

AKTIVITAS PENGHAMBATAN *TRICHODERMA* SPP. FORMULASI TERHADAP JAMUR PATOGEN TULAR TANAH SECARA *IN VITRO*

IN VITRO INHIBITION ACTIVITY OF FORMULATED *TRICHODERMA* SPP. AGAINST SOIL-BORNE PATHOGENIC FUNGI

S. M. Widystuti, Sumardi, Irfai dan H. H. Nurjanto

Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada

E-mail: forstect@ugm.ac.id

ABSTRACT

The research was aimed to evaluate the growth of formulated conidia propagules of *Trichoderma koningii*, *T. reesei*, and *T. harzianum*, which had been stored for 1 and 5 months and the inhibition activity against soil borne plant pathogenic fungi *Rigidoporus lignosus*, *Ganoderma* sp., *Fusarium* sp., and *Sclerotium rolfsii*. The isolates were formulated in the forms of alginic bead, alginic-peat bead, and peat-lime powder. The results indicated that *Trichoderma* whose formula stored at room temperature showed higher inhibition activity than that stored at 4 °C. After 5 months in the storage, *T. reesei* in both bead and powder formula performed higher growth inhibition activity against soil borne pathogens than the other isolates tested. It was noted that all isolates performed temporary decreased growth inhibition activity against soil borne pathogens.

Key words: *Trichoderma* formulation, soil borne pathogens

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas pertumbuhan propagul konidium *Trichoderma koningii*, *T. reesei*, dan *T. harzianum* yang telah diolah dan disimpan selama 1 dan 5 bulan dan penghambatannya, terhadap perkembangan jamur-jamur patogen tular tanah *Rigidoporus lignosus*, *Ganoderma* sp., *Fusarium* sp., dan *Sclerotium rolfsii*. Formula yang digunakan berbentuk butiran, yaitu alginat dan campuran alginat + gambut, serta berbentuk serbuk campuran gambut + kapur. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas pertumbuhan *Trichoderma* spp. yang formulasinya disimpan pada suhu ruang lebih baik dibandingkan yang disimpan pada suhu 4 °C. Setelah disimpan selama 5 bulan, daya hambat formula *T. reesei* lebih tinggi dibandingkan formula isolat *T. harzianum* dan *T. koningii*, baik dalam bentuk butiran maupun serbuk. Selama masa penyimpanan tersebut terjadi kecenderungan penurunan daya hambat yang bersifat sementara dari semua isolat *Trichoderma* yang diuji terhadap isolat jamur patogen.

Kata kunci: formula *Trichoderma*, patogen tular tanah

PENGANTAR

Trichoderma merupakan agens potensial untuk dikembangkan sebagai agens pengendali hayati jamur-jamur patogen tular tanah (Reese dan Mandels, 1959; Hadar *et al.*, 1979; Elad *et al.*, 1983). Pada penelitian sebelumnya telah diperoleh isolat *Trichoderma* spp. yang secara *in vitro* mempunyai aktivitas penghambatan

yang tinggi terhadap *Rigiaoporus lignosus* (Widyastuti *et al.*, 1998a), *Ganoderma philippii* (Widyastuti *et al.*, 1998b) dan jamur-jamur tular tanah yang lain (Widyastuti dan Sumardi, 1998, 1999).

Trichoderma menghasilkan 3 tipe propagul yang dapat digunakan sebagai bahan formula, yaitu: hifa, klamidospora dan konidium (Papavizas, 1985). Karena

hifa tidak tahan terhadap proses pengeringan, propagul hifa jarang digunakan (Jin *et al.*, 1991). Klamidospora pada awalnya diduga sebagai propagul yang potensial, karena kemampuannya untuk bertahan di dalam tanah dalam jangka waktu yang cukup lama, tetapi pada kenyataannya propagul ini mempunyai kemampuan berkecambah yang sangat rendah (Papavizas *et al.*, 1984). Konidium merupakan propagul yang paling banyak dikembangkan dalam produksi massal agen pengendali hayati (Elad *et al.*, 1993).

Salah satu persyaratan utama yang harus dipenuhi agens pengendali hayati sebelum aplikasi lapangan adalah dikuasainya teknologi produksi propagul skala massal dan kemasannya dengan biaya serendah mungkin, tanpa mengurangi aktivitasnya selama proses pengemasan dan penyimpanan (Agosin & Aguilera, 1998). Penelitian ini merupakan tahap awal untuk mendapatkan formula propagul konidium *Trichoderma* yang praktis, murah dan mempunyai efisiensi yang tinggi untuk aplikasi di lapangan.

BAHAN DAN METODE

Lokasi penelitian. Penelitian dilakukan di Laboratorium Perlindungan Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Isolat. *Trichoderma* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *T. koningii* isolat T1, *T. reesei* isolat T13, dan *T. harzianum* isolat T27, sedang patogen tular tanah yang diuji adalah *R. lignosus*, *Ganoderma* sp. isolat GD13, *Fusarium* sp. dan *Sclerotium rolfsii*. Semua isolat jamur tersebut merupakan koleksi Laboratorium Perlindungan Hutan, Fakultas Kehutanan UGM, kecuali isolat *S. rolfsii* yang merupakan koleksi Laboratorium

Mikologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian UGM.

Pembuatan formula propagul konidia *Trichoderma*. Formula *Trichoderma* dibuat dalam dua bentuk yaitu butiran dan serbuk. Suspensi konidium (10^7 mL^{-1}) disiapkan dengan menambahkan larutan 0,001% Tween 80 pada biakan *Trichoderma* spp. berumur 10 hari dan dipisahkan dari miselium menggunakan kertas saring. Formula bentuk butiran dibuat menggunakan modifikasi metode Mauperin *et al.* (1987) dengan cara suspensi spora dicampurkan ke dalam larutan alginat atau campuran alginat + gambut, diaduk sampai homogen dan diteteskan (volume 80 μL) ke dalam larutan CaCl_2 hingga terbentuk butiran. Butiran-butiran tersebut dibiarkan terendam dalam CaCl_2 semalam dan kemudian dicuci 2 kali dengan air steril. Untuk bentuk serbuk, suspensi konidium langsung dicampur pada medium campuran gambut + kapur. Formula yang diperoleh disimpan pada suhu 4 °C dan suhu ruang (28 °C).

Uji aktivitas pertumbuhan *Trichoderma* dalam formula. Pengujian dilakukan dengan meletakkan formula pada tengah cawan Petri berdiameter 9 cm berisi medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Kultur diinkubasi pada suhu 28 °C, selama tiga hari dengan pengamatan setiap hari. Pertambahan luas koloni *Trichoderma* pada permukaan medium digunakan sebagai parameter aktivitas pertumbuhan. Formula yang menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan yang lain digunakan untuk uji penghambatan terhadap jamur-jamur patogen.

Uji aktivitas penghambatan formula terhadap jamur patogen. Biakan ganda (*dual-culture*) digunakan untuk uji

penghambatan dengan mengacu pada metode Pe'er dan Chet (1990). Jamur patogen ditumbuhkan 3 hari lebih awal dari waktu penanaman formula *Trichoderma* pada cawan Petri berdiameter 9 cm yang berisi 10 mL PDA. Umur simpan formula *Trichoderma* yang diujikan adalah 1 dan 5 bulan. *Trichoderma* spp. yang telah disimpan selama 1 dan 5 bulan pada medium PDA digunakan sebagai banding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas pertumbuhan. Kemampuan pertumbuhan *Trichoderma* dalam formula berkisar antara 48 – 100% pada hari pengamatan ketiga (Tabel 1). Untuk uji aktivitas penghambatan dipilih formula yang menunjukkan pertumbuhan paling baik dari ketiga isolat *Trichoderma*, yaitu bentuk butiran alginat untuk isolat *T. koningii* (T1P) dan *T. reesei* (T13P), serta bentuk serbuk campuran gambut + kapur untuk *T. harzianum* (T27S), ketiganya merupakan formula yang disimpan pada suhu 28 °C. Pada penyimpanan suhu 4 °C, *Trichoderma* diduga memerlukan waktu penyesuaian yang lebih lama terhadap kondisi lingkungan inkubasi untuk memulai pertumbuhan dibandingkan suhu ruangan. Penyimpanan pada suhu ruangan ini mempunyai beberapa keuntungan, yaitu lebih mudah, murah dan hanya memerlukan peralatan yang sederhana bila dibandingkan dengan penyimpanan menggunakan suhu dingin.

Uji aktivitas penghambatan. Uji daya hambat *Trichoderma* terhadap 4 macam jamur patogen menunjukkan hasil yang cukup bervariasi (Tabel 2). *T. reesei* tanpa formulasi (T13) secara umum mempunyai daya hambat yang paling tinggi terhadap keempat jamur patogen, meskipun tidak

berbeda nyata dengan formula *T. reesei* bentuk butiran (T13P) maupun *T. koningii* tanpa formulasi (T1L). Widyastuti *et al.* (1999) menunjukkan adanya kecenderungan spesifitas antara isolat *Trichoderma* dengan jamur patogen sebagai inangnya secara *in vitro*, yaitu *T. reesei* lebih efektif menghambat perkembangan *Ganoderma* spp., sedangkan *T. harzianum* lebih efektif menghambat perkembangan *R. lignosus*. Pada penelitian ini daya hambat *T. reesei* baik pada umur simpan formula 1 dan 5 bulan terhadap *R. lignosus* cenderung lebih tinggi dibandingkan *T. harzianum*, sedangkan terhadap *Ganoderma* sp. masih menunjukkan hasil yang sama dengan hasil penelitian sebelumnya. Spesifitas *Trichoderma* terhadap jamur patogen tertentu juga telah dibuktikan oleh Bell *et al.* (1992), sehingga untuk meningkatkan efektivitas formula perlu dilakukan formulasi campuran beberapa isolat *Trichoderma* yang berbeda (Duffy *et al.*, 1996; Sivan *et al.*, 1984). Meskipun demikian, hasil penelitian yang dilakukan oleh Harman *et al.* (1989) dan Stasz *et al.* (1988) menunjukkan bahwa *Trichoderma* tidak memerlukan formulasi campuran untuk mendapatkan efek pengendalian yang diinginkan bila dikemas dengan tepat.

Daya hambat *Trichoderma* spp. terhadap *S. rolfsii* sampai hari kesembilan tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol (Tabel 2). Aktivitas penghambatan hanya ditunjukkan oleh *T. reesei* dan *T. koningii* dengan nilai yang sangat rendah. Setelah hari pengamatan ke-20, aktivitas penghambatan *Trichoderma* spp. terhadap *S. rolfsii* mulai meningkat, yang ditandai dengan miselium jamur tersebut tumbuh menutupi koloni jamur patogen. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Widyastuti *et al.* (2001a) yang melakukan pengujian daya hambat *Trichoderma* spp. terhadap *S. rolfsii*. Hasil penelitian Widyastuti *et al.*

(2001b) menunjukkan bahwa konidium *Trichoderma* yang langsung dicampurkan pada medium mempunyai efektivitas penghambatan yang lebih tinggi terhadap *S. rolfsii* dibandingkan dengan hasil uji biakan ganda.

Penyimpanan cenderung menurunkan daya hambat *Trichoderma* spp. dalam formula terhadap semua jamur patogen (Gambar 1), kecuali *T. reesei* terhadap *S. rolfsii*. Semua *Trichoderma* spp. yang diformulasi (T1P, T13P, dan T27P) terlihat mengalami penurunan daya hambat yang cukup besar terhadap *Ganoderma* sp., sedangkan *Trichoderma* spp. tanpa formulasi (T1, T13, dan T27) relatif tidak menunjukkan perubahan setelah disimpan selama 5 bulan. Fenomena penurunan daya hambat yang ditunjukkan oleh *Trichoderma* spp. dalam formula pada penelitian ini bersifat sementara dan merupakan mekanisme adaptasi terhadap kondisi lingkungan tumbuh karena pada

pengamatan lanjutan diketahui bahwa setelah pengamatan hari ke-20, *Trichoderma* spp. yang diformulasi tersebut mampu tumbuh menutupi seluruh permukaan koloni jamur patogen. Smith (1991) juga menyatakan bahwa penyimpanan dapat menyebabkan perubahan permanen atau sementara pada sifat-sifat fisiologis isolat sebagai akibat respon adaptasi. Meskipun *Trichoderma* spp. tanpa formulasi tidak mengalami perubahan aktivitas, hasil penelitian yang dilakukan oleh Widyastuti *et al.* (2002) menunjukkan bahwa isolat *Trichoderma* spp. yang disimpan dalam PDA miring pada suhu ruang selama 9 bulan sudah tidak mampu hidup lagi setelah ditanam ulang. Pada penelitian tersebut diketahui bahwa penyimpanan menggunakan gliserol 50% pada suhu -20 °C mampu mempertahankan daya hidup isolat sampai umur 15 bulan dan sampai sekarang masih terus dievaluasi.

Tabel 1. Pertumbuhan *Trichoderma* dalam berbagai formula pada hari pengamatan ketiga*)

Bentuk formula	Daya tumbuh (%)**)			
	4 °C	28 °C		
T1P	94,1	f	100,0	f ***)
T1PG	95,9	f	98,6	f
T1S	50,6 ab		48,1 a	
T13P	54,8 abc		72,0 de ***)	
T13PG	61,1 bcd		62,8 cd	
T13S	54,8 abc		61,9 bcd	
T27P	73,7 e		77,2 e	
T27PG	75,2 e		77,2 e	
T27S	78,9 e		84,4 e ***)	

Keterangan :

- T1 : *T. koningii*
- T13 : *T. reesei*
- T27 : *T. harzianum*
- P : Butiran alginat
- PG : Butiran alginat+Gambut
- S : Gambut+Kapur

*) Umur simpan isolat 3 minggu.

**) Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 5 %.

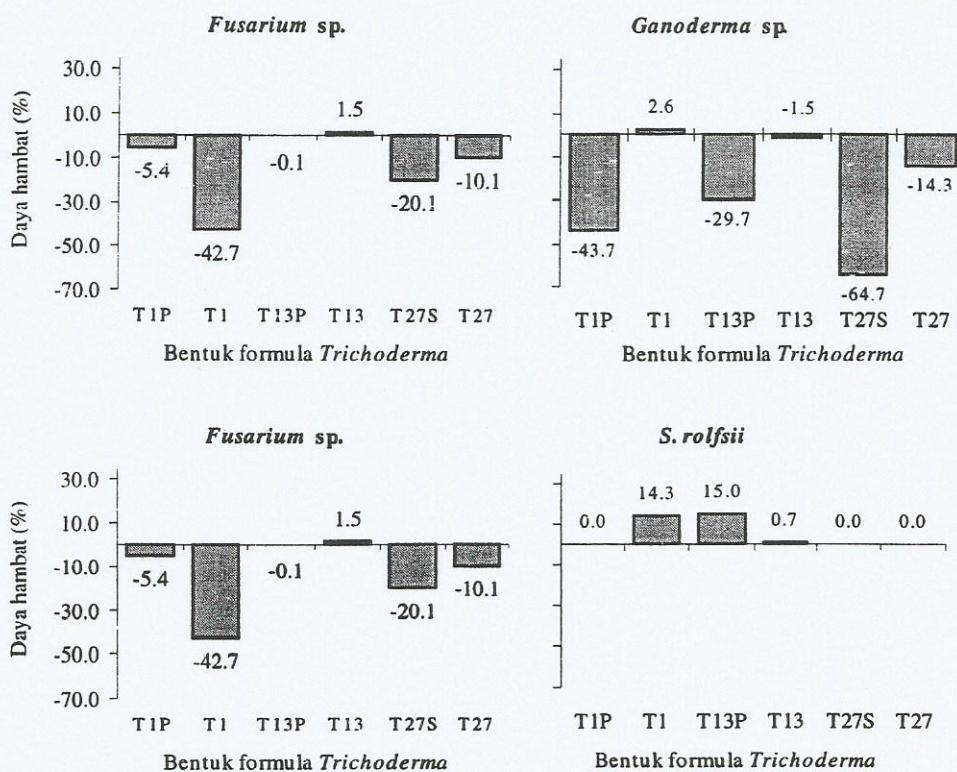
***) Formula yang digunakan untuk uji antagonis.

Tabel 2. Daya hambat *Trichoderma* spp. terhadap empat macam jamur patogen tular tanah (%)*)

Bentuk formula	<i>R. lignosus</i>		<i>Ganoderma</i> sp.		<i>Fusarium</i> sp.		<i>S. rolfsii</i>	
	1	5	1	5	1	5	1	5
Kontrol	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
T1P	68,3 fgh	77,4 ghij	89,5 jklmno	50,4 e	49,1 e	64,6 fg	5,0 ab	0,0 a
T1	99,3 o	98,3 no	70,1 gh	71,9 gh	56,9 ef	56,9 ef	0,7 a	0,8 a
T13 P	86,5 jklmno	78,9 hijk	96,0 mnno	67,5 gfh	99,0 o	86,4 jklmno	17,3 bc	19,9 c
T13	100,0 o	99,1 o	100,0 o	98,5 no	99,8 o	98,5 no	13,5 a	13,6 abc
T27 P	90,2 jklmno	80,7 hijkl	90,0 jklmno	31,8 d	87,7 jklmno	72,1 ghi	0,0 a	0,0 a
T27	94,0 lmno	91,6 klmno	85,2 jklmno	73,2 ghi	84,5 ijklnn	84,5 ijklnn	0,0 a	0,0 a

Keterangan: T1P: *T. koningii* bentuk formula butiran alginat
 T13P: *T. reesei* bentuk formula butiran alginat
 T27S: *T. harzianum* bentuk formula serbuk
 T1, T13, dan T27: *Trichoderma* spp. tanpa formulasi.

*) Pengamatan dilakukan pada hari kesembilan setelah penanaman jamur patogen dan merupakan hasil rata-rata tiga ulangan.
 **) Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%.



Gambar 1. Penurunan sementara daya hambat formula *Trichoderma* spp. setelah disimpan selama 5 bulan. Pemulihannya terjadi setelah hari pengamatan ke-20. T1P: *T. koningii* bentuk formula butiran alginat; T13P: *T. reesei* bentuk formula butiran alginat; T27S: *T. harzianum* bentuk formula serbuk; T1, T13, dan T27: konidium tanpa formulasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Aktivitas pertumbuhan *Trichoderma* spp. dalam formula yang disimpan pada suhu 28 °C lebih baik dibandingkan pada suhu 4 °C.
2. Setelah disimpan selama 5 bulan, daya hambat *T. reesei* dalam formula lebih tinggi dibandingkan *T. harzianum* dan *T. koningii* dalam formula, baik dalam bentuk butiran maupun serbuk.

3. Selama proses penyimpanan terjadi kecenderungan penurunan daya hambat sementara dari *Trichoderma* spp. dalam formula terhadap patogen tular tanah.

Saran

Penelitian perlu dilanjutkan untuk memperpendek waktu adaptasi *Trichoderma* spp. dalam formula dan mengetahui kestabilan dan viabilitasnya setelah disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan sebagian dana Proyek Penelitian Hibah Bersaing-P4M, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, No. 017/P2iPT/HB/V/2000 tanggal 15 Mei 2000, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih. Kepada Harjono S.Hut., M.Si. diucapkan terima kasih atas masukan dalam penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agosin, E. & J. M. Aguilera. 1998. Industrial Production of Active Propagules of *Trichoderma* for Agricultural Uses. In G. E. Harman & C. P. Kubicek (Eds.). *Trichoderma and Gliocladium, Vol. 2. Enzymes, Biological Control, and Commercial Application.* Taylor & Francis, London. p: 205 – 227.
- Bell, D. K., H. D. Wells, & C. R. Markham. 1992. *In vitro* Antagonism of *Trichoderma* Species Against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology* 72: 379 – 382.
- Duffy, B. K., A. Simon, & D. M. Weller. 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with Fluorescent Pseudomonads for Control of Take-all on Wheat. *Phytopathology* 86: 188 – 194.
- Elad, Y., I. Chet, P. Boyle, & Y. Henis. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* - Scanning Electron Microscopy and Fluorescence Microscopy. *Phytopathology*. 73:85 – 88.
- Elad, Y., G. Shamuel, G. Zimand, K. Ruth, I. Chet, & N. Ziona. 1993. Isolate of *Trichoderma* Fungicidal Compositions Containing Said Isolate and Use Against *B. cinerea* and *S. rolfsii*. United Stated Patent 5: 266 – 316.
- Hadar, Y., Y. Henis, & I. Chet. 1979. Biological Control of *Rhizoctonia solani* Damping Off with Wheat Bran Culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 69: 64 – 68.
- Harman, G. E., A. G. Taylor, & T. E. Stasz. 1989. Combining Effective Strains of *Trichoderma harzianum* and Solid Matrix Priming to Improve Biological Control Seed Treatment. *Plant Dis.* 73: 631 – 637.
- Jin, X., G. E. Harman, & A. G. Taylor. 1991. Conidial Biomass and Desiccation Tolerance of *Trichoderma harzianum* Produced at Different Medium Water Potential. *Biol. Control* 1: 237 – 243.
- Mauperin, C., F. Mortier, J. Garbaye, Le Tacon, & G. Carr. 1987. Viability of an Ectomycorrhizal Inoculum Produced in a Liquid Medium and Entrapped in a Calcium Alginate Gel. *Can. J. of Bot.* 65: 2326 – 2329.
- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma and Gliocladium: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol.* Annu. Rev. *Phytopathol.* 23: 23 – 54.
- Papavizas, G. C., M. Dunn, J. A. Lewis, & J. Beagle-Ristiano. 1984. Liquid Fermentation Technology for Experimental Production of Biocontrol Fungi. *Phytopathology* 74: 1171 – 1175.
- Pe'er, S. & I. Chet. 1990. *Trichoderma* Protoplast Fusion: A Tool for Improving Biocontrol Agents. *Can. J. Microbiol.* 36: 6 – 9.
- Reese, E. T. & M. Mandels. 1959. β -1,3-glucanases in Fungi. *Can. J. Microbiol.* 5: 173 – 185.
- Sivan, A., Y. Elad, & I. Chet. 1984. Biological Control Effects of a New Isolate of *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology* 74: 498 – 501.
- Smith, D. 1991. Maintenance of Filamentous Fungi. In B. E. Kirshop & A. Doyle (Eds.). *Maintenance of Microorganisms and Cultural Cells.* 2nd ed. Academic Press, London. p: 133 – 159.
- Stasz, T. E., G. E. Harman, & N. F. Weeden. 1988. Protoplast Preparation and Fusion in Two Biocontrol Strains of *Trichoderma harzianum*. *Mycologia* 80: 141 – 150.

- Widyastuti, S. M. & Sumardi. 1998. Antagonistic Potential of *Trichoderma* spp. Against Root Rot Pathogen of Forest Tree Species. *Asian J. of Sustain. Agric.* 1(2):1 – 8.
- Widyastuti, S. M. & Sumardi. 1999. *Trichoderma* spp. as Biological Control Agents Isolated from Dipterocarp Forest in Jambi. *Proc. of the Int. Sem. on Ecological Approach for Productivity and Sustainability of Dipterocarp Forest.* Yogyakarta, Indonesia. p: 58 – 60.
- Widyastuti, S. M., Sumardi, & N. Hidayati. 1998a. Kemampuan *Trichoderma* spp. untuk Pengendalian Hayati Jamur Akar Putih pada *Acacia mangium* Secara *In vitro*. *Bul.Kehut.* 36: 24 – 38.
- Widyastuti, S. M., Sumardi, A. Sulthoni, & Harjono. 1998b. Pengendalian Hayati Penyakit Akar Merah pada Akasia dengan *Trichoderma*. *J. Perlin. Tan. Indon.* 4(2): 65 – 72.
- Widyastuti, S. M., Sumardi, & Harjono. 1999. Potensi Antagonistik Tiga *Trichoderma* spp. terhadap Delapan Penyakit Akar Tanaman Kehutanan. *Bul.Kehut.* 41: 2 – 10.
- Widyastuti, S. M., Sumardi, & P. Sumantoro. 2001a. Efektivitas *Trichoderma* spp. sebagai Pengendali Hayati terhadap Tiga Patogen Tular Tanah pada Beberapa Jenis Tanaman Kehutanan. *J. Perlin. Tan. Indon.* 7 (2): 98 – 107.
- Widyastuti, S. M., Sumardi, & P. Sumantoro. 2001b. Pengaruh Nutrisi Medium pada Efektivitas Penghambatan *Trichoderma harzianum* terhadap *Sclerotium rolfsii* secara *In Vitro*. *Bul. Kehut.* (In press).
- Widyastuti, S. M., Sumardi, & S. Widyaningsih. 2002 Pengaruh Cara Penyimpanan Isolat pada Aktivitas Antagonistik *Trichoderma* spp. terhadap Jamur Patogen Akar Tanaman Kehutanan. *Biota VIII(1)*: 13 – 20.