

Potensi Cendawan Asal *Hydrilla verticillata* Sebagai Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* dan *Ganoderma boninense*

Fungi from *Hydrilla verticillata* as Potential Biological Control Agents of *Fusarium oxysporum* and *Ganoderma boninense*

ASTRI ARIYANI, NAMPIAH SUKARNO*, SRI LISTIYOWATI

Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Diterima 12 Mei 2019/Disetujui 24 Juli 2019

Hydrilla verticillata is an aquatic weed, can build symbiosis and also become a substrate of freshwater fungi. Some of freshwater fungi that live in association with *H. verticillata* are pathogenic fungi which were potentially used as controller for *Fusarium oxysporum* and *Ganoderma boninense*. The use of pathogenic fungi as a biocontrol is not consistent in the field. Therefore, this research aimed to find new fungus candidates that are stronger and more consistent in controlling pathogenic fungi. Freshwater fungi were isolated from *H. verticillata*. Identification was based on morphological characters. Molecular analysis was carried out for freshwater fungi which had the highest inhibition percentage to pathogenic fungi. The antagonism test was conducted by dual culture method. The mechanism of interaction of hyphae was observed under a microscope. Freshwater fungi was derived from *H. verticillata* stem are *Aspergillus* section *flavi*, *Gliomastix* sp., and *Talaromyces* sp. Antagonism test results showed that all fungi could inhibit the growth of pathogenic fungi. Based on molecular analysis used ITS region showed *Talaromyces* sp. could not identify to the level of species so that additional genes were required, namely beta-tubulin gene, in order to further identify *Talaromyces* sp.

Key words: *Hydrilla verticillata*, *Fusarium oxysporum*, *Ganoderma boninense*, antagonist test

PENDAHULUAN

Hydrilla verticillata ialah tanaman yang hidupnya terendam di dalam air, memiliki kemampuan tumbuh yang cepat, dapat hidup pada berbagai kondisi pH, sedikit cahaya matahari, dan nutrisi (Langeland 1996; Alix *et al.* 2009). *Hydrilla verticillata* dapat bersimbiosis dan juga menjadi substrat dari cendawan air tawar. Beberapa contoh cendawan tersebut ialah *Botryosporium* sp., *Cercosporidium* sp., *Chaetophoma* sp., *Diplodia* sp., *Pyrenochaeta* sp. sebagai patogen, sedangkan *Cladosporium* sp. dan *Penicillium* sp. dilaporkan sebagai saprofit (Shabana dan Charudattan 1996). Cendawan patogen yang hidup di air atau yang berasosiasi dengan *H. verticillata*, berpotensi sebagai pengendali cendawan patogen (Shearer 2016).

Fusarium oxysporum ialah cendawan patogen penyebab penyakit layu fusarium. Penyakit ini menjadi masalah utama dan merugikan pada tanaman pisang terutama di Indonesia (Daryanto 2004). Penyakit layu fusarium sulit dikendalikan karena memiliki struktur bertahan berupa klamidospora. Klamidospora ialah

spora aseksual berdinding tebal yang dihasilkan oleh hifa atau konidium. Klamidospora dapat bertahan di tanah bekas tanaman inang yang sudah mati sebagai saprofit dalam waktu tiga sampai empat tahun (Nelson 1993).

Ganoderma boninense ialah cendawan patogen penyebab busuk pangkal batang (BPB) di perkebunan kelapa sawit di Indonesia dan Malaysia. Cendawan patogen ini menyerang tanaman kelapa sawit muda maupun tua (Susanto *et al.* 2013). Penyakit BPB yang menyerang kelapa sawit ini sulit untuk dikendalikan karena penyakit BPB cepat berkembang dan sulit dideteksi pada awal perkembangannya serta dapat menyebabkan tanaman kelapa sawit menjadi layu dan mati dalam waktu relatif singkat (Ginting dan Maryono 2012).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengendalikan penyakit BPB dan layu fusarium, baik melalui perlakuan fisik, kimia maupun biologis. Penggunaan fungisida sintetik dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan *G. boninense*, akan tetapi residu fungisida yang dihasilkan juga berdampak buruk bagi lingkungan (Sa'id 1994). Penanggulangan menggunakan mikroorganisme antagonis sebagai pengendali hayati merupakan cara yang lebih baik karena ramah lingkungan, akan tetapi

*Penulis korespondensi:
E-mail: ipi.sukarno@gmail.com

penggunaan mikroorganisme sebagai pengendali cendawan patogen hingga saat ini belum konsisten di lapangan (Priwiratama *et al.* 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi cendawan yang berasosiasi dengan *H. verticillata* yang berpotensi sebagai agen pengendali unggul terhadap cendawan patogen *F. oxysporum* dan *G. boninense*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian. Bahan-bahan yang digunakan ialah *H. verticillata*, cendawan patogen uji, *Potato Dextrose Agar* (PDA), larutan shears (potasium asetat, akuades, gliserin, dan etanol 95%), etanol 70% dan 75%, NaOCl 1%, dan kloramfenikol 500 mg.

Isolasi Cendawan Asal *Hydrilla verticillata*. *H. verticillata* pada penelitian ini diperoleh dari Danau Wiratama Taman Buah Mekarsari, Cileungsi, Indonesia. Isolasi cendawan pada *H. verticillata* merujuk metode yang dilaporkan oleh Filip *et al.* (2003) dengan modifikasi. Bagian *H. verticillata* yang diisolasi ialah daun dan batang *H. verticillata* sehat dan sakit. Daun dan batang *H. verticillata* sehat dan sakit dipotong dengan ukuran $\pm 0.5 \times 0.5$ cm. Sampel disterilisasi permukaan dengan menggunakan etanol 75% selama 30 detik, NaOCl 1% selama 3 menit, dan etanol 70% selama 1 menit secara berurutan. Pembilasan dengan akuades steril sebanyak 3 kali dilakukan pada setiap perpindahan proses sterilisasi. Daun dan batang *H. verticillata* yang sudah disterilisasi permukaannya diletakkan pada kertas saring steril secara terpisah selama semalam dan diletakkan pada medium PDA yang mengandung antibiotik kloramfenikol. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Isolat yang tumbuh dimurnikan dengan memindahkan ke medium PDA segar tanpa antibiotik.

Identifikasi Morfologi Cendawan Asal *Hydrilla verticillata*. Identifikasi morfologi mengacu pada kunci identifikasi Seifert *et al.* (2011). Karakteristik morfologi yang digunakan untuk identifikasi morfologi di antaranya sekat pada hifa, struktur konidiofor, sel konidiogen, dan karakteristik spora.

Uji Antagonisme Cendawan Asal *Hydrilla verticillata* dengan Cendawan Patogen. Setiap isolat cendawan hasil isolasi dari *H. verticillata* diuji sifat antagonisnya terhadap cendawan patogen yaitu *F. oxysporum* dan *G. boninense* menggunakan metode biakan ganda (*dual culture*) (Skidmore dan Dickinson 1976). Isolat cendawan (\varnothing 1 cm) diletakkan pada medium PDA dengan jarak 3 cm dari tepi cawan Petri, kemudian cendawan patogen (\varnothing 1 cm) diletakkan berhadapan dengan isolat cendawan dengan jarak 3 cm dari isolat cendawan uji. Inkubasi dilakukan

selama pertumbuhan cendawan kontrol yaitu cendawan patogen tumbuh memenuhi cawan Petri. Persentase penghambatan terhadap pertumbuhan cendawan patogen oleh isolat cendawan uji dihitung berdasarkan rumus yang dilaporkan Fokkema (1978) sebagai berikut:

$$\text{Penghambatan pertumbuhan (\%)} = \frac{J_1 - J_2}{J_1} \times 100\%$$

Keterangan:

J_1 = Jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah berlawanan dengan tempat isolat cendawan uji

J_2 = Jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah tempat cendawan uji

Mekanisme Antagonis Cendawan Asal *Hydrilla verticillata* dengan Cendawan Patogen. Pengamatan mekanisme antagonis dilakukan secara mikroskopis dengan cara mengambil hifa di daerah kontak cendawan uji dan patogen, kemudian diletakkan di atas gelas objek yang telah diberi larutan shears kemudian ditutup menggunakan gelas penutup dan diamati di bawah mikroskop binokuler. Mekanisme interaksi yang terjadi antara cendawan patogen dan isolat cendawan uji didasarkan pada kriteria yang dilaporkan oleh Porter (1942), Skidmore dan Dickinson (1976) yaitu kompetisi, antibiosis, dan parasitisme.

Identifikasi Molekuler Cendawan Asal *Hydrilla verticillata*. Identifikasi molekuler hanya dilakukan pada isolat yang memiliki persentase hambatan tertinggi terhadap *F. oxysporum* dan *G. boninense*. Identifikasi molekuler menggunakan sekuen daerah ITS rDNA dengan primer ITS 1 dan ITS 4. Ekstraksi DNA menggunakan *ZR Fungal Bacterial DNA Kit* (Zymo Research). Amplifikasi daerah ITS rDNA dengan teknik PCR dilakukan menggunakan primer ITS 1 (*forward*) (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan ITS 4 (*reverse*) (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990). DNA hasil amplifikasi disekuensing menggunakan jasa perusahaan 1st Base, Malaysia menggunakan primer ITS 1 dan 4. Karakter molekuler berupa urutan basa nukleotida, dianalisis menggunakan perangkat lunak ChromasPro versi 1.7.5 dan analisis homologi menggunakan program BLAST-N di situs (www.ncbi.nlm.nih.gov). Sekuen yang dihasilkan kemudian disimpan di *GeneBank*. Sebanyak 52 sekuen pembanding diperoleh dari *GeneBank*, 1 di antaranya ialah outgroup (Tabel 1). Seluruh sekuen disejajarkan dengan menggunakan perangkat lunak *Muscle* dalam MEGA versi 5. Analisis filogenetik menggunakan metode *Maximum Likelihood* dengan 1000 *bootstrap* dilakukan dalam program MEGA versi 5.2 (Tamura *et al.* 2011).

Tabel 1. Daftar spesies yang digunakan dalam analisis filogenetik beserta nomor aksesinya *GenBanknya*

Ingroup/outgroup	No	Nama spesies	Nomor sampel	Nomor aksesinya
Ingroup	1	<i>Talaromyces pinophilus</i>	MC	MF683084
Ingroup	2	<i>Talaromyces pinophilus</i>	H6	KF751644
Ingroup	3	<i>Talaromyces pinophilus</i>	L22	JX684010
Ingroup	4	<i>Talaromyces pinophilus</i>	DI 16-141	LT558963
Ingroup	5	<i>Talaromyces pinophilus</i>	1-95	FJ795356
Ingroup	6	<i>Talaromyces pinophilus</i>	H4284	GU595046
Ingroup	7	<i>Talaromyces sayulitensis</i>	DTO 245H1	KJ775713
Ingroup	8	<i>Talaromyces sayulitensis</i>	DTO 245H2	KJ775714
Ingroup	9	<i>Talaromyces sayulitensis</i>	DTO 245H3	KJ775715
Ingroup	10	<i>Talaromyces pinophilus</i>	CBS 631.66	JN899382
Ingroup	11	<i>Talaromyces apiculatus</i>	CBS 312.59	JN899375
Ingroup	12	<i>Talaromyces aculeatus</i>	NFML CH62 5DcA	KM458839
Ingroup	13	<i>Talaromyces thailandensis</i>	CBS 133147	JX898041
Ingroup	14	<i>Talaromyces funiculosus</i>	CBS 272.86	JN899377
Ingroup	15	<i>Talaromyces macrosporus</i>	CBS 317.63	JN899333
Ingroup	16	<i>Talaromyces purpureogenus</i>	CBS 286.36	JN899372
Ingroup	17	<i>Talaromyces flavus</i>	CBS 225.66	JN899395
Ingroup	18	<i>Talaromyces indigoticus</i>	CBS 100534	JN899331
Ingroup	19	<i>Talaromyces rubicundus</i>	CBS 342.59	JN899384
Ingroup	20	<i>Talaromyces galapagensis</i>	CBS 751.74	JN899358
Ingroup	21	<i>Talaromyces intermedius</i>	CBS 152.65	JN899332
Ingroup	22	<i>Talaromyces calidicanus</i>	CBS 112002	JN899319
Ingroup	23	<i>Talaromyces duclauxii</i>	CBS 322.48	JN899342
Ingroup	24	<i>Talaromyces derxii</i>	CBS 412.89	JN899327
Ingroup	25	<i>Talaromyces stipitatus</i>	CBS 375.48	JN899348
Ingroup	26	<i>Talaromyces marneffeii</i>	CBS 388.87	JN899344
Ingroup	27	<i>Talaromyces angelicus</i>	CNU 100013	KF183638
Ingroup	28	<i>Talaromyces paucisporus</i>	CBM FA 0944	AB176603
Ingroup	29	<i>Talaromyces viridulus</i>	CBS 252.87	JN899314
Ingroup	30	<i>Talaromyces panamensis</i>	CBS 128.89	JN899362
Ingroup	31	<i>Talaromyces flavus</i>	CBS 310.38	JN899360
Ingroup	32	<i>Talaromyces siamensis</i>	CBS 475.88	JN899385
Ingroup	33	<i>Talaromyces cnidii</i>	DTO 270A4	KJ775729
Ingroup	34	<i>Talaromyces cnidii</i>	DTO 269I6	KJ775727
Ingroup	35	<i>Talaromyces cnidii</i>	DTO 269H8	KJ775724
Ingroup	36	<i>Talaromyces siamensis</i>	DTO 269I3	KJ775726
Ingroup	37	<i>Talaromyces euchlorocarpus</i>	CBM FA 0942	AB176617
Ingroup	38	<i>Talaromyces primulinus</i>	CBS 321.48	JN899317
Ingroup	39	<i>Talaromyces oumae-annae</i>	DTO 180B4	KJ775710
Ingroup	40	<i>Talaromyces oumae-annae</i>	DTO 269E8	KJ775720
Ingroup	41	<i>Talaromyces verruculosus</i>	DTO 129H4	KJ775698
Ingroup	42	<i>Talaromyces verruculosus</i>	DTO 129H5	KJ775699
Ingroup	43	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	DTO 179E4	KJ775706
Ingroup	44	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	DTO 179F1	KJ775707
Ingroup	45	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	DTO 179F6	KJ775708
Ingroup	46	<i>Talaromyces stollii</i>	CBS 408.93	JX315674
Ingroup	47	<i>Talaromyces ruber</i>	DTO193H6	JX315662
Ingroup	48	<i>Talaromyces aurantiacus</i>	CBS 314.59	JN899380
Ingroup	49	<i>Talaromyces muroii</i>	CBS 756.96	JN899351
Ingroup	50	<i>Talaromyces pinophilus</i>	IPBCC.18.1412	
Outgroup	51	<i>Trichomyces paradoxa</i>	CBS 788.83	JN899398

HASIL

Isolasi dan Identifikasi Morfologi Cendawan Asal *Hydrilla verticillata*. Tiga isolat cendawan berhasil diisolasi. Cendawan tersebut berasal dari batang tumbuhan *H. verticillata* yang terdiri atas 1 isolat berasal dari batang sehat dan 2 isolat berasal dari batang sakit. Berdasarkan pengamatan mikroskopis, cendawan yang berhasil diisolasi ialah cendawan anamorf yang membentuk hifa septat, menghasilkan konidia, dan

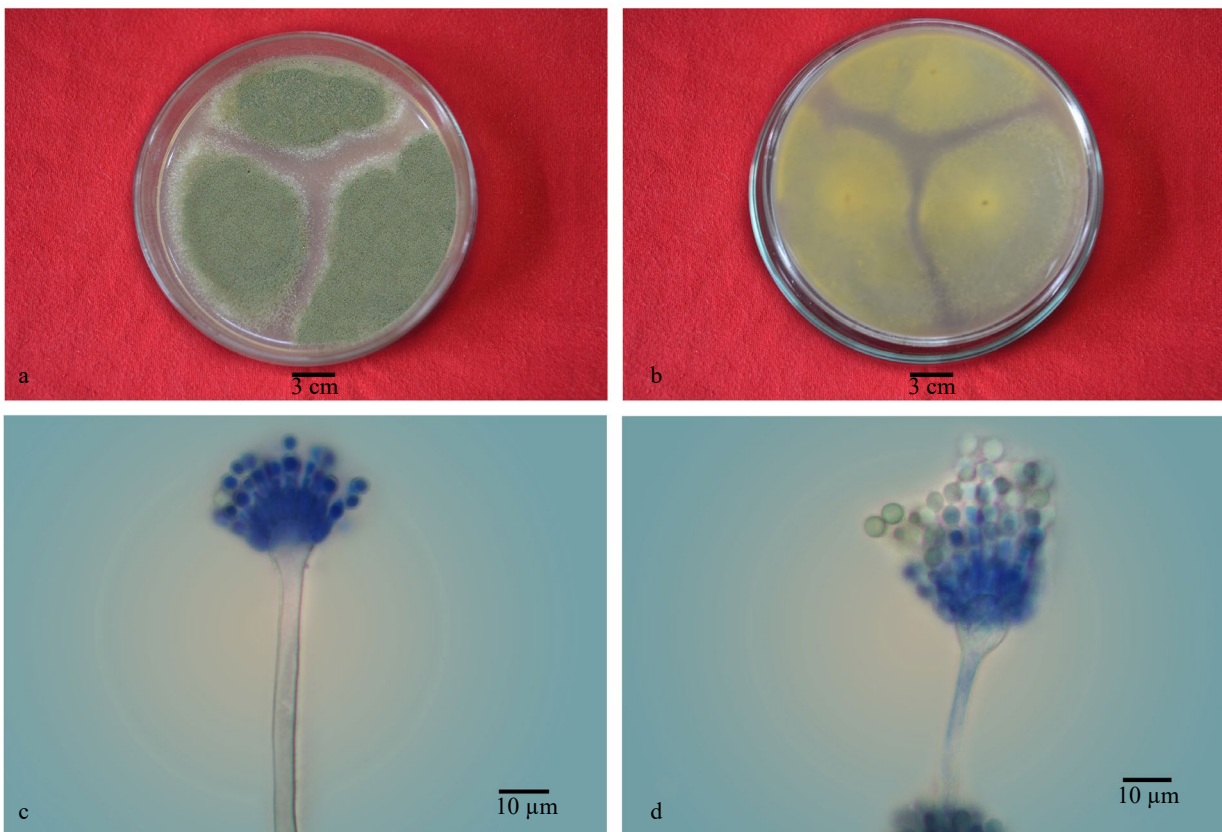
konidiofor. Berdasarkan karakteristik morfologi cendawan tersebut ialah *Aspergillus* kelompok *flavi*, *Gliomastix* sp., dan *Talaromyces* sp. Karakteristik morfologi cendawan disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1, 2, dan 3.

Uji Antagonisme Cendawan Asal *Hydrilla verticillata* dengan Cendawan Patogen. Semua cendawan asal *H. verticillata* memiliki kemampuan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan cendawan patogen *G. boninense* dan *F. oxysporum*.

Tabel 2. Karakteristik morfologi cendawan asal *Hydrilla verticillata* pada medium PDA

Kode isolat	Genus	Deskripsi
DKBS	<i>Aspergillus</i> kelompok <i>flavi</i>	Koloni tumbuh pada medium PDA dengan diameter koloni 17 mm pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari, membeledu, permukaan koloni teksturnya agak kasar. Warna koloni hijau tua dan ketika dibalik berwarna putih kekuningan. Konidiofor hialin, tidak bersekat. Vesikula membulat. Fialid berbentuk silinder, meruncing dibagian lehernya, membengkak, lalu meruncing kembali di pangkal. Konidia hialin, permukaan halus, membulat ($4 \times 2 \mu\text{m}$), tidak bersekat.
DLMB1	<i>Gliomastix</i> sp.	Koloni memiliki diameter 18.1 mm pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari, permukaan koloni mengapas. Warna koloni sebelumnya berwarna putih, setelah itu terdapat kumpulan masa spora berwarna hitam di tengah dan ketika dibalik berwarna putih. Lebar hifa vegetatif $43.7 \mu\text{m}$. Sel konidiogenus monofialid, meruncing di bagian ujung, muncul ke atas permukaan dari lilitan miselium yang membentuk ikatan tali dengan membentuk tekstur granula. Konidiofor memiliki panjang $2095.5 \mu\text{m}$, lebar bawah $163.7 \mu\text{m}$, tengah $126.4 \mu\text{m}$, ujung $86 \mu\text{m}$, tidak bercabang, hialin, ber dinding halus. Konidia ($10.3 \times 68.7 \mu\text{m}$) berantai, membulat, hialin, dinding konidia halus, tidak bersekat.
DLMB2	<i>Talaromyces</i> sp.	Diameter koloni mencapai 363.6 mm selama 7 hari pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Miselium muncul di permukaan medium, berwarna kuning pastel dan ketika dibalik berwarna cokelat kemerahan, teksturnya halus hingga membentuk seperti tali. Sporulasi jarang hingga cukup padat, sporulasi dimulai hari ketiga, pada hari keempat belas muncul tetesan eksudat merah. Konidiofor memiliki panjang $24.2 \mu\text{m}$, lebar pangkal konidiofor $1.9 \mu\text{m}$, meruncing di bagian ujung $1.7 \mu\text{m}$, bercabang lebih dari dua; cabang ($6.9 \times 2.7 \mu\text{m}$); metula ($7.5 \times 3.3 \mu\text{m}$). Fialid berbentuk labu ($10.3 \times 2.9 \mu\text{m}$), meruncing di bagian leher, terdapat tiga hingga empat fialid per metula. Konidia halus, membulat ($2.3\text{-}3.5 \times 2.5\text{-}4 \mu\text{m}$), tidak bersekat.

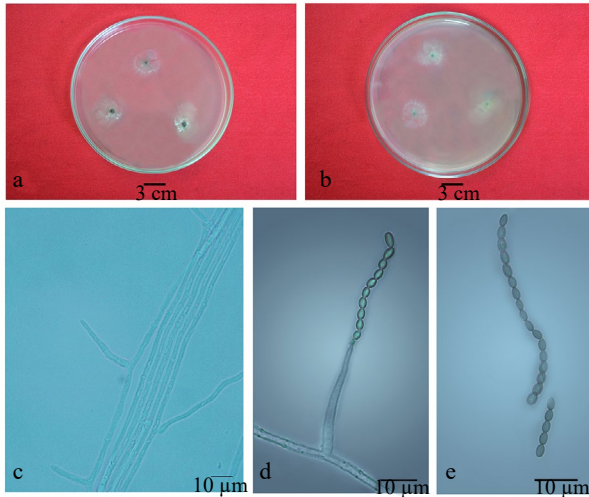
DLMB=batang *Hydrilla verticillata* mati; DKBS=batang *Hydrilla verticillata* sehat



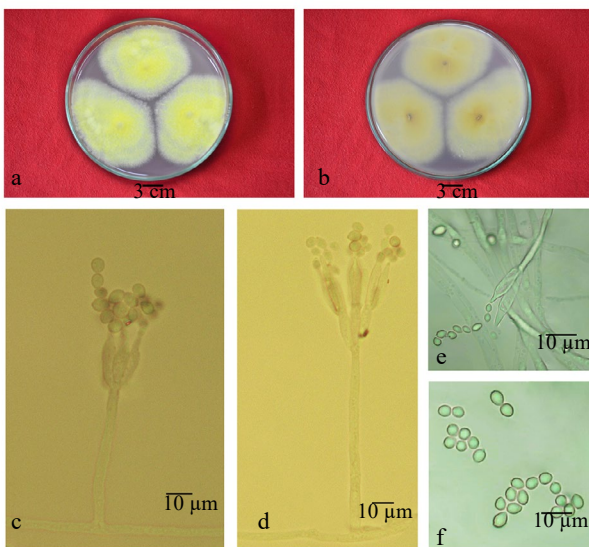
Gambar 1. Koloni *Aspergillus* sp. 2 pada medium PDA setelah inkubasi selama 7 hari pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ (a) tampak belakang (b) mikrograf konidiofor, vesikula membulat hingga bulat (c), metula terdiri dari 2-6 fialid, dan konidium (d) menggunakan pewarna katun biru

Analisis rancangan acak lengkap (RAL) terhadap persentase penghambatan cendawan asal *H. verticillata* dengan *F. oxysporum* dan *G. boninense* menunjukkan perbedaan yang signifikan. Berdasarkan analisis Duncan, *Talaromyces* sp. menghasilkan persentase penghambatan tertinggi, sedangkan *Aspergillus* kelompok *flavi* memiliki persentase penghambatan terendah. Persentase penghambatan yang melebihi 70% terhadap *G. boninense* maupun *F. oxysporum* merupakan isolat potensial untuk

mengendalikan cendawan patogen. *Talaromyces* sp. memiliki persentase penghambatan sebesar 87.8% terhadap *G. boninense* dan 87.5% terhadap *F. oxysporum* (Tabel 3). Isolat potensial lainnya yang dapat dijadikan sebagai pengendali hayati ialah *Gliomastix* sp. dengan nilai persentase penghambatan 84.2% terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* dan 70.4% terhadap *G. boninense* (Tabel 4). Hasil uji antagonisme *Talaromyces* sp., *Gliomastix* sp., dan *Aspergillus* kelompok *flavi* terhadap *F. oxysporum* dan *G. boninense* disajikan pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 2. Koloni *Gliomastix* sp. inkubasi 7 hari, suhu 28 ± 2°C pada medium PDA (a), konidiofor tegak (b), sel konidigen monofialid (c, e), konidia berantai (d)



Gambar 3. Koloni *Talaromyces* sp. inkubasi 7 x 24 jam, suhu 28 ± 2°C pada medium PDA tampak depan (a), tampak belakang (b). Konidiofor tegak (c), bercabang (d). Konidia berantai (e), permukaan halus, membulat (f)

Mekanisme Antagonis. Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa mekanisme penghambatan *Aspergillus* kelompok *flavi* terhadap *F. oxysporum* menyebabkan struktur hifa cendawan patogen menjadi tidak sehat ditandai dengan permukaan hifa yang kasar (Gambar 6). Pada daerah pertemuan antara cendawan uji dan patogen tidak ditemukan spora *F. oxysporum* akan tetapi banyak ditemukan klamidospora *F. oxysporum* (Gambar 6), sedangkan spora *Aspergillus* kelompok *flavi* terlihat mendominasi. Mekanisme penghambatan *Gliomastix* sp. terhadap *F. oxysporum* menyebabkan hifa keriting (Gambar 7). Penghambatan yang diakibatkan oleh *Talaromyces* sp. terhadap *F. oxysporum* mengakibatkan terbentuknya klamidospora (Gambar 8) dalam jumlah besar pada daerah pertemuan antara kedua hifa, sebaliknya spora cendawan uji mendominasi pada daerah tersebut. Berdasarkan hasil pengamatan mekanisme penghambatan *Aspergillus* kelompok *flavi* terhadap *G. boninense* secara mikroskopis, menunjukkan hifa cendawan patogen mengalami perubahan struktur, ditunjukkan dengan adanya embelan seperti duri (Gambar 6) dan hifa menjadi keriting (Gambar 6). Mekanisme penghambatan *Gliomastix* sp. terhadap *G. boninense* yang diamati secara mikroskopis menyebabkan hifa keriting (Gambar 7). Mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh *Talaromyces* sp.

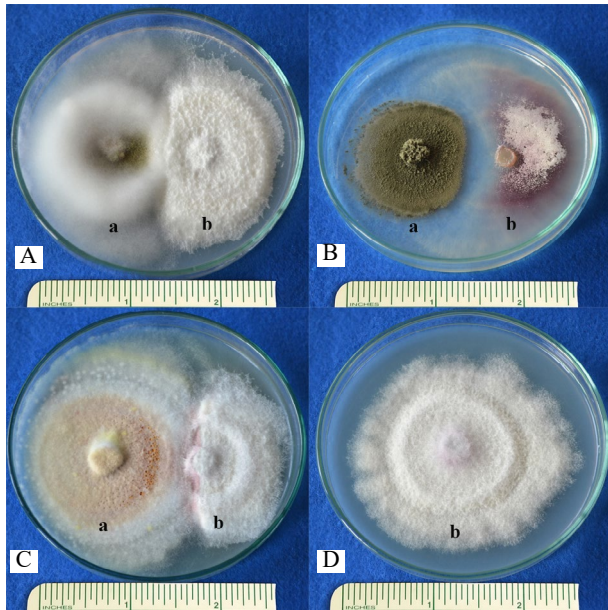
Tabel 3. Penghambatan pertumbuhan cendawan asal *Hydrilla verticillata* terhadap *Fusarium oxysporum* dan *Ganoderma boninense*

Kode isolat	Genus	Hambatan pertumbuhan (%)	
		<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Ganoderma boninense</i>
DKBS	<i>Aspergillus</i> kelompok <i>flavi</i>	63.3 ^b	44.6 ^c
DLMB1	<i>Gliomastix</i> sp.	84.2 ^a	70.4 ^b
DLMB2	<i>Talaromyces</i> sp.	87.5 ^a	87.8 ^a

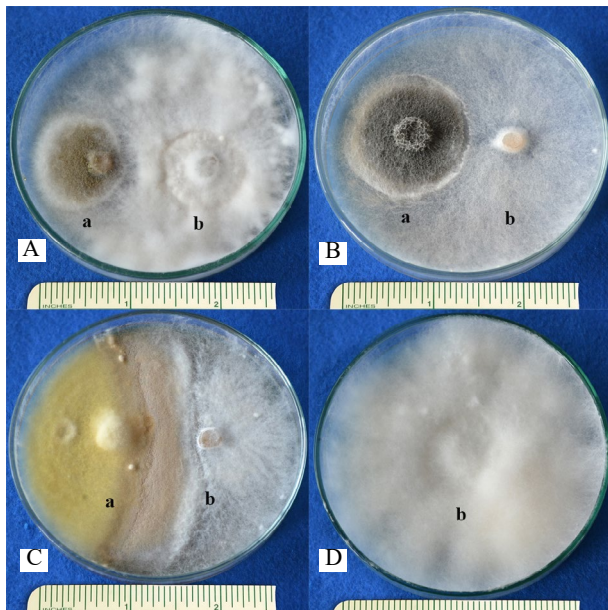
Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 99%

Tabel 4. Hasil BLAST menggunakan sekuen DNA daerah ITS 1, 5.8, ITS 2 rDNA dari cendawan asal *Hydrilla verticillata* yang diisolasi dari Danau Wiratama, Taman Buah Mekarsari

Kode isolat	Hasil BLAST pada situs ncbi						
	Skor maksimum	Skor total	Query cover	e value	Persentase kemiripan	Spesies	Nomor akses GeneBank
DLMB2	1027	1027	100%	0	99%	<i>Talaromyces aculeatus</i>	HQ608025



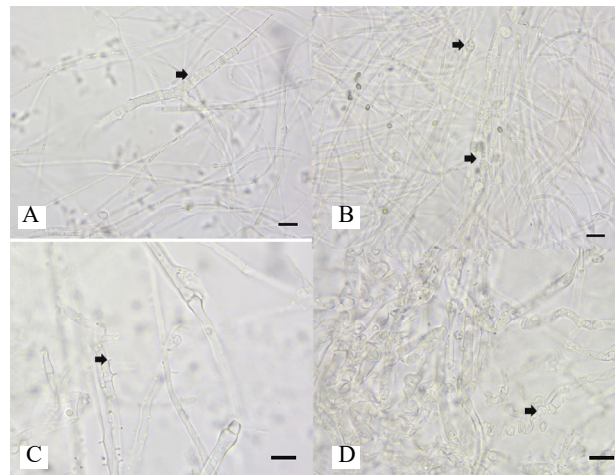
Gambar 4. Uji antagonisme antara cendawan asal *Hydrilla verticillata* dengan *Fusarium oxysporum* pada medium agar-agar dekstrosa kentang setelah 14 hari inkubasi pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. (A) *Aspergillus* kelompok *flavi*, (B) *Gliomastix* sp., (C) *Talaromyces* sp., (D) kontrol. (a) Cendawan uji, (b) *Fusarium oxysporum*



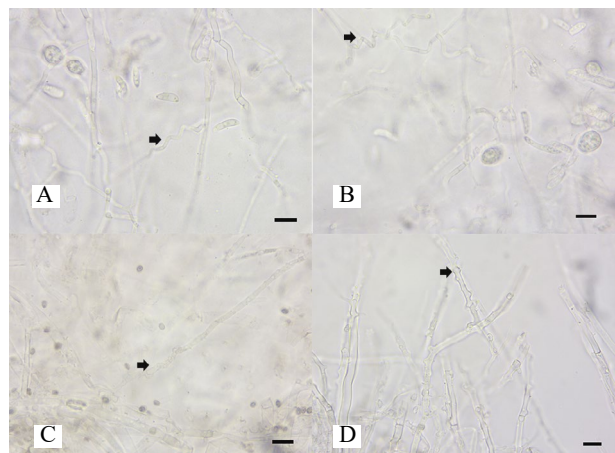
Gambar 5. Uji antagonisme antara cendawan asal *Hydrilla verticillata* dengan *Ganoderma boninense* pada medium agar-agar dekstrosa kentang setelah 14 hari inkubasi pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. (A) *Aspergillus* kelompok *flavi*, (B) *Gliomastix* sp., (C) *Talaromyces* sp., (D) kontrol. (a) Cendawan uji, (b) *Ganoderma boninense*.

terhadap *G. boninense* menunjukkan hifa cendawan patogen ditutupi oleh cendawan uji (Gambar 8).

Identifikasi Molekuler Cendawan Asal *Hydrilla verticillata* yang Potensial. Identifikasi molekuler cendawan dilakukan terhadap *Talaromyces* sp. karena memiliki potensi mengendalikan cendawan

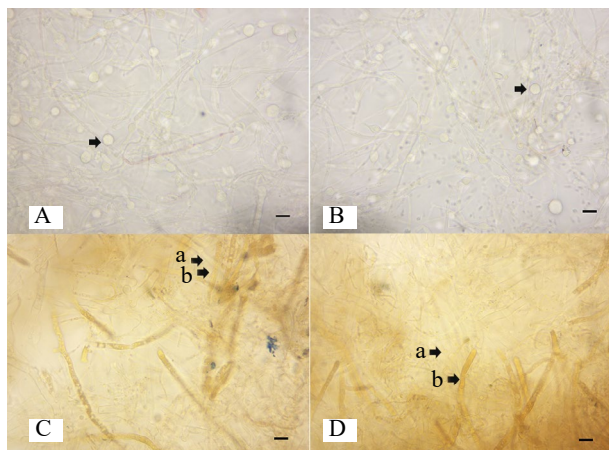


Gambar 6. Mekanisme penghambatan *Aspergillus* kelompok *flavi* terhadap *Fusarium oxysporum* menyebabkan permukaan hifa cendawan patogen kasar (A), terdapat klamidospora *F. oxysporum* (B). Mekanisme penghambatan *Aspergillus* kelompok *flavi* terhadap *Ganoderma boninense* menyebabkan hifa cendawan patogen memiliki embelan seperti duri (C) dan keriting (D). Garis skala = $10 \mu\text{m}$



Gambar 7. Mekanisme penghambatan *Gliomastix* sp. terhadap *Fusarium oxysporum* menyebabkan hifa keriting (A-B). Mekanisme penghambatan *Gliomastix* sp. terhadap *Ganoderma boninense* menyebabkan hifa keriting (C-D). Garis skala = $10 \mu\text{m}$

patogen *F. oxysporum* dan *G. boninense*. Analisis filogenetik pada daerah ITS menghasilkan pohon dengan metode *Maximum Likelihood* (ML), model perhitungan *Tamura-3 parameter* dengan distribusi *Gamma Invariant* menggunakan perangkat lunak MEGA. Berdasarkan analisis BLAST terhadap spesies pembanding di *GeneBank*, *Talaromyces* sp. memiliki kemiripan 99% dengan *T. aculeatus* (Tabel 4). Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan *Talaromyces* sp. membentuk spesies kompleks dengan *T. aculeatus*, *T. apiculatus*, dan *T. thailandensis* dengan nilai bootstrap di bawah 50% (Gambar 9). Rendahnya nilai bootstrap dan terbentuknya spesies kompleks pada clade tersebut menandakan bahwa cendawan hanya dapat diidentifikasi hingga tingkat genus.

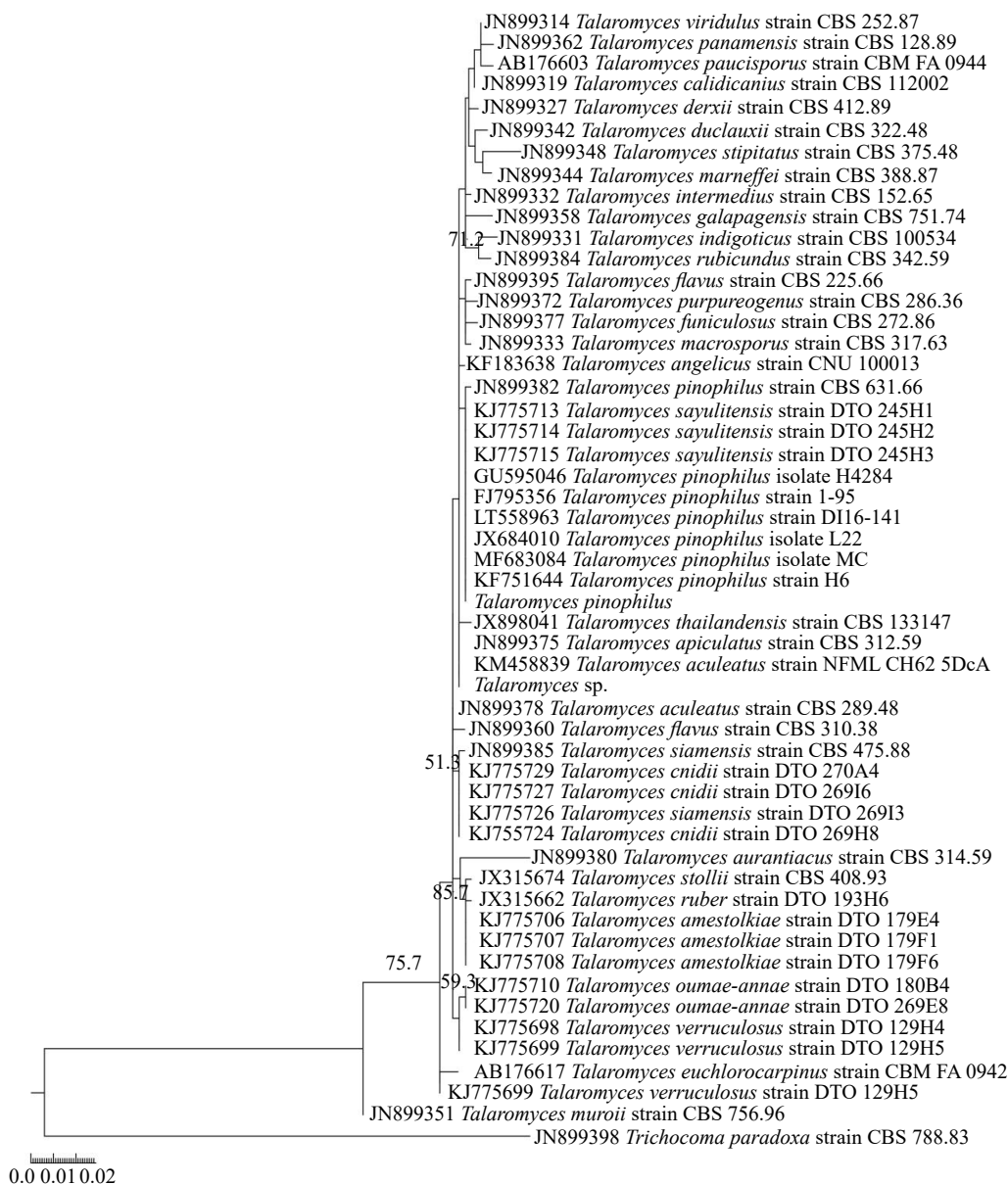


Gambar 8. Mekanisme hambatan *Talaromyces* sp. terhadap *Fusarium oxysporum* menghasilkan banyak klamidospora *Fusarium oxysporum* (A-B). Mekanisme penghambatan *Talaromyces* sp. terhadap *Ganoderma boninense* dengan cara hifa cendawan patogen (a) ditutupi oleh cendawan uji (b), (C-D). Garis skala = 10 µm

PEMBAHASAN

Cendawan hasil isolasi dari *H. verticillata* merupakan cendawan yang umum ditemukan sebagai patogen (Shearer 2016). Pada penelitian ini *Talaromyces* sp., *Gliomastix* sp., dan *Aspergillus* kelompok *flavi* merupakan cendawan patogen yang berhasil diisolasi dari batang *H. verticillata*. Cendawan tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan cendawan patogen *F. oxysporum* dan *G. boninense*.

Cendawan patogen memiliki potensi sebagai cendawan antimikrob. Dwivedi dan Enespa (2013) melaporkan *A. flavus* dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*. *Aspergillus flavus* yang diisolasi dari buah cabai dapat menghambat pertumbuhan *Colletotrichum capsici* (Dharmaputra et al. 2015). Pada penelitian ini, *Aspergillus* kelompok *flavi* dapat



Gambar 9. Pohon filogeni isolat DLMB2 dan DM-4 dengan *Trichocoma paradoxa* sebagai outgroup, menggunakan model *Tamura-3 parameter* distribusi *Gamma Invariant*, *Maximum Likelihood* (ML) dengan 1000 *bootstrap*

menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan *G. boninense*. Pembentukan kladidospora merupakan mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh *F. oxysporum* terhadap *Aspergillus* kelompok *flavi*. Kladidospora ialah spora aseksual yang berdinding tebal dan resisten terhadap lingkungan yang buruk. *Trichoderma* spp. merupakan salah satu cendawan patogen yang membentuk kladidospora di saat lingkungan kurang baik, miskin hara atau kekeringan dan berkembang kembali jika keadaan lingkungan sudah menguntungkan (Berlian *et al.* 2016).

Mekanisme penghambatan *Gliomastix* sp. terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* dan *G. boninense* dengan cara antibiosis yang ditandai terbentuk zona kosong di antara cendawan uji dan patogen. Penghambatan tersebut juga mengakibatkan perubahan bentuk hifa patogen yaitu keriting. Antibiosis ialah kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan metabolit sekunder atau toksin penyebab lisis (Harman dan Kubicek 1998). Ergosterol dan benzofuranmetanol ialah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Gliomastix murorum* yang digunakan sebagai antimikrob (Zhao *et al.* 2012). Ekstrak etil asetat *Gliomastix polychroma* dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* yang resisten terhadap antifungal metisilin sehingga dapat dijadikan sebagai obat baru dalam bidang farmasi (Rao *et al.* 2015). Mikroorganisme antagonis dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati dengan syarat memiliki kemampuan beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang nutrisinya rendah, tidak menyebabkan penyakit pada inang, tidak menghasilkan metabolit berbahaya, dan efektif melawan patogen dengan kisaran inang yang luas (Dharmaputra *et al.* 2015).

Pertumbuhan *Talaromyces* sp. menekan pertumbuhan cendawan patogen. Mekanisme interaksi yang terjadi antara *Talaromyces* sp. dengan *G. boninense* dan *F. oxysporum* ialah kompetisi dan parasitisme. Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa hifa *Talaromyces* sp. melilit dan menutupi hifa *G. boninense*, sedangkan pada *F. oxysporum* membentuk kladidospora. Mekanisme penghambatan secara kompetisi terjadi apabila cendawan uji menutupi cendawan patogen dan pertumbuhan cendawan uji lebih cepat dibandingkan dengan cendawan patogen, sedangkan mekanisme parasitisme ditunjukkan dengan hifa cendawan uji tumbuh di atas hifa cendawan patogen (Porter 1942; Skidmore and Dickinson 1976). Kompetisi antara cendawan uji dan patogen menyebabkan cendawan patogen tidak memiliki ruang untuk hidup, sehingga pertumbuhan cendawan patogen menjadi terhambat (Octriana 2011). Dezfooli *et al.* (2014) melaporkan

mekanisme penghambatan kompetisi oleh *T. flavus* dan *Trichoderma harzianum* dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* penyebab layu pada tanaman tomat. Cendawan yang memiliki mekanisme penghambatan kompetisi dan parasitisme, umumnya memiliki spektrum penghambatan yang lebih luas dan kuat (Amaria *et al.* 2015). Hal tersebut didukung oleh persentase hambatan yang paling tinggi di antara cendawan uji dengan patogen ialah penghambatan yang dilakukan oleh *Talaromyces* sp.

Hasil analisis pohon filogenetik daerah ITS menunjukkan *Talaromyces* sp. berada satu grup dengan *T. aculeatus* NFML CH62 5DcA (nomor aksesori KM458839), *T. apiculatus* CBS 312.59 (nomor aksesori JN899375), dan *T. thailandensis* (nomor aksesori JX898041). Dari India dengan tingkat kepercayaan di bawah 50%. Rendahnya nilai tingkat kepercayaan yaitu dibawah 95% belum cukup untuk mendeskripsikan *Talaromyces* sp. hingga ke tingkat spesies (Felsenstein 1985) sehingga dibutuhkan analisis multigen untuk dapat mengidentifikasi cendawan tersebut. Visagie *et al.* (2014) menggunakan gen beta-tubulin untuk menganalisis *Talaromyces* hingga tingkat spesies.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa cendawan yang diisolasi dari *H. verticillata* ialah cendawan patogen yang terdiri atas *Talaromyces* sp., *Gliomastix* sp., dan *Aspergillus* kelompok *flavi*. Cendawan tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan cendawan patogen *F. oxysporum* dan *G. boninense*. Hasil uji antagonisme menunjukkan hanya *Talaromyces* sp. persentase daya hambat tertinggi terhadap cendawan patogen. Analisis molekuler dilakukan terhadap cendawan terpilih yaitu *Talaromyces* sp. untuk dapat mengidentifikasi hingga ke tingkat spesies. Berdasarkan hasil BLAST menunjukkan *Talaromyces* sp. memiliki kemiripan 99% dengan *T. aculeatus*, akan tetapi analisis filogenetik daerah ITS menunjukkan *Talaromyces* sp. membentuk spesies kompleks dengan *T. aculeatus*, *T. apiculatus*, dan *T. thailandensis* dengan nilai tingkat kepercayaan di bawah 50%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penggunaan gen ITS untuk mengidentifikasi *Talaromyces* sp. hingga ke tingkat spesies belum dapat digunakan sehingga diperlukan gen tambahan untuk mengidentifikasi *Talaromyces* sp. yaitu gen beta-tubulin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih pada Kementerian Riset dan Teknologi DIKTI atas dana penelitian yang diberikan melalui program Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Alix MS, Scribailo RW, Price JD. 2009. *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae): an undesirable addition to Indiana's aquatic flora. *Rhodora* 111:131-136.
- Amaria W, Harni R, Samsudin. 2015. Evaluation of antagonistic fungi in inhibiting the growth of *Rigidoporus microporus* causing white root disease in rubber plants. *J TIDP* 2:51-60.
- Berlian I, Anarqi S, Pudjihartati E. 2016. Isolasi, identifikasi, dan antagonisme *in vitro* isolat *Trichoderma* spp. asal kebun karet, Blimbing, Pekalongan, Jawa Tengah. *Jurnal Penelitian Karet* 34:201-212.
- Daryanto 2004. Laporan Perkembangan Penyakit Layu Pisang. Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Hortikultura.
- Dezfooli RA, Naraghi L, Niazmand A. 2014. A comparative study on different antagonistic mechanisms of *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum* in terms of growth inhibition on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causal agent of tomato wilt disease in laboratory condition. *International Journal of Agricultural Research and Review* 2:115-127.
- Dharmaputra OS, Sudirman LI, Fitriani M. 2015. Mikrobiota pada buah cabai untuk pengendali hayati *Colletotrichum capsici*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11:150-158.
- Dwivedi SK, Enespa. 2013. *In vitro* efficacy of some fungal antagonists against *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* causing brinjal and tomato wilt. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Research* 4:46-52.
- Filip P, Weber RWS, Sterner O, Anke T. 2003. Hormonemate, a new cytotoxic and apoptosis inducing compound from the endophytic fungus *Hormonema dematioides*. Identification of the producing strain, isolation and biological properties of hormonemate. *Z. Naturforsch* 58:547-552.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fokkema NJ. 1978. Fungal antagonism in the phyllosphere. *Ann Appl Biol* 89:115-117.
- Ginting C, Maryono T. 2012. Penurunan keparahan penyakit busuk pangkal batang pada lada akibat aplikasi bahan organik dan *Trichoderma harzianum*. *J HPT Tropika* 12:162-168.
- Harman GE, Kubicek CP. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* Enzymes Biological Control and Commercial Applications Volume 2. London: Taylor and Francis.
- Langeland KA. 1996. *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle (Hydrocharitaceae), "the perfect aquatic weed". *Castanea* 61:293-304.
- Nelson PE. 1993. Taxonomy of Fungi in the Genus *Fusarium* with Emphasis on *Fusarium oxysporum*. *Fusarium Wilt of Banana*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota: APS Press.
- Octriana L. 2011. Potensi agen hayati dalam menghambat pertumbuhan *Phytium* sp. secara *in vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* 17:138-142.
- Porter CL. 1942. Concerning the characters of certain fungi as exhibited by their growth in the presence of other fungi. *AMJ Bot* 11:168-188.
- Priwiratama H, Prasetyo AE, Susanto A. 2014. Pengendalian penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit secara kultur teknis. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 10:1-7.
- Rao HCY, Baker S, Rakshith D, Satish S. 2015. Molecular profiling and antimicrobial potential of endophytic *Gliomastix polychroma* CLB32 inhabiting *Combretum latifolium* Blume. *Mycology* 6:176-181.
- Sa'id EG. 1994. Dampak negatif pestisida, sebuah catatan bagi kita semua. *Agrotek* 2:71-72.
- Seifert K, Morgan JG, Gams W, Kendrick B. 2011. The Genera of *Hyphomycetes*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Shabana YM, Charudattan R. 1996. Microorganisms associated with *Hydrilla* in ponds and lakes in North Florida. *J Aquat Plant Manage* 34:60-68.
- Shearer JF. 2016. Surveys for Pathogens of Monoecious *Hydrilla*. APCRP Technical Notes Collection. ERDC/TN APCRP-BC-38. Vicksburg: Army Engineer Research and Development Center.
- Skidmore AM, Dickinson CH. 1976. Colony interaction and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Trans Brit Mycol Soc* 66:57-64.
- Susanto A, Prasetyo AE, Wening S. 2013. Laju infeksi *Ganoderma* pada empat kelas tekstur tanah. *J Fitopatol Indones* 9:39-46.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stetcher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731-2739.
- Visagie CM, Hirooka Y, Tanney JB, Whitfield E, Mwange K, Meijer M, Asmnd AS, Seifert KA, Samson RA. 2014. *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. *Studies in Mycology* 78:63-139.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. New York: Academic Pr.
- Zhao J, Sun W, Shan T, Mou Y, Lou J, Li Y, Wang M, Zhou L. 2012. Antimicrobial metabolites from the endophytic fungus *Gliomastix murorum* Ppf8 associated with the medicinal plant *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Journal of Medicinal Plants Research* 6:2100-2104.