

Potensi *Trichoderma* spp. sebagai Agens Pengendali *Fusarium* spp. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.)

[Potential of *Trichoderma* spp. as a Control Agents of *Fusarium* spp. Pathogens on Strawberry (*Fragaria x ananassa* Dutch.)]

Dwiastuti, ME¹⁾, Fajri, MN²⁾, dan Yunimar¹⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Jln. Raya Junrejo No. 1, Tlekung, Batu, Jawa Timur, Indonesia 65301

²⁾Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia

E-mail: mutiaed@gmail.com

Naskah diterima tanggal 10 Februari 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 19 Oktober 2015

ABSTRAK. Layu yang disebabkan oleh *Fusarium* spp. merupakan salah satu penyakit penting tanaman stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) di daerah subtropika, yang dapat menggagalkan panen. Penelitian bertujuan untuk mempelajari potensi *Trichoderma* spp. dalam mengendalikan *Fusarium* spp. Isolat *Trichoderma* spp. diisolasi dari rizosfer tanaman stroberi dan *Fusarium* spp. diisolasi dari tanaman stroberi yang mengalami layu fusarium. Isolat cendawan dimurnikan, dikarakterisasi, dan dibandingkan dengan isolat cendawan acuan. Uji antagonis dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in vitro* dilakukan dengan metode *dual culture* dan *slide culture*. Uji *in vivo* dilakukan di rumah kaca menggunakan dua varietas stroberi, yaitu Santung serta California. Hasil penelitian *in vitro* memperoleh dua jenis isolat cendawan antagonis, yaitu *Trichoderma* sp.1 dan *Trichoderma* sp.2, dan dua jenis cendawan patogen *Fusarium*, yaitu *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2. Isolat *Trichoderma* sp.1 memiliki kemampuan antagonisme lebih tinggi dibandingkan dengan isolat *Trichoderma* sp.2. Isolat *Trichoderma* sp.1 mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2 secara berturut-turut, yaitu 49,7% dan 49,6%. Isolat *Trichoderma* sp.2 mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2 lebih rendah, yaitu sebesar 45,8% dan 43,4%. Mekanisme antagonis yang terjadi antara cendawan antagonis dan patogen pada uji *in vitro*, yaitu pembelitan dan intervensi hifa. Hasil pada uji *in vivo* pada perlakuan *Trichoderma* sebelum *Fusarium* menunjukkan keefektifan pengendalian paling baik (41,72%) dibanding perlakuan lain. Varietas Santung lebih tahan terhadap serangan patogen dibandingkan varietas California. Implikasi dari hasil penelitian ini adalah, agens hayati *Trichoderma* spp. lebih optimal digunakan sebagai pencegahan (*preventif*) tanpa menunggu tanaman terinfeksi penyakit layu fusarium.

Katakunci: Stroberi; *Fusarium* spp.; *Trichoderma* spp.; Antagonisme

ABSTRACT. Fusarium wilt is one of the important disease of strawberry (*Fragaria x ananassa* Dutch.) in subtropical region, which can reduce yields of 40%. This research aimed to study the potential of *Trichoderma* spp. in controlling *Fusarium* spp.. *Trichoderma* spp. isolated from the rhizosphere of strawberry plants, whereas *Fusarium* spp. isolated from strawberry plant which infected by fusarium wilt. Fungal isolates purified, characterized, and compared with the reference fungal isolate. Antagonists test was treated with *in vitro* and *in vivo* test. *In vitro* study was conducted using a dual culture and culture slides. *In vivo* test conducted in screen house using two varieties of strawberries Santung and California. Results of *in vitro* studies to obtain two types isolates antagonistic fungi namely *Trichoderma* sp.1 and *Trichoderma* sp.2, and two pathogenic fungi namely *Fusarium* sp.1 and *Fusarium* sp.2. *Trichoderma* sp.1 isolates have the ability *Trichoderma* sp.1 higher than the *Trichoderma* sp.2. Isolates of *Trichoderma* sp.1 was able to inhibit the growth of *Fusarium* sp.1 and *Fusarium* sp.2 respectively 49.7% and 49.6% but isolate of *Trichoderma* sp.2 was able to inhibit the growth of *Fusarium* sp.1 and *Fusarium* sp.2 only 45.8% and 43.4%. Antagonist mechanisms occurred in antagonist and pathogen fungus in *in vitro* test are entangled and intervention of mycelium. The results of *in vivo* test demonstrate that the best effectiveness of the treatment of *Trichoderma* applied before *Fusarium* inoculation (41.72%) if compared to other treatments. Santung variety was more resistant to *Fusarium* attack than California. The implication, biological agents of *Trichoderma* spp. optimally used as a preventive control.

Keywords: Strawberry; *Fusarium* spp.; *Trichoderma* spp.; Antagonism

Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) merupakan jenis buah yang banyak diminati masyarakat karena memiliki banyak manfaat bagi kesehatan dan bernilai ekonomi tinggi. Tanaman ini pertama kali ditemukan di Chili, Amerika, dan di dunia penyebaran geografisnya luas, yaitu di Amerika, Eropa, dan Asia (Chehri *et al.* 2010) termasuk di Indonesia. Namun, tanaman tersebut sensitif terhadap faktor lingkungan. Baik

lingkungan abiotik maupun biotik, seperti cendawan patogen. Cendawan yang sering menyerang tanaman ini antara lain *Colletotrichum* sp. penyebab antraknos, *Botrytis cinerea* penyebab penyakit grey mould, *Mycosphaerella fragariae* penyebab penyakit bercak daun, *Diplocarpon earlianum* penyebab penyakit leaf scorch, *Gnomonia comari* penyebab *gnomonium* fruit rot dan leaf blotch, *Sphaerotheca macularis* penyebab

powdery mildew, *Fusarium oxysporum* penyebab busuk akar dan layu fusarium serta *Phytophthora nicotianae* penyebab busuk akar dan pangkal batang (Ullio 2004).

Fusarium oxysporum menyebabkan penurunan produksi buah stroberi di Jepang sekitar 60%, di Korea pada tahun 1990-an menurunkan produksi 81% (Alex 2012), di kawasan Eropa, Amerika Utara, dan Asia tahun 2010 sekitar 40%, di Australia Barat dilaporkan tanaman yang terinfeksi penyakit ini pada tahun 2005 – 2006 sebesar 70% (Phillips & Hossein 2008). Insiden penyakit juga ditemukan di Indonesia, namun belum diketahui secara pasti berapa besar kerugiannya. Patogen ini dapat memproduksi beberapa toksin di antaranya *fusaric acid* dan *fumonisin* yang dapat memperparah infeksi penyakit (Chehri *et al.* 2010). Gejala awal penyakit ditandai dengan adanya perubahan warna pada bagian pucuk tanaman yang terserang menjadi cokelat kemerahan, kemudian bagian tersebut akan menjadi layu. Kelayuan tanaman dapat terjadi secara bertahap pada beberapa daun dan akan berkembang ke seluruh bagian tanaman. Gejala tanaman yang terserang parah ditandai oleh tanaman layu dan mati secara cepat. Akar tanaman sakit mengalami pembusukan. Sumber infeksi berasal dari tanah yang terkontaminasi patogen selama beberapa tahun, sampah, tanaman sakit atau alat pertanian. Patogen ini sering menyerang pada musim hujan, terutama di daerah-daerah berkelembapan tinggi dan beriklim basah. Penularan penyakit melalui aliran air yang terkontaminasi patogen sehingga jangkauan penyebarannya menjadi luas.

Penyemprotan pestisida merupakan cara yang umum dilakukan petani untuk menekan pertumbuhan penyakit tanaman, namun pestisida dapat menimbulkan berbagai permasalahan dan mengganggu keseimbangan lingkungan (Sudewa *et al.* 2008). Residu pestisida dapat membunuh organisme nontarget, meningkatkan resistensi organisme target, meresap dan terakumulasi dalam buah, meresap dalam tanah, terbawa angin dan aliran air yang dapat membunuh organisme perairan, dan berbahaya bagi petani. Oleh karena itu perlu adanya alternatif lain dalam pengendalian patogen tersebut yang bersifat ramah lingkungan.

Trichoderma merupakan genus cendawan yang mampu dijadikan sebagai agens pengendali patogen secara hayati. Mekanisme antagonis yang dilakukan *Trichoderma* spp. dalam menghambat pertumbuhan patogen antara lain kompetisi, parasitisme, antibiosis, dan lisis (Purwantisari & Rini 2009). Menurut Talanca *et al.* (1998) mekanisme antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap cendawan patogen dilakukan dengan mengeluarkan toksin berupa enzim β -1,3 glukonase,

kitinase, dan selulase yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat membunuh patogen. Sifat antagonis *Trichoderma* spp. dapat dimanfaatkan sebagai alternatif dalam pengendalian patogen yang bersifat ramah lingkungan.

Penelitian bertujuan mempelajari potensi *Trichoderma* spp. dalam mengendalikan *Fusarium* spp. pada tanaman stroberi. Hipotesis penelitian adalah *Trichoderma* spp. mempunyai daya hambat sebagai agens pengendali penyakit layu fusarium stroberi dan terjadi mekanisme perusakan pada organ *Fusarium* spp.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

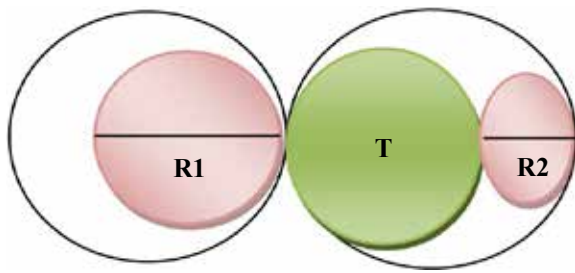
Penelitian dilakukan mulai bulan November 2012 sampai dengan Mei 2013 di Laboratorium Terpadu Mikologi, Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. Dua isolat *Trichoderma* spp. diisolasi dari tanah sekitar akar tanaman sehat di Pandanrejo dan dua isolat *Fusarium* spp. diisolasi dari akar tanaman bergejala sakit di Pandanrejo dan Sumber Brantas.

Isolasi *Trichoderma* spp.

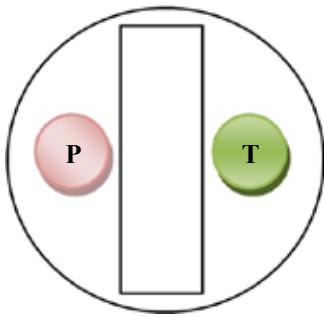
Trichoderma spp. diisolasi dari rizosfer tanaman stroberi. Sampel dibuat serial dilusi hingga 10^{-6} . Suspensi diambil 0,1 ml diinokulasikan pada media *potato dextrose agar* (PDA) yang mengandung *Streptomycin* 50 mg/l dan ditumbuhkan pada suhu 27°C selama 48 jam. Biakan dimurnikan dengan metode *monospora* modifikasi dari metode Yuliarni *et al.* (2010). Konidia cendawan disuspensikan dengan akuades pada *object glass* dengan cara *distreak*. Biakan ditumbuhkan di media PDA pada suhu 27°C selama 10–18 jam. Konidia yang berkecambah dipindah pada media PDA baru. Identifikasi cendawan murni dalam media, menggunakan pencirian karakter morfologi *Trichoderma* spp. dengan kunci identifikasi Barnett & Hunter (1998) dan dibandingkan dengan karakter isolat *Trichoderma* spp. koleksi laboratorium yang sudah diidentifikasi sebelumnya sebagai acuan (referensi). Semua isolat yang diidentifikasi dan isolat acuan, diisolasi pada waktu yang sama.

Isolasi *Fusarium* spp.

Akar dan batang tanaman bergejala *Fusarium* spp. dipotong (1cm x 1cm x 1cm), meliputi 50% bagian sehat dan 50% bagian gejala layu fusarium. Potongan tanaman dimasukkan ke dalam tiga gelas berisi akuades, alkohol 70%, akuades masing-masing selama 1 menit, kemudian ditumbuhkan pada PDA dengan *Streptomycin* 50 mg/l, diinkubasi pada suhu 27°C. *Fusarium* spp. dimurnikan dengan metode *monospora*



Gambar 1. Metode dual kultur. R1, R2= *Fusarium* spp. T = *Trichoderma* spp.



Gambar 2. Metode slide kultur. P = koloni *Fusarium* spp., T = *Trichoderma* spp.

sama seperti pemurnian isolat *Trichoderma* spp. Identifikasi isolat murni dalam media, menggunakan pencirian karakter morfologi *Fusarium* sp. dengan kunci identifikasi Barnett & Hunter (1972) dan dibandingkan dengan karakter isolat *Fusarium* spp. koleksi laboratorium yang sudah diidentifikasi sebelumnya sebagai acuan (referensi). Semua isolat yang diidentifikasi dan isolat acuan, diisolasi pada waktu yang sama.

Uji Antagonis *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. Secara *In Vitro*

Uji *in vitro* dibuat dengan dua metode, yaitu metode *dual* kultur dan *slide* kultur.

Metode *dual* kultur modifikasi (Singh & Vijay 2011), biakan *Trichoderma* spp. dan *Fusarium* spp. diambil dengan *cork borer* berdiameter 5 mm dan jarum enten. Kedua koloni ditumbuhkan berdampingan dengan jarak 3 cm dalam satu cawan petri. Biakan diinkubasi pada suhu 27°C dan diukur diameter koloni selama 7 hari. Perlakuan pada tiap cawan petri adalah (a) *Trichoderma* sp.1 dan *Fusarium* sp.1, (b) *Trichoderma* sp.1 dan *Fusarium* sp. 2, (c) *Trichoderma* sp. 2 dan *Fusarium* sp.1, dan (4) *Trichoderma* sp.1 dan *Fusarium* sp. 2. Kontrol dibuat dengan cara yang sama, tetapi hanya ditumbuhkan satu jenis cendawan patogen saja, yaitu *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp 2. (Gambar 1). Tiap perlakuan diulang tiga kali. Hasil uji *dual* kultur dianalisis dengan uji *one sample independent t-test* pada program SPSS for Windows Release versi 16,0.

Pengaruh antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap patogen dapat diketahui dengan penghitungan PIRG (*percentage inhibition of radial growth*) (Ezziyani et al. 2004 dalam Ahlem et al. 2012, Singh & Vijay 2011)

$$\text{PIGR (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\% \quad \dots (1)$$

Keterangan :

PIRG = *Percentage inhibition of radial growth* (% hambat)

R1 = Diameter patogen tanpa antagonis (kontrol)

R2 = Diameter patogen dengan antagonis (*dual* kultur)

Uji *slide* kultur bertujuan mengetahui mekanisme mikoparasit antara kedua cendawan tersebut. Metode yang digunakan mirip dengan metode *dual* kultur, tetapi bagian tengah cawan petri diberi *slide glass* sebelum dituangkan media PDA yang akan memadat (Gambar 2). Kecambah konidia *Trichoderma* spp. dan *Fusarium* spp. yang berumur 10–18 jam diposisikan berlawanan di luar posisi *slide glass* yang tersusun dengan jarak antarsuspensi koloni 3 cm. Suspensi koloni yang telah disusun jaraknya, diinkubasi selama ± 7 hari pada temperatur $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pengukuran tingkat mikoparasitisme *Trichoderma* sebagai agens hayati terhadap *Fusarium* spp. diadopsi dari metode Dennis & Webster (1971 dalam Sudantha & Abdul 2011). Skor pengukuran mikoparasit *Trichoderma* sebagai agens hayati diukur dengan skor sebagai berikut:

1 = Hifa patogen lisis 0% (Tidak lisis)

2 = Hifa patogen lisis $\pm 25\%$

3 = Hifa patogen lisis $\pm 50\%$

4 = Hifa patogen lisis $\pm 90\%$

Keterangan:

- Skor (+1) apabila hifa patogen mengalami pengecilan dibanding ukuran hifa normal
- Sebaliknya, apabila hifa antagonis mengalami pengecilan dibanding ukuran hifa normal sebesar 10% skor (-1/2) dan 25 % skor (-1).

Pengamatan intervensi antarkedua hifa dilakukan saat terjadi kontak miselium antarkedua koloni cendawan yang dilakukan \pm hari ke-7 dan diamati di bawah mikroskop mulai dari perbesaran lemah (100 kali) hingga perbesaran yang lebih tinggi (1.000 kali). Perlakuan uji *in vitro slide* kultur ini dibuat dengan mengkombinasikan antara antagonis yang didapatkan dari hasil isolasi dengan patogen hasil isolasi.

Uji Antagonis *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. *In Vivo* di Rumah Kasa

Penelitian *in vivo* yang dilakukan di rumah kasa menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan enam kombinasi perlakuan, yaitu (1) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan akuades sebagai kontrol sehat (F_0T_0), (2) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan *Fusarium* (F_1T_0), (3) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan *Trichoderma* (F_0T_1), (4) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan *Fusarium* terlebih dahulu, 3 hari kemudian disemprot *Trichoderma* (F_1T_1), (5) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan *Trichoderma* terlebih dahulu, 3 hari kemudian disemprot dengan *Fusarium* (T_1F_1), dan (6) bagian tanaman di atas tanah disemprot dengan *Trichoderma* dan *Fusarium* bersamaan (TF).

Tiap perlakuan diulang empat kali dan tiap plot terdiri atas tiga tanaman. Interval penyemprotan 3 hari antara *Trichoderma* dan *Fusarium* atau sebaliknya, dilakukan agar penetrasi dan infeksi pada cendawan pertama sudah terjadi, kemudian baru disemprot dengan cendawan kedua. Penyemprotan dilakukan pada tanaman stroberi umur 1 bulan setelah tanam pada pagi hari. Varietas stroberi yang diuji adalah varietas California dan Santung. Konsentrasi suspensi konidia *Trichoderma* dan *Fusarium* dihitung dengan *haemositometer* hingga mencapai konsentrasi sesuai dengan perlakuan (Ara *et al.* 2012). Variasi dosis suspensi *Trichoderma* spp. yang digunakan untuk aplikasi pada penelitian ini dimodifikasi dari metode Iriarte *et al.* (2011) dengan skala tinggi 10^8 konidia/ml. Perhitungan kerapatan konidia dapat dilakukan dengan *haemositometer* menggunakan rumus 2 (Sulistiyorini *et al.* 1995 dalam Dwiastuti & Fitriyani 2013) :

$$K = \frac{(t \times d)}{(n \times 0,25)} \times 10^6 \quad \dots (2)$$

Keterangan :

- K = Jumlah konidia *Trichoderma* atau *Fusarium*
- t = Total konidia dalam semua kotak hitung
- d = Faktor pengenceran
- n = Jumlah semua kotak yang dihitung

Parameter yang diamati, yaitu intensitas serangan *Fusarium* spp. dan pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman dan jumlah daun). Karena gejala serangan tanaman hasil inokulasi menunjukkan kelayuan bertahap (lokal) maka intensitas serangan yang diakibatkan oleh *Fusarium* spp. pada tanaman dihitung dengan skoring. Skoring yang digunakan pada penelitian, yaitu 0 = sehat, 1 = $\geq 10\%$ bagian tanaman layu, 2 = 11–25% bagian tanaman layu, 3 = 26–50%

bagian tanaman layu, dan 4 = $\leq 50\%$ (tanaman mati). Nilai skoring yang diperoleh digunakan pada perhitungan persentase intensitas serangan patogen pada tanaman stroberi dengan rumus 3 (Nurhayati 2011) sebagai berikut :

$$I = \frac{\sum (n \times V)}{Z \times N} \quad \dots (3)$$

Keterangan :

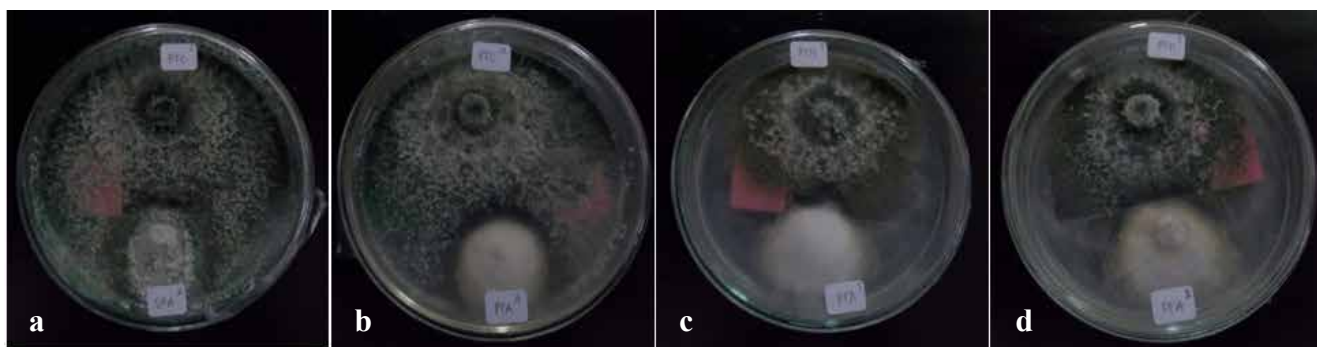
- I = Intensitas serangan
- n = Jumlah daun mengalami gejala layu *Fusarium*
- V = Nilai skor pada tiap daun yang terserang layu *Fusarium*
- Z = Nilai skor tertinggi
- N = Jumlah daun yang diamati dalam satu polibag

Pengamatan dilakukan tiap minggu, mulai 1 minggu setelah perlakuan. Hasil uji antagonis secara *in vivo* dianalisis dengan uji Tukey pada program SPSS for Windows Release versi 16,0.

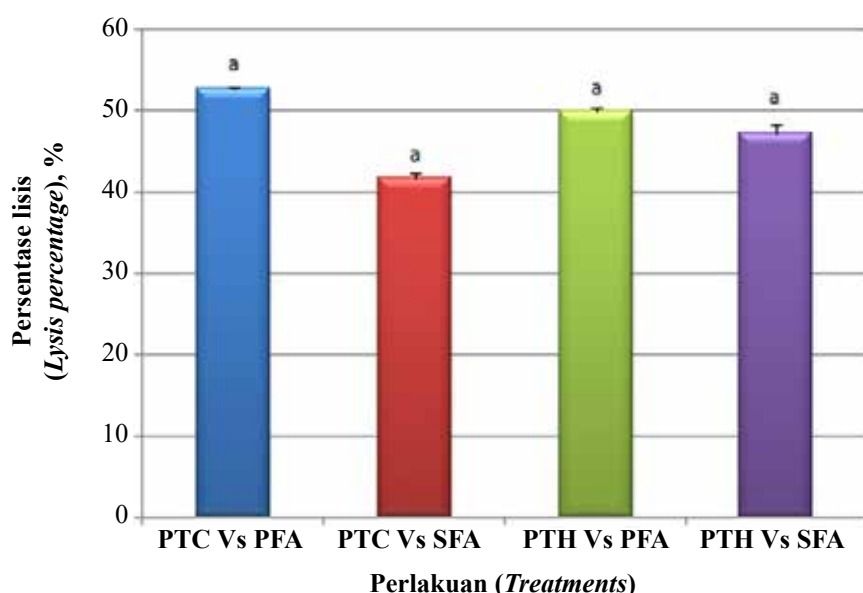
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Antagonis *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. Secara *In Vitro* (Metode Dual Kultur)

Pengaruh antagonis pada uji *dual* kultur secara visual terlihat pada Gambar 3. Adanya penghambatan pertumbuhan dari salah satu jenis koloni cendawan yang ditumbuhkan secara berdampingan. Koloni *Trichoderma* sp.1 memiliki sifat antagonis yang lebih tinggi dibandingkan dengan koloni *Trichoderma* sp. 2. Hal ini dapat terlihat dari hasil uji (Gambar 3), koloni *Trichoderma* sp.1 hampir memenuhi sebagian besar luas cawan petri dan konidia isolat *Trichoderma* sp.1 muncul di seluruh permukaan koloni (Gambar 3a dan 3b), sedangkan pada perlakuan antagonis *Trichoderma* sp.2 (Gambar 3c dan 3d) meskipun koloni antagonis memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan koloni patogen namun pertumbuhannya lebih lambat dari *Trichoderma* sp.1, selain itu konidia pada isolat *Trichoderma* sp.2 hanya menutupi kurang lebih setengah dari luas cawan petri. Perbedaan kecepatan pertumbuhan miselium kedua *Trichoderma* spp. ini kemungkinan karena adanya perubahan hasil metabolit yang seharusnya digunakan untuk memproduksi organ cendawan beralih menjadi penghasil metabolit sekunder lain. Kemungkinan lainnya adalah karena perbedaan reisolasi atau subkultur yang berbeda antar species *Trichoderma* dapat menyebabkan perubahan kecepatan tumbuh. Semakin sering disubkultur, semakin rendah virulensinya (Siti *et al.* 2006)



Gambar 3. Pengaruh antagonis *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp., (a) *Trichoderma* sp.1 dipasangkan dengan *Fusarium* sp.1, (b) *Trichoderma* sp.1 dipasangkan dengan *Fusarium* sp. 2, (c) *Trichoderma* sp.2 dipasangkan dengan *Fusarium* sp.1, dan (d) *Trichoderma* sp.2 dipasangkan dengan *Fusarium* sp.2. [Antagonistic effect of *Trichoderma* spp. against *Fusarium* spp., (a) *Trichoderma* sp.1 paired with *Fusarium* sp.1, (b) *Trichoderma* sp.1 paired with *Fusarium* sp. 2, (c) *Trichoderma* sp.2 paired with *Fusarium* sp.1, (d) *Trichoderma* sp.2 paired with *Fusarium* sp.2]



Gambar 4. Perbandingan persentase hambat terhadap *Fusarium* pada uji *dual* kultur hari ke-7. PTC vs PFA = *Trichoderma* sp.1 vs *Fusarium* sp.1, PTC vs SFA = *Trichoderma* sp.1 vs *Fusarium* sp.2, PTH vs PFA *Trichoderma* sp.2 vs *Fusarium* sp. 1, PTH vs SFA *Trichoderma* sp.2 vs *Fusarium* sp.2 (Comparison of the percentage of obstacles *Trichoderma* against *Fusarium* in dual culture test day 7. PTC vs PFA = *Trichoderma* sp.1 vs *Fusarium* sp. 1, PTC vs SFA = *Trichoderma* sp.1 vs *Fusarium* sp. 2, PTH vs PFA = *Trichoderma* sp.2 vs *Fusarium* sp. 1, PTH vs SFA = *Trichoderma* sp.2 vs *Fusarium* sp.2)

Antagonisme isolat *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. dapat diketahui dari persentase hambat atau PIRG pada uji *dual* kultur hari ke-7 (Gambar 4). Isolat antagonis *Trichoderma* sp.1 memiliki kemampuan lebih dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.1 maupun *Fusarium* sp.2 dibandingkan dengan *Trichoderma* sp.2. Isolat *Trichoderma* sp.1 memiliki nilai hambat (PIRG) terhadap *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2 secara berturut-turut 49,7% dan 49,6% *Fusarium* sp.2. Isolat antagonis *Trichoderma* sp.2 memiliki nilai PIRG lebih rendah, yaitu 45,8%

jika dipasangkan dengan isolat *Fusarium* sp.1 dan 43,4% jika dipasangkan dengan *Fusarium* sp. 2. Proses antagonis muncul dikarenakan adanya persaingan yang terjadi antara dua jenis cendawan yang ditumbuhkan berdampingan. Persaingan ini terjadi akibat adanya kebutuhan yang sama dari masing-masing cendawan, yaitu kebutuhan tempat tumbuh dan nutrisi media yang digunakan untuk tumbuh tanaman (Ara et al. 2012). *Trichoderma* merupakan salah satu jenis mikroba yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan patogen dengan

menghasilkan senyawa aktif biologis secara *in vitro*. Senyawa aktif tersebut meliputi alkaloid, paxillin, lolitrems, dan tetranone steroid (Sudhanta & Abdul 2011). Hasil pengujian antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap *F. oxysporum* pada pisang pada penelitian sebelumnya juga memberikan hasil yang optimal (Sulistiyorini & Sulistyowati 1995).

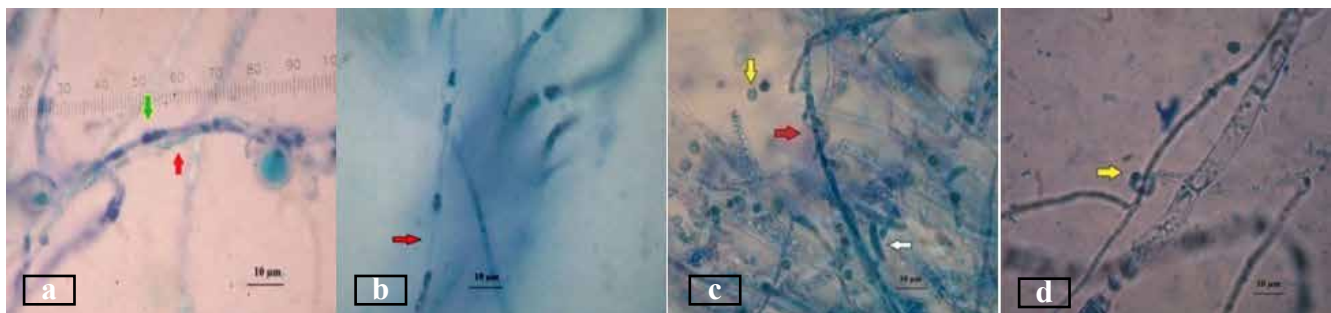
Mekanisme antagonis *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. yang terlihat pada pengamatan hasil uji *slide* kultur (Gambar 5) antara lain pembelitan hifa dan intervensi hifa. Mekanisme pembelitan hifa terlihat pada hasil pengamatan (Gambar 5a, 5c, dan 5d). Tahap awal pembelitan (Gambar 5d) ditemukan pada proses antagonisme isolat *Trichoderma* sp.2 terhadap *Fusarium* sp.2. Pembelitan hifa tahap selanjutnya (Gambar 5c) terlihat pada pengamatan antagonisme *Trichoderma* sp.2 terhadap *Fusarium* sp.1. Pembelitan cendawan tahap lanjut berupa intervensi hifa cendawan patogen sehingga antagonis dapat melakukan penetrasi pada hifa cendawan patogen (Gambar 5a) seperti yang terjadi pada isolat *Trichoderma* sp.1 terhadap *Fusarium* sp.2. Intervensi dan penetrasi terhadap hifa patogen, mengakibatkan perubahan ukuran hifa patogen menjadi lebih kecil dan partikel-partikel yang ada didalam hifa berkurang seperti pada pengamatan antagonisme isolat *Trichoderma* sp.1 terhadap *Fusarium* sp.1 (Gambar 5b). Intervensi hifa oleh *Trichoderma* mengakibatkan adanya perubahan unsur kimia dan partikel pada dinding sel (Nohemi *et al.* 2012) sehingga dapat memengaruhi permeabilitas dinding sel patogen. Hifa antagonis yang berhasil melakukan intervensi dan penetrasi akan menyerap sari makanan sehingga

hifa cendawan patogen dapat mengecil dan mati (Purwantisari & Rini 2009).

Uji Antagonis *Trichoderma* sp. dan *Fusarium* sp In Vivo di Rumah Kasa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa intensitas penyakit pada varietas California paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol sehat dan *Trichoderma* saja, mulai awal sampai akhir pengamatan kondisinya sangat sehat, berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya. Rerata serangan mulai minggu ke-1 setelah inokulasi cukup tinggi, yaitu sebesar 45,83 – 52,08% dan semakin meningkat pada minggu ke-5 mencapai 81,49 – 88,83% pada perlakuan *Fusarium* tunggal dan tiga kombinasi perlakuan *Fusarium Trichoderma* (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa *Trichoderma* spp. tidak dapat mengendalikan *Fusarium* spp. pada varietas California di rumah kasa. Kemampuan antagonisme *Trichoderma* pada uji *in vivo* mengalami penurunan dibandingkan dengan antagonisme yang terjadi pada uji *in vitro*. Hal ini mungkin disebabkan karena beberapa hal, antara lain varietas California peka terhadap penyakit, curah hujan tinggi, kelembaban tinggi, dan faktor lingkungan lain yang dapat memengaruhi kemampuan viabilitas *Trichoderma* serta meningkatkan virulensi *Fusarium* spp.

Pengamatan pada varietas Santung menunjukkan bahwa intensitas serangan juga semakin meningkat, tetapi tidak secepat pada varietas California. Pada minggu ke-1 serangan mulai tampak dengan intensitas serangan antara 6,25 – 16,67% dan pada minggu ke-5 meningkat jadi 41,72 – 46,03%. Hasil analisis statistik



Gambar 5. Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap *Fusarium* spp. pada uji *slide kultur* hari ke-7. (a) hifa *Fusarium* sp.2 (panah hijau) terlilit hifa cendawan *Trichoderma* sp.1 (panah merah), (b) hifa *Trichoderma* sp.1 pada *Fusarium* sp.1, (c) hifa *Fusarium* sp.1 (panah merah) terlilit hifa *Trichoderma* sp.2, konidia *Trichoderma* sp.2 (panah kuning), konidia *Fusarium* sp.1 (panah putih), dan (d) fase awal hifa *Fusarium* sp.2 (panah kuning) terlilit hifa *Trichoderma* sp.1, Bar 10 µm, perbesaran 1000 x. (*Antagonism of Trichoderma spp. on Fusarium spp. by the slide test culture after 7 days. (a) Fusarium sp.2 hyphae (green arrows) entangled in hyphae of Trichoderma sp.1 (red arrows), (b) hyphae of Trichoderma sp.1 on Fusarium sp.1 hyphae, (c) hyphae of Fusarium sp.1 (red arrows) entangled in hyphae of Trichoderma sp.2, conidia Trichoderma sp.2 (yellow arrows), conidia of Fusarium sp.1 (white arrows), (d) the initial phase of Fusarium sp.2 hyphae (yellow arrows) entangled in hyphae of Trichoderma sp.1*)

Tabel 1. Intensitas serangan tanaman stroberi varietas California pada uji *in vivo* (Disease intensity of California variety of strawberry plant by *in vivo* test)

Perlakuan (Treatments)	Intensitas serangan (%) minggu ke – Disease intensity (%) weeks				
	1	2	3	4	5
Kontrol sehat	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
<i>Fusarium</i>	52,08 b	72,92 b	81,22 b	83,70 a	88,44 b
<i>Trichoderma</i>	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
<i>Fusarium Trichoderma</i>	52,08 b	52,08 b	75,59 b	82,02 b	85,31 b
<i>Trichoderma, Fusarium</i>	45,83 b	52,08 b	78,78 b	86,18 b	81,49 b
<i>Fusarium+Trichoderma</i>	39,58 b	45,83 b	84,90 b	78,65 b	84,03 b

Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji Duncan 5%, Data telah ditransformasikan ke $\sqrt{(X+0,5)}$, a. varietas California, b. varietas Santung (Mean follows by the same letters on the same coloums is not significantly according Duncan test 5%, The data was transformation to $\sqrt{(X+0,5)}$, a. California Variety, b. Santung Variety)

Tabel 2. Intensitas serangan tanaman stroberi varietas Santung pada uji *in vivo* (Disease intensity of Santung variety of strawberry plant by *in vivo* test)

Perlakuan (Treatments)	Intensitas serangan (%) minggu ke - Disease intensity (%) weeks...				
	1	2	3	4	5
Kontrol sehat	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
<i>Fusarium</i>	16,67 b	29,17 a	39,11 b	45,19 b	45,19 b
<i>Trichoderma</i>	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
<i>Fusarium Trichoderma</i>	6,25 ab	20,83 a	37,77 b	42,63 b	42,63 b
<i>Trichoderma, Fusarium</i>	12,50 ab	16,67 a	32,99 b	40,96 b	40,96 b
<i>Fusarium+Trichoderma</i>	16,67 b	18,75 a	39,90 b	37,52 b	42,79 b

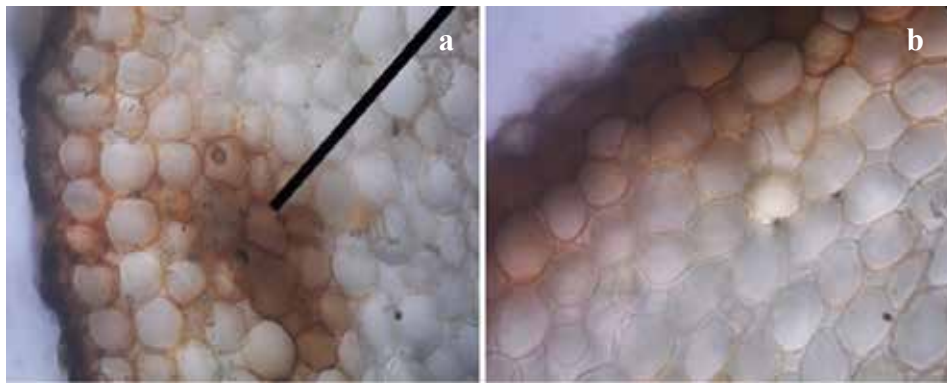
Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji duncan 5%, Data telah ditransformasikan ke $\sqrt{(X+0,5)}$, a. Varietas California, b. Varietas Santung (Mean follows by the same letters on the same coloums is not significantly according Duncan test 5%. The data was transformation to $\sqrt{(X+0,5)}$, a. California variety, b. Santung variety)

pada minggu ke-1 menunjukkan bahwa perlakuan *Fusarium* tunggal dan *Fusarium* + *Trichoderma* intensitas serangannya tertinggi dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan kontrol sehat dan berbeda nyata dengan dua perlakuan lainnya (perlakuan *Fusarium*, *Trichoderma* dan perlakuan *Trichoderma, Fusarium*). Namun, pada pengamatan minggu ke-2 sampai ke-5, kecepatan infeksi menjadi tidak berbeda nyata antara tiga perlakuan kombinasi *Fusarium Trichoderma* serta 1 perlakuan *Fusarium* tunggal (Tabel 2).

Meskipun mekanisme antagonis *Trichoderma* spp. terhadap patogen dapat terjadi melalui beberapa cara, yaitu kompetisi ruang dan nutrisi, menghasilkan metabolit penghambat spora patogen, kontak langsung, dan sintesis toksik serta membunuh sel dengan antibiosis (Benitez *et al.* 2004), namun pada penelitian ini mekanisme antagonis tidak berhasil dengan memuaskan, kemungkinan disebabkan pengaruh faktor lingkungan terutama kelembaban dan curah hujan yang tidak mendukung perkembangan cendawan antagonis. Hasil pencatatan selama bulan November 2012 – Mei 2013, menunjukkan curah hujan turun hampir tiap hari dan kelembaban mencapai 89 – 90%, kondisi ini diduga mempercepat perkembangan laju

infeksi *Fusarium* dalam tanaman melebihi laju infeksi cendawan antagonis.

Antagonisme *Trichoderma* yang diinokulasikan setelah *Fusarium* kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium* spp. dan menunjukkan nilai intensitas penyakit yang paling tinggi, yaitu 46,03%. Intensitas serangan yang paling rendah terjadi pada perlakuan tanaman yang diinokulasikan suspensi *Trichoderma* spp. lebih dahulu kemudian *Fusarium* spp. (41,72%). Hal ini karena *Trichoderma* spp. mempunyai peluang tinggi untuk berkompetisi merebut tempat hidup dan sumber makanan lebih dulu, lebih cepat menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel untuk mengambil zat makanan, serta menghasilkan antibiotik yang dapat membunuh sel cendawan patogen (Harman 1998 dalam Gultom 2008). Hasil analisis intensitas serangan penyakit kedua varietas yang diuji menunjukkan bahwa varietas California lebih peka terhadap penyakit layu fusarium dibandingkan dengan varietas Santung. Intensitas serangan paling rendah pada kedua jenis varietas terjadi pada tanaman yang diinokulasi isolat *Trichoderma* spp. lebih dahulu kemudian inokulasi isolat *Fusarium* spp. Kondisi ini mengindikasikan bahwa isolat *Fusarium* spp. yang



Gambar 6. Struktur anatomi akar tanaman stroberi varietas California, 400 x, bar = 20µm. (a). infeksi *Fusarium* spp. pada jaringan korteks parenkim, dan (b). jaringan korteks parenkim yang sehat (*Anatomical structure of plant roots strawberry California varieties, 400 x, bar = 20µm. (a) infection of Fusarium spp. in the cortical parenchyma tissue, and (b). healthy cortical parenchyma tissue*)

diinokulasikan lebih awal langsung memblokir dan merusak jaringan tanaman sehingga saat cendawan antagonis diinokulasi 3 hari kemudian sumber makanan sudah tidak cukup tersedia untuk perkembangan antagonis. *Trichoderma* spp. lebih efektif digunakan untuk pencegahan dibandingkan dengan pengendalian secara kuratif. Menurut Goodman *et al* (1986) dalam Nurhayati (2011), intensitas serangan *F. oxysporum* yang terparah dialami oleh tanaman yang berumur kurang dari 6 bulan, tanaman lebih tua mempunyai jaringan epidermis cukup tebal dilapisi jaringan lilin yang dapat menghambat masuknya patogen pada tanaman.

Gejala layu fusarium pada tanaman yang berumur 3 bulan hasil uji *in vivo* dapat terlihat pada beberapa bagian tanaman khususnya akar. Akar tanaman yang mengalami gejala penyakit layu fusarium terlihat jelas pada irisan jaringan akar (Gambar 6a). Sel-sel akar terinfeksi *Fusarium* mengalami perubahan warna menjadi cokelat pada korteks dan parenkhim sedang pada irisan akar sehat (gambar 6b) berwarna putih bersih. Menurut Gaumann & Jaag (1947) dalam Mukarlina *et al.* (2010) perubahan warna cokelat pada sel tanaman terinfeksi layu fusarium disebabkan adanya polimerisasi melanin yang berwarna cokelat antara senyawa fenol dengan enzim *fenol oksidase* yang dihasilkan oleh tanaman inang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Diperoleh dua isolat *Trichoderma* spp. dan dua isolat patogen *Fusarium* spp. Isolat *Trichoderma* sp.1 mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2 sebesar 49,7 % dan 49,6 %. Isolat *Trichoderma* sp.2 mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp.1 dan *Fusarium* sp.2 sebesar 45,8% dan 43,4%. Mekanisme

antagonis hasil uji *in vitro* adalah pembelitan hifa dan intervensi hifa. Aplikasi antagonis *Trichoderma* spp. secara *in vivo* di rumah kaca tidak efektif untuk mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman stroberi. Aplikasi *Trichoderma* spp. sebaiknya digunakan sebagai pencegahan (preventif) dan tidak menunggu sampai tanaman terinfeksi penyakit layu fusarium. Pengembangan penelitian lebih rinci masih diperlukan terutama pada teknik aplikasi dan penentuan dosis, guna melengkapi teknologi pengendalian terpadu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alex, S 2012, *Integrated, nonchemical management of fusarium wilt and clubroot*, Departemen of Agriculture, oregon State University, viewed 6 Januari 2013, <<http://bpp.oregonstate.edu>>.
2. Ara, IH, Rizwana, Al-Othman, MR & Baki, MA 2012, 'Antagonism of actinomycete against *Pestalotiopsis mangiferae*, causal agent of mango brown rot in post harvest storage', *Afr. J. Microbiol. Res.*, vol. 6, no. 8, pp. 1782-9.
3. Ahlem, H, Ezziyani, M, Alain, B & Lamarti, A 2012, 'Effect of pH, temperature and water activity on the inhibition of *Botrytis cinerea* by *Bacillus amyloliquefaciens* isolates', *African Journal of Biotechnology*', vol. 11, no. 9, pp. 2210-7.
4. Barnett, HL & Hunter, BB 1972, *Illustrated genera of imperfect fungi*, 3rd edition, Burgess Publishing Co, 273 pp.
5. Benitez, T, Rincon, MA, Limon, MC & Codon, CA 2004, 'Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains', *International microbiology* 7, pp. 249-60.
6. Chehri, K, Saeed, TJ, Kasa, RNR, Saeed, A & Baharuddin S 2010, 'Occurrence of *Fusarium* spp. and Fumonisin in stored wheat grains marketed in Iran', *Toxins*, vol. 2, pp. 2816-23.
7. Dwiastuti, ME & Fitriyanti, PD 2013, 'Exploration of *Trichoderma* spp. and fungal pathogen that causes strawberry anthracnose and examine of *in vitro* antagonistic activity', *Paper on International Tropical Horticulture Conference*, Yogya 2-4 Oktober 2013, pp. 17.

8. Gultom, JM 2008, *Pengaruh pemberian beberapa jamur antagonis dengan berbagai tingkat konsentrasi untuk menekan perkembangan jamur Phytiium sp. penyebab rebah kecambah pada tanaman tembakau (Nicotiana tabaccum L.)*, diunduh 10 Agustus 2010, <<http://repository.usu.ac.id.pdf>>.
9. Iriarte, LE, Sosa, MC & Reybet, GE 2011, 'Effect of biofumigation with cabbage to control *Fusarium oxysporum* in the soil', *Argentina RIA*, vol. 37, no. 3, pp. 4-9.
10. Mukarlina, Siti, KD & Reny, R 2010, 'Uji antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap *Fusarium* spp. penyebab penyakit layu pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) secara *In Vitro*', *Jurnal Fitomedika*, vol. 7, no. 2, pp. 80-5.
11. Nohemi, C, Jose, A & Alfredo, H 2012, '*Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal', *Microbiology*, no. 158, pp. 3-16.
12. Nurhayati 2011, 'Infeksi *Fusarium* sp. patogen lapuk batang pada berbagai umur bibit karet', *Prosiding Semirata Bidang Ilmu-ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat Tahun 2011*, pp. 312-5.
13. Phillips, D & Hossein, G 2008, 'Strawberry root and crown rot disease survey 2005 and 2006 seasons'. *Departement of Agriculture and Food Government of Western Australia. Bulletin 4747*, pp. 72 - 83.
14. Purwantisari, S & Rini, BH 2009, 'Uji antagonisme jamur patogen *Phytophthora infestans* penyebab penyakit busuk daun dan umbi tanaman kentang dengan menggunakan *Trichoderma* spp. isolat lokal', *BIOMA*, vol. 11, no. 1, pp. 24-32.
15. Singh, PK & Vijay, K 2011, 'Biological control of *Fusarium* wilt of *Chrysanthemum* with *Trichoderma* and botanicals', *J. Agric Tech.*, vol. 7, no. 6, pp. 1603-13.
16. Siti, H, Muhamad, DU, Yulia, P & Suwandi 2006, 'Kerapatan dan viabilitas spora *Beauveria bassiana* (BALS.), akibat subkultur dan pengayaan media, serta virulensinya terhadap Larva *Plutella xylostella* (LINN.)', *J. HPT Tropika*, vol. 6, no. 2, pp. 70-8.
17. Sudantha, IM & Abdul LA 2011, 'Uji efektivitas beberapa jenis jamur endofit *Trichoderma* spp. isolat lokal NTB terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* penyebab penyakit busuk batang pada bibit vanili', *Crop Agro*, vol. 4, no. 2, pp. 64-73.
18. Sudewa, KA, Suprpta, DN & Mahendra, MS 2008, 'Residu pestisida pada sayuran kubis (*Brassica oleracea* L.) dan kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) yang dipasarkan di pasar Badung Denpasar', *Ecotrophic*, vol. 4, no. 2, pp. 125-30.
19. Sulistyorini, M & Sulistyowati L 1995, 'Antagonisme jamur *Trichoderma* sp. dengan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense pada tanaman pisang di rumah kaca', *Prosiding Kongres Nasional XVIII dan Seminar Ilmiah PFI Mataram*, pp. 572-6.
20. Talanca, AH, Soenartiningih & Wakman W, 1998, 'Daya hambat jamur *Trichoderma* spp. pada beberapa jenis jamur patogen', *Risalah Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan XI PEI, PFI, dan HPTI*, Sulawesi Selatan, Maros, pp. 317-22.
21. Ullio, L 2004, *Strawberry disease control guide*, Agfact H3.3.1 third ed. District Horticulturist Elizabeth Macarthur Agricultural Institute, Camden. pp. 123.
22. Yuliarni, FF, Suharjo, Bagyo, Y & Otto, E 2010, 'Patogenisitas kapang entomopatogen isolat Kalimantan Barat terhadap *Lepidoshapes beckii* Newman hama tanaman jeruk', Skripsi, Universitas Brawijaya Malang.