

POTENSI *Trichoderma* spp. DALAM MENEKAN PERKEMBANGAN PENYAKIT BUSUK PUCUK VANILI DI PEMBIBITAN

Efi Taufiq

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357
balitri@gmail.com

(Diajukan tanggal 5 Desember 2011, diterima tanggal 21 Februari 2012)

ABSTRAK

Penyakit busuk pucuk vanili (BPV) yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* merupakan kendala pada pembibitan dan pertanaman vanili. Pengendalian penyakit umumnya menggunakan fungisida sintetik yang harganya mahal dan menyebabkan pencemaran lingkungan. Pengendalian penyakit dengan agens hayati sudah dikembangkan dan berhasil mengatasi penyakit busuk pangkal batang pada tanaman vanili. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat *Trichoderma* dari tanah, rizosfer dan jaringan tanaman vanili sebagai agens hayati terhadap *P. capsici* secara *in vitro* dan *in vivo* (pembibitan). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi Departemen Proteksi Tanaman IPB, Laboratorium Penyakit Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat di Bogor, dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar di Sukabumi. *Trichoderma* spp. diisolasi dari risosfir dan jaringan tanaman vanili dari Serang, Sukabumi, dan Batu. Pengujian antagonisme *in vitro* dilakukan pada 17 isolat *Trichoderma* spp. menggunakan metode *dual culture* dan metode kertas cakram, sedangkan pengujian *in vivo* dilakukan pada 6 isolat *Trichoderma* spp. menggunakan media jagung dan metode penyemprotan suspensi konidia agens hayati. Peubah yang diamati adalah kejadian dan tingkat keparahan penyakit busuk pucuk pada vanili. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan. Hasil penelitian diperoleh 114 isolat jamur; 97 dari rizosfir, 11 dari tajuk dan 6 dari akar (endofit). Hasil pengujian patogenisitas menunjukkan bahwa 63 isolat bersifat patogenik pada tanaman vanili (umumnya genus *Fusarium*) dan 51 isolat tidak patogenik (umumnya *Trichoderma*). Daya hambat *in vitro* isolat *Trichoderma* spp. terhadap *P. capsici* berkisar antara 44,5-73,5%, sedangkan dengan metode cakram daya hambatnya 6,3-75%. Keefektifan 6 isolat *Trichoderma* spp. menekan perkembangan penyakit busuk pucuk pada bibit vanili berkisar antara 66,67-68,00%. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa ada beberapa isolat *Trichoderma* spp yang berpotensi sebagai agens hayati untuk menekan perkembangan penyakit busuk pucuk vanili yang disebabkan oleh *P. capsici*.

Kata Kunci : Vanili, *Trichoderma* spp., *Phytophthora capsici*

ABSTRACT

Potential of *Trichoderma* spp. To suppress development of the shoot rot disease of vanilla in nurseries. Shoot rot disease of vanilla (BPV) is caused by *Phytophthora capsici* is a constraint on the seedling and planting vanilla. Disease control generally use synthetic fungicides are expensive and cause environmental pollution. Disease control with biological agents has been developed and successfully overcome the base of the stem rot disease in vanilla plants. This study aims to obtain isolates of *Trichoderma* from soil, rhizosphere and plant tissue vanilla as a biological agent against *P. capsici* *in vitro* and *in vivo* (seedling). Mycological Research conducted at the Laboratory of Plant Protection Department of IPB, Laboratory Center for Disease Spices and Medicinal Plants Research in Bogor, and Greenhouse Crops Research Institute for Industry and freshening in Sukabumi. *Trichoderma* spp. isolated from plant tissue, rhizosphere and vanilla from Serang, Sukabumi, and Batu. *In vitro* antagonism test performed on 17 isolates of *Trichoderma* spp. using the dual culture method and the method of the paper disc, whereas *in vivo* tests carried out on six isolates of *Trichoderma* spp. using corn media and methods of spraying conidia suspensions of biological agents. Observed variable is the incidence and severity of shoot rot disease in vanilla. Research using randomized block design with three replications. The results obtained 114 isolates of the fungus; 97 of the rhizosphere, 11 of the canopy and 6 of the root (Endophytic). The results of pathogenicity tests showed that 63 isolates are pathogenic on plants vanilla (generally *Fusarium*) and 51 isolates were not pathogenic (generally *Trichoderma*). The inhibition of *in vitro* isolates of *Trichoderma* spp. against *P. capsici* ranged from 44.5 to 73.5%, while the disc method hamatnya power from 6.3 to 75%. The effectiveness of six isolates of *Trichoderma* spp. suppress the development of bud rot disease in vanilla seeds ranged from 66.67 to 68.00%. The results indicate that some isolates of *Trichoderma* spp as potential biological agents to suppress the development of shoot rot disease of vanilla caused by *P. capsici*.

Keywords : Vanilla, *Trichoderma* spp., *Phytophthora capsici*

PENDAHULUAN

Pengembangan vanili di Indonesia banyak menghadapi kendala seperti sulitnya mendapatkan varietas unggul yang tahan terhadap penyakit, teknik pengolahan hasil, dan serangan penyakit. Penyakit utama pada vanili adalah penyakit busuk batang vanili (BBV) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp *vanillae*. Penyakit lain yang menyerang vanili adalah penyakit busuk sklerotium, penyakit busuk pucuk dan buah, serta penyakit antraknosa (Semangun, 2000). Namun di negara penghasil vanili lainnya seperti Polynesia, busuk pucuk vanili (BPV) merupakan penyakit yang serius dan dapat menjadi ancaman bagi perkebunan vanili, karena dapat menurunkan produksi dan menyebabkan kematian bibit vanili (Tsao and Mu, 1987).

Busuk pucuk vanili (BPV) di Indonesia pertama kali dilaporkan terjadi di Jawa Barat dan Bali tahun 1905 (Semangun, 2000). Serangan busuk pucuk vanili di Cisarua Bogor pernah mencapai 25% pada area kebun vanili seluas 6 hektar (Manohara dan Tombe, 1991). Pucuk yang terserang umumnya menunjukkan gejala nekrosis berwarna coklat kekuningan, kemudian menjadi coklat tua. Serangan pada tanaman vanili dewasa dapat menghambat pertumbuhan tanaman, sedangkan serangan pada pembibitan dan tanaman muda dapat menyebabkan kematian tanaman.

Penyebab penyakit BPV adalah *P. capsici* (Andriani *et al.*, 2008). Serangan patogen BPV pada pembibitan vanili sangat merugikan, karena dapat menurunkan kualitas bibit dan pada serangan berat akan mematikan bibit. Selain itu bibit yang terinfeksi patogen BPV akan menjadi sumber inokulum bagi penyebaran penyakit BPV di kebun. Pengendalian penyakit BPV yang menyerang tanaman muda di pembibitan lebih sulit dilakukan, karena kondisi iklim mikro pada area pembibitan sangat mendukung untuk perkembangan patogen BPV.

Trichoderma sp. merupakan agens hayati yang sudah umum digunakan untuk mengendalikan patogen seperti *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Sclerotium* sp, dan *Phytophthora* sp. Beberapa hasil penelitian teknologi ramah lingkungan yang sudah diterapkan untuk mengendalikan penyakit tanaman antara lain adalah penggunaan agens hayati dan fungisida nabati untuk mengendalikan penyakit

BBV akibat serangan *F.oxysporum* f.sp *vanillae*. Agens hayati yang digunakan adalah *Bacillus* sp., *Trichoderma* sp. dan *Fusarium oxysporum* non patogenik (FoNP) (Tombe, *et.al.* 2001).

Ogawa dan Komada (1988) meneliti penggunaan FoNP untuk menginduksi ketahanan tanaman ubi jalar terhadap penyakit busuk *Fusarium*. Hasilnya terbukti bahwa penggunaan FoNP efektivitasnya sama dibandingkan dengan penggunaan fungisida sintetik (Benomil) yang merupakan fungisida andalan untuk pengendalian penyakit tersebut saat itu.

Noveriza *et.al* (2005), melaporkan bahwa penggunaan FoNP dengan cara perendaman stek lada dalam suspensi konidia selama 30 menit dilanjutkan dengan pengolesan FoNP formulasi tepung, mampu mengurangi serangan *Phytophthora capsici* pada pembibitan lada lebih dari 50%.

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat *Trichoderma* dari tanah, rizosfer dan jaringan tanaman vanili sebagai agens hayati terhadap *P. capsici* secara *in vitro* dan *in vivo* (pembibitan).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan mulai bulan Maret 2009 sampai Agustus 2011 di Laboratorium Mikologi Departemen Proteksi Tanaman IPB Bogor, Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor, serta di Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri.

Isolasi dan evaluasi jamur non patogenik

Jamur non patogenik (JNP) diisolasi dari sampel tanah/rizosfer tanaman vanili yang diambil dari kebun petani di daerah Serang (Banten), Sukabumi (Jawa Barat), dan Batu Malang (Jawa Timur). Isolasi JNP dari tanah/rizosfer dilakukan dengan metode pengenceran berseri. Sampel tanah diambil sebanyak 10 gram lalu di masukkan ke dalam gelas Erlenmeyer berisi 90 ml akuades steril. Kemudian dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Suspensi yang diperoleh diencerkan sampai 10^5 . Masing-masing pengenceran diambil 0,2 ml dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media selektif martin agar (MA) dan, *selective fusarium agar* (SFA), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. JNP

yang tumbuh selanjutnya dimurnikan pada media PDA.

Uji antagonis JNP *in vitro*

Isolat jamur yang tidak patogenik dan berpotensi sebagai agens hayati diuji daya hambatnya terhadap patogen BPV dengan metode kultur ganda (*dual culture*). Isolat JNP dan patogen BPV dikulturkan berpasangan pada media agar V8. Kultur isolat uji dibentuk lingkaran menggunakan *corkborrer* diameter 5 mm, lalu diambil dengan jarum ose dan diletakan berpasangan dalam cawan petri berisi media agar V8 dengan jarak 5 cm, lalu diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari, dengan cara mengukur jari-jari koloni BPV yang tumbuh kearah agens hayati dan dibandingkan dengan kontrol (koloni BPV yang dikulturkan tanpa JNP).

Perlakuan disusun dalam rancangan acak lengkap yang diulang tiga kali. Pengamatan dilakukan terhadap adanya zona hambatan (zona bening) dan besarnya persentase penghambatan terhadap patogen BPV dengan rumus:

$$Pp = \frac{Rc - Rp}{Rc} \times 100\%$$

Pp = persentase penghambatan

Rc = rata-rata jari-jari koloni jamur kontrol (tanpa agens hayati)

Rp = rata-rata jari-jari koloni patogen BPV yang dikulturkan dengan agens hayati

Uji jamur non patogenik *in vivo*

Pengujian ini dilakukan di laboratorium dan rumah plastik. Pengujian di laboratorium menggunakan 18 isolat agens hayati (17 isolat *Trichoderma* spp. dan satu Yeast) hasil seleksi pengujian antagosme pada percobaan *in vitro* di laboratorium. Pengujian dilakukan dengan metode kertas cakram (Muslim, 1995) yang dimodifikasi.

Isolat patogen dikulturkan pada media agar V8 sampai membentuk sporangium. Sporangium dipanen dan diencerkan dengan air steril sampai mencapai kerapatan 4×10^4 sporangium/ml. Isolat FoNP dikulturkan pada media PDA sampai membentuk konidia/spora, lalu spora dipanen dan ditambah air steril sampai mencapai kerapatan 4×10^7 spora/ml. Sebanyak 5 μ l masing-masing suspensi sporangium patogen dan spora/konidia JNP diteteskan pada kepingan kertas cakram steril

diameter 8 mm, kemudian ditempelkan pada permukaan daun vanili. Daun vanili dimasukkan ke dalam kotak plastik, kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan diamati setiap hari.

Pada pengujian tahap berikutnya di rumah plastik, digunakan 6 isolat *Trichoderma* spp. (isolat Ckm1, T-fil, Btm3, Cis, Skm, T5) dan satu isolat yeast hasil seleksi dari percobaan *in vitro* dengan metode kertas cakram. Penelitian dilakukan pada bibit vanili berumur 3 bulan. Sebagai kontrol positif K(+) digunakan bibit vanili yang diperlakukan hanya dengan *P. capsici*.

Cara pengujian dilakukan dengan meneteskan suspensi konidia agens hayati yang diuji pada pucuk vanili, diikuti dengan suspensi konidia *P. capsici*. Peubah yang diamati adalah masa inkubasi penyakit, waktu pembentukan sporangium, persentase kejadian penyakit, dan keparahan penyakit. Persentase kejadian penyakit dihitung menggunakan rumus :

$$KjP = (a/b)100\%$$

KjP = Kejadian penyakit (%)

a = Jumlah tanaman yang menunjukkan gejala nekrosis pada satu perlakuan

b = Jumlah tanaman pada perlakuan yang sama

Keparahan penyakit BPV dihitung menggunakan formula sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum (nv)}{NV} \times 100\%$$

IP = intensitas penyakit

ni = jumlah tanaman dengan skor n skor ke-i

vi = nilai skor penyakit ke-i

N = jumlah tanaman yang diamati

V = nilai skor tertinggi

Berdasarkan skoring sebagai berikut:

0 = tanaman sehat, tidak ada gejala sama sekali.

1 = panjang nekrosis ≤ 2 cm

2 = panjang nekrosis > 2 cm, tapi ≤ 3 cm

3 = panjang nekrosis > 3 , tapi ≤ 5 cm, pucuk masih tegak

4 = panjang nekrosis ≤ 5 cm, tapi pucuk sudah terkulai

5 = panjang nekrosis > 5 cm, pucuk sudah terkulai

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan ulangan 3 kali, tiap perlakuan terdiri dari 5 tanaman. Hasil pengamatan dianalisis secara statistik menggunakan program SAS dan uji Tukey pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur dari Tanah, Rizosfir, dan Jaringan Tanaman Vanili

Jumlah populasi mikroba hasil isolasi dari tanah/rizosfer vanili dari Sukabumi, Serang (Banten) dan Batu Malang hampir sama banyaknya, baik pada media SFA dan MA (Tabel 1). Hal ini menunjukkan tidak adanya factor seleksi yang berbeda terhadap kondisi pertanaman vanili di tiga daerah tersebut, walaupun kondisi lingkungan biologisnya bervariasi. Pada daerah Sukabumi vegetasi didominasi oleh tanaman gamal, di Serang Banten oleh gamal, dadap duri, pisang dan di daerah Batu Malang oleh Lamtoro merah. Hal ini terjadi mungkin disebabkan oleh teknik budidaya yang sama. Beberapa peneliti melaporkan bahwa kerapatan populasi mikroorganisme bergantung kepada jenis tanaman, tipe jaringan (akar, batang, daun), umur tanaman, habitat, dan faktor lingkungan biotik dan abiotik, seperti suhu, curah hujan, teknik budidaya, dan amandemen tanah (Hallmann *et al.*, 1999; Hallmann and Berg, 2006; Zinniel *et al.*, 2002). Mekete *et al.* (2009) melaporkan bahwa teknik budidaya sangat mempengaruhi populasi mikroorganisme pada tanaman kopi.

Variasi jenis mikroba dipengaruhi oleh beragamnya vegetasi yang ada pada suatu hamparan kebun. Pada areal yang homogen tanamannya (monokultur) variasi jenis mikroba lebih sedikit dibandingkan areal kebun yang ditanami lebih dari satu macam tanaman (polikultur), sedangkan total populasi jamur tidak dipengaruhi oleh ragam vegetasi. Hasil isolasi tanah rizosfer dari kebun vanili di Sukabumi dengan vegetasi yang relatif seragam menghasilkan total jamur yang lebih banyak dibandingkan dari Banten yang vegetasinya lebih beragam. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan ketinggian tempat dari permukaan laut, sehingga suhu dan kelembabannya berbeda. Selain vanili dan pohon panjatnya (gamal, dadap, lamtoro) pada areal tanaman vanili rakyat biasanya ditumbuhi tanaman lain seperti gulma, kelapa, paku paku, pisang, dan lain-lain.

Hasil isolasi JNP dari tanah dan jaringan tanaman diperoleh 114 isolat (97 isolat dari rizosfir, 7 isolat dari permukaan daun, 4 isolat dari jaringan batang, dan 6 isolat endofit akar), dari semua isolat tersebut 63 isolat bersifat patogen dan 51 isolat tidak patogen terhadap vanili (Tabel 2). Isolat yang tidak patogen selanjutnya diidentifikasi.

Tabel 1. Total populasi jamur non patogenik dari tanah vanili di Sukabumi, Banten dan Malang pada dua macam media selektif

Table 1. Total population of non-pathogenic fungus taken from soils on which vanilla are grown at Sukabumi, Banten dan Malang under different conditions of growth of the crop

Asal sampel	Tinggi tempat (m dpl)	Vegetasi	Populasi pada Media	
			SFA (cfu/g)	Martin Agar (cfu/g)
Sukabumi-Jabar	350	Gamal (homogen)	33×10^5	87×10^4
Ciomas-Banten	450	Gamal, dadap duri, pisang	31×10^5	77×10^4
Batu-Jatim	650	Lamtoro merah (homogen)	27×10^5	68×10^4

Tabel 2. Hasil uji patogenesis isolat jamur terhadap stek vanili

Table 2. The test results of fungi isolates pathogenicity to vanilla cuttings

Sumber isolat	Patogenik thd vanili	Non patogenik	Total Isolat
Tanah rizosfer	59 (61%)	38 (39%)	97
Tajuk tanaman			
-permukaan daun	4 (57%)	3 (43%)	7
-jaringan batang	-	4 (100%)	4
Endofit akar	-	6 (100%)	6

Uji Patogenisitas Isolat Jamur

Hasil uji patogenisitas terhadap stek vanili diperoleh 63 isolat patogenik dan 51 isolat tidak patogenik terhadap vanili. Isolat yang patogenik umumnya dari genus *Fusarium*, sedangkan yang non patogenik dari genus *Trichoderma* dan *Fusarium*. Areal kebun vanili yang diambil sampelnya dalam kondisi kurang terawat dan lebih dari 50 % terserang penyakit busuk batang vanili, sehingga tanah rizosfer banyak mengandung inokulum *Fusarium*. Penyakit busuk batang vanili merupakan penyakit utama tanaman vanili yang paling merugikan, karena menyerang semua stadia tanaman mulai dari pembibitan sampai tanaman dewasa (Tombe *et al.*, 1998).

Hasil isolasi agens hayati dari permukaan tanaman vanili relatif sedikit, karena struktur permukaan tanaman vanili yang tidak berbulu kurang mendukung bagi kolonisasi jamur (Tabel 2). Permukaan tanaman yang licin (tidak berbulu) kurang mampu menahan air yang amat diperlukan jamur, pada permukaan tanaman yang berbulu seperti tanaman dari famili Solanaceae cukup banyak jamur yang dapat diisolasi. Muslim (1995), dari permukaan daun kentang (Solanaceae) berhasil mengisolasi beberapa genus jamur seperti *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* yang

bersifat antagonis terhadap patogen hawar daun kentang.

Uji Antagonis Agens Hayati *In Vitro*

Daya hambat *in vitro* agens hayati terhadap pertumbuhan *P. capsici* berkisar antara 44,5 – 73,5%. Umumnya agens hayati yang didapat adalah *Trichoderma* spp. terutama *T. harzianum*. Mekanisme penghambatan berupa kompetisi ruang, nutrisi, serta mikoparasit. Sedangkan isolat *Trichoderma* yang menunjukkan aktivitas antibiosis, tidak didapatkan, hal ini disebabkan media yang digunakan adalah media agar jus V8, yang komposisinya berbeda dengan media agar kentang dekstroza (AKD). Pada media AKD, *Trichoderma* spp. mempunyai kemampuan tumbuh dengan cepat, sehingga mendominasi ruang dan nutrisi yang tersedia, karena komposisinya sesuai untuk mengekspresikan potensi antagonisnya. Sudah banyak hasil penelitian yang melaporkan bahwa *Trichoderma* spp. mempunyai kemampuan menghasilkan antibiotik, misalnya beberapa isolat *T. viride* (Susanto, 2002; Agrios, 2005). Species ini mempunyai kemampuan antibiosis yang tinggi, namun pada media agar jus V8 mekanisme tersebut tidak nampak. Pada pengamatan lebih lanjut umumnya koloni isolat *Trichoderma* yang diperoleh mampu terus tumbuh menutupi koloni *P. capsici*.

Tabel 3. Daya hambat agens hayati terhadap patogen BPV pada hari ke 6

Table 3. The inhibition of biological agents against pathogenic BPV on day 6

Kode isolate	Jari-jari koloni (mm)	Daya hambat (%)	Zona Hambatan (mm)
<i>Trichoderma</i> Cis 1	15,3	70,4	-
<i>Trichoderma</i> Cis 2	14,7	71,6	-
<i>Trichoderma</i> Cis 7	14,7	71,6	-
<i>Trichoderma</i> Cim	21,0	59,4	-
<i>Trichoderma</i> T.fil	17,7	65,8	-
<i>Trichoderma</i> Cif 01	28,7	44,5	-
<i>Trichoderma</i> Bts07	13,7	73,5	-
<i>Trichoderma</i> Btf 06	22,7	56,1	-
<i>Trichoderma</i> T5	20,0	61,3	-
<i>Trichoderma</i> Ckm 1	20,3	60,7	-
<i>Trichoderma</i> Btf	24,0	53,6	-
<i>Trichoderma</i> M9	16,0	69,1	-
<i>Trichoderma</i> Btf 5	23,7	54,1	-
<i>Trichoderma</i> Tri	20,0	61,3	-
<i>Trichoderma</i> Skm	23,7	54,1	-
Yeast	20,7	59,9	12
Kontrol	51,7	-	-

Tabel 4. Uji daya hambat agens hayati terhadap patogen BPV dengan metode kertas cakram
 Table 4. Inhibition test of biological agents against pathogenic SRD with a paper disc method

Perlakuan	Kejadian penyakit (%)		Masa inkubasi (hari)
	2 (hsa)	4 (hsa)	
Kontrol (-)	0	0	-
<i>Trichoderma</i> Ckm 1	0	0	-
<i>Trichoderma</i> Cis 1	0	8,3	3
<i>Trichoderma</i> Cis 7	0	8,3	3
<i>Trichoderma</i> Tri	0	25	3
<i>Trichoderma</i> T5	0	16,7	3
<i>Trichoderma</i> M9	8,3	33,3	2
<i>Trichoderma</i> Btf	0	25	3
<i>Trichoderma</i> Btf 5	8,3	25	2,5
<i>Trichoderma</i> Skm	16,7	16,7	2
<i>Trichoderma</i> T.fil	0	0	-
<i>Trichoderma</i> Cim	0	41,3	3
<i>Trichoderma</i> Btm 3	0	8,3	4
<i>Trichoderma</i> Btf 06	0	16,7	3
<i>Trichoderma</i> Bts 07	0	8,3	3
<i>Trichoderma</i> Btf 6	0	8,3	4
<i>Trichoderma</i> Cim 2	41,3	41,3	4
<i>Trichoderma</i> Cis 18	75	75	2
Kontrol (+)	100	100	2

Jamur non patogenik sudah banyak dimanfaatkan sebagai agens hayati antara lain *Trichoderma* spp. Salah satu contohnya adalah *Trichoderma harzianum* yang diisolasi dari rizosfer terbukti mampu menghambat perkembangan *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii* dengan cara memparasit hifa (Elad *et al.*, 1980).

Pengendalian hayati dapat juga dilakukan dengan memanfaatkan jamur yang mengkolonisasi permukaan tanaman, Muslim (1995) berhasil mengisolasi jamur seperti *Myrothecium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., dan *Trichoderma* spp. dari permukaan daun kentang. Jamur tersebut mampu menghambat perkembangan serangan *P. infestans* pada tanaman kentang di Jepang, dengan cara kompetisi nutrisi dan antibiosis.

Uji Antagonis Agens Hayati dengan Metode Kertas Cakram

Pengujian ini menggunakan metode kertas cakram (*paper disc*) yang dimodifikasi dari penelitian Muslim (1995). Metode ini juga digunakan untuk menyeleksi isolat *Trichoderma* spp yang digunakan di rumah kaca. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kandidat agens hayati yang diuji umumnya mampu menghambat perkembangan patogen, terbukti dengan masa inkubasi yang lebih lama dibandingkan kontrol, tetapi patogen masih dapat menginfeksi tanaman dengan persentase serangan 6,3-75 %.

Agens hayati yang diuji, belum mampu mencegah kejadian penyakit dengan baik, terbukti dengan cukup tingginya persentase kejadian penyakit pada beberapa kandidat agens hayati yang diuji. Hal ini disebabkan oleh adanya inokulum patogen (berupa zoospora) yang aktif bergerak pada lapisan film air, sedangkan konidia/spora agens hayati tidak bergerak aktif. Selain itu juga kertas cakram basah yang terbuat dari selulosa, tidak mampu menjadi media yang baik bagi agens hayati untuk memproduksi antibiotik, toksin, dan senyawa anti jamur lainnya. Berbeda dengan tanah yang kaya bahan organik, merupakan media yang sangat baik untuk agens hayati memproduksi senyawa anti jamur, enzim, dan toksin yang mampu menghambat perkembangan jamur patogen yang ada di rizosfer.

Uji Antagonis Agens Hayati *In Vivo*

Hasil pengujian agens hayati *in vivo* dengan waktu aplikasi yang bersamaan antara suspensi konidia agens hayati dan suspensi sporangium BPV belum mampu menghambat kejadian penyakit di rumah kaca, terbukti dengan tingginya persentase kejadian penyakit BPV (73-100%) dan tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol positif (Tabel 5). Isolat agens hayati yang menunjukkan daya hambat lebih dari 60% pada uji *in vitro* dan metode kertas cakram, saat diaplikasi bersamaan dengan

patogen BPV pada pucuk vanili, belum mampu mencegah timbulnya gejala nekrosis pada bibit vanili, tetapi mampu menghambat keparahan penyakit.

Patogen BPV masih mampu mendegradasi dinding sel tanaman, lalu mengkolonisasi dan menyebabkan nekrosis pada daun dan pucuk vanili dari bibit yang mendapat perlakuan isolat *Trichoderma* spp. yang diuji. Lapisan air pada pucuk vanili dan molase 1% sebagai bahan organik cair, belum memadai sebagai media tumbuh agens hayati agar dapat mencegah perkecambahan patogen di pucuk vanili. Aplikasi agens hayati menggunakan media molase 1% mampu menghambat perkembangan patogen, terbukti dengan keparahan gejala yang lebih kecil persentasenya dibandingkan kontrol (Tabel 5). Berarti semua isolat yang diuji mampu menekan perkembangan patogen BPV secara langsung di lokasi yang terinfeksi patogen.

Hasil pengujian agens hayati *in vivo* menggunakan media jagung giling yang diaplikasikan pada perakaran bibit vanili, bersifat netral dan tidak berperan dalam penekanan terhadap perkembangan penyakit (Tabel 6). Dengan demikian, perbedaan penekanan semata-mata disebabkan oleh faktor macam isolat agens hayati *Trichoderma* yang diaplikasikan. Di antara 6

isolat *Trichoderma*, dua isolat di antaranya, isolat Skm dan T.fil, mampu menghambat perkembangan penyakit dengan persentase keparahan penyakit sampai 66,67% dan 68,00%. Kemungkinan rendahnya persentase penekanan terhadap penyakit disebabkan oleh belum optimalnya cara aplikasi dan konsentrasi konidia yang diaplikasikan. Selain itu asal isolat *Trichoderma* spp. yang digunakan juga berpengaruh. *Trichoderma* spp. yang digunakan sebagian besar berasal dari rizosfir, hanya satu isolat (T.fil) yang berasal dari filosfer, sehingga pada waktu diinokulasikan pada pucuk tidak bisa berkembang dengan cepat, karena bukan habitatnya. Ada kemungkinan kalau inokulasinya melalui tanah, maka isolat tersebut akan berkembang dengan baik sebagai agens hayati. Pada umumnya perkembangan agens hayati lebih lambat dibandingkan dengan perkembangan patogennya (*P. capsici*), sehingga perlu ada jeda waktu antara aplikasi agens hayati dengan patogen. Di samping itu, mekanisme pengendalian *Trichoderma* spp. terhadap patogen juga melalui beragam cara, yaitu penghambatan langsung atau induksi ketahanan (Agrios, 2005). Untuk itu perlu dicari cara dan waktu aplikasi yang optimal untuk perkembangan agens hayati sehingga potensi penekanannya akan lebih baik.

Tabel 5. Daya hambat *Trichoderma* spp. dan Yeast terhadap BPV pada bibit vanili

Table 5. The inhibition of *Trichoderma* spp. and Yeast against SRD in the vanilla seeds

Kode isolat	Masa inkubasi (hsa)	Pembentukan sporangia (hsa)	Kejadian penyakit (%)	Keparahan penyakit (%)
<i>Trichoderma</i> Skm	4,04	4	80,00a	56,00ab
<i>Trichoderma</i> Ckm1	3,71	4	80,00a	48,00b
<i>Trichoderma</i> T.fil	3,76	4	86,67a	40,00b
<i>Trichoderma</i> T5	4,04	4	80,00a	40,00b
<i>Trichoderma</i> Cis7	4,29	5	86,67a	37,33b
<i>Trichoderma</i> Btm3	4,24	5	80,00a	36,00b
Yeast	3,82	4	73,33a	40,00b
Kontrol	3,40	4	100a	89,33a

* Rataan selajur berbeda nyata terhadap kontrol berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

Tabel 6. Daya hambat *Trichoderma* spp. dari media jagung terhadap patogen BPV pada bibit vanili

Table 6. The inhibition of *Trichoderma* spp. from corn media against pathogenic SRD in the vanilla seeds

Kode Isolat	Masa inkubasi (hsa)	Pembentukan sporangia (hsa)	Kejadian penyakit (%)	Keparahan penyakit (%)
<i>Trichoderma</i> Skm	3,33	4	100	66,67b
<i>Trichoderma</i> Ckm1	3,07	4	100	81,33ab
<i>Trichoderma</i> T.fil	3,35	4	86,67	68,00b
<i>Trichoderma</i> T5	3,13	4	100	76,00ab
<i>Trichoderma</i> Cis7	3,07	5	100	82,67ab
<i>Trichoderma</i> Btm3	3,20	5	100	80,00ab
Kontrol	3,00	4	100	94,67a

* Rataan selajur berbeda nyata terhadap kontrol berdasarkan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

KESIMPULAN

Populasi *Trichoderma* spp. pada rizosfir lebih banyak dibandingkan dengan filosfer dan dari dalam jaringan tanaman.

Beberapa isolat *Trichoderma* spp. dapat menghambat pertumbuhan *P. capsici* secara invitro (44,5-73,4%) dan menekan perkembangan penyakit busuk pucuk vanili (66,67-68,00%). Daya hambat *Trichoderma* spp terhadap perkembangan *in vitro* patogen BPV bervariasi mulai dari 44,5-73,4%, sedangkan di rumah kaca *Trichoderma* sp dalam media cair molase 1% mampu menekan keparahan penyakit BPV, saat diaplikasikan secara bersamaan dengan patogen.

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa ada beberapa isolat *Trichoderma* spp yang berpotensi sebagai agens hayati untuk menekan perkembangan penyakit busuk pucuk vanili yang disebabkan oleh *P. capsici*. Disarankan untuk menguji metode dan waktu inokulasi *Trichoderma* spp. yang tepat supaya peranannya sebagai agens hayati dapat optimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada Badan Litbang Pertanian yang telah membiayai penelitian ini, melalui kegiatan KKP3T 2010, Dr. Sukamto atas izin penggunaan isolat yeast, dan Prof.Dr. Supriadi sebagai Mitra Bestari.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press, New York.
- Andriyani N, D. Wahyuno, D. Manohara, A.W. Gunawan. 2008. *Phytophthora capsici* Penyebab Busuk Pucuk Vanili di Indonesia. *J. Biologi Indonesia* V:2. 227-234
- Elad Y, I. Chet dan J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70:119-121.
- Hallmann J, R. Rodriguez-Kabana, J.W. Kloepper. 1999. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 551-560.
- Hallmann J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. Di dalam: Jeger MJ. and Spence NJ, editor. *Biotic Interaction In Plant-Pathogen Associations*. CAB International.
- Hallmann J and G. Berg. 2006. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. Di dalam: Schulz B, Boyle C, Sieber T. (Eds). *Soil biology Microbial root endophytes*, Vol. 9. Berlin, Heidelberg, Germany, Springer-Verlag, pp. 15-31.
- Manohara D, M. Tombe. 1991. Penyakit *Phytophthora* pada tanaman vanili. Prosiding Kongres Nasional Perhimpunan Fitopatologi XI, Maros.
- Muslim A. 1995. Biological control of potato late blight with phylloplane microorganisms. [Thesis]. Graduate School of Agriculture. Hokkaido University. Sapporo. Japan.
- Mekete T, J. Hallmann, K. Sebastian, R. Sikora. 2009. Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, Vol. 11(1):117-127.
- Semangun, H. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Susanto A. 2002. Kajian pengendalian hayati *Ganoderma boninense* penyebab busuk pangkal batang kelapa sawit. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Tombe M., D. Sitepu dan S. Mogi. 1998. Present status of biological control research of vanilla stem rot disease in Indonesia. Proceedings of the Fourth International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Japan-OECD. Workshop. pp. 13-17.
- Tsao PH, Mu L. 1987. Involvement of *Phytophthora* in vanilla root rot [abstrak]. *Phytopatology* 77 : 1704.
- Zinniel DK, Lanbrecht P, Harris NB, Feng Z, Kuczarski D, Higley P. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *App Env Microbiol* 68:2198-2208.