

The Potential Test of Fungal Antagonist *Trichoderma viride* to inhibit the Growth of Pathogenic Fungi *Fusarium moniliforme* and *Alternaria solani* In-Vitro

Susiana Purwantisari^{1,*} and Agus Evendi¹

¹Biology Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Tembalang, Semarang 50275 Telephone (024)7474754; Fax. (024)76480690

*corresponding author's email: susiana_purwantisari@yahoo.co.id

ABSTRACT

Fusarium moniliforme and *Alternaria solani* are two types of mold which often cause the diseases of cultivated plants. *Fusarium moniliforme* causes the ear rot disease on corn and the wilt disease of Solanaceae family. Whereas the pathogenic fungus *Alternaria solani* causes an early bright disease on the onion and potato. This aim of this study was to determine the ability of fungal antagonist *Trichoderma viride* in inhibiting the growth of *Fusarium moniliforme* and *Alternaria solani* in vitro. The growth inhibition ability test were conducted on dual cultures by growing the fungal antagonists with pathogenic fungi in Petri dish containing potato dextrose agar media face-to-face in a distance of 3 cm. Percentages of the growth inhibiting were observed every day in 7 days incubation. The results showed that the fungal antagonist *T. viride* exhibited the highest inhibition on *F. moniliforme* in 3 days incubation period which was 63.07 %. Yet the highest inhibition against *A. solani* was in 2 days incubation period which was 57.35 %. *T. viride* growth continued to increase since the first day until the seventh day incubation period but contrarily the growth of both pathogenic fungi underwent inhibition. This suggested that *T. viride* was potential as a biological control agent of *F. moniliforme* and *A. solani* growth and have a potency as an active bio fungicide ingredient.

Keywords: Dual culture; percentage inhibiting; *Trichoderma viride*; *Alternaria solani*; *Fusarium moniliforme*

ABSTRAK

Fusarium moniliforme dan *Alternaria solani* merupakan dua jenis kapang yang sering menjadi penyebab penyakit tanaman budidaya. *Fusarium moniliforme* menyebabkan penyakit busuk tongkol (*ear rot*) pada tanaman jagung dan juga menjadi penyebab penyakit layu tanaman keluarga Solanaceae. Sedangkan kapang patogen *Alternaria solani* adalah penyebab penyakit bercak kering (*early bright*) pada tanaman bawang merah juga pada tanaman kentang. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji potensi kapang antagonis *Trichoderma viride* terhadap pengendalian pertumbuhan *Fusarium moniliforme* dan *Alternaria solani* secara *in vitro*. Uji kemampuan penghambatan pertumbuhan dilakukan secara kultur ganda (dual culture) dengan menumbuhkan kapang antagonis dengan masing-masing kapang patogen dalam cawan petri berisi media Potato Dextrosa Agar secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Persentase penghambatan pertumbuhan dihitung setiap hari selama 7 hari masa inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapang antagonis *T. viride* menunjukkan penghambatan tertinggi pada *F. moniliforme* pada masa inkubasi 3 hari yaitu sebesar 63,07%. Sementara penghambatan tertinggi terhadap *A. solani* pada masa inkubasi 2 hari sebesar 57,35%. Pertumbuhan *T. viride* terus mengalami peningkatan sejak hari pertama sampai hari ketujuh masa inkubasi namun sebaliknya pada pertumbuhan kedua kapang patogen mengalami penghambatan. Hal ini menunjukkan bahwa *T. viride* berpotensi sebagai agen pengendali hayati pertumbuhan *F. moniliforme* dan *A. solani* serta berpotensi sebagai bahan aktif biofungisida.

Kata Kunci: Uji Antagonisme, persentase penghambatan, *Trichoderma viride*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria solani*.

Pendahuluan

Penyakit pada tanaman dapat merusak secara fisiologis serta biologis tanaman budidaya. Penyakit pada tanaman dapat disebabkan oleh kapang, bakteri, virus, maupun nematoda. Berdasarkan keempat kelompok penyebab penyakit tersebut, kelompok kapang menduduki tempat tertinggi dibanding dengan kelompok mikroorganisme penyebab penyakit pada tanaman yang lain. Tercatat lebih dari 6 genera kapang yang bersifat patogenik terhadap tanaman budidaya. Beberapa jenis kapang yang menyebabkan penyakit pada tanaman budidaya, di antaranya adalah kapang *Fusarium moniliforme*. Penyakit layu tanaman tomat dan cabai yang disebabkan oleh jamur patogen *Fusarium oxysporum* merupakan penyakit penting dalam tanaman tomat terutama di daerah daratan tinggi [1]. Sedangkan kapang patogen *Alternaria solani* menyebabkan penyakit bercak kering (*early blight*) pada tanaman bawang merah dan pada tanaman kentang [2].

Pengendalian penyakit tanaman sampai saat ini masih mengandalkan fungisida kimiawi yang diketahui menimbulkan dampak yang merugikan bagi lingkungan dan kesehatan konsumen seperti residu beracun pada produk serta pencemaran lingkungan sehingga perlu dicari alternatif pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan agens hayati yang bahan aktifnya mikroorganisma hidup yang tidak mencemari lingkungan. Penggunaan kapang antagonis *Trichoderma viride* sebagai agens pengendali hayati berbagai penyakit tanaman budidaya cukup menjanjikan terutama oleh aktivitas kitinolitik kapang antagonis tersebut, sehingga dapat merusak dinding sel kitin kapang patogen seperti *Fusarium moniliforme* dan *Alternaria solani*. Beberapa keunggulan *T. viride* sebagai agen pengendalian hayati, menurut Djafaruddin [3], di antaranya: (a) cepat tumbuh di berbagai substrat; (b) berkemampuan tinggi dalam kompetisi makanan dan ruang atau tempat; (c) dapat bekerja sebagai mikoparasit; (d) sistem kerja enzim yang memungkinkan merusak pada berbagai kapang patogen; (e) menghasilkan antibiotik; (f) kisaran parasitismenya yang sangat luas; (g) jarang yang bersifat patogen pada tanaman tingkat tinggi.

Mekanisme penghambatan oleh *Trichoderma* spp. terhadap kapang-kapang patogen terjadi melalui mekanisme mikoparasitisme dengan pelilitan, penusukan, dan penetrasi dinding sel kapang lawan dengan mengeluarkan enzim yang dimilikinya [4]. Kompetisi makanan dan ruang atau tempat yang didukung dengan menghasilkannya enzim dan antibiotik yang memudahkan untuk memperoleh makanan dari kapang lawan. Kompetisi ruang terjadi dengan memanfaatkan sifat pertumbuhannya yang sangat cepat sehingga dapat mengungguli dalam penguasaan ruang atau tempat [3]. Kapang *Trichoderma* spp. mampu menghasilkan antibiotik yang bersifat volatil berupa CO₂ dan etanol yang dapat menghambat pertumbuhan dan sporulasi *A. niger* dan non-volatil yang dapat menyebabkan percabangan yang lebih banyak dan tebal sehingga mampu menghambat *R. solani*, *formaeannonus*, *Lentinus edodes* dan *Heterobasidium annonum* [5].

Metode Penelitian

Peremajaan Biakan Kapang

Biakan murni *Trichoderma viride*, *Fusarium moniliforme*, dan *Alternaria solani* masing-masing diremajakan dengan cara memindahkan biakan kapang tersebut dengan jarum tanam panjang ke dalam cawan petri yang berisi medium PDA (Potato Dextrose Agar) steril secara aseptis kemudian hasil isolasi diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari. Bagian koloni kapang yang sedang aktif tumbuh dibuat cakram berdiameter 0.6 cm dengan menggunakan alat pelubang untuk inokulasi pada uji antagonisme.

Pengujian Antagonisme *Trichoderma viride* terhadap Kapang Patogen.

Uji kemampuan kapang antagonis dilakukan dengan metode biakan ganda pada medium ADK. Kapang antagonis dan patogen dibiakkan dalam satu cawan petri secara berhadapan dengan masing-masing kapang patogen pada jarak 3 cm dalam medium PDA. Kemampuan antagonis ditentukan berdasarkan persentase kemampuan daya hambat dan antibiosis dengan menilai ada tidaknya zona hambatan. Persentase hambatan pertumbuhan kapang patogen dihitung berdasarkan rumus: Kontrol yang digunakan adalah cawan petri berisi medium PDA yang tidak

dikontakkan dengan kapang antagonis *Trichoderma viride*. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama tujuh hari. Pengamatan perkembangan pertumbuhan koloni dilakukan setiap hari sampai tujuh hari setelah inokulasi. Perkembangan pertumbuhan kapang diamati dan diukur diameter pertumbuhannya dengan mengukur jari-jari koloni setiap kapang, diukur menurut metode Küçük dan Kivanç [6]. Uji antagonisme dinyatakan dengan persentase penghambatan pertumbuhan koloni kapang yang dihitung berdasarkan rumus dalam Küçük dan Kivanç [6], sebagai berikut:

$$I = \frac{R_2 - R_1}{R_2} \times 100\%$$

Keterangan :

I = Persentase penghambatan (%)

R₁ = Jari-jari koloni kapang yang terhambat (cm).

R₂ = Jari-jari koloni kapang yang normal (cm).

Tipe interaksi yang terjadi diklarifikasikan menurut Skidmore dan Dickinson [7], yaitu:

1. Pertumbuhan kedua kapang saling tumbuh masuk
2. Pertumbuhan kapang yang sedang diamati sedang tumbuh masuk kedalam kapang lawan diatas atau dibawah koloninya
3. Pertumbuhan kapang yang sedang diamati telah berhenti pertumbuhannya dan ditumbuhi oleh kapang lain
4. Penghambatan ringan dengan daerah bening < 0.2 cm
5. Penghambatan mutual pada suatu jarak lebih dari 0.2 cm

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analysis of Variance (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji BNT, BNT, dan BJND pada taraf signifikan 95%.

Pembahasan

Penghambatan pertumbuhan kapang patogen *F. moniliforme* oleh kapang antagonis *T. viride*

Hasil pengamatan perkembangan pertumbuhan kapang *F. moniliforme* dan kapang *T. viride* secara *in vitro* dinyatakan dengan pertumbuhan jari-jari koloni (dalam cm). Pertumbuhan koloni kapang patogen *F. moniliforme* yang dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* menunjukkan pencapaian titik tertinggi pada masa inkubasi 3 hari dengan nilai jari-jari sebesar 2,45 cm, lalu mengalami penurunan inkubasi 4 hari dan mengalami pertumbuhan stagnan (stasioner) sampai waktu inkubasi 7 hari. Pertumbuhan kapang antagonis *T. viride* mengalami peningkatan sampai masa inkubasi 4 hari sampai masa inkubasi 7 hari.

Pertumbuhan kapang patogen *F. moniliforme* yang tidak dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* terus mengalami peningkatan hingga memenuhi cawan petri sampai masa inkubasi 7 hari, sedangkan kapang antagonis *T. viride* sudah mencapai puncak pertumbuhan pada masa inkubasi 3 hari dan menunjukkan pertumbuhan yang terus menerus hingga pertumbuhan memenuhi cawan petri. Di sisi lain, pada pengamatan mikroskopis koloni kapang patogen *F. moniliforme* yang dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* pada masa inkubasi 4 hari terlihat bahwa hifa kapang antagonis *T. viride* mulai masuk/ penetrasi ke dalam hifa kapang patogen *F. moniliforme* dan menekan koloni kapang patogen *F. moniliforme* tersebut. Selanjutnya koloni *F. moniliforme* pada masa inkubasi 7 hari terlihat berwarna putih keunguan dan kekuningan, warna kuning yang terbentuk diduga sebagai antibiotik yang membantu *T. viride* dalam menekan pertumbuhan *F. moniliforme*. Hal ini didukung pernyataan Sulistyowati dkk [8], Bahawa warna kuning pada *Trichoderma* diduga sebagai antibiotik yang membantu kapang tersebut berkompetisi dengan kapang patogen lawan.

Kapang antagonis *T. viride* mampu menghasilkan kitinase (Paulitz & Belanger [9] dalam Nugroho [10]). Menurut Griffin [11], kitin merupakan komponen utama *Deutromycetes* termasuk *F.*

moniliforme, diduga kitinase dari *T. viride* mampu merusak dinding sel kitin *F. moniliforme* sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan kapang patogen tersebut. Koloni kapang patogen *F. moniliforme* pada kontrol pada saat masa inkubasi 2 hari seperti benang putih, berwarna merah kecoklatan, hifa tumbuh baik dengan jari-jari koloni sebesar 2,33 cm sedangkan pada perlakuan sebesar 1,95 cm.

Penghambatan pertumbuhan kapang patogen *Alternaria solani* oleh kapang antagonis *Trichoderma viride*

Hasil pengamatan pertumbuhan kapang patogen *A. solani* dan kapang antagonis *T. viride* secara *in vitro* yang dinyatakan dengan pertumbuhan jari-jari koloni. Pertumbuhan kapang patogen *A. solani* yang dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* jauh lebih lambat dibanding dengan pertumbuhan kapang antagonis *T. viride*. Pertumbuhan kapang patogen hanya mencapai titik tertinggi pada saat masa inkubasi 2 hari selanjutnya mengalami penurunan pada masa inkubasi 4 hari dan stasioner sampai saat masa inkubasi 7 hari. dengan nilai jari-jari 2,13 cm. Sebaliknya, pertumbuhan kapang antagonis *T. viride* mengalami peningkatan terus menerus sampai masa inkubasi 7 hari.

Pertumbuhan koloni kapang patogen *A. solani* yang tidak dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* (kontrol) terus meningkat namun pada saat masa inkubasi 7 hari belum memenuhi cawan petri dan baru memenuhi cawan petri pada saat masa inkubasi 9 hari. Sebaliknya pertumbuhan kapang antagonis *T. viride* tumbuh pesat hingga memenuhi cawan petri pada saat mulai masa inkubasi 3 hari. Hal ini memperlihatkan bahwa kapang antagonis *T. viride* mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen *A. solani*. Hal ini didukung oleh pernyataan Roco & Perez [12] dalam Ozbay & Newman [4], bahwa genus *Trichoderma* mampu menekan produksi *endo-polygalacturonase* (*endo-PG*) dan *pectate Lyase* (*PL*) yang dihasilkan oleh *Alternaria alternate*. Pengamatan mikroskopis pada koloni kapang patogen *A. solani* yang dikontakkan dengan kapang antagonis *T. viride* pada masa inkubasi 7 hari menunjukkan bahwa hifa kapang antagonis

T. viride masuk ke dalam koloni kapang patogen *A. solani* serta terlihat pertumbuhan kapang antagonis *T. viride* yang menutupi permukaan koloni kapang *A. solani* sehingga pertumbuhan kapang patogen *A. solani* terlihat tertekan. Pengamatan mikroskopis terhadap koloni kapang patogen *A. solani* yang tidak dikontakkan dengan *T. viride* saat masa inkubasi 2 hari terlihat seperti benang putih, reverse colony berwarna hijau kehitaman, jari-jari koloni sebesar 2,35 cm sedangkan pada perlakuan sebesar 2,13 cm.

Aktivitas antagonistik kapang *Trichoderma viride* terhadap kapang patogen *Fusarium moniliforme* dan *Alternaria solani* secara *in vitro*.

Hasil pengamatan penghambatan oleh kapang antagonis *T. viride* terhadap kapang patogen *F. moniliforme* dan *A. solani* menunjukkan perbedaan penghambatan. Kapang antagonis *T. viride* mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen *F. moniliforme* sebesar 63,07% sedangkan terhadap kapang patogen *A. solani* hanya sebesar 58,35%. Perbedaan penghambatan pertumbuhan ini diduga karena adanya perbedaan komposisi dinding sel pada masing-masing kapang patogen. Griffin [11], menyatakan bahwa kelompok kapang Deuteromycetes yaitu termasuk kapang patogen *F. moniliforme* dan *A. solani* tidak mempunyai selulosa pada dinding selnya dan hanya mempunyai komponen kitin sebesar 39% dari berat kering dinding selnya.

Kesimpulan

Kapang antagonis *Trichoderma viride* berpotensi menghambat pertumbuhan koloni kapang patogen *Fusarium moniliforme* serta kapang patogen dan *Alternaria solani* secara *in vitro*. Penghambatan oleh kapang antagonis *T. viride* terhadap kapang patogen *Fusarium moniliforme* lebih kuat dibanding penghambatannya terhadap kapang pathogen *Alternaria solani*.

Daftar Pustaka

- [1] Haryono Semangun, (1993), *Penyakit-penyakit tanaman pangan di Indonesia*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta

- [2] Jeffrey Bryant Jones, John Paul Jones, Robert E Stall, Thomas A Zitter, (1991), *Compendium of Tomato Diseases*, American Phytopathological Society,
- [3] Djafaruddin, (2000), *Dasar-dasar Pengendalian Penyakit Tanaman*, Bumi Aksara, Jakarta
- [4] Nusret Ozbay, Steven E Newman, (2004), *Biological Control with Trichoderma spp. with Emphasis on T. harzianum*, Pakistan Journal of Biological Sciences, 7 (4), 478-484
- [5] C. Dennis, J. Webster, (1971), *Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma*, Transactions of the British Mycological Society, 57 (1), 25-IN23 [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80077-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3)
- [6] Çiğdem Küçük, Merih Kivanç, (2003), *Isolation of Trichoderma spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features*, Turkish Journal of Biology, 27 247-253
- [7] A. M. Skidmore, C. H. Dickinson, (1976), *Colony interactions and hyphal interference between Septoria nodorum and phylloplane fungi*, Transactions of the British Mycological Society, 66 (1), 57-64 [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(76\)80092-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(76)80092-7)
- [8] L. Sulistyowati, M. Estiejarini, A. Choili, (1997), *Teknik Aplikasi Isolat Trichoderma spp, sebagai Agen pengendali Hayati Scloretium rolfsii Sacc pada tanaman Kacang tanah*, in, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- [9] Timothy C. Paulitz, Richard R. Bélanger, (2001), *Biological Control in Greenhouse Systems*, Annual Review of Phytopathology, 39 (1), 103-133 doi:10.1146/annurev.phyto.39.1.103
- [10] Titania Tjandrawati Nugroho, M Ali, C Ginting, Dahliaty Wahyuningsih, A., Devi, S., Sukmarisa, Y. 2003. *Isolasi dan karakterisasi sebagian kitinase Trichoderma viride TNJ63*, Jurnal Natur Indonesia, 5 (2), 101-106
- [11] David H Griffin, (1996), *Fungal physiology*, John Wiley & Sons,
- [12] Angela Roco, Luz María Pérez, (2001), *In vitro biocontrol activity of Trichoderma harzianum on Alternaria alternata in the presence of growth regulators*, Electronic Journal of Biotechnology, 4 (2), 1-2