

KEMAMPUAN *Trichoderma* sp. DAN FILTRATNYA DALAM MENEKAN PERTUMBUHAN *Sclerotium rolfsii* SECARA *IN VITRO*

Indah Puspita Dewi, Tri Maryono, Titik Nur Aeny & Suskandini Ratih

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro no. 1 Bandar Lampung 35145
Email : indah09may@yahoo.com

ABSTRAK

Salah satu penyebab rendahnya produksi kedelai nasional adalah adanya serangan penyebab penyakit rebah kecambah. Pengendalian yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan agen antagonis. Penelitian ini bertujuan mengetahui kemampuan *Trichoderma* sp. dan filtratnya dalam menekan pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* secara *in vitro*. Pengujian terdiri atas uji antagonisme dengan metode kultur ganda dan uji filtrat *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan *S. rolfsii*. Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. dan filtratnya mampu menekan pertumbuhan *S. rolfsii* secara *in vitro*. Isolat *Trichoderma* sp. yang kemampuan penghambatannya paling tinggi adalah isolat *Trichoderma harzianum*.

Kata kunci : Rebah kecambah, *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma* sp.

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan komoditas tanaman pangan yang penting di Indonesia. Produksi kedelai di Indonesia mencapai angka 0,8 juta ton per tahun, sedangkan kebutuhan kedelai di Indonesia mencapai 2,5 juta ton per tahunnya (Kementan, 2013). Untuk itu perlu adanya upaya dalam meningkatkan produksi kedelai.

Upaya meningkatkan produksi kedelai masih mengalami banyak kendala, di antaranya: lahan yang kurang tersedia bagi petani kedelai dan serangan hama dan penyebab penyakit. Serangan hama dan penyebab penyakit dapat mengakibatkan penurunan produksi tanaman kedelai. Salah satu penyakit yang sering ditemukan dalam budidaya tanaman kedelai adalah penyakit rebah kecambah (*damping-off*) yang disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii*.

Patogen *S. rolfsii* relatif sulit dikendalikan karena mampu bertahan selama bertahun-tahun di dalam tanah dalam bentuk sklerotia dan mempunyai kisaran inang yang luas (Semangun, 1993). Pengendalian menggunakan fungisida belum memberikan hasil yang baik, justru memberikan dampak negatif. Oleh karena itu diperlukan cara pengendalian lain yang lebih ramah lingkungan (Soesanto, 2008) misalnya pengendalian hayati dengan agen antagonis.

Salah satu jamur antagonis yang sering digunakan adalah *Trichoderma* sp. *Trichoderma* sp. merupakan salah satu jamur antagonis yang banyak digunakan untuk mengendalikan jamur patogen tumbuhan. Mekanisme antagonis jamur *Trichoderma* sp. adalah parasitisme, lisis, antibiosis, dan kompetisi ruang (Soesanto, 2008). Selain dapat digunakan langsung untuk mengendalikan patogen, filtrat *Trichoderma* sp. juga dilaporkan dapat mengendalikan patogen tumbuhan (Radder, 2005).

BAHAN DAN METODE

Sebanyak 4 isolat *Trichoderma* sp. yaitu *T. koningii*, *T. koningii*, *T. harzianum*, dan *Trichoderma* sp. yang digunakan dalam percobaan ini didapatkan dari koleksi Laboratorium Penyakit Tanaman, Bidang Proteksi Tanaman, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Keempat isolat tersebut diperoleh dari hasil isolasi tanah rizosfer tanaman cabai.

Keempat isolat *Trichoderma* sp. yang digunakan berasal dari pengelompokan 11 isolat yang dibedakan dari warna dan pola koloni jamur. Biakan *Trichoderma* sp. terlebih dahulu diremajakan pada media PDA sebelum digunakan dalam pengujian. Peremajaan dilakukan dengan cara meletakkan potongan berbentuk cakram *Trichoderma* berukuran 4 mm ke dalam me-

dia PDA baru dan kemudian diinkubasi selama 7 hari. Setelah tumbuh, *Trichoderma* sp. diperbanyak pada media PDA baru dan selanjutnya digunakan untuk pengujian.

Untuk mendapatkan filtrat *Trichoderma*, jamur ini terlebih dahulu dibiakkan pada media cair *potato dextrose broth* (PDB). Komposisi media cair yang digunakan sama dengan komposisi media PDA, tetapi tanpa menggunakan agar. Sebanyak 5 potongan cakram *Trichoderma* sp. dimasukkan dalam 500 ml media cair yang sudah disiapkan dalam tabung Erlenmeyer, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang dengan pencahayaan matahari. Setelah 7 hari, media cair tersebut disaring untuk memisahkan struktur jamur dengan cairannya. Filtrat tersebut selanjutnya digunakan dalam pengujian.

Pengujian dengan metode kultur ganda dilakukan untuk mengetahui kemampuan *Trichoderma* sp. dalam kemampuan parasitisme, persaingan ruang dan nutrisi, serta antibiosis dan lisis. Biakan *Trichoderma* sp. yang telah diinkubasi selama 4 hari kemudian dipindahkan ke dalam media PDA yang baru dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 4 mm. Isolat patogen yang telah diinkubasi selama 4 hari kemudian dipindahkan ke media PDA yang sama dengan *Trichoderma* sp. Potongan cakram *Trichoderma* sp. diletakkan 3 cm dari tepi cawan, sedangkan potongan cakram isolat patogen diletakkan 3 cm dari tepi cawan pada bagian sisi depan cuplikan *Trichoderma* sp, kemudian diinkubasi (Gambar 1). Peubah yang diamati adalah jari-jari pertumbuhan koloni patogen. Pengukuran jari-jari pertumbuhan koloni

patogen dilakukan dengan cara mengukur jari-jari pertumbuhan koloni yang tumbuh ke arah biakan *Trichoderma* sp. sebagai data perlakuan dan ke arah tepi cawan sebagai data kontrol. Pengukuran jari-jari dilakukan setiap hari sampai pertumbuhan koloni pada kontrol mencapai tepi cawan. Untuk mengetahui ada tidaknya lisis dan antibiosis dilakukan pengamatan pada titik pertemuan patogen dan *Trichoderma* sp. yang ditunjukkan adanya batas yang jelas antara koloni patogen dan *Trichoderma* sp. atau adanya warna kuning atau coklat yang dilihat dari bagian bawah cawan.

Pada pengujian ini, media yang digunakan adalah campuran filtrat *Trichoderma* dan media PDA dengan perbandingan 1:1. Sebanyak 25 ml filtrat *Trichoderma* dicampur dengan 25 ml media PDA yang belum jadi, lalu diotoklaf pada suhu 121 °C selama 10 menit. Untuk perlakuan kontrol, media yang digunakan hanya media PDA tanpa filtrat *Trichoderma*. Setelah selesai diotoklaf dan cukup dingin, media uji tersebut dituang dalam cawan petri dan dibiarkan membeku. Setelah beku, sebanyak 1 sklerotia *S. rolfisii* diletakkan tepat ditengah cawan lalu diinkubasi pada suhu ruang dengan pencahayaan matahari.

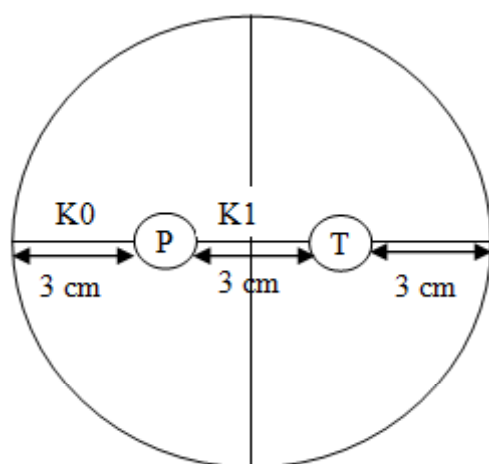
Peubah yang diamati adalah pertumbuhan koloni jamur *S. rolfisii*. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mengukur pertumbuhan koloni *S. rolfisii*. Pengukuran dihentikan apabila pada perlakuan kontrol pertumbuhan koloni *S. rolfisii* telah mencapai tepi cawan petri. Perlakuan pada percobaan ini adalah filtrat dari 4 isolat *Trichoderma* sp. ditambah dengan 1 perlakuan kontrol. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Setelah data jari-jari dan diameter didapatkan kemudian dihitung persentase penghambatan *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan koloni patogen dengan rumus (Nduagu et al., 2008) :

$$P = \frac{K_0 - K_1}{K_0} \times 100\%$$

P adalah persentase penghambatan, K_0 = jari-jari koloni patogen ke arah tepi cawan petri (kontrol), dan K_1 = jari-jari koloni patogen ke arah biakan *Trichoderma* sp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian antagonisme dengan metode kultur ganda menunjukkan bahwa semua isolat *Trichoderma* yang diuji mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfisii* (Tabel 1). Keempat isolat *Trichoderma* sp. pada 1 hsi dan 2 hsi tidak berbeda nyata, namun pada 3 hsi, isolat *T. koningii* 1 berbeda nyata dibandingkan dengan ketiga



Gambar 1. Tata letak jamur *Trichoderma* sp. dan *S. rolfisii* pada uji antagonisme dalam cawan petri. (P = biakan *S. rolfisii*, T = biakan *Trichoderma* sp.).

Tabel 1. Persentase penghambatan *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan koloni *S. Rolfsii*.

Isolat	Persentase penghambatan		
	1 hsi	2 hsi	3 hsi
<i>T. koningii</i> 1	7,73 a	47,34 a	54,67 b
<i>T. koningii</i> 2	10,37 a	47,36 a	59,33 a
<i>T. harzianum</i>	11,84 a	49,32 a	63,33 a
<i>Trichoderma</i> sp.	7,82 a	46,77 a	59,33 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%. hsi = hari setelah inokulasi.

isolat *Trichoderma* sp. yang lain (*T. koningii* 2, *T. harzianum* dan *Trichoderma* sp.). Lalu, setelah dilakukan uji lanjut dengan BNT, terlihat adanya perbedaan persentase penghambatan isolat *T. koningii* 1 dibandingkan dengan isolat lainnya. Isolat *Trichoderma* yang tingkat penghambatannya paling rendah adalah isolat *T. koningii* 1 pada 3 hsi.

Hasil pengujian filtrat *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan *S. rolfsii* menunjukkan bahwa semua filtrat isolat *Trichoderma* yang diuji mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii*. Filtrat isolat *Trichoderma* dengan persentase penghambatan paling rendah adalah filtrat dari isolat *T. koningii* 1 (Tabel 2). Bila dilihat dari laju pertambahan pertumbuhan *S. rolfsii* setiap hari, terlihat bahwa filtrat dari isolat *T. koningii* 1 memiliki laju pertambahan pertumbuhan tertinggi. Hasil analisis statistik laju pertambahan pertumbuhan *S. rolfsii* dan diameter koloni *S. rolfsii* pada 4 hsi menunjukkan bahwa kemampuan *Trichoderma* isolat *T. harzianum* berbeda nyata dengan isolat *T. koningii* 1, *T. koningii* 2 dan *Trichoderma* sp. dalam kemampuan menghambat pertumbuhan koloni *S. rolfsii*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan *Trichoderma* sp. atau filtratnya mampu menekan pertumbuhan *S. rolfsii*. Hal ini terlihat dari terhambatnya pertumbuhan *S. rolfsii* saat terpapar dengan *Trichoderma* sp. atau filtratnya. Pada pengujian dengan metode kultur ganda, mekanisme penghambatan yang terjadi adalah kompetisi ruang dan antibiosis. Kompetisi ruang yaitu pertumbuhan *Trichoderma* sp. lebih cepat dibandingkan pertumbuhan *S. rolfsii* yang kemudian menyebabkan *Trichoderma* sp. dapat memenuhi ruang lebih cepat di dalam cawan petri, sehingga pertumbuhan *S. rolfsii* menjadi berkurang. Selain itu, mekanisme antibiosis juga terjadi pada pengujian ini yang dapat dilihat dengan adanya batas berwarna kuning kecoklatan di antara *Trichoderma* sp. dan *S. rolfsii*. Pertumbuhan

S. rolfsii terhenti pada batas berwarna kecoklatan tersebut. Hal ini diduga karena adanya suatu senyawa yang menghalangi *S. rolfsii* tumbuh ke arah *Trichoderma* sp.

Pada pengujian menggunakan filtrat *Trichoderma* sp., diduga kemampuan menghambat disebabkan oleh kandungan enzim dan toksin. Enzim dan toksin yang dihasilkan *Trichoderma* mampu menghambat patogen dengan merusak dinding sel patogen (Pietro *et al.*, 1993). Menurut El-Katatny *et al.* (2000), filtrat *Trichoderma* sp. mengandung enzim kitinase dan β -1,3-glukanase, sedangkan Mukherjee *et al.* (2012) melaporkan bahwa filtrat *Trichoderma* sp. mengandung toksin harzianic acid, tricholin, peptaibols, gliotoxin, viridian, T22azaphilone, 1 hydroxy-3-methyl-anthraquinone, 1,8-dihydroxy-3-methyl-anthraquinone, T39butenolide, harzianolide, dan harzianopyridone. Gveroska dan Ziberoski (2012) melaporkan bahwa filtrat *Trichoderma* sp. efektif menghambat *Alternaria alternata* dan mengakibatkan abnormalitas morfologi patogen. Sementara itu, menurut Radder (2005) filtrat dari *Trichoderma* sp. mampu menghambat pertumbuhan miselia dan pembentukan sklerotia dari *S. rolfsii* penyebab penyakit layu pada kacang tanah.

Pada penelitian ini, meskipun filtrat *Trichoderma* diotoklaf, namun masih menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan koloni *S. rolfsii*. Hal ini mengindikasikan bahwa metabolit sekunder (enzim dan toksin) *Trichoderma* yang terkandung dalam filtrat tidak mengalami kerusakan setelah dilakukan pemanasan pada otoklaf dengan suhu 121° C dan tekanan 1 atm selama 10 menit. Xiao-Yan (2006) melaporkan bahwa enzim trikokonin tidak mengalami kerusakan setelah dilakukan pemanasan pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan menurut Radder (2005), filtrat *Trichoderma* masih efektif menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* meskipun telah disterilisasi dengan cara diotoklaf.

Tabel 2. Rata-rata pertumbuhan koloni *S. rolfisii* yang ditumbuhkan pada media yang mengandung filtrat *Trichoderma* sp.

Perlakuan Isolat	Laju pertambahan pertumbuhan koloni <i>S. rolfisii</i> per hari (cm)	Diameter koloni <i>S. rolfisii</i> (cm) pada 4 hsi
Kontrol (tanpa <i>Trichoderma</i>)	2,25 a	9,0 a
<i>T. koningii</i> 1	1,78 b	7,1 b
<i>T. koningii</i> 2	1,75 b	7,0 b
<i>T. harzianum</i>	1,03 c	4,1 c
<i>Trichoderma</i> sp.	1,75 b	7,0 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%. hsi = hari setelah inokulasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Trichoderma* sp. dan filtratnya mampu menghambat pertumbuhan *Sclerotium rofsii*. Isolat *Trichoderma* sp. yang memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat *S. rofsii* adalah isolat *Trichoderma harzianum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Di Pietro, A., M. Lorito, C. K. Hayes, R. M. Broadway, and G. E. Harman. 1993. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology*. 83: 308-313.
- El-katatny, M.H., Somitsch, W., Robra, K.H., El-Katatny., and Gubitz, G.M. 2000. Production of chitinase and β -1,3-glucanase by *T. harzianum*, *Food technol. Biotechnol.* 38(3): 173-180.
- Gveroska, B., and Ziberoski, J. 2012. *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. *J. Appl. Technol. & Innov.* 7(2): 67-76.
- Kementan. 2013. *Produksi Tanaman Pangan*. http://aplikasi.pertanian.go.id/bdsp/hasil_kom.asp. Diakses pada tanggal : 5 Maret 2014.
- Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., dan Kenerly, C.M. 2012. Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiol.* 158:35-45.
- Nduagu C., Ekefan E.J., and Nwankiti A. O. 2008. Effect of Some Crude Plant Extracts on Growth of *Colletotrichum capsici* (Synd) & Bisby, Causal Agent of *Pepper Anthracnose*. *J. of Applied Biosci.* 6(2): 184-190.
- Radder, Siddanagoudar R., 2005. *Effect of bioagents and their metabolites on sclerotium rolfisii* Sacc of groundnut. Thesis Master of Science. University of Agricultural Sciences. Dharward.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Penyakit Tanaman*. Rajawali Pers. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Xiao-Yan, S, Shen Qing-Tao, Xie Shu-Tao, Chen Xiu-Lan, Sun Cai-Yun & Zhang Yu-Zhong. 2006. *Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of Trichokonins from Trichoderma koningii SMF2 against plant pathogens*. State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University. China.