

UJI ANTAGONIS *Aspergillus* sp. DAN *Trichoderma* spp. TERHADAP *Fusarium* sp., PENYEBAB PENYAKIT REBAH KECAMBAAH PADA SENGON

Antagonistic Test of Trichoderma spp. and Aspergillus sp. Against Fusarium sp., A Causal Agent of Damping-Off on Falcataria moluccana

Neo Endra Lelana, Illa anggraeni dan/and Nina Mindawati
Pusat Penelitian dan Pengembangan Peningkatan Produktivitas Hutan
Jl. Gunung Batu No. 5 Bogor 16118 Telp. 0251-8631238, Fax. 0251-7520005
E-mail: neo_3L@yahoo.com

Naskah masuk : 10 Februari 2014; Naskah diterima : 6 Maret 2015

ABSTRACT

Endophytic fungi is a group of fungi that can be developed as a biological control agent. Potency of endophytic fungi for agricultural crop has been studied widely, but still rare for forest trees. The study was conducted to find out the antagonistic groups against Fusarium sp. Fusarium is a casual agent of dumping-off on sengon tree. The highest average of inhibition after seven days incubation was shown by Trichoderma harzianum Bio1999, was 46.36%, followed by isolates of Aspergillus sp. JTB 105, Trichoderma viride Bio19232, and Aspergillus sp. STB 107 were 41.72%, 31.13% and 28.48% respectively. Inhibition of Fusarium sp. occurred through the mechanism of mutual inhibition. Based on the width of inhibition zone formed, isolate of Aspergillus sp. JTB105 of 2.25mm showed the highest value, then followed by isolates of T. harzianum Bio1999, T. viride Bio19232 and Aspergillus sp. STB 107 which were 1.50 mm, 1.00 mm and 0.75 mm respectively.

Keywords: *Antagonistic, biocontrol, endophytic fungi, Fusarium sp.*

ABSTRAK

Fungi endofit merupakan kelompok fungi yang dapat dikembangkan sebagai agen pengendali hayati. Studi mengenai potensi fungi endofit sudah banyak dilakukan untuk tanaman pertanian, namun masih sedikit untuk tanaman kehutanan. Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antagonis dua isolat dari kelompok *Aspergillus* dan *Trichoderma* terhadap *Fusarium* sp. penyebab penyakit rebah kecambah pada sengon. Penghambatan tertinggi pada hari ketujuh ditunjukkan oleh *Trichoderma harzianum* Bio1999, yaitu sebesar 46,36% dan selanjutnya berturut-turut diikuti isolat *Aspergillus* sp. JTB 105, *T. viride* Bio19232, dan *Aspergillus* sp. STB 107 masing-masing sebesar 41,72%; 31,13% dan 28,48%. Penghambatan terhadap *Fusarium* sp. terjadi melalui mekanisme mutual inhibisi. Berdasarkan panjang zona inhibisi yang terbentuk, isolat *Aspergillus* sp. JTB105 menunjukkan hasil yang tertinggi, yaitu sebesar 2,25 mm dan selanjutnya berturut-turut diikuti isolat *T. harzianum* Bio1999, *T. viride* Bio19232 dan *Aspergillus* sp. STB 107 masing-masing sebesar 1,50 mm; 1,00 mm dan 0,75 mm.

Kata kunci: *Antagonis, biokontrol, fungi endofit, Fusarium sp.*

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Fusarium sp. merupakan fungi penghuni tanah (*soil borne pathogen*) yang menyebabkan penyakit rebah kecambah (*damping-off*) dan busuk akar terutama pada bibit. Fungi ini bersifat parasit fakultatif, dapat hidup sebagai saprofit di atas permukaan tanah, dan berubah menjadi parasit apabila ada tanaman inang dan kondisi lingkungan yang baik untuk pertumbuhan patogen. Selain pada sengon, jenis patogen tersebut dilaporkan menyerang pada beberapa

tanaman lain, diantaranya gmelina, akasia, ekaliptus dan jati (Anggraeni *et al.*, 2010).

Pengendalian dengan memanfaatkan agen hayati yang merupakan bagian dari pengelolaan hama dan penyakit secara terpadu telah disarankan sebagai solusi jangka panjang yang paling baik (Bateman, 2002). Salah satu agen hayati yang potensial untuk dikembangkan ialah fungi. Berbagai jenis fungi dapat dikembangkan sebagai agen pengendali hayati, salah satunya fungi endofit. Fungi endofit merupakan kelompok fungi yang dapat berasosiasi dengan berbagai jaringan dan organ tanaman, infeksi

yang terjadi tidak terlihat dan tanaman tidak menunjukkan gejala terinfeksi serta tidak menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu (Stone *et al.*, 2000; Saikkonen *et al.*, 1998). Fungi endofit dapat memberikan keuntungan bagi tanaman dengan membantu pertumbuhan tanaman inang (Dai *et al.*, 2008), melindungi tanaman dari hama dan penyakit (Mejia *et al.*, 2008; Vega *et al.*, 2008), dan meningkatkan resistensi tanaman dari berbagai jenis cekaman (Lewis, 2004).

Berbagai penelitian menunjukkan fungi endofit berpotensi sebagai agen hayati untuk mengendalikan berbagai jenis patogen, diantaranya terhadap *Colletotrichum falcatum* (Prince *et al.*, 2011), *Pythium* spp. (Jeyaseelan *et al.*, 2012; Gomathy and Ambikapathy, 2011; Mishra *et al.*, 2010), *Moniliophthora* spp. (Mejia *et al.*, 2008), dan *Phytophthora* spp. (Mejia *et al.*, 2008). Di antara fungi endofit yang saat ini paling banyak dipelajari dan dikembangkan sebagai agen hayati ialah dari kelompok *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004). Kelompok fungi ini bahkan sudah banyak diproduksi secara komersial. Namun demikian sebagian besar masih bersifat spesifik untuk jenis patogen tertentu dan kondisi lingkungan tertentu. Untuk itu upaya pengembangan fungi endofit yang efektif untuk kondisi lingkungan dan jenis patogen yang lebih luas perlu terus dilakukan.

Pada penelitian ini dua isolat fungi endofit dari kelompok *Aspergillus* dan fungi antagonis dari kelompok *Trichoderma* diuji aktivitas antagonisnya terhadap patogen penyebab penyakit rebah kecambah (*damping-off*) pada tanaman sengon, yaitu *Fusarium* sp.

II. METODOLOGI

A. Isolat Fungi

Isolat fungi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *T. harzianum* Bio1999 dan *T. viride* Bio-19232 yang dikoleksi dari *South East Asia Center for Tropical Biology* (SEAMEO BIOTROP), dan isolat *Aspergillus* sp. STB 107 yang diisolasi dari tanaman sengon dan *Aspergillus* sp. JTB 105 diisolasi dari tanaman jabon.

B. Uji Antagonistik

Aktivitas antagonistik fungi terhadap patogen dilakukan secara *in vitro* dengan metode *dual plate assay* (Mejia *et al.*, 2008; Sharfuddin

and Mohanka, 2012). Koloni fungi dan patogen berdiameter 3 mm diinokulasikan pada media PDA 2% dalam satu petridisk yang berdiameter 9 cm dengan jarak 4 cm. Fungi diinokulasi dalam media dua hari setelah inokulasi patogen. Petridisk selanjutnya diinkubasi di ruang gelap pada suhu ruang. Evaluasi dilakukan dengan menghitung persentase penghambatan fungi terhadap *Fusarium* sp. yang mulai dilakukan setelah satu hari inokulasi fungi sampai dengan hari ketujuh. Persentase penghambatan dihitung dengan rumus berikut :

$$P = \frac{r1 - r2}{r1} \times 100$$

Dimana:

- P = Persentase penghambatan fungi terhadap patogen
r1 = Panjang jari-jari patogen ke arah tengah petridisk pada kontrol
r2 = Panjang jari-jari patogen pada perlakuan uji antagonis

C. Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri empat taraf yaitu *T. harzianum* Bio1999, *T. viride* Bio19232, *Aspergillus* sp. STB 107 dan *Aspergillus* sp. JTB 105. Setiap perlakuan diulang empat kali. Parameter yang diamati ialah persentase penghambatan isolat uji terhadap patogen dan lebar zona inhibisi yang diukur pada akhir pengujian, yaitu hari ketujuh. Zona inhibisi merupakan daerah yang tidak terkolonisasi diantara ujung miselium isolat uji dan patogen yang berhadapan.

Model linear aditif dari rancangan ini sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

- Dimana: Y_{ij} = nilai pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j; μ = rata-rata umum; α_i = pengaruh perlakuan ke-i; dan ϵ_{ij} = pengaruh acak pada perlakuan ke-i ulangan ke-j.

D. Analisis Data

Pengamatan uji penghambatan dilakukan setiap hari sampai hari ketujuh, sementara untuk antibiosis dilakukan pada akhir pengujian (hari ketujuh). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis sidik ragam dengan program statistik *IBM SPSS Statistics* versi 20. Selanjutnya jika terjadi pengaruh yang signifikan maka dilakukan uji perbandingan rata-rata dengan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

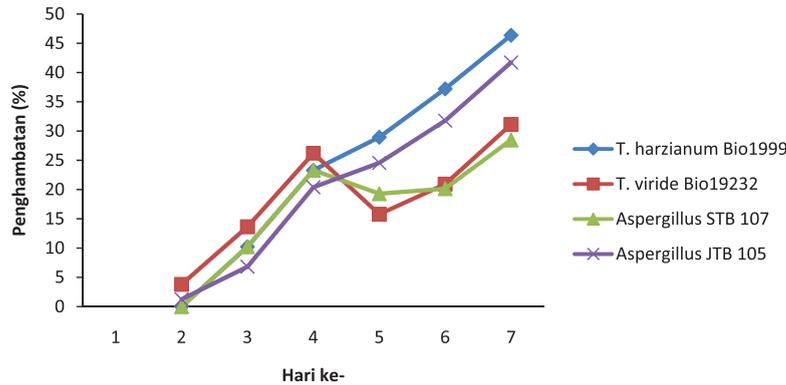
Uji antagonis empat isolat fungi endofit yaitu *T. harzianum* Bio1999, *T. Viride* Bio19232, *Aspergillus sp.* STB 107 dan *Aspergillus sp.* JTB 105 dilakukan terhadap patogen *Fusarium sp.* Rata-rata penghambatan fungi endofit selama tujuh hari pengujian terhadap *Fusarium sp.* disajikan pada Gambar 1. Rata-rata persentase penghambatan terlihat meningkat setiap hari sampai pengamatan hari ke-tujuh, namun demikian penghambatan yang ditunjukkan oleh isolat *T. viride* Bio19232 dan *Aspergillus* STB 107 setelah hari keempat cenderung menurun dan meningkat lagi setelah hari ketujuh. Pada hari ketujuh, rata-rata penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh *T. harzianum* Bio1999, yaitu sebesar 46,36% dan selanjutnya berturut-turut diikuti isolat *Aspergillus sp.* JTB 105, *T. viride* Bio19232, dan *Aspergillus sp.* STB 107 masing-masing sebesar 41,72%; 31,13% dan 28,48%. Walaupun isolat *T. harzianum* Bio1999 tertinggi

namun secara statistik nilai ini tidak berbeda nyata dengan isolat *Aspergillus sp.* JTB 105.

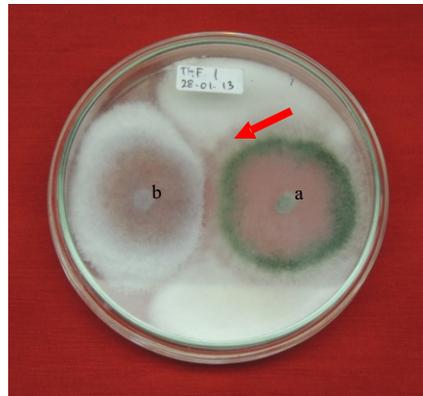
Penghambatan isolat fungi yang diuji terhadap *Fusarium sp.* merupakan penghambatan dengan mekanisme inhibisi mutual. Penghambatan dengan mekanisme ini dicirikan oleh adanya zona inhibisi yang terbentuk (Gambar 2). Sementara itu untuk mekanisme parasitisme sampai hari kedelapan pengamatan belum terdeteksi. Berdasarkan grafik yang disajikan pada Gambar 3, pembentukan zona inhibisi tertinggi ditunjukkan oleh *Aspergillus sp.* JTB 105, yaitu sebesar 2,25 mm dan selanjutnya berturut-turut diikuti isolat *T. harzianum* Bio1999, *T. viride* Bio19232 dan *Aspergillus sp.* STB 107 masing-masing sebesar 1,50 mm; 1,00 mm dan 0,75 mm. Namun demikian nilai ini tidak berbeda secara statistik.

B. Pembahasan

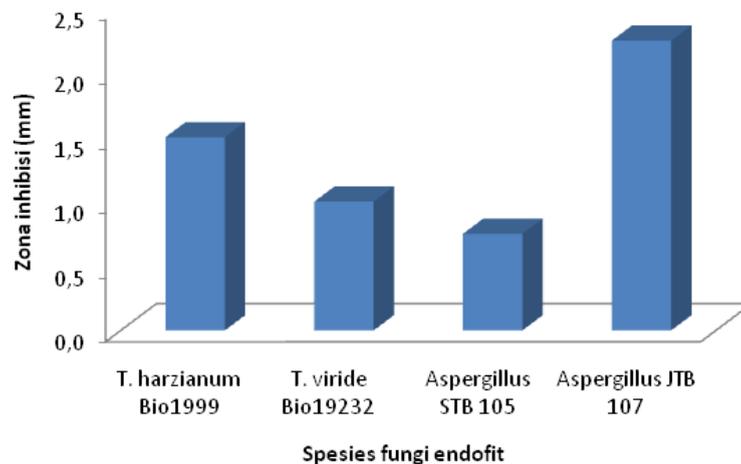
Trichoderma spp. merupakan jenis fungi yang aktivitas antagonisnya telah banyak dipelajari, sedangkan *Aspergillus spp.* masih sedikit. Pada



Gambar (Figure) 1. Rata-rata persentase penghambatan fungi endofit terhadap patogen *Fusarium sp.* (Average of percentage of fungal endophytes inhibition against *Fusarium sp.*)



Gambar (Figure) 2. Zona inhibisi yang terbentuk (tanda panah) pada uji antagonis fungi endofit *T. harzianum* Bio1999 (a) terhadap *Fusarium sp.* (b) pada hari ketujuh pengamatan (Zone of inhibition formed on fungal endophytes antagonistic test of *T. harzianum* Bio1999 against *Fusarium sp.* after 7 days incubation)



Gambar (Figure) 3. Lebar zona inhibisi yang terbentuk pada uji antagonis fungi endofit terhadap *Fusarium* sp. pada hari ke-7 pengamatan (*The width of inhibition zone formed on fungal endophytes antagonistic test against Fusarium sp. after 7 days incubation*)

pengujian yang dilakukan Sharfuddin & Mohanka (2012) menunjukkan isolat *T. harzianum* Th-5 mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum f.sp. lentis* sebesar 82,8% dan *T. viride* Tv-2 sebesar 79,2%. Sementara Rajeswari & Kannabiran (2011) melaporkan isolat *T. viride* mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* sebesar 89,4% dan *T. harzianum* sebesar 83,15% sedangkan Lone *et al.* (2012) melaporkan bahwa *T. harzianum* hanya menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* sebesar 25%. Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, isolat uji yang digunakan terlihat mempunyai aktivitas lebih rendah dibandingkan penelitian Sharfuddin & Mohanka (2012) maupun Rajeswari & Kannabiran (2011), namun lebih tinggi dibandingkan penelitian Lone *et al.* (2012). Perbandingan secara langsung hasil tersebut memang sulit dilakukan karena banyaknya faktor yang mempengaruhi, seperti komposisi media, isolat patogen dan metode pengujian yang digunakan.

Mekanisme penghambatan fungi endofit terhadap patogen terjadi melalui beberapa mekanisme, diantaranya antibiosis, yaitu penghambatan pertumbuhan ditandai dengan terbentuknya zona inhibisi; kompetisi terhadap substrat, yaitu pertumbuhan yang lebih cepat terhadap lainnya; dan mikoparasitisme, yaitu parasitisme langsung pada hifa patogen (Mejia *et al.*, 2008). Berdasarkan mekanisme tersebut, penghambatan isolat fungi yang diuji terhadap *Fusarium* sp. merupakan penghambatan dengan mekanisme inhibisi mutual. Mekanisme inhibisi ini biasanya akan diikuti oleh parasitisasi terhadap

patogen, namun demikian tidak semua agen hayati mampu mencapai tingkat parasitisasi, seperti interaksi antara *Trichoderma* dan *Fusarium*. Menurut Sharma (2011), interaksi antara *Trichoderma* dan *Fusarium* dimulai dengan mekanisme antibiosis dan pada akhirnya *Trichoderma* akan mampu memparasit *Fusarium*. Namun demikian kondisi ini sangat tergantung isolat kedua fungi tersebut, sehingga pada akhirnya tidak semua *Trichoderma* mampu mencapai tingkatan untuk memparasit *Fusarium*. Pada hari kedelapan uji, isolat uji *Trichoderma* spp. dan *Aspergillus* spp. terlihat belum mampu memparasit *Fusarium* sp. Ada dua kemungkinan yang dapat terjadi yaitu pertama karena ketidakmampuan isolat uji untuk memparasit *Fusarium* sp. atau yang kedua perlu waktu lebih dari delapan hari bagi isolat uji untuk memparasit *Fusarium* sp.

Pembentukan zona inhibisi diduga berkaitan dengan metabolit sekunder maupun senyawa antibiosis yang disekresi oleh fungi endofit. Senyawa antibiosis disekresikan oleh fungi *Aspergillus* dan *Trichoderma* maupun oleh *Fusarium*. Beberapa studi menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. menghasilkan berbagai metabolit sekunder dan senyawa antibiotik, seperti *peptaibol* (Shakeri & Foster, 2007), *alkyl pyrones* (Hasan *et al.*, 2007), *isonitriles* (Fujiwara *et al.*, 1982). Sementara pada *Aspergillus* sp. diantaranya *tenyuiic acid* (Hasegawa, *et al.*, 2007); *cyclopentenedione*, *diketopiperazines*, *lactone*, *benzophenone*, *terpene*, *anthraquinone*, *diphenyl ethers*, dan *alkaloid* (Xue *et al.*, 2012).

Kelebihan *Trichoderma* sebagai agen hayati adalah kemampuannya dalam mengembangkan mekanisme antagonisme yang sangat efektif untuk bertahan dan mengkolonisasi lingkungan yang kompetitif di rizosfer, filosfer dan spermosfer. Sebagian besar sistem antifungi terdiri atas gengen yang menyandikan sejumlah enzim pelisis, seperti endokitinase, N-asetil- β -glukosaminidase, kitin 1,4- β -kitobiosidase, protease, β -1,3-gluko-sidase, β -1,6-glukosidase, lipase, xilanas, mannanase, pektinase, pectin liase, amylase, fosfolipase, RNase dan DNase. Namun demikian yang lebih berperan dalam aplikasi biokontrolnya ialah enzim kitinase dan glukanas yang secara efisien mendegradasi dinding sel fungi patogen dan tidak terdapat pada jaringan tanaman (Monte, 2001; Lorito, 1998).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat *T. harzianum* Bio1999 dan *Aspergillus sp.* JTB 105 diindikasikan mempunyai kemampuan lebih baik dibandingkan isolat *T. viride* Bio19232, dan *Aspergillus sp.* STB 107 dalam menghambat *Fusarium sp.* melalui mekanisme inhibisi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, I., Lelana N.E., & Darwiati, W. (2010). *Pengelolaan hama dan penyakit hutan tanaman*. Sintesis Hasil-hasil Penelitian Lingkup Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman Tahun 2003-2009.
- Bateman, R. (2002). Best-bet solutions for cocoa diseases. *Gro-Cocoa Newsletter* 1: 4-5.
- Dai C.C., Yu, B.Y., & Li, X. (2008). Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *Afr. J. Biotechnol.* 7: 3505-3509.
- Fujiwara, A., Okuda, T., Masuda, S., Shiomi, Y., Miyamoto, C., Sekine, Y., Tazoe, M., & Fujiwara, M. (1982). Fermentation, isolation and characterization of isonitrile antibiotics. *Agric. Biol. Chem.* 46:1803-1809.
- Gomathi, S., & Ambikapathy, V. (2011). Antagonistic activity of fungi against *Pythium debaryanum* (Hesse) isolated from Chill field soil. *Adv. App. Sci. Res.* 2 (4): 291-297.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Loritto, M. (2004). *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 43-56.
- Hasan, A.E., Walker, F., Schöne, J., & Buchenauer, H. (2007). Antagonistic effect of 6-pentyl-alpha-pyrone produced by *Trichoderma harzianum* toward *Fusarium moniliforme*. *J. Plant Dis. Protect.* 114 (2): 62-68.
- Hasegawa, Y., Fukuda, T., Hagimori, K., Tomoda, H., & Omura, S. (2007). Tensuic acids, new antibiotics produced by *Aspergillus niger* FKI-2342. *Chem. Pharm. Bull.* 55 (9): 1338-1341.
- Jeyaseelan, E.C., Tharmila, S., & Niranjana, K. (2012). Antagonistic activity of *Trichoderma spp.* and *Bacillus spp.* against *Pythium aphanidermatum* isolated from tomato damping off. *Arch. App. Sci. Res.* 4 (4): 1623-1627.
- Lewis, G.C. (2004). Effects of biotic and abiotic stress on the growth of three genotypes of *Lolium perenne* with and without infection by the fungal endophyte *Neotyphodium lolii*. *Ann. Appl. Biol.* 144: 53-63.
- Lone, M.A., Wani, M.R., Sheikh, S.A., Sahay, S. Dar M.S. (2012). Antagonistic Potentiality of *Trichoderma harzianum* Against *Cladosporium sphaerospermum*, *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *J. Biol. Agr. Healthcare* 2 (8): 72-76.
- Lorito, M. (1998). Chitinolytic enzymes and their genes. In C.P. Kubicek & G.E. Harman eds. *Trichoderma and Gliocladium Vol 2*. London: Taylor and Francis
- Mejia, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A. E., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N., Herre, E.A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biol. Control* 46 (4): 14.
- Mishra, V.K. (2010). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against *Pythium aphanidermatum*. *J. Phytol.* 2(9): 28-35.
- Monte, E. (2001). Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol* 4: 1-4.
- Prince, L., Raja, A., & Prabakaran, P. (2011). Antagonistic potentiality of some soil mycoflora against *Colletotrichum falcatum*. *World J.Sci. and Technol.* 1(4): 39-42.
- Rajeswari, P. & Kannabiran, B. (2011). In vitro effects of antagonistic microorganisms on *Fusarium oxysporum* [Schlecht. Emend. Synd & Hans] infecting *Arachis hypogaea* L. *J. Phytol.* 3(3): 83-85.
- Saikkonen, K., Faeth, S.H., Helander, M., & Sullivan, T. J. (1998). Fungal Edophytes: A continuum of interactions with host plants. *Ann. Rev. of Ecol. Systemat.* 29: 319-343.

- Shakeri, J. & H.A. Foster. (2007). Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. *Enzyme and Microb. Technol.* 40 (4):961-968.
- Sharfuddin, C. & Mohanka R. (2012). In vitro antagonism of indigenous *Trichoderma* isolates against phytopathogen causing wilt of lentil. *Int. J. Life Sci. and Pharma Res.* 2 (3): 195-202.
- Sharma, P. (2011). Complexity of *Trichoderma-Fusarium* interaction and manifestation of biological control. *Australian J of Crop Sci.* 5(8): 1027-1038.
- Stone J.K., Bacon, C.W., White Jr, J.F. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon, C.W., White, J.F., Jr. (Eds.). *Microbial Endophytes*. New York, Marcel Dekker, pp. 3-30.
- Vega, F.E., Posada, F., Aime, M.C., Pava-Ripoll, M., Infante, F., Rehner, S.A. (2008). Entomopathogenic fungal endophytes. *Biol. Control* 46: 72-82.
- Xue, H., Lu, C., Liang, L., Shen, Y. (2012). Secondary Metabolites of *Aspergillus* sp. CM9a, an Endophytic Fungus of *Cephalotaxus mannii*. *Rec. Nat. Prod.* 6 (1): 28-34.