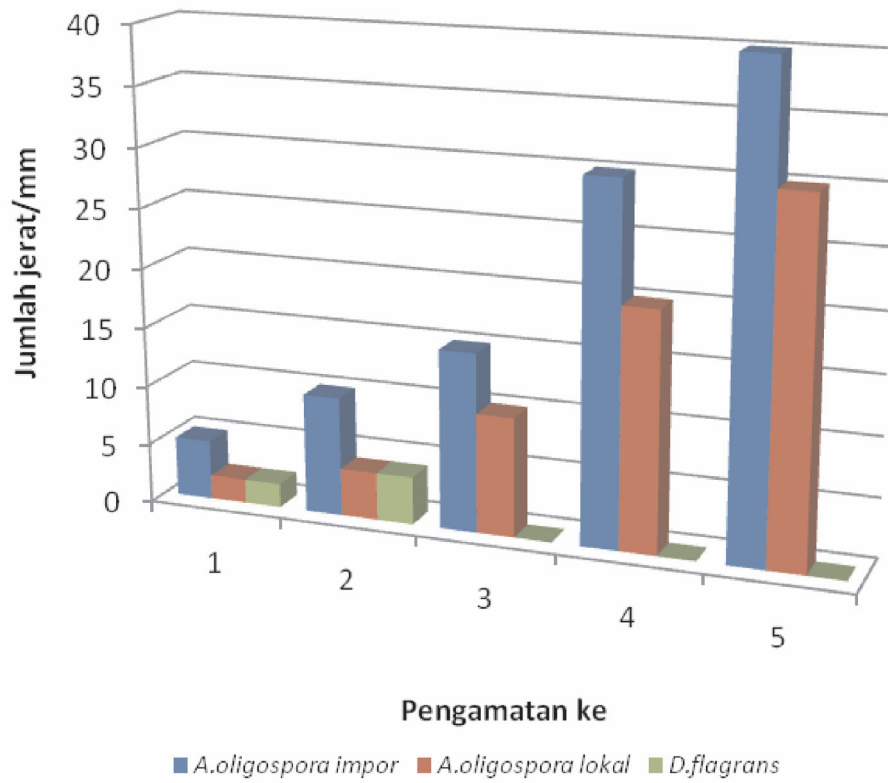
Setelah pembentukan jerat, selanjutnya terjadi proses pemangsa larva III *H. contortus*. Fenomena ini sesuai dengan laporan Janssons and Nordbring-Hertz (1980) bahwa kapang *A. oligospora* mampu membentuk jerat dan memangsa larva cacing *P. redidivus* hidup. Tahapan prosesnya adalah sebagai berikut. Pertama nematoda menghasilkan ekskresi yang lengket dan berkontak langsung dengan hifa kapang. Bila kondisi lingkungan memungkinkan, akan terjadi pembentukan jerat dan larva nematoda diperangkap dengan cepat. Pembentukan jerat umumnya diinduksi oleh nematoda yang hidup akibat rangsangan mekanik oleh Bergeraknya nematoda yang hidup atau oleh rangsangan kimiawi yang dihasilkan oleh ekskreta nematoda. Pembentukan jerat umumnya terjadi 1 jam setelah induksi larva

dan kemudian larva terperangkap 2 jam, dan kemudian larva akan mati setelah 5 jam.

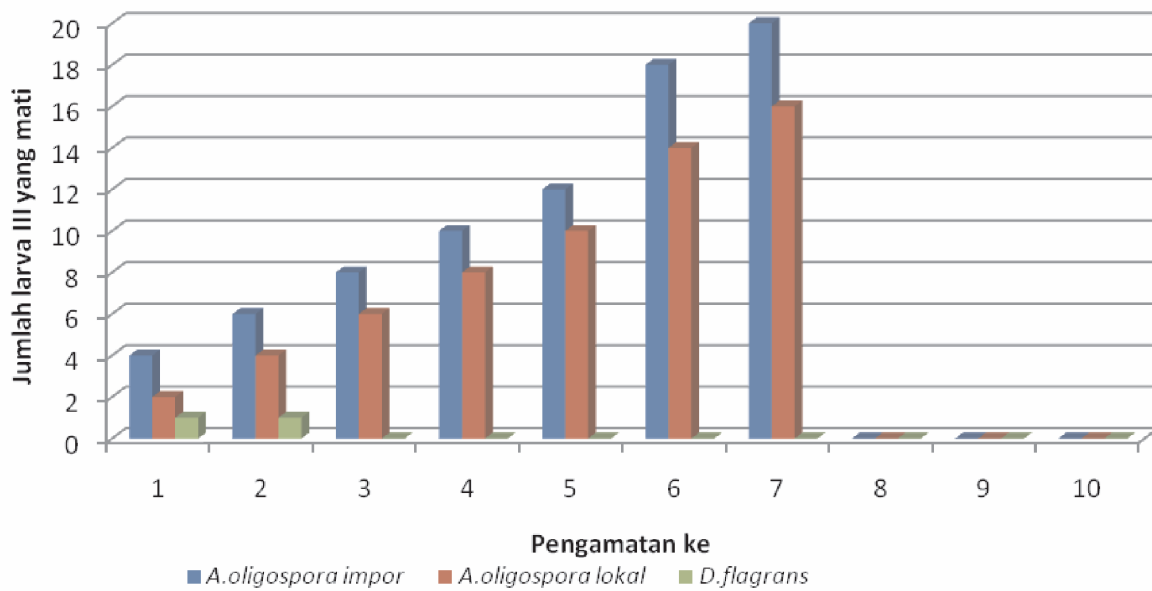
Fenomena ini didukung oleh penelitian lain bahwa pembentukan jerat kapang namatofagus dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jumlah larva penginduksi, motilitas larva, kandungan oksigen, pH optimum, suhu, kandungan zat organik seperti peptida, respons dari selulosa, dan kandungan lignin kapang dalam memenuhi kebutuhan akan nitrogen (Persmark, 1977; Gronvold *et al.*, 1985).

Selain itu, kehadiran larva III ini berkaitan dengan adanya zat-zat yang terkandung pada larva, yaitu kutikula yang mengandung kitin. Zat ini menyebabkan rangsangan bagi pembentukan jerat. Selain kitin, kandungan nutrisi tertentu (misalnya mineral khusus seperti "salt medium mineral" /SMM) adalah salah satu penginduksi yang terbaik dan cepat dalam pembentukan jerat (Janssons dan Nordbring-Hertz, 1980).

Gambar 1 menunjukkan bahwa dalam waktu 3 dan 4 jam, yaitu pada pengamatan ke-1 dan ke-2 kapang *A. oligospora* isolat impor berkemampuan sama dengan *D. flagrans* dalam pembentukan jerat. Pembentukan jerat yang optimal terjadi pada pengamatan ke-5, yaitu 48 jam setelah inokulasi larva III. Sementara itu, *D. flagrans* yang telah terkontaminasi dalam waktu 4 jam, yaitu pada pengamatan ke-2, akhirnya mati dalam waktu 10 jam (pengamatan ke-3). Pembentukan jerat isolat *A. oligospora* isolat lokal dan Denmark terus bertambah dan berkorelasi dengan lamanya waktu inkubasi. Namun, karena dalam percobaan ini waktu pengamatan hanya terbatas sampai pada pengamatan ke-5, yaitu 48 jam, informasi selanjutnya tidak diperoleh. Bila pengamatan dilanjutkan dalam waktu yang lebih panjang, maka diduga akan diperoleh hasil yang lebih baik. Nansen *et al.* (1988) menyatakan bahwa pembentukan jerat secara *in vitro* dipengaruhi oleh kehadiran larva yang hidup, dan adanya larva III ini merupakan penginduksi penting bagi pembentukan jerat. Selain itu, suhu juga berpengaruh terhadap proses pembentukan jerat. Pada kapang *A. oligospora* pembentukan jerat terjadi secara optimal pada suhu 25°C, sedangkan pada *D. flagrans* terjadi pada suhu 35°C (Gronvold *et al.*, 1985;1996). Faedo *et al.* (1998) dan Larsen (2000) menyarankan penggunaan kapang *A. oligospora* dan *D. flagrans* karena lebih mampu untuk bertahan hidup bila dibandingkan dengan kapang lain.



Gambar 1. Perbandingan pembentukan jumlah jerat oleh kapang



Gambar 2. Perbandingan kemampuan kapang mereduksi larva III

Di Australia, *D. flagrans* terbukti lebih efektif dalam menekan jumlah larva infeksi dari *Trichostrongylus* spp., tetapi dalam penelitian, kapang ini cenderung terkontaminasi oleh kapang *Fusarium* spp. yang menyebabkannya mati sehingga klamidospornya tidak terbentuk. Hal tersebut terjadi karena kapang *Fusarium* spp. merupakan kapang kontaminan yang cepat tumbuh. Tampaknya perlu dilakukan uji khusus tentang pengaruh *Fusarium* spp. terhadap nematoda serta terhadap kapang *A. oligospora* dan *D. flagrans*. Pada kondisi tertentu seperti saat kandungan nutrisi dan udara terbatas, kapang yang satu akan bersaing dengan kapang yang lainnya dalam mempertahankan hidupnya (Persmark, 1977). Konidiafor kapang *D. flagrans* tumbuh lebih lambat dan kalah bersaing dengan *Fusarium* spp., dalam memperebutkan nutrisi pada medium agar cawan petri. Karena itu, sebagai kapang kontaminan, *Fusarium* spp., tumbuh lebih dominan. Suhu di daerah Bogor tempat penelitian ini adalah 20-30°C dan tampaknya lebih mendukung pertumbuhan *Fusarium* spp. dibandingkan dengan *D. flagrans* yang tumbuh optimal pada suhu sekitar 30°C (Gronvold *et al.*, 1996).

Penurunan Jumlah Larva Nematoda

Hal serupa juga teramati pada tingkat efisiensi jerat dalam menekan jumlah larva. Isolat *D. flagrans* mati dalam waktu 6 jam (pengamatan ke-3) sehingga tidak diketahui efisiensinya dalam menekan jumlah larva *H. contortus* (Gambar 2). Kapang *A. oligospora* asal Denmark (Cbs. 511.81) terbukti lebih mampu menekan jumlah larva *H. contortus* dibandingkan dengan isolat lokal. Namun, dalam waktu kurang lebih 20 jam (pada pengamatan ke-6) setelah diinokulasi kedua isolat *A. oligospora* telah berhenti menjerat dan membunuh larva *H. contortus*. Hal ini karena tidak ada lagi larva yang akan dijerat.

Kemampuan kapang dalam menekan jumlah larva nematoda dipengaruhi pula oleh berbagai faktor, seperti lingkungan abiotik, makanan, tempat hidup, dan udara. Kapang nematofagus berperan dalam proses berlangsungnya rantai makanan di alam. Kehadiran kapang nematofagus akan dapat mengurangi jumlah bakteri pemakan nematoda dan kapang lainnya karena saling bersaing untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya (Persmark, 1977).

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa dua isolat *A. oligospora* (Cbs. 511.81 dan lokal) memiliki kemampuan menjerat yang lebih baik ($P < 0,01$) dibandingkan dengan isolat *D. flagrans*. Sedangkan dalam mereduksi larva *H. contortus*, kapang *A. oligospora* lebih baik ($P < 0,01$) dibandingkan isolat *D. flagrans*. Fenomena tersebut khususnya terjadi berhubungan dengan suhu lingkungan saat percobaan, karena menurut Gronvold *et al.* (1985;1996) terdapat perbedaan faktor temperatur optimal pertumbuhan kedua kapang tersebut. Pada kapang *A. oligospora* pembentukan jerat terjadi secara optimal pada suhu 25°C, sedangkan pada *D. flagrans* terjadi pada suhu 35°C. Selain itu dipengaruhi oleh faktor lain seperti medium dan jumlah larva pengujian.

SIMPULAN

Kapang *A. oligospora* pada *in vitro* lebih baik kemampuannya dalam membentuk jerat dan membunuh larva *H. contortus* dibandingkan dengan kapang *D. flagrans*. Kapang *A. oligospora* asal Denmark lebih efektif membentuk jerat dan membunuh larva dibandingkan dengan *A. oligospora* lokal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh proyek PAATP Departemen Pertanian tahun 2000/2001.

DAFTAR PUSTAKA

- Barron GL. 1977. The nematode destroying fungi. In *Tropics in Mycology* No.1. Guelph, Ontario, Canada: Canadian Biological Publication Ltd.
- Faedo M, Barnes EH, Dobson RJ, Waller PJ. 1998. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematodes parasites of sheep: Pasture plot study with *Duddingtonia flagrans*. *Vet Parasitol* 76: 129-135
- Gronvold J, Korsholm H, Wolstrup J, Nansen P, Henriksen SA. 1985. Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae *Cooperia* species and to investigate the effect of physical factors on the growth of the fungus. *J Helminthol* 59: 119-25

- Gronvold J, Wolstrup J, Henriksen SA, Nansen P. 1987. Field experiments on the ability of *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce the number of larvae of *Cooperia oncophora* (Trichostrongylidae) in cow pats and surrounding grass. *J Helminthol* 65: 65-71
- Gronvold J, Nansen P, Henriksen SA, Larsen M, Wolstrup J, Bresciani J, Ruwat H, Friberg L. 1996. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *J Helminthol* 70: 291-297
- Jansson Hans-Borje, Birgit Nordbring-Hertz. 1980. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes: Attraction, Induction of trap formation and capture. *Nematol* 26: 383-389
- Larsen M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. *Parasitol* 120: S121-S131
- Nansen P, Gronvold J, Henriksen SA, Wolstrup J. 1988. Interactions between the Predacious Fungus *Arthrobotrys oligospora* and Third-Stage Larvae of a series of Animal-Parasitic Nematodes. *Vet Parasitol* 26: 329-337
- Persmark L. 1977. Disertation ecology of nematophagous fungi in agricultural soils. Sweden: Departement of Ecology Microbia; Ecology Lund University. Pp. 1-33
- Steel RGD, Torrie JH. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.
- Waller P, Larsen M. 1996. Workshop summary: Biological control of nematode parasites of livestock. *Vet Parasitol* 64: 135-7
- Waller PJ. 1997. Sustainable helminth control of ruminants in developing countries. *Vet Parasitol* 71: 195-207