



Respon pertumbuhan cendawan patogenik *Fusarium oxysporum* terhadap metabolit sekunder cendawan antagonis *Trichoderma* sp.



Tunjung Pamekas^{1*}, Usman Kris Joko Suharjo², FitriA Andriyani³

¹Program studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

²Program studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

³Alumni Program studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas

*Email: tunjungpamekas@unib.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.33369/pendipa.4.3.75-81>

ABSTRACT

[*Growth responses of pathogenic fungus Fusarium oxysporum to secondary metabolites of antagonistic fungi Trichoderma sp.*] *Fusarium oxysporum* is a pathogenic fungus that attack various horticultural crops. Disease control using chemical pesticides have caused many negative effects to natural enemies, environment, farmers, and consumers. It is needed to explore other alternative control methods. Application of secondary metabolite of *Trichoderma* sp. is a high potential control method to be used to control the disease. The aim of the research was to evaluate the best concentration of secondary metabolites on controlling *F. oxysporum* *in vitro*. The research was conducted on August to November 2017 at Plant Protection Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Bengkulu. The research was arranged on CRD with six concentrations of secondary metabolites, namely 0, 10, 25, 50, 75, and 100 ppm with five replications. The research steps were isolation of *F. oxysporum* and *Trichoderma* sp., production of secondary metabolites, *in vitro* test of secondary metabolites to *F. oxysporum*, and analyse infrared photometer of secondary metabolites. Variables that were observed were colony diameter 1 – 7 days, length and width of conidia, density of conidia, and length and width of germ tubes. The result showed that application of secondary metabolite gave significantly effect to all variables, except the germ tube width. The diameter colony of *F. oxysporum* was inhibited 27.99 – 35.43%, the length and width of conidia were inhibited 49.63% and 49.06%, the density of conidia was inhibited 75%, and the length of germ tube was inhibited 62.47%. The higher concentration of secondary metabolites the bigger the growth inhibition of *F. oxysporum*.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, secondary metabolites, *Trichoderma* sp., *in vitro*, infrared photometer.

ABSTRAK

Fusarium oxysporum merupakan cendawan patogenik pada berbagai tanaman hortikultura yang bisa menyebabkan gagal panen. Pengendalian patogen tersebut dengan aplikasi pestisida kimia sintetik telah menimbulkan berbagai dampak negatif terhadap musuh alami, lingkungan, petani, maupun konsumen. Oleh karena itu perlu dicari alternatif pengendalian yang lain. Aplikasi metabolit sekunder cendawan antagonis *Trichoderma* sp. sangat potensial sebagai salah satu metode pengendalian patogen tersebut. Tujuan dari penelitian adalah mengevaluasi konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. terbaik dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2017 di laboratorium Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal, yaitu konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. yang terdiri dari: 0, 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm dengan lima ulangan. Tahapan penelitian meliputi: isolasi *F. oxysporum*, isolasi *Trichoderma* sp. produksi metabolit sekunder, pengujian metabolit sekunder *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan *F. oxysporum*, dan analisis spektrofotometri infra merah metabolit sekunder *Trichoderma* sp. Variabel yang diamati adalah diameter koloni hari 1-7 hsi, panjang dan lebar konidia, kerapatan konidia, panjang dan lebar kecambah *F. oxysporum*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua variabel pertumbuhan *F. oxysporum* dipengaruhi secara sangat nyata oleh adanya metabolit sekunder *Trichoderma* sp, kecuali variabel lebar kecambah. Pertumbuhan diameter koloni *F. oxysporum* terhambat 27,99 – 35,43%, panjang dan lebar

konidia terhambat 49,63 dan 49,06%, kerapatan konidia terhambat 75%, dan panjang kecambah terhambat 62,47%. Semakin tinggi konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp yang diberikan maka semakin besar penghambatan pertumbuhan.

Kata kunci: *Fusarium oxysporum*, metabolit sekunder, *Trichoderma* sp., in vitro, fotometer infra merah.

PENDAHULUAN

Cendawan patogen *Fusarium oxysporum* dapat menyerang berbagai tanaman hortikultura, diantaranya famili solanaceae seperti tomat, kentang, dan terung (Latifah, 2011). Patogen menginfeksi akar muda tanaman dan berkembang sampai ke jaringan pengangkut dari akar hingga ke batang dan menyumbat jaringan pengangkut sehingga pasokan air ke daun terhambat. Gejala layu muncul pada pucuk tanaman dan terus berlangsung ke batang hingga akhirnya tanaman layu dan mati (Soesanto *et al.*, 2013). Freeman *et al.* (2002) menyatakan bahwa serangan *F. oxysporum* menjadi salah satu pembatas yang menyebabkan terjadinya penurunan produksi kentang.

Pada umumnya pengendalian penyakit layu tersebut dilakukan dengan menggunakan pestisida kimia sintetik. Namun dengan banyaknya dampak negatif dari penggunaan pestisida kimia sintetik, seperti matinya musuh alami, resistensi, resurgensi, pencemaran lingkungan, dan keracunan petani maupun konsumen maka perlu dicari metode pengendalian lain yang murah, efektif, dan aman. Pengendalian hayati dengan metabolit sekunder cendawan antagonis *Trichoderma* sp. merupakan satu alternatif pengendalian yang perlu diteliti. *Trichoderma* sp. berperan penting dalam menekan pertumbuhan patogen tanaman, terutama cendawan tular tanah (Mukarlina *et al.*, 2010). Kope dan Fortin (1990) melaporkan bahwa metabolit sekunder cendawan antagonis dapat melisis hifa dan konidia serta menghambat germinasi spora berbagai cendawan patogen. Andriansyah *et al* (2015) melaporkan metabolit sekunder *Trichoderma* sp. dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas solanacearum* hingga 35,98%. Mukherjee *et al.* (2012) melaporkan bahwa *Trichoderma* sp. menghasilkan enzim, antibiotik, dan toksin yang mampu menekan pertumbuhan patogen.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengevaluasi konsentrasi metabolit sekunder

Trichoderma sp. isolat lokal Bengkulu dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* in vitro.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan November 2017 bertempat di Laboratorium Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.

Rancangan Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal, yaitu konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. yang terdiri dari 6 konsentrasi: 0, 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian adalah isolasi dan identifikasi *F. oxysporum*, isolasi dan identifikasi *Trichoderma* sp., produksi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. pengujian konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* in vitro, dan analisis fotometer infra merah metabolit sekunder *Trichoderma* sp.

Isolasi *F. oxysporum* dilakukan dengan metode penanaman jaringan dengan mengambil sampel tanaman kentang yang terserang penyakit layu fusarium, sedangkan *Trichoderma* sp. diisolasi dengan metode pengenceran dengan sampel tanah perakaran tanaman kentang sehat.

Produksi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. dilakukan dengan metode Dixon dan Gonzales (1994) yang dimodifikasi. Sebanyak 50 cakram koloni *Trichoderma* sp. ukuran 7 mm dimasukkan dalam 250 ml medium PDB. Selanjutnya medium digoyang dengan saker 90 rpm pada suhu kamar 22°C dengan cahaya rendah selama 2 minggu. Kemudian medium PDB tersebut disubkultur dengan cara dibadi dua dan ditambahkan medium PDB baru hingga

volume 250 ml. Selanjutnya medium digoyang lagi dengan cara yang sama selama 2 minggu. Medium PDB disentrifuse dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil dengan menggunakan pipet mikro.

Pengujian konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* dilakukan 2 macam. Pertama, metabolit sekunder *Trichoderma* sp. sesuai konsentrasi ditambahkan ke dalam medium Potato Dextrose Agar (PDA) dalam cawan petri. Biakan murni *F. oxysporum* umur 4 hari dengan ukuran 7 mm diletakkan di tengah medium PDA. Selanjutnya medium diinkubasi pada suhu kamar. Variabel yang diamati adalah: diameter koloni diukur tiap hari sampai 7 hari, jumlah konidia, panjang konidia, dan kerapatan konidia yang diukur pada hari ke 7. Kedua, metabolit sekunder *Trichoderma* sp. sesuai konsentrasi diteteskan di atas gelas objek yang telah berisi suspensi konidia *F. oxysporum*. Selanjutnya gelas objek ditutup dengan gelas penutup dan diinkubasi di dalam cawan petri berdiameter 18 cm selama 8 jam. Variabel yang diamati adalah panjang dan lebar kecambah *F. oxysporum* yang diukur dengan mikrometer di bawah mikroskop.

Kandungan senyawa kimia dalam metabolit sekunder *Trichoderma* sp. diamati secara kualitatif dengan analisis fotometer infra merah dengan panjang gelombang 500-4000. Analisis dilakukan di Laboratorium Kimia, FMIPA, Universitas Bengkulu.

Analisis Data

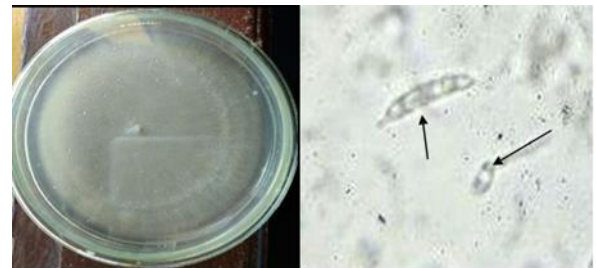
Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan ANAVA taraf 5% dan jika diperoleh hasil yang berbeda nyata atau sangat nyata dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Cendawan patogen *F. oxysporum* hasil isolasi menunjukkan pertumbuhan koloni dengan bentuk melingkar dan menyebar ke segala arah secara simetris. Koloni berwarna putih dan dalam waktu 4 hari diameter koloni mencapai 4-4,8 cm (Gambar 1a). Hasil pengamatan sesuai dengan pendapat Domcsh *et al.* (1980) bahwa koloni *F. oxysporum* berwarna putih dan diameter koloni dalam 4 hari berkisar 4,5-6,5 cm.

Miselium *F. oxysporum* hialin dan berseptata. Makrokonidia berbentuk seperti

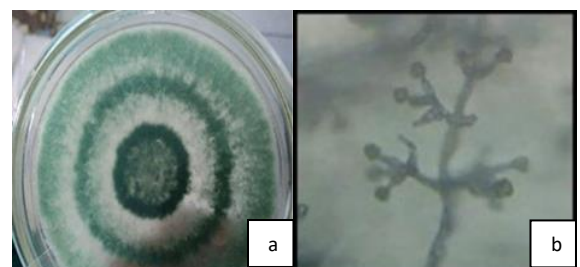
bulan sabit dengan 3-5 sekat, sedangkan makrokonidia berbentuk bulat telur, lurus atau bengkok dan septa (Gambar 1b). Semangun (2001) melaporkan bahwa *F. oxysporum* memiliki miselium bersekat dan bercabang. Makrokonidia lurus atau bengkok seperti bulan sabit, dengan 3-5 sekat, dan berukuran 25-33 x 3,5-5,5 μm . Mikrokonidia berbentuk bulat telur atau lurus, tidak bersekat atau bersekat satu, ukuran 6-15 x 2,5-4 μm .



Gambar 1. Koloni, makrokonidia, dan mikrokonidia cendawan *F. oxysporum*

Cendawan *Trichoderma* sp. memiliki bentuk koloni yang melingkar konsentris dengan warna putih pada awal pertumbuhan dan berubah menjadi hijau. Diameter koloni mencapai 7-8 cm dalam waktu 4 hari (Gambar 2a). Domcsh *et al.* (1980) menyatakan bahwa pada umumnya koloni *Trichoderma* sp. dalam biakan tumbuh dengan cepat dengan warna putih sampai hijau.

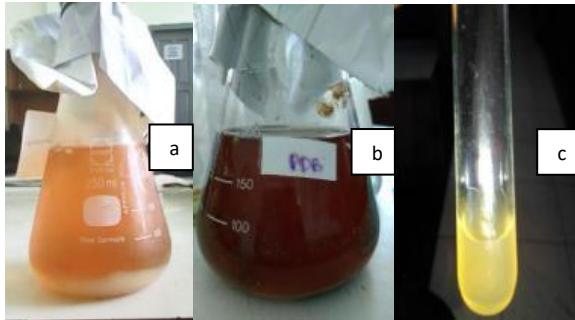
Trichoderma sp. memiliki konidia berbentuk bulat dengan warna hijau yang dibentuk diujung konidiofor (Gambar 2b). Semangun (2001) melaporkan bahwa *Trichoderma* sp. mempunyai hifa bercabang dengan dinding licin dan tidak berwarna. Di ujung konidiofor terdapat konidia berbentuk bulat berukuran 2,8-3,2 μm .



Gambar 2. Koloni dan konidia cendawan *Trichoderma* sp.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa medium

PDB plus cendawan *Trichoderma* umur 1 hari berbentuk cair dan warna orange jernih. Setelah digoyang dengan shaker selama 2 minggu medium PDB plus cendawan *Trichoderma* menjadi cair kepekatan dan berwarna merah bata kecoklatan. Warna merah bata kecoklatan menandakan adanya perkembangan cendawan *Trichoderma* dalam medium PDB. Kultur filtrat *Trichoderma sp.* yang mengandung metabolit sekunder berwarna kuning transparan (Gambar 3a-c).



Gambar 3. Produksi metabolit sekunder cendawan *Trichoderma sp.*

Pemberian metabolit sekunder *Trichoderma sp.* berpengaruh nyata atau sangat nyata terhadap perkembangan diameter koloni, panjang dan lebar konidia, kerapatan konidia, dan panjang kecambah cendawan *F. oxysporum* (Tabel 1-2). Pertumbuhan diameter koloni cendawan *F. oxysporum* semakin terhambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma sp.* (Gambar 4). Penghambatan metabolit sekunder *Trichoderma sp.* terhadap diameter koloni *F. oxysporum* berkisar 27,99 -35,43%.

Hal yang sama terlihat pada variabel panjang dan lebar konidia, kerapatan konidia, dan panjang kecambah *F. oxysporum* (Tabel 2).

Metabolit sekunder *Trichoderma sp.* menyebabkan *F. oxysporum* memiliki panjang dan lebar konidia yang lebih pendek, kerapatan konidia yang lebih sedikit, dan panjang kecambah yang lebih pendek. Penghambatan metabolit sekunder *Trichoderma sp.* terhadap panjang konidia, lebar konidia, kerapatan konidia, dan panjang kecambah *F. oxysporum* berturut-turut 49,63; 49,06; 75, dan 62,47%.

Perkembangan diameter koloni, panjang konidia, lebar konidia, kerapatan konidia dan panjang kecambah cendawan *F. oxysporum* memiliki nilai yang semakin kecil seiring dengan semakin tingginya konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma sp.* yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder *Trichoderma sp.* mampu menghambat laju perkembangan cendawan *F. oxysporum*, baik pada fase vegetatif maupun generatif.

El-Katatny *et al.* (2000) menyatakan bahwa *Trichoderma sp.* menghasilkan senyawa beracun yang dapat digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan patogen serta penggunaan filtrat *Trichoderma sp.* yang mengandung enzim kitinase dan β -1,3-glukanase mampu menekan pertumbuhan patogen. Enzim kitinase dari *Trichoderma sp.* lebih efektif daripada enzim kitinase yang diproduksi organisme lain dalam menghambat beberapa pathogen tanaman (Nugroho *et al.*, 2003). Cherif dan Behamau (1990) mengatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kultur filtrat *Trichoderma sp.* dapat mendegradasi dinding sel cendawan sasaran yang mengakibatkan terganggunya pertumbuhan cendawan tersebut. Lebih lanjut Odebode (2006) melaporkan bahwa kultur filtrat *Trichoderma sp.* dapat menghambat cendawan *Fusarium* penyebab busuk buah pasca panen hingga mencapai 23,2%.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi metabolit sekunder pada perkembangan diameter koloni cendawan

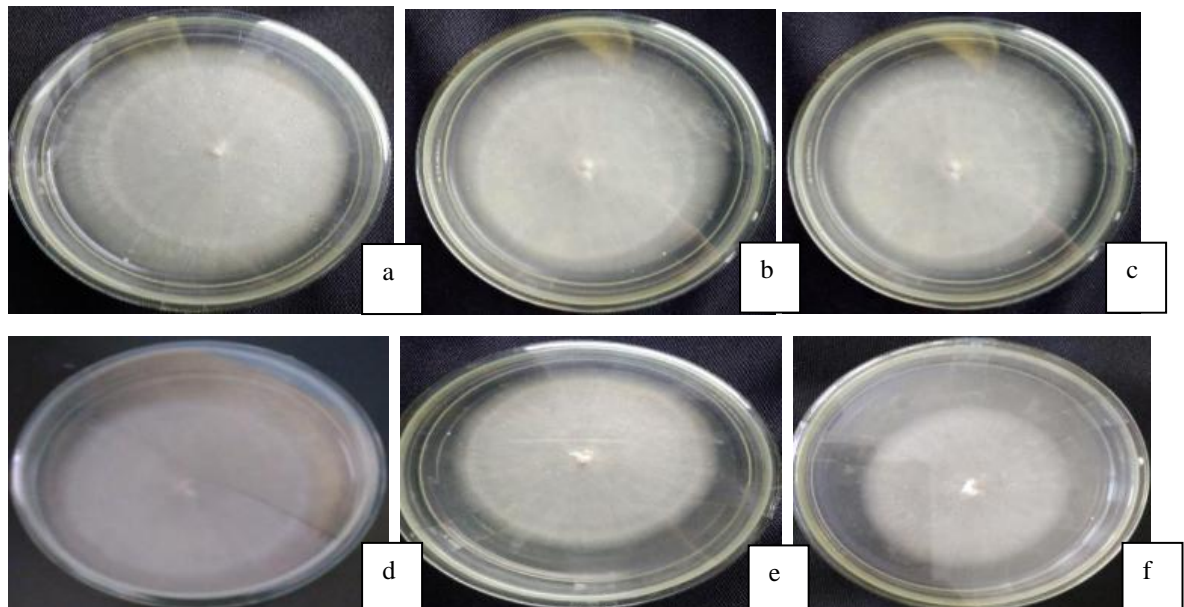
Konsentrasi metabolit sekunder (ppm)	Diameter koloni cendawan <i>F. oxysporum</i> (hari ke-mm)						
	1	2	3	4	5	6	7
0	11,4a	23,6a	35,0a	44,6a	53,6a	66,6a	80,0a
10	10,6ab	22,6a	32,0ab	41,2a	52,6ab	66,6a	76,0b
25	10,6ab	23,0a	31,4ab	42,4a	52,0ab	65,0a	76,4b
50	9,8bc	19,8b	30,6b	42,6a	52,8ab	63,8a	74,4b
75	9,0cd	17,8bc	29,0b	40,8a	48,4b	56,8b	69,6c
100	8,0d	15,8c	22,6c	31,0b	38,6c	47,0c	55,0d

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi metabolit sekunder terhadap panjang, lebar dan kerapatan konidia serta panjang dan lebar kecambah cendawan *F.oxysporum*

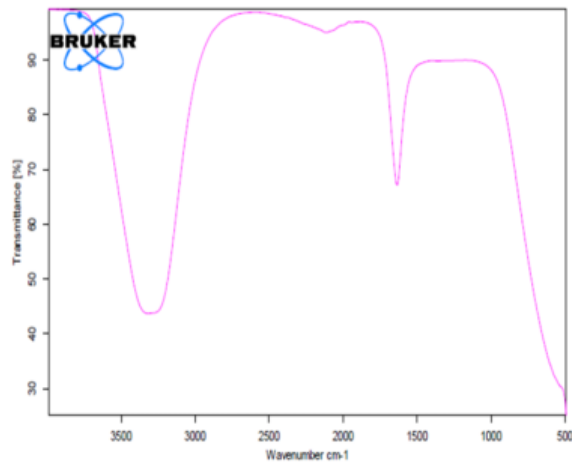
Konsentrasi metabolit sekunder (ppm)	Panjang konidia (µm)	Lebar konidia (µm)	Kerapatan konidia (10 ⁷ /ml)	Panjang kecambah (µm)	Lebar kecambah (µm)
0	40,5a	10,6a	2,4a	78,6a	11,2
10	35,2b	8,7b	2,0b	74,2a	11,4
25	30,8c	7,2c	1,9b	63,7a	11,1
50	28,3d	6,9c	1,5c	41,1b	10,6
75	26,6d	6,5cd	0,9d	40,0b	10,4
100	20,4c	5,4d	0,6d	29,5b	10,0

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. terhadap diameter koloni cendawan *F. oxysporum* pada hari ke-7

Hasil spektra fotometer infra merah dari metabolit sekunder *Trichoderma* sp. menunjukkan bahwa metabolit sekunder



Gambar 5. Spektra fotometer infra merah dari metabolit sekunder cendawan *Trichoderma* sp.

tersebut mengandung 6 jenis senyawa kimia yang berbeda dengan panjang gelombang 500-4000 (Gambar 4). Keenam jenis senyawa kimia tersebut berperan penting dalam proses penghambatan pertumbuhan cendawan *F. oxysporum*.

Dari spektra infra merah tersebut belum dapat diidentifikasi jenis senyawa kimianya, sehingga perlu diidentifikasi lebih lanjut dengan analisis HPLC. Namun beberapa hasil penelitian telah melaporkan bahwa metabolit sekunder *Trichoderma* sp. mengandung enzim kitinase dan β -1,3-glukanase (El-Katany *et al.*, 2000), toksin harzianic acid, tricholin, peptaibols, gliotoxin, viridian, T22azaphinlone, 1 hydroxy-3-methyl-anthraquinone, 1,8-dihydroxy-3-methyl-anthraquinone, T39butenolide, harzianolide, dan harzianopyridone (Mukherjee *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang sudah dilakukan, kesimpulan yang bisa diambil adalah sbb.:

1. Konsentrasi metabolit sekunder cendawan *Trichoderma* sp. 100 ppm paling baik dalam menghambat perkembangan diameter koloni, panjang dan lebar konidia, kerapatan konidia, serta panjang kecambah cendawan *F. oxysporum*.
2. Metabolit sekunder cendawan *Trichoderma* sp. mengandung 6 jenis senyawa kimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriansyah, Agung. Meydina Arri S. Mahmudah Namawi, Ali Ikhwan. (2015) Uji Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp. sebagai Antimikrobia Patogen Tanaman *Pseudomonas solanacearum* secara In Vitro, *Gontor AGROTECH Science Journal*, 2 (1), 25-27.
- Cherif, M. dan Benhamou N. (1990). Cytochemical Aspects of Chitin Breakdown During the Paracitic Action of a *Trichoderma* sp. On *Fusarium oxysporum* spp. *Radices Lychopersia, Phytophatology*, 80,1406-1414.
- Dixon, RA and RA Gonzales. 1994. *Plant cell culture*. Oxford Univ. Press. England. 450 p.
- Domsch, K.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press. London.
- El-Katatny, M. H., Somitsch W.,Roba K. H., Gubitz. (2000) Production of citinase and β -1, 3-glucanase by *T. harzianum*. *Food Technol Biocontrol*.,38 (3),178-180.
- Freeman, S. A. Zveibil. H. Vintal, M. Maymo. (2002) Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for biological control of *Fusarium* wilt in cucurbits. *Phytopathology*, 92, 164-168.
- Kope, HH and JA Fortin. 1990. Antifungal activity in culture filtrate of the actomycorrhized fungus *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. of Botany*, 68(6),1254-1259.
- Latifah, A. Kustantinah dan L. Soesanto. 2011. Pemanfaatan beberapa isolat *Trichoderma harzianum* sebagai agensia pengendali hayati penyakit layu *Fusarium* pada bawang merah. *Plant Eugenia*, 17. 2.
- Mukarlina, S. Khotimah dan R. Rianti. 2010. Uji antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap *Fusarium spp.* penyebab penyakit layu pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) secara li vitro. *Jurnal Fitomedika*, 7(2), 80-85.
- Mukherjee, P. K., Harwitz dan Kenely. 2012. Secondary metabolism in *Trichoderma*. *A Genomic Perspective Microbial*, 158, 35-45.
- Nugroho, T.T. Ali. M. Ginting, C.

- Wahyuningsih. Dahliaty. A. Devi. S. Sukmarisa. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Sebagian Ktinase *Trichoderma Viride*. *Natur Indonesia*. 5. 101-106.
- Odebode, A. C. 2006. Control of postharvest pathogens of fruits by cultur filtrate from antagonistic fungi. *Jurnal of Plant Protection Research*, 46(1), 45-56.
- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gajah MAda University Press. Yogyakarta
- Soesanto, L.E. Mugiastuti. R.F. Rahayuniati dan R. S. dewi. 2013. Uji kesesuaian empat isolat *Trichoderma* spp. dan daya hambat in vitro terhadap beberapa patogen tanaman. *Jurnal Hpt tropika*,13(2), 117–123.