

EKSPLORASI KAPANG ANTAGONIS DAN KAPANG PATOGEN TANAMAN APEL DI LAHAN PERKEBUNAN APEL PONCOKUSUMO

Galuh S. Pradana¹, Tri Ardyati¹ & Luqman Qurata Aini²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

²Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang

e-mail: gs_pradana14@yahoo.com

ABSTRAK

Serangan kapang patogen mampu menyebabkan kerusakan dan pembusukan buah apel khususnya apel dari Poncokusumo, Malang. Pengendalian kapang patogen menggunakan pestisida menyebabkan terjadinya resistensi kapang patogen. Penelitian ini bertujuan mengetahui spesies kapang antagonis dan kapang patogen yang terdeteksi serta mengetahui tingkat dan mekanisme penghambatan kapang antagonis terhadap pertumbuhan kapang patogen dari lahan perkebunan apel Poncokusumo. Isolasi kapang antagonis dilakukan menggunakan sampel tanah *top soil* 10 cm, sedangkan isolasi kapang patogen berasal dari sampel organ tanaman yang terserang penyakit dengan melakukan sterilisasi menggunakan larutan NaOCl 5 %. Isolat kapang antagonis diuji tingkat penghambatannya terhadap kapang patogen tanaman apel dengan menggunakan metode *dual culture* dan *slide culture*. Persentase penghambatan masing-masing kapang antagonis dianalisis secara statistik menggunakan *one-way ANOVA*. Hasil eksplorasi didapatkan tiga genus kapang patogen yaitu *Venturia* sp., *Colletotrichum* sp., dan *Monilia* sp., sedangkan kapang antagonis yang didapat antara lain *Trichoderma* sp.(I), *Trichoderma* sp.(II), *Trichoderma* sp.(III), *Aspergillus* sp.(I), dan *Aspergillus* sp.(II). Penghambatan terbaik ditunjukkan kapang antagonis *Trichoderma* sp.(I) yaitu menghambat *Venturia* sp. sebesar 50,51%, *Colletotrichum* sp. sebesar 73,30%, dan *Monilia* sp. sebesar 66,97%. Hasil pengamatan mikroskopis diketahui bahwa mekanisme penghambatan kapang antagonis terhadap kapang patogen menggunakan metode *slide culture* diketahui bahwa isolat Genus *Trichoderma* yaitu kompetisi dan parasitisme, sedangkan isolat Genus *Aspergillus* dengan antibiosis.

Kata kunci: antagonis, eksplorasi, patogen, penghambatan.

ABSTRACT

Pathogenic molds attack can causes damaged and rotten to apples, especially apples from Poncokusumo, Malang. Controlling pathogenic molds by using pesticide that causing resistance to pathogenic molds. The research was carried out to exploration species of antagonist and pathogenic molds that detected and determine percentage and mechanism of inhibition of antagonist molds against pathogenic molds from Poncokusumo's apple field. Isolation of antagonistic molds was done using soil samples 10 cm top soil, whereas isolation of pathogenic molds was carried out from infected apples fruit sample that previously sterilized using 5 % NaOCl. The percentage inhibition of antagonistic molds isolates against pathogenic molds from apples was assayed using dual culture and slide culture method. Each percentage inhibition of antagonist molds against pathogenic mold were analyzed using one-way ANOVA. Exploration resulted three genus of pathogenic molds such as *Venturia* sp., *Colletotrichum* sp., and *Monilia* sp.. Whereas, species antagonist molds obtained were as *Trichoderma* sp. (I), *Trichoderma* sp. (II), *Trichoderma* sp. (III), *Aspergillus* sp. (I), and *Aspergillus* sp. (II). The highest percentage inhibition of antagonistic mold resulted by *Trichoderma* sp. (I) with percentage inhibition against *Venturia* sp. of 50.51 %, *Colletotrichum* sp. of 73.30 %, and *Monilia* sp. of 66.97 %. Results of microscopic observations for mechanism of inhibition of antagonist molds against pathogenic molds using slide culture method resulted that Genus *Trichoderma* isolates were competition and parasitism, whereas Genus *Aspergillus* isolates were antibiosis.

Key words: antagonistic, exploration, inhibition, pathogenic

1. Pendahuluan

Poncokusumo merupakan wilayah Kabupaten Malang yang memiliki komoditi salah satunya apel. Tanaman apel tergolong tanaman yang rentan terserang penyakit. Penyakit yang menyerang tanaman apel yang kapang patogen menjadi kendala petani apel. Kapang patogen yang menyerang tanaman apel antara lain: *Venturia* sp., *Physalospora* sp., *Septoria* sp., *Phyllosticta* sp., *Monochaetia* sp., *Cercospora* sp., *Mycosphaerella* sp., *Entomosporium* sp.,

Coniothyrium sp., *Sphaceloma* sp., *Cristulariella* sp. dan *Hendersonia* sp.. Adanya kapang tersebut mampu merusak ataupun membunuh organ tanaman mulai dari akar, batang, daun, bunga dan buah [1]. Patogen apel sangat sulit untuk dibasmi dikarenakan mampu memproduksi struktur dorman (*resting*) seperti sclerotia, chlamydospora atau oospora untuk bertahan pada kondisi lingkungan tidak menguntungkan [2,3].

Fungisida digunakan sebagai pengendali tetapi berdampak terjadinya resistensi kapang

patogen. Biaya operasional penggunaan fungisida cukup tinggi menyebabkan beberapa petani apel beralih profesi [4]. Penggunaan fungisida yang tidak dikelola dengan baik menyebabkan adanya residu fungisida pada buah apel yang telah dipanen yang bertahan hingga masa penyimpanan. Residu fungisida tersebut membahayakan kesehatan konsumen buah apel. Adanya residu fungisida tersebut dikarenakan senyawa benomil fungisida tidak terhidrolisis secara sempurna [5].

Adanya fakta tersebut dibutuhkan strategi dalam pengendalian kapang patogen. Pengendalian kapang patogen dapat menggunakan agen hayati yaitu kapang antagonis. Spesies *Trichoderma* diketahui mampu menekan infeksi akar yang disebabkan oleh patogen tular tanah seperti *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. dan *Pythium* sp. [2]. Penekanan yang terjadi dapat melalui proses kompetisi, parasitisme, antibiosis, atau mekanisme lain yang merugikan bagi patogen [6, 7]. Penelitian ini bertujuan mengetahui spesies kapang antagonis dan kapang patogen yang terisolasi serta mengetahui tingkat dan mekanisme penghambatan kapang antagonis terhadap pertumbuhan kapang patogen dari lahan perkebunan apel Poncokusumo.

2. Metode

2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

2.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di lahan perkebunan apel Poncokusumo, Malang. Sampel tanah diambil menggunakan bor tanah dengan kedalaman 0-10 cm. Sedangkan untuk memperoleh patogen, sampel yang diambil berupa buah apel yang terserang penyakit. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam *cool box container*.

2.3 Isolasi Kapang Antagonis & Kapang Patogen

Tanah 25 gram dimasukkan ke dalam 225 ml aquades steril dan diencerkan sampai lima kali pengenceran. Sedangkan isolasi kapang patogen didapatkan dari organ tanaman yang terserang penyakit dengan menggunakan modifikasi metode Bajpai dkk [8]. Sampel buah dipotong dan direndam pada larutan NaOCl 5 % selama 1

menit selanjutnya dibilas menggunakan aquades steril selama 1 menit dan dilakukan tiga kali pembilasan. Media tumbuh yang digunakan yaitu media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditambah 50 ppm *streptomycin*. Inkubasi media dilakukan selama 72 jam. Setelah didapatkan isolat dilakukan identifikasi menggunakan *lactophenol cotton blue*.

2.4 Uji Patogenisitas

Metode yang digunakan merupakan modifikasi metode infeksi luar oleh Kwon dkk [9]. Buah apel sehat dilukai dan diinokulasikan suspensi konidia jamur patogen yang terisolasi pada permukaan buah. Inkubasi buah selama 2-3 minggu pada tempat dengan kelembaban relatif 100 % pada suhu 30 °C.

2.5 Skrining Kapang Antagonis

Spora kapang patogen ditumbuhkan bersama dengan spora kapang tanah yang didapatkan dalam satu cawan petri. Spora dididat dengan metode *monospora*. Inkubasi dilakukan selama tiga hari. Lima kapang tanah terbaik dipilih sebagai kandidat kapang antagonis.

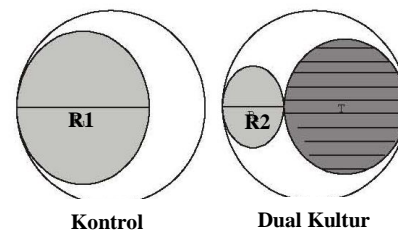
2.6 Uji Tingkat Antagonis Kapang Antagonis terhadap Kapang patogen

Metode yang digunakan mengacu pada metode dual kultur Sibounnavong [10]. Spora kapang antagonis ditumbuhkan bersama dengan spora kapang patogen dalam satu media PDA. Spora ditumbuhkan dengan jarak 3 cm dari tepi cawan. Inkubasi dilakukan selama 5 hari. Kapang patogen ditumbuhkan pada media tanpa kapang antagonis sebagai kontrol. Persentase hambatan pertumbuhan dihitung dengan persamaan [11]:

$$\% \text{ Hambatan} = (R1 - R2) / R1 \times 100$$

R1 = diameter koloni dari patogen media kontrol

R2 = diameter koloni dari patogen pada media dual kultur



Gambar 1. Uji dual kultur kapang antagonis dan kapang patogen

Pengamatan mekanisme penghambatan kapang antagonis terhadap kapang patogen dilakukan dengan pembuatan *slide culture*. Spora kapang patogen ditumbuhkan pada sisi potongan

media PDA seluas 1 cm² dengan tinggi 2 mm sementara kapang antagonis pada sisi lainnya. Inkubasi dilakukan selama 48-72 jam selanjutnya dilakukan pengamatan pada daerah kontak.

2.7 Analisis Statistika

Analisis data tingkat antagonis menggunakan *one-way ANOVA* ($P = 0,05$). Uji alternatif menggunakan Brown-Forsythe dengan Games-Howell sebagai *post hoc* ($p=0,05$).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolat Kapang Patogen dan Kapang Antagonis

Eksplorasi kapang patogen didapatkan *Venturia* sp. dari sampel buah apel yang terserang penyakit kudis (*apple scab*), *Colletotrichum* sp. dari sampel buah apel yang terserang penyakit busuk buah (*bitter rot*), dan *Monilia* sp. dari buah apel yang terserang penyakit busuk pahit (*apple rot*). Eksplorasi kapang tanah yang dilakukan dari sampel tanah, didapatkan 26 kapang tanah dan terpilih lima kapang antagonis terbaik yaitu *Trichoderma* sp.(I), *Trichoderma* sp.(II), *Trichoderma* sp.(III), *Aspergillus* sp.(I), dan *Aspergillus* sp.(II).

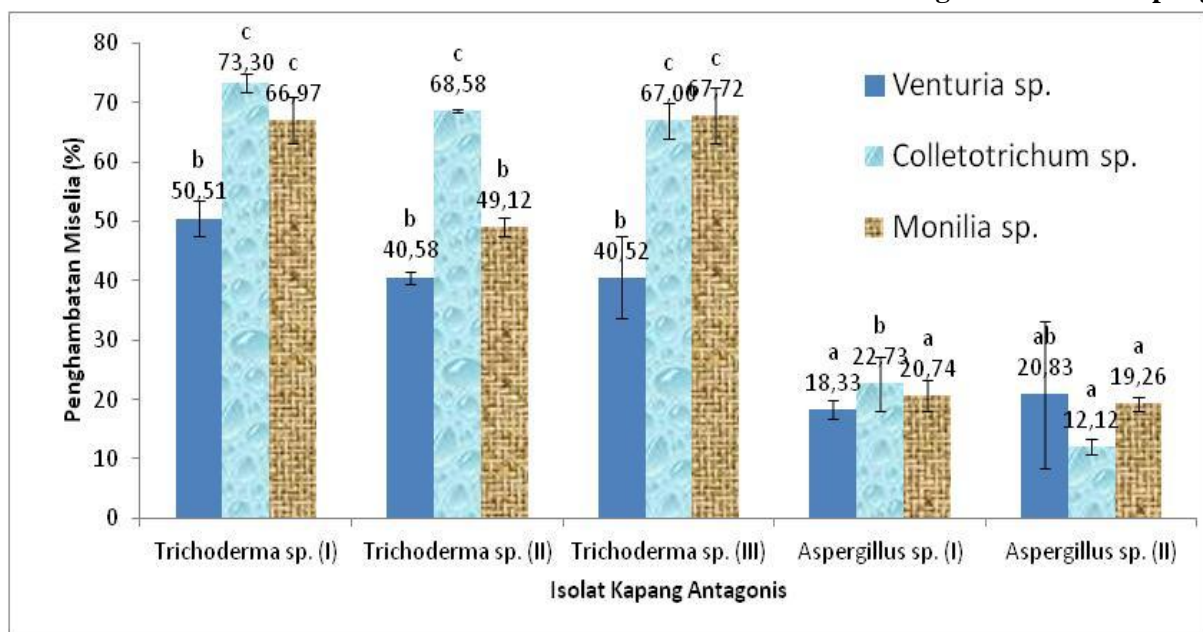
3.2 Hasil Uji Antagonis Isolat Kapang Antagonis terhadap Isolat Kapang Patogen

Hasil *dual culture* menunjukkan bahwa isolat dari genus *Trichoderma* memiliki kemampuan tumbuh yang cepat. Kemampuan menimbulkan kompetisi ruang dan nutrisi sehingga kapang patogen tidak dapat tumbuh maksimal dan bentuk koloni tidak sempurna. Sementara ketiga kapang patogen ketika ditumbuhkan bersama isolat dari genus *Aspergillus* akan terlihat zona bening

di antara koloni kapang antagonis dengan kapang patogen. Zona bening yang terbentuk diduga akibat adanya senyawa penghambat yang dihasilkan kapang antagonis.

Analisis ragam data penghambatan oleh kapang antagonis terhadap kapang patogen menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan isolat kapang antagonis berpengaruh terhadap persentase penghambatan pertumbuhan masing-masing kapang patogen baik *Venturia* sp., *Colletotrichum* sp. maupun *Monilia* sp.. Berdasarkan uji antagonis yang dilakukan *Trichoderma* sp. (I) memiliki penghambatan terbaik untuk menghambat masing-masing kapang patogen. Hasil uji antagonis pada penghambatan *Venturia* sp., isolat *Trichoderma* sp. (I) memiliki rata-rata persentase penghambatan terbesar yaitu sebesar 50,51 %, sedangkan persentase terkecil ditunjukkan isolat *Aspergillus* sp. (I) sebesar 18,33 % (**Gambar 2**). Isolat *Trichoderma* sp. (I) juga memiliki rata-rata penghambatan terbesar pada penghambatan *Colletotrichum* sp. sebesar 73,30 %, sedangkan persentase terkecil ditunjukkan isolat *Aspergillus* sp. (II) sebesar 12,12 % (**Gambar 2**). Hasil uji antagonis penghambatan *Monilia* sp., isolat *Trichoderma* sp. (I) memiliki rata-rata persentase penghambatan terbesar sebesar 66,97 %, sedangkan persentase terkecil ditunjukkan isolat *Aspergillus* sp. (II) sebesar 19,26 % (**Gambar 2**). Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh kecepatan pertumbuhan miselia koloni dan sporulasi kapang antagonis ketika diujikan dengan umur yang sama.

3.3 Mekanisme Penghambatan Kapang

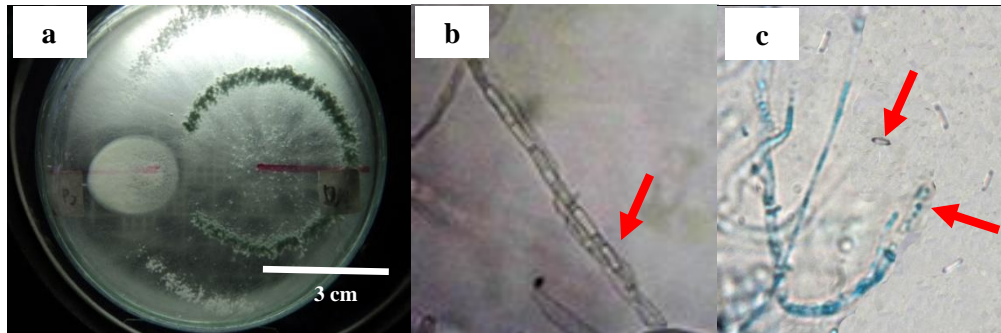


Gambar 2. Rata-rata persentase penghambatan kelima isolat kapang antagonis terhadap pertumbuhan kapang patogen *Venturia* sp., *Colletotrichum* sp., dan *Monilia* sp. Perbandingan data berdasarkan penghambatan kapang antagonis pada masing-masing kapang patogen

Antagonis terhadap Kapang Patogen

Isolat kapang dari Genus *Trichoderma* teramati memiliki mekanisme penghambatan yaitu kompetisi nutrisi dan ruang tumbuh serta parasitisme (**Gambar 3ab**). Parasitisme yang terjadi berupa hifa dari ketiga isolat tersebut mampu melilit hifa kapang patogen.

lainnya [15]. Senyawa antifungal *Aspergillus* memiliki bentuk kristal putih yang teridentifikasi jenis fenolik yaitu 3 - [3 - hydroxyl - 4 - (3 - methyl - but - 2 -enyl) - phenyl] - 5 - (4 - hydroxybenzyl) - 4 - methyl - dihydrofuran - 2 (3H) - one [16]. Senyawa lain yang dihasilkan oleh *Aspergillus* antara lain aspulvinone, asam



Gambar 3. Mekanisme penghambatan kapang antagonis terhadap kapang patogen

(a) mekanisme kompetisi ruang tumbuh yang terjadi antara koloni kapang antagonis dengan kapang patogen; (b) mekanisme parasitisme oleh kapang antagonis dengan melakukan penetrasi dan melilitkan pada hifa kapang patogen (perbesaran 400x); (c) mekanisme antibiosis dengan mensintesis senyawa metabolit berupa kristal berbentuk jarum yang diduga mampu menyebabkan hifa patogen lisis (perbesaran 400x)

Trichoderma mampu melakukan penetrasi dan pelilitan terhadap kapang patogen. Proses lebih selanjutnya terjadi sekresi enzim ekstraseluler seperti kitinase, β -glucanase dan proteinase melubangi dinding sel kapang patogen dan mengambil nutrisi yang tersedia [12]. Adanya mekanisme penghambatan tersebut menyebabkan kapang patogen tidak tumbuh maksimal seperti kontrol. *Trichoderma* telah lama diketahui sebagai agen pengendali yang efektif terhadap fungi patogen pada tanaman. Spesies dari genus *Trichoderma* yang mampu menjadi biokontrol antara lain, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koeningii*, dan *Trichoderma viride* telah terbukti efektif dalam menekan patogen tanaman [13, 14].

Isolat kapang dari Genus *Aspergillus* teramati memiliki mekanisme peng-hambatan yaitu antibiosis. Kedua isolat kapang antagonis tersebut mampu menghasilkan senyawa tertentu berupa kristal berbentuk jarum yang diduga mampu menekan pertumbuhan kapang patogen dan menyebabkan lisisnya hifa patogen (**Gambar 3c**). *Aspergillus* merupakan salah satu jenis kapang tanah yang mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang produktif [15, 16]. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Aspergillus* bersifat netral, polar, dan memiliki gugus fenol. Fenol ini mampu mendenaturasikan protein pada dinding dan membran sel mikroba

asterric, asterriquinone, butyrolactone I, citrinin, emodin, geodin, itaconate, lovastatin, questrin dan asam terrecyclic [16].

Mekanisme antagonis pada mikroba dapat terjadi melalui tiga cara yaitu parasitisme secara langsung, antibiosis dengan menghasilkan metabolik sekunder yang bersifat toksin dan kompetisi dalam hal ruang dan kebutuhan nutrisi [1]. Adanya mekanisme antagonis menyebabkan kapang patogen tidak tumbuh maksimal seperti kontrol. Bentuk koloni kapang patogen tersebut menjadi tidak sempurna akibat adanya mekanisme antagonis.

4. Kesimpulan

Kapang antagonis yang didapat antara lain *Trichoderma* sp.(I), *Trichoderma* sp.(II), *Trichoderma* sp.(III), *Aspergillus* sp.(I), dan *Aspergillus* sp.(II) dan tiga isolat kapang patogen, antara lain *Venturia* sp., *Colletotrichum* sp., dan *Monilia* sp.. *Trichoderma* sp.(I) memiliki penghambatan tertinggi menghambat kapang patogen yaitu 50,51 % menghambat *Venturia* sp., 73,30 % menghambat *Colletotrichum* sp., serta 66,97 % menghambat *Monilia* sp.. Mekanisme penghambatan kapang patogen oleh kapang isolat dari Genus *Trichoderma* yaitu kompetisi dan parasitisme, sedangkan kapang isolat dari Genus *Aspergillus* melakukan penghambatan dengan antibiosis.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]Semangun, H.. 2007. **Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia (Edisi Kedua)**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- [2]Khan, M.O., dan S. Shahzad. 2007. Screening of *Trichoderma* Species for Tolerance of Fungicides. *Pak. J. Bot* 39(3): 945-951.
- [3]Sasnauskas, A., D. Gelvonauskiene, B. Gelvonauskis, V. Bendokas dan D. Banialis. 2006. Resistance to Fungal Diseases of Apple Cultivars and Hybrids in Lithuania. *Agr. Res.* 4 (Special issue): 349-352.
- [4]Donowarti, I., dan S. T. Winahyu. 2008. Analisis Ekonomi Produksi Apel di Desa Poncokusumo Kabupaten Malang. *PRIMORDIA* 4 (2): 150-156.
- [5]Purnama, H.. 1998. Residu Insektisida dan Fungisida dalam Buah Anggur, Apel, dan Per Impor. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [6]Boyd-Wilson, K.S.H., L.J. Magee, J.K. Hackett dan M. Walter. 2000. Testing Bacterial and Fungal Isolates for Biological Control of *Fusarium culmorum*. *N.Z. Plant Protect.* 53: 71-77.
- [7]Vaish, D.K. dan A.P. Sinha. 2006. Evaluation of Fungal Antagonists Against *Rhizoctonia solani* Causing Sheath Blight of Rice. *Indian J. Agric. Res.* 40 (2) : 79 – 85.
- [8]Bajpai, V. K., J. I. Yoon, S. W. Choi dan S. C. Kang. 2010. Isolation and Morphological Characterization of *Monilinia* spp. KV-27 Associated with Apple Anthracnose of Fuji Apples in Korea. *Plant Pathol. J.* 26 (2): 185-188.
- [9]Kwon, J., J. Kim, & W. Kim. 2011. First Report of *Rhizopus oryzae* as a Postharvest Pathogen of Apple in Korea. *Mycobiology* 39 (2): 140-142.
- [10]Sibounnavong, P., K. Soyong, C.C. Divina dan S.P. Kalaw. 2009. In-vitro biological activities of *Emericella nidulans*, a new fungal antagonist, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Agr. Technol.* 5 (1): 75-84.
- [11]Imtiaj, A. dan T.S. Lee. 2008. Antagonistic Effect of Three *Trichoderma* Species on the *Alternaria porri* of Onion Blotch. *WJAS* 4 (1): 13-17.
- [12]Matroudi, M.R., Zamani, dan M. Motallebi. 2009. Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. *Egypt. J. Biol.* 11: 37-44.
- [13]Gomathi, S., dan V. Ambikapathy. 2011. Antagonistic activity of fungi against *Pythium debaryanum* (Hesse) isolated from Chilli field soil. *Adv. Appl. Sci. Res.* 2 (4): 291-297.
- [14]Kalaiselvi, S., dan A. Panneerselvam. 2011. *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Sarocladium oryzae* causing sheath rot disease in Paddy. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 2 (1): 179-183.
- [15]Kasanah, N., Amini & Wahyono. 1998. Karakterisasi Senyawa Antimikroba Isolat *Aspergillus* sp. Hasil Isolasi dari Tanah. *Majalah Farmasi.* 9 (4): 166-173.
- [16]Awaad, A. S., A. A. Nabilah, dan M. E. Zain. 2012. New Antifungal Compounds from *Aspergillus terreus* Isolated from Desert Soil. *Phytother. Res.* 10: 1-6.