

KARAKTERISASI MORFOLOGIS *Trichoderma* sp. ISOLAT JB DAN DAYA ANTAGONISME TERHADAP PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT REBAH KECAMBAH (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) PADA TANAMAN TOMAT

I Wayan Suanda

Prodi Pend. Biologi, FPMIPA IKIP PGRI Bali, Denpasar

Email: suanda_wayan65@yahoo.co.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi morfologis *Trichoderma* sp. isolat JB dan daya antagonisme terhadap patogen penyebab penyakit rebah kecambah (*Sclerotium rolfsii* Sacc.). Penelitian dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Variabel observasi yang karakteristik makroskopik, termasuk warna koloni dan bentuk, dan karakteristik mikroskopis, termasuk bentuk konidiofor, fialid dan konidia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. isolat JB secara *in-vitro* mampu menghambat *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman tomat sebesar 95,45%.

Kata-kata Kunci: Karakterisasi, Trichoderma asperellum isolat JB, daya hambat, Sclerotium rolfsii.

Abstract

This study aims to determine the morphological characterization of *Trichoderma* sp., JB isolates and antagonism power against damping-off disease-causing pathogens (*Sclerotium rolfsii* Sacc.). The study was conducted at the Laboratory of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Udayana University. The observations' variable with macroscopic characteristics, including color and form colonies, and microscopic characteristics, including the shape of conidiophores, conidia and fialid. The results showed that *Trichoderma* sp., JB isolates, in the *in-vitro* way, are able to inhibit *Sclerotium rolfsii* damping-off disease-causing on tomato plants amounted to 95.45%.

Keywords : characterization, isolates Trichoderma asperellum JB, inhibition, Sclerotium rolfsii

1. Pendahuluan

Patogen tanaman menjadi masalah penting di dalam budidaya tanaman, karena dapat menurunkan produksi tanaman. Banyak usaha telah dilakukan untuk mengendalikan patogen tanaman, baik dengan penggunaan tanaman tahan maupun pestisida kimia sintetis. Akan tetapi, tanaman tahan terhadap patogen tanaman jarang tersedia, sedangkan pestisida kimia sintetis jika digunakan dengan tidak bijaksana akan banyak menimbulkan masalah baik terhadap lingkungan, produk tanaman maupun kesehatan manusia (Walker dan

Stachecki, 2002). Oleh karena itu agensia pengendali hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian patogen tanaman yang menjanjikan karena murah, mudah didapat dan aman terhadap lingkungan.

Jamur *Trichoderma* sp. merupakan salah satu jenis yang banyak dijumpai pada semua jenis tanah dan pada berbagai habitat yang merupakan salah satu jenis jamur yang dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati pengendali patogen tanah dan telah menjadi perhatian penting sejak beberapa dekade terakhir ini karena kemampuannya sebagai pengendali biologis terhadap beberapa patogen

tanaman (Harman *et al.*, 2004). Mekanisme pengendalian yang bersifat spesifik target dan mampu meningkatkan hasil produksi tanaman, menjadi keunggulan tersendiri bagi *Trichoderma* sp. sebagai agensia pengendali hayati (Suanda dan Ratnadi, 2015). *Trichoderma asperellum* sering disolasi dari akar-bebas tanah, serasah tanah, rizosfer berbagai tanaman, jaringan tanaman yang sehat, biomassa jamur dan kayu mati dan banyak digunakan sebagai biofungisida pada beberapa komoditi seperti Tebu, Jagung, Kubis, Lada dan Kakao (Papavizas *et al.*, 1985). *Trichoderma* sp. merupakan mikroorganisme tanah sebagai agensia biokontrol bersifat saprofit yang secara alami menyerang jamur patogen karena mempunyai sifat antagonis yang tinggi terhadap jamur patogen dan bersifat menguntungkan tanaman budidaya termasuk tanaman tomat.

Tanaman tomat yang dibudidayakan di lapangan sering terserang penyakit rebah kecambah (*damping off*) yang disebabkan patogen jamur *Sclerotium rolfsii* saat pembibitan (Helena, 2012). *S. rolfsii* menyebabkan busuk pada batang tanaman tomat, sehingga proses pengangkutan air dan hara dari akar ke seluruh bagian tanaman menjadi terganggu. Batang yang terinfeksi akan terlihat ditumbuhi dengan benang-benang yang berwarna putih (*miselia*). Tanaman tomat yang terinfeksi patogen *S. Rolfsii* menimbulkan gejala busuk pada batang, daun tanaman layu dan akhirnya tanaman mati (Ferreira dan Boley, 2006). *S. rolfsii* menyebabkan penyakit busuk akar, busuk batang, layu, dan busuk pangkal batang pada lebih dari 500 spesies tanaman dalam 100 famili (Cilliers *dkk.*, 2000; Davis dan Nunez, 2007). *S. rolfsii* merupakan patogen tular tanah yang bersifat polifag dan menyerang tanaman tomat pada masa vegetative (Hardiningsih, 1993 dalam Sulistyowati *et al.*, 1997).

Beberapa strain *Trichoderma* seperti *Trichoderma harzianum*, *T. atroviride*, *T. viride*, *T. virens* dan *T. koningii* telah diketahui sebagai agensia biokontrol yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan patogen

dalam tanah, sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman inang (Anuradha *et al.*, 2014). Namun karakteristik morfologi dan daya antagonisme *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap patogen penyebab penyakit rebah kecambah (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) pada tanaman tomat belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang karakterisasi morfologis *Trichoderma* sp. isolat JB dan daya antagonisme terhadap *S. rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman tomat.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian yang meliputi penyediaan isolat jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc dan jamur *Trichoderma* sp. isolat JB serta pengujian daya antagonisme terhadap *S. rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman tomat dilaksanakan dari bulan Januari sampai Februari 2015 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana.

2.2 Penyediaan Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc.

S. rolfsii diisolasi dari perakaran dan pangkal batang tanaman tomat yang terinfeksi *S. rolfsii*. Bagian tanaman tomat tersebut dipotong dengan gunting steril berukuran kecil-kecil (± 1 cm) di dalam *laminar air flow*, didisinfeksi dengan cara mencelupkan ke dalam larutan natrium hipoklorit 1 % selama 5 detik, kemudian dicuci dengan air steril dan dikeringkan di atas tisu. Isolasi dilakukan dengan menggunakan teknik *direct plating* (Malloch, 1997) yaitu, meletakkan potongan pangkal batang tanaman tomat dengan menggunakan pinset ke dalam cawan Petri yang telah berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditambahkan *Levofloxacin* 250 mg, kemudian diberi label, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang ($\pm 28^\circ\text{C}$) selama 3 hari setelah isolasi (HSI). Penentuan jenis miselium dan hifa yang terbentuk ini sesuai Fichtner (2006) yang menyebutkan pada dasarnya ada dua jenis hifa yang dihasilkan *S. rolfsii* yaitu kasar dan lurus. Hal ini juga didukung oleh

Semangun (2004) yang menyatakan bahwa *S. rolfsii* mempunyai miselium yang terdiri dari benang-benang berwarna putih, tersusun seperti bulu dan kapas.

Koloni *S. rolfsii* yang tumbuh pada media PDA selanjutnya diencerkan sampai tingkat pengenceran 10^{-5} . Suspensi diambil menggunakan mikropipet dengan volume 1 ml disebar pada media PDA dengan tujuan untuk mendapatkan koloni tunggal *S. rolfsii*. Menurut Kartika (2012), bahwa karakterisasi (identifikasi) morfologi jamur dilakukan atas dasar karakteristik pemurnian melalui kultur koloni tunggal. Pembuatan kultur spora tunggal menurut Tamin *et al.*, (2012), bertujuan untuk mendapatkan spora yang berasal dari satu jenis yang sama.

Koloni jamur yang tumbuh diperbanyak dengan cara mengambil 1 *cork borer* ($\Phi \pm 5$ mm) dibiakan pada media PDA diinkubasi pada suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 7 HSI untuk penelitian selanjutnya melalui pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan diidentifikasi berdasarkan deskripsi yang dikemukakan oleh Barnett dan Hunter (1998).

2.3 Perbanyakkan *Trichoderma* sp. isolat JB

Perbanyakkan isolat jamur *Trichoderma* sp. isolat JB yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari I Wayan Suanda, yang kemudian diremajakan dengan diisolasi kembali pada medium *potato dextrose agar* (PDA) berisi *Levofloxacin* 250 mg dan diinkubasi pada suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 7 hari. *Trichoderma* sp. isolat JB selanjutnya diperbanyak untuk memenuhi kebutuhan penelitian.

2.4 Karakteristik Morfologi

Trichoderma sp. isolat JB

Pengamatan karakteristik morfologi *Trichoderma* sp. isolat JB dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis mengacu pada buku identifikasi berdasarkan deskripsi yang dikemukakan oleh Barnett dan Hunter (1998) dan Watanabe (2002). Pengamatan *Trichoderma* sp. isolat JB secara makroskopis meliputi bentuk koloni,

warna koloni dan diameter pertumbuhan koloni, dilakukan setiap hari sampai berumur 10 HSI. Pertumbuhan diameter koloni *Trichoderma* sp. isolat JB dilakukan dengan membuat gambar dengan spidol yang dipolakan pada kertas plastik “karkir” transparan merek *diament*, setelah itu diterakan pada kertas milimeter blok dan dihitung luasnya (Suanda dan Ratnadi, 2015). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan metode mikrokultur (*slide culture*), bagian yang diamati meliputi bentuk konidiofor, fialid dan konidia serta bentuk dan ornamentasi tangkai spora.

2.5 Uji Daya Antagonisme *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap *S. rolfsii* Sacc.

Uji antagonisme jamur dilakukan untuk mengetahui bentuk interaksi *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap *S. rolfsii*. Uji antagonisme ini dilakukan di dalam *laminar air flow* agar kondisi aseptiknya tetap terjaga. Uji daya antagonisme dilakukan dengan metode *dual culture* secara *in vitro* (Coskuntuna dan Ozer, 2008). Koloni jamur *Trichoderma* sp. isolat JB umur 5 HSI dan jamur patogen *S. rolfsii* umur 10 HSI di media PDA dipotong dengan bor gabus (*cork borer*) menjadi lempeng biakan seperti cakram berdiameter 0,5 mm diambil dengan jarum *ose* steril diletakkan pada media PDA dalam cawan Petri pada jarak 3 cm berlawanan dengan jamur antagonis. Perlakuan kontrol sebagai perbandingan dilakukan dengan mengisolasi jamur patogen pada media PDA tanpa perlakuan jamur antagonis. Semua pengujian dilakukan dengan pengulangan sebanyak 5 kali dan diinkubasi pada suhu kamar ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 5 hari. Menurut Khatabi, *et al.* (2004) bahwa persentase daya antagonisme ditentukan berdasarkan rumus:

$$P = \frac{Pk - Pt}{Pk} \times 100\%$$

Keterangan:

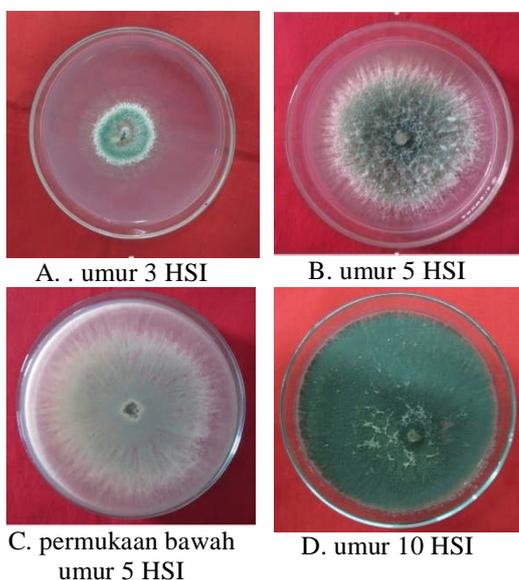
P = Persentase hambatan

Pk= luas koloni *S. rolfsii* pada kontrol

Pt = luas koloni *S. rolfsii* pada perlakuan

3. Pembahasan Hasil

Pengamatan makroskopis *Trichoderma* sp. isolat JB yaitu koloni permukaannya datar berbentuk bulat tetapi kasar seperti berserat dengan bagian tepi halus, mula-mula koloni berwarna putih kemudian bagian tengah berwarna hijau muda lalu menjadi hijau tua berbentuk lingkaran dengan batas jelas, sedangkan bagian pinggir berwarna putih seperti kapas dan warna koloni berubah menjadi hijau tua pada seluruh permukaan atas (Gambar 1).



Gambar 1. Morfologi bentuk dan warna *Trichoderma* sp. isolat JB

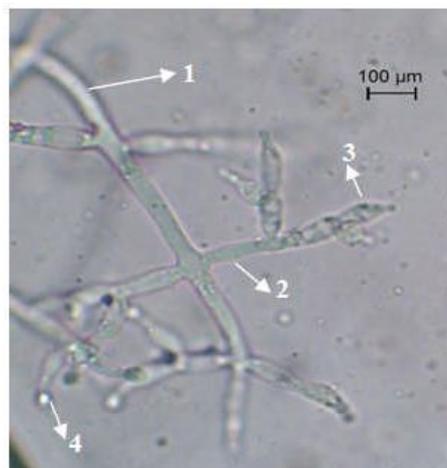
Stamets (2000) bahwa sebagian besar jamur saprofit pada mulanya memiliki miselium berwarna putih, kemudian warna dapat berubah ketika miselium tersebut dewasa. Pertumbuhan diameter koloni *Trichoderma* sp. isolat JB disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1: Rerata pertumbuhan diameter koloni *Trichoderma* sp. isolat JB (cm²)

No.	Pengamatan (HSI)	Rerata Pertumbuhan Diameter Koloni (cm ²)
1.	0	0,5
2.	1	2,0
3.	2	17,0
4.	3	38,0
5.	4	55,0
6.	5	78,5
7.	6	81,0

(cawan Petri penuh)

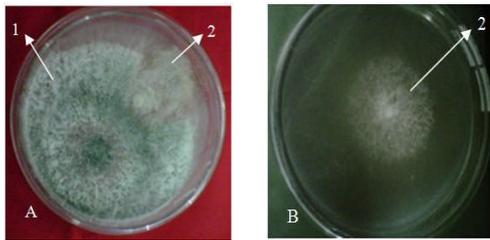
Penampakan secara mikroskopis *Trichoderma* sp. isolat JB yaitu hifa berwarna hijau, tangkai fialid pendek, konidia berwarna kehijauan, berbentuk globuse (bulat) tumbuh pada ujung dan ada juga konidium terbentuk secara bergerombol berwarna hijau muda pada permukaan sel konidioforinya. Fialid memiliki ukuran panjang ±11,1µ dan cabang konidiofor panjangnya ±13,4µ. Adanya banyak percabangan konidiofor yang menyerupai piramid yaitu cabang yang lebih panjang dibawahnya, fialid tersusun pada kelompok-kelompok yang berbeda, terdapat 2-3 fialid per kelompok (Gb. 2).



Gambr 2. Morfologi mikroskopis *Trichoderma* sp. isolat JB
1. konidiofor 2. cabang konidiofor
3. fialid 4. Konidia/phialospore

Berdasarkan uji secara *in vitro* ada pengaruh penggunaan *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap penyakit rebah

kecambah *S. rolfii* ditinjau dari aspek daya antagonis mencapai 95,45% (Gambar 3).



Gambar 3. Uji antagonis *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap *S. rolfii* (umur 7 HSI)
A. Uji antagonis
B. kontrol 1. koloni *Trichoderma* sp. isolat JB
2. koloni *S. rolfii*

Penghambatan pertumbuhan diameter koloni *S. rolfii* disebabkan oleh pertumbuhan koloni *Trichoderma* sp. isolat JB lebih cepat dan kemampuan kompetisi lebih tinggi dibanding dengan pertumbuhan koloni *S. rolfii*. Menurut Cook dan Baker (1983) salah satu syarat suatu organisme dapat dikatakan sebagai agensia hayati adalah mempunyai kemampuan antagonisme yaitu kemampuan menghambat perkembangan atau pertumbuhan organisme lainnya. Semakin besar daya hambat yang terjadi, maka semakin tinggi daya antagonis isolat tersebut. Perbedaan daya hambat menggambarkan perbedaan kemampuan dari masing-masing isolat untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pesaing (Suanda dan Ratnadi, 2015). Perbedaan ini diduga dipengaruhi oleh jenis, jumlah, dan kualitas dari antibiotik atau zat lain yang dihasilkan *Trichoderma* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan patogen (Herliyana *et al.*, 2013).

Mekanisme *Trichoderma* sp. menghambat patogen *Phytophthora* sp. ialah melalui cara langsung, yaitu dengan mikoparasitisme atau antibiosis (Bae *et al.* 2011; Atanasova *et al.* 2013). Lebih lanjut Chet (1987) menyatakan bahwa *Trichoderma asperellum* mampu menghasilkan enzim yang dapat menyebabkan lisis pada hifa inangnya dan memiliki sifat mikoparasit yang dapat menghambat perkembangan patogen.

Mekanisme daya antagonis *Trichoderma* sp. isolat JB menempel dan membelokkan hifanya ke hifa inang dengan membuat lilitan pada hifa inang (Gambar 4).



Gambar 4. Mekanisme antagonisme mikoparasit *Trichoderma* sp. isolat JB terhadap jamur patogen *S. rolfii*
a. hifa *Trichoderma* sp. isolat JB
b. hifa jamur patogen *S. rolfii*
c. pertemuan hifa *Trichoderma* sp. isolat JB dan hifa *S. rolfii*

Bila pertumbuhan hifa *Trichoderma* sp. sejajar dengan pertumbuhan hifa inangnya maka hifa *Trichoderma* sp. akan menempel pada hifa biasanya melilit hifa inangnya dengan lilitan spiral yang agak jarang dan membentuk alat pengait (*hook-like structure*), sambil memenetrasi miselium inang dengan mendegradasi sebagian dinding sel inang (Lewis *et al.*, 1998).

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini karakterisasi morfologi *Trichoderma* sp. isolat JB bisa dijadikan dasar untuk menentukan spesies *Trichoderma* sp. dan isolat ini lebih dekat dengan *T. asperellum*, yang perlu dilanjutkan dengan identifikasi sampai tingkat molekuler. *Trichoderma* sp. isolat JB memiliki kemampuan antagonisme 95,45% terhadap pertumbuhan koloni *S. rolfii* secara *in vitro* dan karakterisasi morfologi *Trichoderma* sp. isolat JB

5. Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Rektor IKIP PGRI Bali dan ketua laboratorium Penyakit Tumbuhan

Universitas Udayana yang telah memberikan fasilitas dan kesempatan untuk melakukan penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Atanasova, L., Le Crom, S., Gruber, S., Coulpier, F., Seidl-Seiboth, V., Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S. 2013. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma mycoparasitism*. *Journal BMC Genomics* 14:121.
- Barnett, H.L., Hunter, B. 1998. Illustrated genera Of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society St. Paul. Columbia.
- Bae, H., Roberts, D.P., Lim, H.S., Strem, M.D., Park, S.C., Ryu, C.M., Melnick, R.L. and Bailey, B.A. 2011. Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Journal Mol Plant Microb In* 24:336-351.
- Cook, R.J. and Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathol. Soc. St. Paul, MN*.
- Chet, I. 1987. Innovative Approaches to Plant Diseases Control. John Wiley and Sons, A Wiley-Interscience Publication, USA. pp. 11-210.
- Coskuntuna, A. and Ozer, N. 2008. Biological Control of Onion Basal Root Disease Using *Trichoderma harzianum* and Induction of Antifungal Compounds in Onion Set Following Seed Treatment. *JournalCrop Protection* 27:330-336.
- Cilliers, A.J., Herselman L. & Pretorius Z.A. 2000. Genetic variability within and among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* in South Africa. *Phytopathology* 90(9): 1026-1031.
- Davis, M.R. and Nunez, J. 2007. Integrated approaches for carrot pests and diseases management. In: Ciancio A & Mukerji KG. (Eds.). General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. pp.149-190.
- Ferreira, S.A., and Boley, R.A. 2006. *Sclerotiumrolfsii*. <http://www.Extent.edu>
- Fichtner, E.J. 2006. *Sclerotium rolfsii*. 'Kudzu of the Fungal World'.
- Harman, G.E., Charles, R.H., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *JournalNature Rev* 2:43-54.
- Herliyana E.N., Jamilah, R., Taniwiryono, D. dan Firmansyah, M.A. 2013. Uji In-vitro Pengendalian Hayati oleh *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* yang Menyerang Sengon. Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan, IPB. *Jurnal Silviculture Tropika* 4(3):190-193.
- Kartika, E., Lizawati dan Hamzah. 2012. Isolasi, Identifikasi dan pemurnian Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) dari tanah bekas tambang batubara. Program Studi Agroekoteknologi. Fakultas

- Pertanian Universitas Jambi.
Vol. 1:4
- Khattabi, N., Ezzahiri, B., Lauali, L., and Oihabi, A. 2004. Antagonistic activity of *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii*: Screening of isolates from Morocco soils for biological control. *Phytopathol. Mediterr* 43:332-340.
- Lewis, J.A., R.P. Larkin and D.L. Rogers. 1998. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off by *Rhizoctonia solani* and saprophytic growth of the pathogen in soil less mix. *Pl. Dis* 82:501-506.
- Malloch, D. 1997. Moulds Isolation, Cultivation, Identification, Mycology. Departement of Botany University of Toronto.
- Papavizas, C.G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology Ekology and Potential for Biological Control. *Ann. Rev. Phytophatology* 23:23-54.
- Suanda, I W. dan Ratnadi, Ni W. 2015. Daya Antagonism *Trichoderma* sp. Isolat Local terhadap Jamur Patogen penyebab Penyakit Rebah Kecambah (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Prodi Pendidikan Biologi FPMIPA IKIP PGRI Bali. *Jurnal EmaSains* IV(2):155-162.
- Semangun, H. 2004. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Stamets, P. 2000. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ed ke-3. California: Ten Speed Press.
- Walker, E.D., and J.A. Stachecki. 2002. *Pest Management for Small Animals a Training Manual for Commercial Pesticide Applicatorrs and Registered Technicians*. Michigan State University Extension. Michigan. p.140.
- Watanabe T. 2002. *Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC Press LLC. U.S.A.