

Uji Antagonisme Tiga Isolat Fungi Endofit Anggrek Bulan Terhadap *F. Oxysporum* Secara *in vitro*

KHATERINE¹, RINA SRI KASIAMDARI²

¹Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan Tangerang Building B 6th floor Jl. M.H.Thamrin Boulevard Lippo Karawaci, Tangerang Banten 158811
email: khaterine.tc@uph.edu

²Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281
email: rkasiamdari@yahoo.com.au

ABSTRACT

Phalaenopsis amabilis (L.) Blume or Moth Orchid is Indonesia's native orchid. In its cultivation, the crown rot which is caused by *F. oxysporum* is one of diseases that usually attack *P. amabilis*. The aim of this research is to assess the potency of endophytic fungi *Sistotrema* sp., *Ceratorhiza* sp. and *Moniliopsis* sp., that were isolated from healthy *P. amabilis* roots, in inhibiting *F. oxysporum* growth *in vitro*. The experiment of antagonist test was arranged in complete randomized design by three replications. The *in vitro* antagonist test was done on PDA and the parameter was the percentage inhibition of *F. oxysporum* growth by endophytic fungi. The collected data were analyzed by one way anova and DMRT. The result showed that the three endophytic fungi isolated from *P. amabilis* roots had the potency in inhibiting *F. oxysporum*. *In vitro* antagonism test result showed that *Moniliopsis* sp. had the highest inhibition percentage (71,80%) among *Ceratorhiza* sp. (67,70%) and *Sistotrema* sp. (54,87%).

Keywords: antagonism, endophytic fungi, *F. oxysporum*, *in vitro*, *P. amabilis*

INTISARI

Phalaenopsis amabilis (L.) Blume atau anggrek bulan merupakan anggrek alam asli Indonesia. Dalam pembudidayaannya, penyakit busuk pucuk yang disebabkan oleh *F. oxysporum*, merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang *P. amabilis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat fungi endofit yaitu *Sistotrema* sp. *Ceratorhiza* sp. and *Moniliopsis* sp., yang sebelumnya telah diisolasi dari perakaran *P. amabilis* sehat dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* secara *in vitro*. Penelitian uji antagonis ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan. Uji antagonis secara *in vitro* dilakukan pada medium PDA dengan parameter yang diukur adalah persentase penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh fungi endofit. Data selanjutnya dianalisis dengan *one way anova*, dilanjutkan dengan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Moniliopsis* sp. memiliki persentase penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* tertinggi (71,80%) dibandingkan *Ceratorhiza* sp. (67,70%) dan *Sistotrema* sp. (54,87%).

Kata kunci: antagonisme, fungi endofit, *F. oxysporum*, *in vitro*, *P.amabilis*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan anggrek alam yang sangat besar. Schuiteman (2010) menyebutkan bahwa ada 5000 spesies anggrek alam di Indonesia dan jumlah ini masih dapat bertambah karena masih ada pulau-pulau di Indonesia yang kekayaan anggrek alamnya belum dieksplorasi.

Salah satu spesies *Phalaenopsis* yang terdapat di Indonesia adalah *Phalaenopsis amabilis* atau anggrek bulan. Anggrek ini telah ditetapkan sebagai bunga nasional Indonesia dengan sebutan puspa pesona, namun kelestarian anggrek ini di habitat alamnya tetap terancam. Semua spesies *Phalaenopsis* dikategorikan dalam Appendix II (Herlina, 2012).

Pengambilan anggrek secara langsung dan tidak terkendali di habitat aslinya, *illegal logging*, kebakaran hutan, konversi hutan menjadi perkebunan dan untuk pemukiman transmigrasi, serta pemanasan global menyebabkan semakin sulitnya mendapatkan anggrek alam di habitat aslinya. Oleh karena itu pelestarian anggrek alam termasuk *P. amabilis* sangat penting untuk dilakukan.

Salah satu upaya pelestarian yang dapat dilakukan adalah dengan cara budidaya, namun upaya pembudidayaan anggrek seringkali terhambat oleh adanya serangan penyakit, salah satunya adalah penyakit busuk pucuk pada *P. amabilis*. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Khaterine, 2014) diketahui bahwa penyakit busuk pucuk disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Penyakit ini menyebabkan daun anggrek bulan yang terinfeksi akan menguning dan segera berubah warna menjadi kecokelatan ataupun hitam, daun mudah terlepas dari batang dan dari pucuk anggrek (crown) tidak akan tumbuh daun baru (Frowine, 2008).

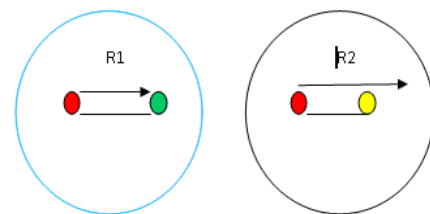
Pengendalian penyakit busuk pucuk dapat dilakukan dengan memotong dan membuang bagian tanaman yang terinfeksi sebelum penyakit menyebar ke seluruh tanaman, dan dapat pula dengan menyemprotkan fungisida kimiawi ke bagian pucuk-pucuk anggrek maupun bekas-bekas luka pemangkasan pada anggrek (Iswanto, 2005), namun pemberian fungisida dapat menimbulkan efek negatif yaitu mengganggu kesehatan petani anggrek, mencemari lingkungan dan mematikan fungi-fungi lain non target. Olehnya itu diperlukan upaya yang lebih ramah lingkungan, tidak merusak tanaman dan menguntungkan para petani anggrek, misalnya dengan memanfaatkan fungi endofit yang hidup berasosiasi dengan perakaran tanaman anggrek sehat.

Pada anggrek, fungi endofit bermanfaat untuk perkecambahan biji, meningkatkan pertumbuhan anggrek, serta melindungi anggrek dari serangan patogen (Dearnaley, 2007; Mursidawati, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat *Ceratorhiza* sp., *Sistotrema* sp. dan *Moniliopsis* sp., yang merupakan hasil isolasi

dari perakaran *P. amabilis* dewasa sehat, dalam menghambat pertumbuhan fungi *F.oxysporum* penyebab penyakit busuk pucuk pada *P. amabilis* secara *in vitro*.

METODE

Uji antagonisme secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Nuangmek *et.al.* (2008). Pada tahap persiapan, isolat fungi *F. oxysporum*, *Ceratorhiza* sp., *Sistotrema* sp. dan *Moniliopsis* sp., masing-masing ditumbuhkan di dalam cawan petri (9 cm) yang berisi 20 ml medium PDA steril selama 7 hari. Pada tahap pelaksanaan uji antagonisme, pada cawan petri lain (9 cm) yang berisi 20 ml medium PDA steril, diinokulasikan koloni fungi patogen dan koloni fungi endofit yang masing-masingnya berdiameter 5 mm, dengan jarak antar koloni 5 cm. Selanjutnya fungi diinkubasi di dalam gelap pada suhu 25°C. Pada kontrol digunakan *water agar* berdiameter 5 mm untuk menggantikan fungi endofit. Pada cawan petri (9 cm) berisi 20 ml PDA steril diinokulasikan cetakan 5 mm koloni *F. oxysporum* berumur 7 hari dan cetakan 5 mm *water agar*, jarak antara koloni fungi patogen dan *water agar* sebesar 5 cm. Pengukuran persentase penghambatan (P) dilakukan saat fungi patogen pada kontrol, pertumbuhannya telah mencapai tepi petri. Uji antagonisme secara *in vitro* dilakukan dengan 3 kali ulangan. Gambar skematis uji antagonisme secara *in vitro* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambar skematis uji antagonisme secara *in vitro*. Keterangan : a. uji antagonisme *F.oxysporum* (●) dengan fungi endofit (●). b. Kontrol, water agar (●) R1. Jarak pertumbuhan fungi patogen mendekati fungi endofit, R2. Jarak pertumbuhan fungi patogen mendekati tepi cawan petri

Persentase penghambatan pertumbuhan fungi patogen oleh fungi endofit dihitung dengan rumus (Nuangmek *et.al.*, 2008):

$$P = \frac{R2 - R1}{R2} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Persentase penghambatan

R1 = Jarak pertumbuhan koloni fungi patogen mendekati pertumbuhan fungi endofit

R2 = Jarak pertumbuhan fungi patogen mendekati tepi cawan petri

HASIL

Hasil uji antagonisme secara *in vitro* antara *F. oxysporum* dengan fungi endofit yang diisolasi dari perakaran tanaman anggrek *P. amabilis* yaitu *Ceratorhiza* sp., *Sistotrema* sp. dan *Moniliopsis* sp. adalah sebagai berikut:

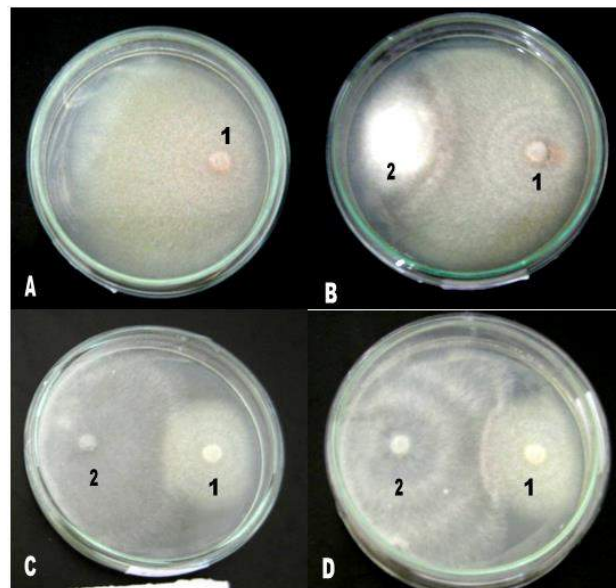
Tabel 1. Hasil uji statistik persentase penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh fungi endofit *Sistotrema* sp., *Ceratorhiza* sp., *Moniliopsis* sp. pada hari ke-12 setelah inokulasi.

Perlakuan	R1 (cm)	R2 (cm)	Persentase penghambatan (%)
Kontrol (<i>F. oxysporum</i>)	-	6,5	0 ± 0 ^a
<i>Sistotrema</i> sp.	2,9	-	54,87 ± 1,77 ^b
<i>Ceratorhiza</i> sp.	2,1	-	67,70 ± 3,07 ^c
<i>Moniliopsis</i> sp.	1,8	-	71,80 ± 6,40 ^c

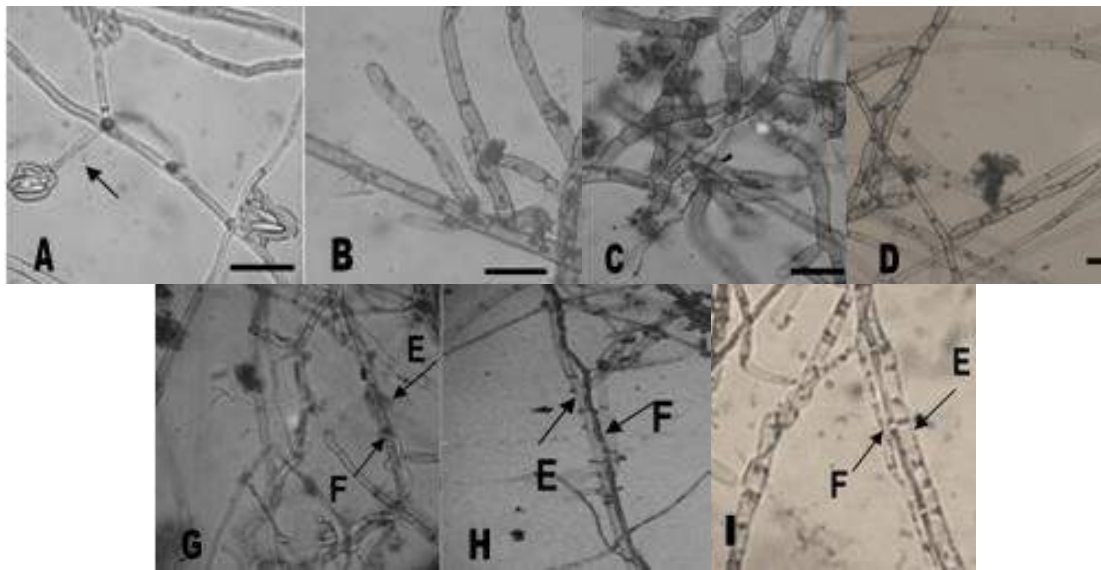
Keterangan:

R1 = Jarak pertumbuhan koloni fungi patogen mendekati pertumbuhan fungi endofit;

R2 = Jarak pertumbuhan fungi patogen mendekati tepi cawan petri. Angka-angka yang diikuti huruf yang tidak sama berbeda nyata menurut uji jarak Duncan (DMRT) pada taraf 5%.



Gambar 2. Hasil uji antagonisme antara *F. oxysporum* dengan 3 isolat fungi endofit secara *in vitro* pada hari ke-12 setelah inokulasi pada medium PDA. A. Kontrol (*F. oxysporum*). B. Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh *Sistotrema* sp. C. Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh *Ceratorhiza* sp. D. Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh *Moniliopsis* sp. 1. *F. oxysporum*. 2. Fungi endofit.



Gambar 3. Struktur mikroskopis fungi. **A.** Struktur mikroskopis *F. oxysporum* **B.** struktur mikroskopis *Ceratorhiza* sp. **C.** struktur mikroskopis *Sistrotrema* sp. **D.** struktur mikroskopis *Moniliopsis* sp. **E.** hifa fungi endofit, **F.** hifa *F. oxysporum*. **G.** Interaksi hifa *F. oxysporum* dengan *Sistrotrema* sp., **H.** Interaksi hifa *F. oxysporum* dengan hifa *Ceratorhiza* sp., **I.** Interaksi hifa *F. oxysporum* dengan hifa *Moniliopsis* sp.. Bar = 25 μ m.

PEMBAHASAN

Secara alami, anggrek hidup berasosiasi dengan fungi endofit. Fungi endofit menginfeksi bagian akar, protokorm dan batang anggrek (Mursidawati, 2007). Asosiasi antara fungi endofit dengan anggrek merupakan salah satu bentuk dari endomikoriza, umumnya melibatkan fungi dari kelas Basidiomycetes (Dearnaley, 2007).

Pada penelitian ini digunakan 3 isolat fungi endofit yang diisolasi dari perakaran anggrek *P. amabilis* sehat. Dua isolat merupakan anamorf *Rhizoctonia* yaitu *Ceratorhiza* sp., dan *Moniliopsis* sp., dan satu isolat lainnya adalah *Sistrotrema* sp..

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga fungi endofit tersebut memiliki potensi mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* secara *in vitro*.

Perhitungan persentase penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* dilakukan pada saat pertumbuhan *F. oxysporum* pada kontrol, telah mencapai tepi cawan petri atau pada hari ke-12 setelah inokulasi.

Persentase penghambatan terbesar ditunjukkan oleh *Moniliopsis* sp. yaitu sebesar 71,80% kemudian diikuti oleh *Ceratorhiza* sp. sebesar 67,70%, yang pengaruhnya tidak

berbeda nyata dengan *Moniliopsis* sp.. Presentase penghambatan terkecil ditunjukkan oleh *Sistrotrema* sp. yaitu sebesar 54,87% dan kemampuannya berbeda nyata dengan 2 fungi endofit lainnya.

Pada gambar 2 ditunjukkan hasil uji antagonisme antara fungi endofit dengan *F. oxysporum* pada medium lempeng PDA. Pada gambar tersebut, terlihat pertumbuhan *F. oxysporum* yang terhambat oleh pertumbuhan fungi endofit (Gambar 2B, 2C, 2D), dibandingkan dengan kontrol (Gambar 2A).

Penghambatan yang dilakukan oleh *Ceratorhiza* sp., *Moniliopsis* sp. dan *Sistrotrema* sp. dapat dilakukan melalui kompetisi kecepatan tumbuh antara koloni fungi endofit dan patogen sehingga fungi yang lebih cepat tumbuh dapat lebih cepat menguasai ruang dan nutrisi yang tersedia. Dandurand dan Knudsen (1993) dalam Adebola dan Amadi (2010) menyebutkan bahwa keefektifan agen biokontrol tergantung pada kemampuannya berproliferasi pada dalam waktu yang singkat pada kondisi lingkungan yang sesuai sebelum menyerang patogen tanaman.

Kontak hifa secara langsung antara *F. oxysporum* dengan fungi endofit pada uji

antagonisme ini dapat dilihat pada gambar 3. Pengamatan interaksi antar hifa fungi ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya. Dalam pengamatan ini *F. oxysporum* memiliki ukuran hifa yang lebih kecil dibandingkan hifa fungi endofit. Hasil pengamatan menunjukkan adanya hifa *F. oxysporum* yang melakukan kontak langsung dengan hifa fungi endofit. Interaksi yang tampak dapat berupa hifa *F. oxysporum* dan hifa *Sistotrema* sp. yang tumbuh saling melilit (Gambar 3G dan 3I) atau hifa *F.oxysporum* tumbuh di sepanjang hifa fungi endofit (Gambar 3H).

Identifikasi dan seleksi organisme antagonist merupakan langkah penting di dalam upaya mengembangkan agen-agen pengendali biologis. Nega (2014) menyebutkan bahwa pengendalian biologis dapat menjadi strategi yang potensial untuk mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai pengendali patogen, mencegah akumulasi residu kimia berbahaya yang merusak lingkungan.

Potensi kemampuan fungi endofit dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen untuk menunjang budidaya tanaman anggrek harus terus dikembangkan, karena hal ini tidak saja aman bagi lingkungan namun akan menguntungkan petani, karena keberadaan fungi endofit juga dapat memacu pertumbuhan anggrek, dengan cara meningkatkan absorpsi nitrogen dan berbagai mineral seperti P,K dan Ca serta menginduksi pembentukan akar baru (Duncan *et.al.* 2006). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh penggunaan ketiga fungi endofit terhadap ketahanan anggrek pada penyakit dan pertumbuhannya.

KESIMPULAN

Ketiga isolat fungi endofit yang diisolasi dari perakaran tanaman anggrek *P. amabilis* diketahui mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*, penyebab penyakit busuk pucuk. Pada hasil uji antagonis secara *in vitro*, menunjukkan bahwa *Moniliopsis* sp. memiliki persentase penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* tertinggi (71,80%) dibandingkan

Ceratorhiza sp. (67,70%) dan *Sistotrema* sp. (54,87%).

DAFTAR PUSTAKA

- Adebola MO and Amadi JE. 2010. Screening three *Aspergillus* species for antagonistic activities against the cocoa black pod organism (*Phytophthora palmivora*). *Agriculture And Biology Journal Of North America*. vol 1(3):362-365.
- Dearnaley J. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza*. vol 17(6): 475-486.
- Duncan DC, Jonathan RL, David JR. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist*. vol 171(2) :405–416.
- Frowine SA. 2008. *Moth Orchid: The Complete Guide to Phalaenopsis*. Portland: Timber Press.
- Herlina D. 2012. Perbanyak Anggrek Phalaenopsis dan Paraphalaenopsis Spesies dengan semai biji secara *In Vitro* untuk Tujuan Koleksi dan Konservasi. *Prosiding Seminar Nasional Anggrek*. 21 Juni 2012. Cianjur: Balai Penelitian Tanaman Hias.
- Iswanto H. 2005. *Merawat dan Membungakan Anggrek Phalaenopsis* (ed revisi). Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Khaterine dan Kasiamdari RS. 2015. Identifikasi dan Uji Patogenitas *Fusarium* sp. Penyebab Penyakit Busuk Pucuk pada Tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp.). *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. 21 Maret 2015. Malang: Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Muhammadiyah Malang.
- Mursidawati S. 2007. Asosiasi Mikoriza Dalam Konservasi Anggrek Alam. *Buletin Kebun Raya Indonesia*. vol 10(1): 24-30.
- Nega A. 2014. Review on Concepts in Biological Control of Plant Pathogens. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. vol 4(27): 33-54.
- Nuangmek W, Mc. Kenzie EHC and Lumyong S. 2008. Endophytic Fungi

From Wild Banana (*Musa acuminata* Colla) Works Against Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum musae*. *Research Journal of Microbiology*. vol 3(5):368-374.

Schuiteman A. 2010. Orchid in Indonesia and Their Conservation. *Prosiding The 2010 International Seminar On Orchid Conservation and Agribusiness*. 27 Oktober 2010. Yogyakarta.