

AKTIVITAS ANTAGONISME *IN VITRO* *Trichoderma harzianum* DAN *Trichoderma pseudokoningii* TERHADAP PATOGEN LODOH *Pinus merkusii*¹⁾

In Vitro Antagonistic Activity of *T. harzianum* and *T. pseudokoningii* against Damping off Pathogens of *P. merkusii*

Achmad¹⁾, S. Hadi²⁾, S. Harran³⁾, E. Gumbira Sa'id⁴⁾, B. Satiawiharja⁵⁾, dan/and M. Kosim Kardin⁶⁾

¹⁾Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan IPB, Jl. Lingkar Akademik Kampus IPB Darmaga kotak pos 168 Bogor 16680, telp. dan faks. (0251) 8626886, e-mail: deptsilvik@ipb.ac.id atau achmadrm@yahoo.com

²⁾ Guru Besar pada Fakultas Kehutanan IPB (almarhum)

³⁾ Staf pengajar pada Fakultas MIPA IPB (purnabakti)

⁴⁾ Guru Besar pada Fakultas Teknologi Pertanian IPB

⁵⁾ Staf pengajar pada Fakultas Teknologi Pertanian IPB

⁶⁾ Peneliti Utama pada Balitbio Badan Litbang Pertanian Deptan (purnabakti)

Naskah masuk : 12 Januari 2010 ; Naskah diterima : 6 November 2010.

ABSTRACT

In vitro study on the biological control of damping-off of *Pinus merkusii* was done during February 1995 - April 1997 at Forest Protection Laboratory, Faculty of Forestry, Bogor Agricultural University. The pathogens, i.e. *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*, were isolated from seed and sprout stick base cut of damping-off infected *P. merkusii* seedling by direct planting technique. Fungi antagonists, i.e. *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma pseudokoningii*, were isolated from seed and rhizosphere soil of damping-off infected pine seedlings. Result of antagonistic test by direct method showed that *T. harzianum* retarded *F. oxysporum* growth up to 28.75 % on PDA and 27.33 % on MEA. *T. harzianum* also retarded *R. solani* growth up to 11.88 % on PDA and 9.38 % on MEA. *T. pseudokoningii* retarded *F. oxysporum* growth up to 24.38% on MEA and 13.96% on PDA. *T. pseudokoningii* also retarded *R. solani* growth up to 8.75% on PDA and 9.37% on MEA. The two antagonists fungi produced chitinase, and *T. harzianum* degraded chitin of the medium more intensive than *T. pseudokoningii*. Antagonistic mechanisms that play role are the mycoparasitism, i.e. coiling and clamping *R. solani* hyphae by *T. harzianum* and *T. pseudokoningii* and penetration of *R. solani* hyphae by *T. harzianum*, and antibiosis allegedly by the involvement of chitinase of the two antagonistic fungi.

Keywords: *Pinus merkusii*, *in vitro* antagonism, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pseudokoningii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*

ABSTRAK

Studi pengendalian hayati *in vitro* terhadap serangan patogen lodoh pada semai *Pinus merkusii* telah dilakukan di laboratorium Perlindungan Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor dari bulan Februari 1996 hingga April 1997. Perolehan fungi patogenik penyebab lodoh dilakukan melalui isolasi dari benih dan dari potongan pangkal batang kecambah *P. merkusii* yang menunjukkan gejala terserang lodoh dengan teknik tanam langsung. Fungi antagonis diisolasi dari benih dan tanah yang diambil dari daerah perakaran semai *P. merkusii* yang terserang lodoh. Hasil uji antagonisme dengan metode langsung menunjukkan bahwa *Trichoderma harzianum* menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* hingga 28.75 % dan 27.33 % berturut-turut pada PDA dan MEA, sedang terhadap *R. solani* penghambatannya sebesar 11.88 % dan 9.38 % berturut-turut pada PDA dan MEA. Penghambatan *T. pseudokoningii* terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* pada MEA mencapai 24.38%, sedang pada PDA sebesar 13.96%. terhadap *R. solani*. *T. pseudokoningii* menghambat hingga 8.75% dan 9.37% berturut-turut pada PDA dan MEA. Kedua jenis fungi antagonis menghasilkan kitinase, dan *T. harzianum* lebih intensif mendegradasi kitin pada medium dibanding *T. pseudokoningii*. Mekanisme antagonistik yang berperan adalah mikoparasitisme yaitu pelilitan dan penjepitan hifa *R. solani* berturut-turut oleh *T. harzianum* dan *T. pseudokoningii* serta

penetrasi hifa *R. solani* oleh hifa *T. harzianum*, dan antibiosis yang diduga melibatkan aktivitas kitinase kedua jenis fungi antagonis.

Kata kunci: *Pinus merkusii*, antagonisme *in vitro*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pseudokoningii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*

I. PENDAHULUAN

Pinus merkusii Jungh. et de Vriese merupakan salah satu jenis pohon utama asli Indonesia yang disarankan ditanam pada pembangunan hutan tanaman industri (HTI). Jenis tanaman ini disamping dapat menghasilkan kayu untuk bahan bangunan, bahan korek api, terpentin dan gondorukem, juga di manfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pulp untuk menghasilkan kertas.

Pembangunan HTI yang berimplikasi dengan penanaman pohon sejenis pada skala luas menuntut tersedianya bibit berkualitas tinggi dalam jumlah yang cukup. Serangan patogen lodoh yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* dan *Rhizoctonia solani* dapat merupakan satu di antara beberapa penyebab utama berkurangnya jumlah semai yang disediakan. Intensitas serangan lodoh sangat bervariasi dan dapat mencapai 100% (Suharti *et al.*, 1991).

Perlindungan semai *P. merkusii* terhadap patogen lodoh dapat terjadi melalui faktor semainya sendiri, dalam hal ini berkaitan dengan ketahanan, ataupun melalui manipulasi kondisi lingkungan. Fenomena di lapangan menunjukkan bahwa ketahanan semai *P. merkusii* terhadap penyakit lodoh makin meningkat dengan bertambahnya umur. Perubahan sifat yang terjadi secara alami dengan bertambahnya umur tersebut diduga berkaitan dengan peningkatan ketahanan semai terhadap penyakit lodoh.

Perlindungan semai *P. merkusii* melalui manipulasi faktor lingkungan dapat dilakukan dengan pengendalian patogen secara hayati yang pada akhir-akhir ini mendapat perhatian besar. Lodoh merupakan penyakit pada semai pinus yang disebabkan oleh patogen tular tanah. Oleh karena itu pengendalian hayati dapat efektif mengendalikan penyakit tersebut dan hasilnya dapat berjangka panjang, bahkan permanen, serta tidak mengakibatkan polusi atau gangguan bagi kesehatan manusia dan hewan (Bruehl, 1987).

Pengendalian hayati dilakukan antara lain melalui introduksi antagonis yang dapat menghambat patogen dan kolonisasinya pada rizosfer. Penghambatan tersebut terjadi melalui mekanisme antagonistik yang antara lain melibatkan peran enzim dan metabolit lain yang

di hasilkan antagonis. Fungi antagonis *Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp. dilaporkan mampu menghambat patogen lodoh (Baker dan Cook, 1974). Di Indonesia, upaya pengendalian hayati penyakit lodoh pada *P. merkusii* yang disebabkan oleh *Fusarium* sp., *Pythium* sp., dan *Rhizoctonia* sp. menggunakan fungi antagonis *Trichoderma* sp. diteliti oleh Sudjud (1983). Hasilnya menunjukkan bahwa fungi antagonis mampu menghambat ketiga patogen lodoh tersebut antibiosis.

Mekanisme pengendalian hayati dapat terjadi dalam bentuk antibiosis, kompetisi, dan mikoparasitisme (Baker dan Cook, 1974). Antibiosis adalah antagonisme yang diperantarai oleh metabolit spesifik atau non-spesifik, atau oleh agensia lisis, enzim, senyawa folatil, atau zat beracun (toksin) lainnya yang dihasilkan oleh mikroba (Fravel, 1988). Kompetisi biasanya terjadi terhadap nutrisi dan ruang tumbuh atau faktor-faktor pertumbuhan penting tertentu lainnya. Interaksi mikoparasitik secara umum dibedakan ke dalam dua tipe, yaitu tipe biotrofik dan tipe nekrotrofik. Kebanyakan interaksi mikoparasitik yang mempengaruhi struktur bertahan patogen tular tanah adalah tipe nekrotrofik (Lockwood, 1988).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari efektivitas penghambatan *in vitro* fungi antagonis *T. harzianum* dan *T. pseudokoningii* terhadap pertumbuhan patogen lodoh *R. solani*, dan *F. oxysporum* serta mekanisme penghambatan yang terjadi.

II. BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Perlindungan Hutan Fahutan IPB dari Februari 1996 hingga April 1997. Penelitian diawali dengan penyediaan inokulum fungi melalui isolasi dan seleksi isolat, kemudian dilanjutkan dengan perlakuan terhadap isolat terpilih sesuai tujuan tiap tahap kegiatan penelitian.

Perolehan fungi patogenik penyebab lodoh dilakukan melalui isolasi dari benih dan dari potongan pangkal batang kecambah *P. merkusii* yang menunjukkan gejala terserang lodoh dengan teknik tanam langsung. Isolasi dari benih

dilakukan dengan menanam benih secara langsung pada media agar air dan PDA (*Potato Dextrose Agar*). Benih yang ditanam adalah benih yang permukaannya tidak disterilkan maupun yang disterilkan terlebih dahulu dengan merendaminya dalam larutan NaOCl 1% selama 2-5 menit dan dibilas dengan air steril satu kali.

Isolasi dari pangkal batang dilakukan dengan prosedur berikut : potongan pangkal batang yang terserang patogen lodoh dicuci dengan air steril dalam labu Erlenmeyer, kemudian permukaannya disterilkan dengan merendam dalam larutan NaOCl 1% selama dua menit dan dibilas dengan air steril tiga kali, serta selanjutnya dikeringkan dengan cara meletakkannya dalam cawan petri bersih yang telah dialasi kertas saring steril. Potongan pangkal batang tersebut kemudian ditanam pada media agar air dan PDA dan diinkubasi pada suhu kamar. Setelah patogen tumbuh, kemudian isolat dimurnikan. Dua isolat dari isolat-isolat patogen lodoh yang diperoleh yang paling kuat virulensinya, yaitu yang menimbulkan persentase semai pinus mati terbesar, digunakan pada percobaan selanjutnya.

Fungi antagonis diisolasi dari benih dan tanah yang diambil di daerah perakaran semai *P. merkusii* yang terserang lodoh. Isolasi dari benih dilakukan bersama-sama dengan isolasi fungi patogen lodoh. Isolasi fungi dari tanah dilakukan dengan cara mengambil contoh tanah sebanyak 10 g kering udara yang ditempatkan dalam gelas piala, kemudian ke dalamnya ditambahkan air destilata hingga mencapai volume 100 ml (pengenceran 1 : 10). Suspensi dikocok, kemudian dituang ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml dan dikocok kembali. Secara aseptik diambil 10 ml dari suspensi tersebut dan diencerkan dengan 90 ml air destilata steril (pengenceran 1 : 100). Selanjutnya, dari suspensi yang telah diencerkan tersebut dibuat seri pengenceran 1 : 1000, dan 1 : 10000 dengan menambah air destilata steril. Dari tiap tingkat pengenceran, dituangkan 1 ml suspensi ke media agar air dan PDA yang telah ditambah antibiotik kemisetin 50 ppm dalam cawan petri secara aseptik. Cawan petri beserta isinya kemudian ditempatkan pada suhu kamar selama 24 jam, miselia yang tumbuh dipotong kemudian dipindahkan ke medium PDA yang baru, dan selanjutnya biakan fungi dimurnikan.

Berdasarkan pemurnian dan uji antagonistik, dua isolat *Trichoderma* sp. dipilih untuk digunakan pada tahap percobaan selanjutnya. Isolat *Trichoderma* sp. yang pertama

memiliki karakteristik sebagai berikut : hifa berukuran diameter 4-6 μm , fialospora membulat dengan permukaan licin berukuran 2.5-3 x 3-4 μm , fialid berukuran 9-12 x 3-4 μm , dan klamidospora berukuran diameter 9-13 μm . Fialospora bulat dengan permukaan licin merupakan karakteristik *Trichoderma harzianum* (Rifai, 1969). Sedangkan karakteristik isolat *Trichoderma* sp. yang kedua adalah : hifa berukuran diameter 3- 5 μm , fialospora lonjong, berukuran 3.5-4 x 2-2.5 μm , fialid berukuran 6-9 x 3-3.5 μm , dan klamidospora berukuran diameter 6-9 μm . Biakannya menunjukkan pewarnaan kekuningan hingga kuning pada PDA yang merupakan karakteristik *Trichoderma pseudokoningii* (Rifai, 1969).

Pengujian antagonisme dengan metode langsung pada media padat dilakukan terhadap kombinasi pasangan isolat fungi patogen dan antagonis. Media yang digunakan adalah PDA dan MEA (*Malt Extract Agar*), dengan mengikuti prosedur yang diterangkan Marx (1969).

Potongan koloni antagonis dan patogen ditanam pada media PDA dan MEA dalam cawan petri pada saat yang sama, dengan jarak antara koloni 5 cm. Potongan koloni tersebut diambil dari biakan murni antagonis atau patogen berumur 5 hari dengan menggunakan bor gabus diameter 6 mm. Cawan petri beserta isinya kemudian ditempatkan pada suhu kamar. Pengujian dilakukan dalam tiga ulangan.

Peubah yang diamati adalah presentase penghambatan fungi patogen oleh fungi antagonis dan lebar zona hambatan. Presentase penghambatan (p) dihitung dengan persamaan (1) (Fokkema 1973 dalam Skidmore, 1976). Pada persamaan ini, p menunjukkan presentase penghambatan, r1 adalah jari-jari koloni fungi patogen yang tumbuh berlawanan arah terhadap fungi antagonis, sedang r2 adalah jari-jari koloni fungi patogen yang tumbuh ke arah fungi antagonis. Lebar zona hambatan adalah lebar zona antara kedua ujung koloni fungi, diukur pada hari ke lima setelah fungi patogen ditanam.

$$P = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Pengamatan mikroskopik miselia pada daerah pertemuan antara dua koloni yaitu fungi antagonis dan fungi patogen dilakukan untuk mengetahui mekanisme penekanan terhadap patogen yang mungkin terjadi. Uji kualitatif produksi kitinase fungi antagonis dilakukan dengan menumbuhkan kedua jenis fungi tersebut

pada media kitin agar (Atlas, 1993). Adanya produksi kitinase ditandai dengan adanya perubahan media yang awalnya putih keruh menjadi transparan. Hal ini menunjukkan adanya konsumsi kitin oleh fungi antagonis karena fungi tersebut menghasilkan kitinase.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji antagonisme dengan metode langsung menunjukkan bahwa *Trichoderma harzianum* menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* hingga 28.75 % dan 27.33 % berturut-turut pada PDA dan MEA, sedang terhadap *Rhizoctonia solani* penghambatannya sebesar 11.88 % dan 9.38 % berturut-turut pada PDA dan MEA (Tabel 1).

Antagonisme antara *T. harzianum* dengan kedua jenis fungi patogen menimbulkan terbentuknya zona hambat, baik pada PDA maupun MEA. Lebar zona hambatan terhadap koloni *F. oxysporum* mencapai 5.8 mm dan 6.4 mm berturut-turut pada PDA dan MEA. Zona tersebut lebih lebar dibanding yang terbentuk pada antagonisme antara fungi antagonis yang sama dengan *R. solani*, yaitu hanya selebar 2.4 mm dan 1.6 mm berturut-turut pada PDA dan MEA (Tabel 1).

Penghambatan *T. pseudokoningii* terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* pada MEA mencapai 24.38%, sedang pada PDA sebesar 13.96%. Terhadap *R. solani*, *T. pseudokoningii* menghambat hingga 8.75% dan 9.37% berturut-turut pada PDA dan MEA (Tabel 2)

Table (Table) 1. Penghambatan pertumbuhan *in vitro* *F. oxysporum* dan *R. solani* oleh *T. harzianum* pada PDA dan MEA (*In vitro growth inhibition of F. oxysporum and R. solani by T. harzianum on PDA and MEA*)

Fungi patogen (Pathogenic fungi)	Media (Medium)	Penghambatan (Inhibition) (%) ¹⁾	Lebar zona hambatan (Width of inhibition zone) (mm) ¹⁾
<i>F. oxysporum</i>	PDA	28.75 ± 4.79	5.8 ± 0.64
	MEA	27.33 ± 8.03	6.4 ± 0.95
<i>R. solani</i>	PDA	11.88 ± 2.39	2.4 ± 0.48
	MEA	9.38 ± 3.14	1.6 ± 0.48

¹⁾ nilai pada tiap kolom peubah : rata-rata ± simpangan baku (values in each column: average ± standard deviation)

Table (Table) 2. Penghambatan pertumbuhan *in vitro* *F. oxysporum* dan *R. solani* oleh *T. pseudokoningii* pada PDA dan MEA (*In vitro growth inhibition of F. oxysporum and R. solani by T. pseudokoningii on PDA and MEA*)

Fungi patogen (Pathogenic fungi)	Media (Medium)	Penghambatan (Inhibition) (%) ¹⁾	Lebar zona hambatan (Width of inhibition zone) (mm) ¹⁾
<i>F. oxysporum</i>	PDA	13.96 ± 5.76 ¹⁾	0.0 ²⁾ ± 0.00 ¹⁾
	MEA	24.38 ± 3.14	5.5 ± 0.95
<i>R. solani</i>	PDA	8.75 ± 3.23	0.0 ²⁾ ± 0.48
	MEA	9.37 ± 2.39	1.5 ± 0.82

1) nilai pada tiap kolom peubah : rata-rata ± simpangan baku (values in each column: average ± standard deviation)

2) pertumbuhan fungi patogen terhambat tetapi tidak terbentuk zona hambatan antar kedua koloni (the growth of the pathogen was inhibited but inhibition zone between colonies was not formed)

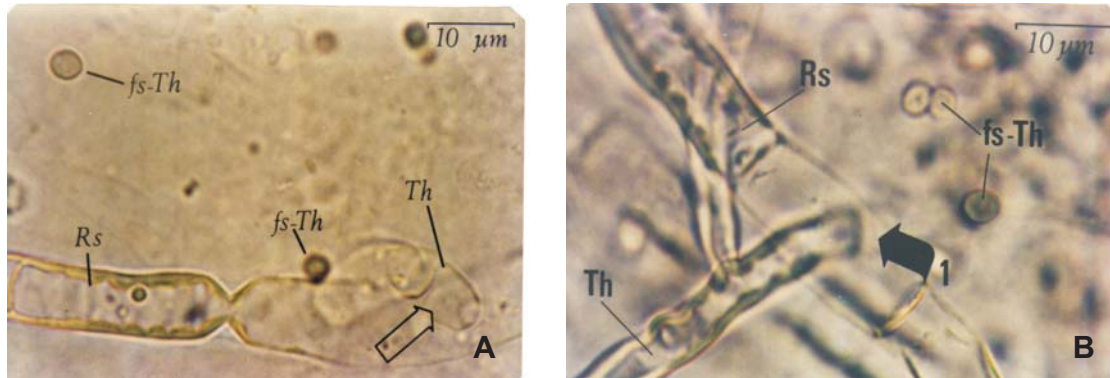
Pada antagonisme antara kedua jenis fungi patogen dengan *T. pseudokoningii*, terbentuknya zona hambatan tergantung pada media yang digunakan. Antagonisme *T. pseudokoningii* dengan *F. oxysporum* pada PDA tidak terbentuk zona hambatan, akan tetapi pada MEA terbentuk selebar 5.5 mm (Tabel 2). Fenomena yang sama juga ditemukan pada antagonisme *T. pseudokoningii* dengan

R. solani, yaitu pada PDA tidak terbentuk zona hambatan akan tetapi pada MEA terbentuk selebar 1.5 mm (Tabel 2). Kemampuan antagonistik kedua jenis fungi antagonis juga ditunjang oleh pertumbuhannya yang lebih pesat dibanding fungi patogen pada PDA maupun MEA.

Hasil pengamatan mikroskopik miselia pada daerah pertemuan antara kedua koloni

menunjukkan bahwa hifa *T. harzianum* tumbuh melilit hifa *R. solani*. Disamping itu terjadi penetrasi oleh hifa *T. harzianum* dan penjepitan

oleh hifa *T. pseudokoningii* terhadap hifa *R. solani* (Gambar 1).



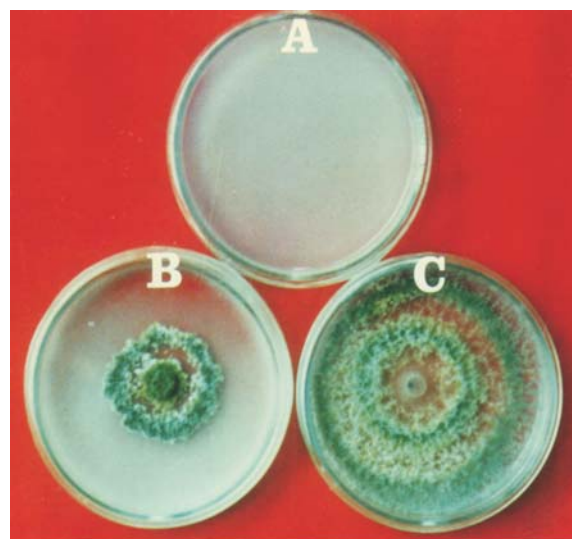
Gambar (Figure) 1. Mikrograf daerah pertemuan koloni antagonis patogen. A: pelilitan hifa *R. solani* oleh hifa *T. harzianum*. Th: *T. harzianum*, Rs: *R. solani*, fs-Th: fialospora *T. harzianum*, tanda anak panah: pelilitan hifa. B: Penetrasi hifa *R. solani* oleh hifa *T. harzianum* mengakibatkan isi sel hifa *R. solani* kosong. Th: *T. harzianum*, Rs: *R. solani*, fs-Th: fialospora *T. harzianum*, tanda anak panah 1: penetrasi hifa (Micrographs of antagonist - pathogens colony meeting area. A: hyphae coiling of *R. solani* by *T. harzianum*. Th: *T. harzianum*, Rs: *R. solani*, fs-Th: phialospora of *T. harzianum*, arrows mark: hyphae coiling. B: Penetration of hyphae of *R. solani* by *T. harzianum* resulted in the contents of cells of *R. solani* empty. Th: *T. harzianum*, Rs: *R. solani*, fs-Th: phialospora of *T. harzianum*, arrows mark 1: hyphae penetration)

Hasil pengujian kualitatif menunjukkan bahwa *T. harzianum* dan *T. pseudokoningii* menghasilkan kitinase. Hal tersebut ditunjukkan oleh berubahnya media agar kitin yang pada awalnya putih keruh menjadi transparan, karena terjadi degradasi kitin pada media oleh enzim yang dihasilkan kedua jenis fungi (Gambar 2). *T. harzianum* lebih intensif mendegradasi kitin pada media dibanding *T. pseudokoningii*, dan hal tersebut menunjukkan aktivitas kitinasenya yang lebih tinggi. Hal ini juga menunjukkan bahwa pertumbuhan *T. harzianum* pada agar kitin lebih cepat dibanding pertumbuhan *T. pseudokoningii*.

Wells (1988) mengemukakan bahwa *Trichoderma* merupakan antagonis yang potensial. Hasil penelitian mendukung pendapat tersebut. *T. harzianum* maupun *T. pseudokoningii* mampu menghambat pertumbuhan koloni kedua jenis fungi patogen berdasarkan hasil percobaan *in vitro* pada PDA maupun MEA. Kemampuan tersebut menunjukkan bahwa kedua jenis fungi antagonis diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai agensia dalam pengendalian hayati penyakit lodoh.

Terdapat tiga mekanisme dalam antagonisme antar jasad renik, yaitu antibiosis,

kompetisi, dan mikoparasitisme (Baker and Cook, 1974). Ketiga mekanisme tersebut teramati pada antagonisme yang melibatkan kedua jenis *Trichoderma* yang diuji dalam penelitian ini.



Gambar (Figure) 2. Degradasi kitin pada media agar kitin oleh fungi antagonis. A: kontrol media agar kitin, B: biakan *T.*

pseudokoningii pada 6 hari setelah tanam (hst), C: biakan *T. harzianum* pada 6 hst, degradasi kitin pada media mengakibatkan media menjadi transparan sehingga warna merah latar belakang obyek terlihat (*Degradation of chitin on chitin agar medium by fungal antagonists. A: chitin agar as control, B: cultured T. pseudokoningii at 6 days after planting (dap) and C: cultured T. harzianum at 6 dap on chitin agar, the degradation of chitin in the medium resulted in a transparent of the medium so that the red color of the background objects become visible*)

Wells (1988) mengemukakan bahwa *Trichoderma* merupakan antagonis yang potensial. Hasil penelitian mendukung pendapat tersebut. *T. harzianum* maupun *T. pseudokoningii* mampu menghambat pertumbuhan koloni kedua jenis fungi patogen berdasarkan hasil percobaan *in vitro* pada PDA maupun MEA. Kemampuan tersebut menunjukkan bahwa kedua jenis fungi antagonis diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai agensia dalam pengendalian hayati penyakit lodoh.

Terdapat tiga mekanisme dalam antagonisme antar jasad renik, yaitu antibiosis, kompetisi, dan mikoparasitisme (Baker and Cook, 1974). Ketiga mekanisme tersebut teramati pada antagonisme yang melibatkan kedua jenis *Trichoderma* yang diuji dalam penelitian ini.

Terbentuknya zona hambatan pada media padat merupakan indikasi bekerjanya mekanisme antibiosis. Pada antagonisme pada media padat yang melibatkan *T. harzianum*, zona hambatan terbentuk baik pada PDA maupun MEA, akan tetapi zona hambatan pada antagonisme yang melibatkan *T. pseudokoningii* terbentuk hanya pada MEA, sedang pada PDA tidak. Hal tersebut disamping menunjukkan bahwa macam metabolit yang dihasilkan tiap jenis antagonis berbeda, juga menunjukkan bahwa pengaruh metabolit yang dihasilkan *T. pseudokoningii* pada PDA tersentralisir.

Tersentralisirnya pengaruh metabolit penghambat pertumbuhan patogen pada PDA dilaporkan Achmad (1991). Dikemukakannya bahwa antagonisme *in vitro* fungi mikoriza *Rhizopogon* sp. dengan *Fusarium* sp. maupun *Rhizoctonia* sp. membentuk zona hambatan pada agar MMN, akan tetapi pada PDA zona tersebut tidak terbentuk. Fenomena yang sama juga

dilaporkan oleh Darusman (1996) yang mempelajari potensi antagonistik fungi mikoriza *Pisolithus tinctorius* dan *Sclodorma columnare* terhadap *Fusarium* sp. dan *Rhizoctonia* sp.

Menurut Wells (1988), mekanisme antibiosis dapat melibatkan metabolit beracun (toksin) atau enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh fungi antagonis. Dikemukakan bahwa *Trichoderma* sp. menghasilkan toksin trikhordermin yang merupakan suatu senyawa sesquiterpen, dermadin yaitu asam berbasa tunggal yang aktif terhadap fungi dengan kisaran yang luas dan meliputi bakteri gram positif dan gram negatif, serta dua senyawa peptida yang bersifat antifungal sekaligus anti bakterial.

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa *T. harzianum* maupun *T. pseudokoningii* menghasilkan kitinase. *T. harzianum* lebih efektif mendegradasi kitin pada media karena media menjadi lebih transparan dibanding media *T. pseudokoningii*. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa aktivitas kitinase *T. harzianum* lebih tinggi dibanding aktifitas kitinase *T. pseudokoningii*.

Uji produksi kitinase tersebut dilakukan secara kualitatif, sehingga hasilnya tidak dapat menunjukkan macam kitinase yang dihasilkan kedua jenis fungi antagonis, mengingat kitinase merupakan enzim kompleks. Harman *et al.* (1993) mengidentifikasi enam macam enzim kitinase yang berbeda pada *T. harzianum*. Dikemukakan bahwa kompleksitas dan diversitas sistem enzim tersebut secara komplementer, sehingga tercapai efisiensi maksimal melawan spektrum luas fungi patogen yang mengandung kitin. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Lorito *et al.* (1993) bahwa enzim kitinolitik *T. harzianum* secara biologi lebih aktif dibanding enzim yang sama dari sumber lainnya, dan lebih efektif melawan fungi pada kisaran yang lebih luas. Peran kitinase pada antagonisme *T. harzianum* dengan *R. solani* dilaporkan oleh Benhamou dan Chet (1993). Dikemukakan bahwa degradasi kitin fungi patogen terjadi secara bertahap, dan hal tersebut menunjukkan dihasilkannya kitinase secara terus-menerus oleh fungi antagonis.

Disorganisasi struktur dinding sel *R. solani* tampaknya merupakan kejadian awal yang mengakibatkan ketidakseimbangan osmotik internal, yang kemudian memicu kerusakan intraseluler seperti kebocoran membran plasma dan agregasi sitoplasma. Sivan and Chet (1989) mempelajari degradasi dinding sel fungi oleh enzim kitinolitik dari *T. harzianum*. Dilaporkan bahwa bila dinding sel hifa *F. oxysporum*

digunakan sebagai sumber karbon pada media biakan *T. harzianum*, maka fungsi antagonis tersebut akan mengeluarkan kitinase dan 1,3-B-glukanase ke dalam media.

Tertekannya pertumbuhan fungi patogen menunjukkan mekanisme kompetisi dalam antagonisme, dalam hal ini fungi antagonis lebih kompetitif dalam memanfaatkan ruang tumbuh dan nutrisi. Lebih kompetitifnya fungi antagonis ditunjang oleh pertumbuhannya yang lebih cepat dibanding fungi patogen pada media yang sama. Keberadaan *Trichoderma* yang melimpah pada tanah-tanah pertanian di seluruh dunia merupakan bukti terbaik bahwa fungi tersebut merupakan kompetitor yang sangat baik untuk tumbuh dan nutrisi (Wells, 1988).

Mekanisme mikoparasitisme ditunjukkan oleh hasil pengamatan mikroskopik pada daerah pertemuan miselia *T. harzianum* dan *R. solani* yang antara lain memperlihatkan pelilitan dan penetrasi hifa *R. solani* oleh hifa *T. harzianum*. Benhamou dan Chet (1993) mengemukakan bahwa pada proses mikoparasitisme *T. harzianum* terhadap *R. solani*, pelilitan hifa *T. harzianum* di sekeliling hifa *R. solani* merupakan fenomena yang mengawali rusaknya hifa patogen.

Elad *et al.* (1983) mempelajari mikoparasitisme *T. harzianum* dan *T. hamatum* terhadap *R. solani* dan *Sclerotium rolfsii*. Dikemukakan bahwa hifa *T. harzianum* memasuki *R. solani* melalui lubang yang dibuatnya pada hifa inang. Lisis parsial terjadi pada bagian hifa inang yang dililit oleh hifa antagonis. Dikemukakan pula bahwa dalam antagonisme tersebut terdapat indikasi *T. harzianum* mensekresikan B-1,3-glukanase. Fenomena molekuler yang dikemukakan adalah terjadinya pengendapan bahan-bahan fibril ekstraseluler antara hifa yang saling berinteraksi, terakumulasinya organel-organel parasit pada sel-sel yang tengah memarasit, dan terbentuknya matriks selubung yang membungkus hifa yang tengah menembus.

Dari kedua jenis fungi antagonis yang diuji, *T. harzianum* memiliki potensi antagonistik lebih kuat dibanding *T. pseudokoningii*. Hal tersebut karena *T. harzianum* menghambat pertumbuhan fungi patogen dengan persentase penghambatan lebih tinggi, mengakibatkan terbentuknya zona hambatan lebih besar, dan menghasilkan kitinase yang lebih efektif mendegradasi kitin dibanding *T. pseudokoningii* untuk sifat-sifat yang sama.

IV. KESIMPULAN

1. Fungi antagonis *T. harzianum* dan *T. pseudokoningii* secara *in vitro* mampu menghambat pertumbuhan kedua jenis fungi patogen lodoh *R. solani* dan *F. oxysporum*. *T. harzianum* lebih kuat menghambat pertumbuhan kedua jenis patogen dibanding *T. pseudokoningii*.
2. Mekanisme antagonistik yang berperan adalah mikoparasitisme yang ditunjukkan oleh pelilitan hifa *R. solani* oleh *T. harzianum* dan penjepitan hifa *R. solani* oleh *T. pseudokoningii*, serta penetrasi hifa *R. solani* oleh hifa *T. harzianum*, dan antibiosis yang diduga melibatkan aktivitas kitinase kedua jenis fungi antagonis.
3. Kedua jenis fungi antagonis menghasilkan kitinase, dan *T. harzianum* lebih intensif mendegradasi kitin pada medium dibanding *T. pseudokoningii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. 1991. Kemampuan *Rhizopogon* sp. untuk Perlindungan Hayati terhadap Penyebab Penyakit Lodoh pada *Pinus merkusii*. Tesis Magister Sains. Program Pascasarjana IPB, Bogor. 68 hlm.
- Atlas, R.M. 1993. *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo. 1079 p.
- Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. W.H. Freeman and Co., San Fransisco. 433 p.
- Benhamau, N. and I. Chet. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani* : parasitic process. *Phytopathology* 83:1062-1071.
- Bruehl, G.W. 1987. *Soil Borne Plant Pathogens*. MacMillan Publ. Co., New York. 368 p.
- Darusman, L.K. 1996. Telaah Biokimiawi Proses Asosiasi *Shorea selanica* dan *Scleroderma columnare* : Suatu Pendekatan Biosintesis. Disertasi Doktor. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor. 173 hlm.
- Elad, Y., I. Chet, P. Boyle, and Y. Henis. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* :

- scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology* 73 : 85-88
- Flentje, N.T. 1965. Pathogenesis by Soil Fungi, p. 255-268. In K.N. Baker and W.C. Snyder (Eds.) *Ecology of Soil Borne Plant Pathogens. Prelude to Biological Control.* University California Press, Berkeley, Los Angeles.
- Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26:75-81.
- Harman, G.E., C.K. Hayes, M. Lorito, R.M. Broadway, A. Di Pietro, C. Petrebauer and A. Tronsmo. 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum* : purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83:313-318.
- Lockwood, J.L. 1988. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26:93-121.
- Lorito, M., G.E. Harman, C.K. Hayes, R.M. Broadway, A. Tronsmo, S.L. Woo and A. Di Pietro. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum* : antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83 : 303-307.
- Manan, S. 1976. Silvikultur. Proyek Pengembangan Peningkatan Perguruan Tinggi IPB, Bogor. 188 hlm.
- Marx, D.H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine root to pathogenic infections I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59: 153-163.
- Marx, D.H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases, p. 350-381. In G.C. Marks and T.T. Kozlowski (Eds.) *Ectomycorrhizae: their Ecology and Physiology.* Academic Press, New York and London.
- Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Paper no. 16. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England.
- Siven, A. and I. Chet. 1989. Degradation of fungal cell by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *J. General Microbiol.* 135 : 675-682.
- Skidmore, A.M. 1976. Interactions in relation to biological control of plant pathogens, p. 507-528. In C.H. Dickinson and T.F. Preece (Eds.) *Microbiology of Aerial Plant Surfaces.* Academic Press, London.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach.* McGraw-Hill Inc., Tokyo. 633 p.
- Suharti, M., T. Hardi, dan R.S.B. Rianto. 1991. Mengenal beberapa hama, penyakit penting pada hutan tanaman industri. Makalah di sampaikan pada Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas HTI Melalui Upaya Pengendalian Hama dan Penyakit secara Terpadu. Fahutan IPB - Dephut - RI, Bogor, 31 Juli 1991.
- Sudjud, D.A. 1983. Tinjauan antagonisme antara *Trichoderma* sp. dengan *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., dan *Fusarium* sp. dalam rangka usaha pengendalian/penekanan secara biologis terhadap kerugian akibat *dumping-off*. Lembaga Penelitian Hutan. Bogor.
- Tang, J., J.S. Zhou, K.X. Wang, and W.L. Kiu. 1988. Effects of ectomycorrhizal fungi on *dumping-off* of pines. *Forest Pest and Disease* (4) : 20-21.
- Wells, H.D. 1988. *Trichoderma* as a biocontrol agent, p. 71-82. In K.G. Mukerji and K.L. Kang (Eds.) *Biocontrol of Plant Diseases*, vol. I. CRC Press Inc., Boca Raton - Florida.