

**EKSPLORASI KAPANG ANTAGONIS TERHADAP
Phytophthora sp. PATOGEN PADA TANAMAN APEL**

SKRIPSI

oleh :

**Meisarina Nugrahani
0710910012-91**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**EKSPLORASI KAPANG ANTAGONIS TERHADAP
Phytophthora sp. PATOGEN PADA TANAMAN APEL**

oleh :
MEISARINA NUGRAHANI
0710910012-91

Setelah
dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 28 Juni 2011
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Biologi

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Suharjono, M.Si.
NIP. 19630223 198802 1 001

Ir. Otto Endarto, M.Si.
NIP. 19651024 199203 1 002

Mengetahui dan Menyetujui
Ketua Jurusan Biologi

Widodo, S.Si., M.Si. PhD., Med.Sc.
NIP. 19730811 200003 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meisarina Nugrahani
NIM : 0710910012-91
Jurusan : Biologi
Judul Skripsi : Eksplorasi Kapang Antagonis Terhadap
Phytophthora sp. Patogen Pada Tanaman Apel

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan atau referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 06 Juli 2011

Yang menyatakan

Meisarina Nugrahani

NIM. 0710910012-91

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipannya hanya dapat dilakukan seijin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



EKSPLORASI KAPANG ANTAGONIS TERHADAP *Phytophthora* sp. PATOGEN PADA TANAMAN APEL

Meisarina, N.¹, Suharjono¹, Otto, E.²

1. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang

2. Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro), Kota Batu

ABSTRAK

Serangan *Phytophthora* sp. telah menyebabkan produksi tanaman apel di Kota Batu turun hingga 90%. Beberapa spesies kapang antagonis diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp. patogen pada tanaman apel tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik *Phytophthora* sp. patogen tanaman apel dan mendapatkan isolat kapang antagonis terhadap kapang patogen tersebut. Isolasi *Phytophthora* sp. dilakukan dengan metode umpan dan ditumbuhkan pada medium *V8 Juice Agar*, sedangkan kapang antagonis dilakukan dengan metode pengenceran dan ditumbuhkan pada medium *Potatoes Dextrose Agar*. Karakteristik fenotip isolat *Phytophthora* sp. dan kapang antagonis dianalisis secara numerik menggunakan program CLAD 97, sedangkan uji penghambatan kapang antagonis terhadap *Phytophthora* dilakukan dengan metode *dual culture method*. Empat isolat *Phytophthora* (M1, M4, MB1 dan MB2) ditemukan sebagai patogen pada tanaman apel, serta enam spesies kapang (*Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.4, *Trichoderma* sp.6, *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 dan *Penicillium* sp.1) sebagai antagonis terhadap *Phytophthora*. *Penicillium* sp.1 memiliki potensi penghambatan terendah terhadap pertumbuhan *Phytophthora* sp. yaitu sebesar 28,82% sedangkan *Trichoderma* sp.6 memiliki potensi penghambatan tertinggi yaitu sebesar 62,95%.

Kata kunci: Antagonis, apel, *Phytophthora* sp.

EXPLORATION OF ANTAGONIST MOLDS AGAINST *Phytophthora* sp. PATHOGEN TO APPLE CROPS

Meisarina, N.¹, Suharjono¹, Otto, E.²

1. Biology Department, Faculty of Mathematics And Natural Science, Brawijaya University, Malang

2. Indonesian Citrus And Subtropical Fruits Research Institute Batu

ABSTRACT

The attack of *Phytophthora* sp. has caused the decrease of apple crops production up to 90% in Batu City. Some antagonist mold species are able to inhibit the growth of *Phytophthora* sp. pathogen to apple crops. The objectives of this research were to determine the characteristics of *Phytophthora* sp. pathogen to apple crops and to obtain antagonist mold isolates against *Phytophthora*. The isolation of *Phytophthora* sp. was conducted by baiting method and it were cultivated using medium *V8 Juice Agar* while antagonist molds by dilution method using *Potatoes Dextrose Agar*. The Phenotypic characteristics of *Phytophthora* sp. and antagonist molds were analyzed numerically using the CLAD 97 while the inhibition assay of antagonist molds against *Phytophthora* sp. was carried out by dual culture method. Four *Phytophthora* isolates (M1, M4, MB1 and MB2) were obtained as pathogen to apple crops and six molds (*Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.4, *Trichoderma* sp.6, *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 and *Penicillium* sp.1) were antagonist to *Phytophthora*. Among the antagonist species, *Penicillium* sp.1 had the lowest inhibitory potency (28.82%) in contrast *Trichoderma* sp.6 had the highest inhibitory potency (62.95%) against the growth of *Phytophthora* sp.

Key words: Antagonist, apple, *Phytophthora* sp.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga naskah skripsi ini dapat diselesaikan. Naskah skripsi ini disusun atas bantuan dari berbagai pihak, oleh sebab itu diucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Suharjono, M.Si. dan Bapak Ir. Otto Endarto, M.Si. selaku dosen pembimbing atas segala bimbingan, nasehat, dan bantuannya selama penelitian dan penulisan naskah skripsi.
2. Ibu Dra. Tri Ardyati, M.Agr.Sc., PhD. dan Bapak Dr. Bagyo Yanuwadi selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang membangun guna menyempurnakan naskah skripsi ini.
3. Bapak Widodo, S.Si., M.Si., PhD., Med.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi.
4. Direktur DGHE-IU I-MHERE yang menyetujui dan mendanai penelitian ini.
5. Penanggung jawab I-MHERE Jurusan Biologi dan Universitas Brawijaya yang telah membantu administrasi pelaksanaan penelitian.
6. Kepala Balitjestro, Tlekung, Kota Batu yang telah memberikan bantuan fasilitas untuk penelitian.
7. Bapak dan Ibu tercinta atas segala kasih sayang, doa, bimbingan, dukungan dan semua pengorbanannya yang tidak terhingga.
8. Mbak Nanik selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi atas kesabarannya membantu selama penelitian.
9. Dedy Kurniawan, Ayu Raisa K.N., Ika Septiana dan Iffah Fardiyah atas segala bantuan dan dukungannya.
10. Teman-teman “Quorum Sensing 2007” serta semua pihak lain yang turut mendukung kelancaran dan penyelesaian skripsi ini.

Naskah skripsi ini masih belum sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, 08 Juli 2011
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR RUMUS	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Karakteristik Tanaman Apel	5
2.2 <i>Phytophthora</i> sp.	7
2.3 Penyakit yang Ditimbulkan oleh <i>Phytophthora</i> sp.	10
2.4 Mikroba Antagonis terhadap <i>Phytophthora</i> sp.	12
2.5 Mekanisme Penghambatan <i>Phytophthora</i> sp. oleh Kapang Antagonis.....	13
BAB III. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Isolasi <i>Phytophthora</i> sp.	15
3.3 Isolasi Kapang Antagonis terhadap <i>Phytophthora</i>	16
3.4 Pemurnian Isolat Kapang.....	17
3.5 Karakterisasi Fenotip Isolat <i>Phytophthora</i> dan Kapang Antagonis.....	17
3.6 Uji Penghambatan Pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh Kapang Antagonis.....	19

3.7 Pengamatan Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh Kapang Antagonis.....	20	19
--	----	----

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....22

4.1 <i>Phytophthora</i> sp. dan Kapang Antagonis Hasil Isolasi	22
4.1.1 <i>Phytophthora</i> sp. hasil isolasi.....	22
4.1.2 Kapang antagonis hasil isolasi	23
4.2 Penghambatan Pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh Kapang Antagonis.....	24
4.3 Pengamatan Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh Kapang Antagonis.....	27
4.3.1 Penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh <i>Trichoderma</i> sp.	27
4.3.2 Penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh <i>Aspergillus</i> sp.	29
4.3.3 Penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> oleh <i>Penicillium</i> sp.	30
4.4 Karakteristik Isolat <i>Phytophthora</i> sp. dan Kapang Antagonis Secara Fenotipik.....	31
4.4.1 Karakteristik fenotip isolat <i>Phytophthora</i> sp.....	31
4.4.2 Karakteristik fenotip isolat kapang antagonis	33

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN37

5.1 Kesimpulan.....	37
5.2 Saran.....	37

DAFTAR PUSTAKA38

LAMPIRAN.....44

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tanaman Apel	5
2.2 Sporangium <i>Phytophthora</i> sp. non-papila	7
2.3 Siklus hidup <i>Phytophthora</i> sp.	9
2.4 Kanker batang pada tanaman apel.....	11
2.5 Penyakit busuk akar pada tanaman apel	11
3.1 Gejala penyakit pada tanaman apel akibat serangan <i>Phytophthora</i> sp. di kebun percobaan Banaran, Kecamatan Bumiaji	15
3.2 Metode umpan menggunakan buah apel	16
3.3 <i>Dual culture method</i>	20
4.1 Struktur morfologi isolat <i>Phytophthora</i> sp.	22
4.2 Uji penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> sp. oleh <i>Trichoderma</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp. dan <i>Penicillium</i> sp. pada hari ke-2	25
4.3 Rata-rata persentase penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> sp. oleh berbagai isolat kapang antagonis	26
4.4 Mekanisme mikoparasitisme <i>Trichoderma</i> sp. yang berumur empat hari terhadap <i>Phytophthora</i> sp. dengan umur yang sama setelah inkubasi pada hari ke-2	28
4.5 Mekanisme antibiosis <i>Trichoderma</i> sp. yang berumur empat hari terhadap <i>Phytophthora</i> sp. dengan umur yang sama.....	29
4.6 Mekanisme antibiosis <i>Aspergillus</i> sp. yang berumur empat hari terhadap <i>Phytophthora</i> sp. dengan umur yang sama.....	30
4.7 Mekanisme antibiosis <i>Penicillium</i> sp. yang berumur empat hari terhadap <i>Phytophthora</i> sp. dengan umur yang sama setelah inkubasi pada hari ke-2	31
4.8 Dendogram yang menunjukkan hubungan antara empat spesies yang tergolong ke dalam Genus <i>Phytophthora</i> didasarkan atas nilai similaritas SS_M	32
4.9 Dendogram yang menunjukkan hubungan antara enam spesies kapang antagonis yang didasarkan atas nilai similaritas SS_M	35

DAFTAR RUMUS

1. Nilai silmilaritas dengan *Simpel Matching Method* (SS_M)..... 19
2. Persentase Penghambatan Kapang Antagonis Terhadap *Phytophthora* sp..... 20

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

1. Komposisi medium.....	44
2. <i>Screening</i> isolat kapang antagonis terhadap isolat <i>Phytophthora</i> sp.....	44
3. Rata-rata persentase penghambatan isolat kapang antagonis terhadap isolat <i>Phytophthora</i> sp.....	45
4. Pengaruh perbedaan isolat <i>Phytophthora</i> sp. terhadap persentase penghambatan pertumbuhannya.....	45
5. Pengaruh perbedaan isolat kapang antagonis terhadap persentase penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> sp.....	45
6. Perbedaan rata-rata persentase penghambatan pertumbuhan <i>Phytophthora</i> sp. oleh masing-masing isolat kapang antagonis.....	46
7. Gambar mikroskopis isolat <i>Trichoderma</i> sp.....	47
8. Gambar mikroskopis isolat <i>Aspergillus</i> sp.	48
9. Gambar mikroskopis isolat <i>Penicillium</i> sp.	48
10. Karakteristik fenotip isolat <i>Phytophthora</i>	49
11. Karakteristik fenotip isolat kapang antagonis.....	50
12. Matriks persentase similaritas sifat fenotip antarisolat <i>Phytophthora</i> sp.	54
13. Matriks persentase similaritas sifat fenotip antarisolat kapang antagonis	54

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Apel merupakan tanaman subtropika yang berasal dari Asia Barat. Tanaman ini hidup dan tumbuh baik di daerah dataran tinggi dengan ketinggian 700-1.200 meter di atas permukaan air laut (Prihatman, 2000). Salah satu pusat pengembangan tanaman apel terbesar di Indonesia adalah Kota Batu, Propinsi Jawa Timur. Buah apel merupakan komoditas andalan bahkan dijadikan sebagai simbol Kota Batu. Menurut BPS dan Bapeda (2002 dalam Triwiratno, 2008) jumlah tanaman apel mencapai 3.107.159 pohon dengan produksi 1.085.471 kuintal per tahun.

Peningkatan produktivitas tanaman apel dilakukan untuk meningkatkan pangsa pasar akan produk lokal. Hal ini sejalan dengan program pemerintah dalam membatasi pemasukan buah apel impor. Namun usaha peningkatan produktivitas tersebut dipengaruhi oleh faktor pembatas penting di lapangan, seperti adanya serangan hama dan penyakit pada tanaman (Prihatman, 2000). Salah satu penyakit yang menyerang tanaman apel disebabkan oleh *Phytophthora* sp. Menurut Drenth & Guest (2004) *Phytophthora* sp. adalah kapang patogen pada tanaman yang hidup di tanah lembab. Kapang ini terdiri dari 60 spesies dan dapat menyebabkan berbagai penyakit pada tanaman seperti busuk akar, kanker, busuk tunas, luka pada batang, busuk buah, hawar daun dan lain-lain. Tanaman yang umum terserang oleh *Phytophthora* sp. antara lain coklat, durian, karet, lada, kentang, kelapa, tomat, jeruk dan apel.

Phytophthora sp. memiliki kemampuan yang tinggi dalam merusak jaringan tanaman. Serangan patogen dapat menurunkan produksi tanaman hingga 90% dari total produksi dalam waktu yang singkat. Gejala yang terjadi pada tanaman yang terserang penyakit akibat *Phytophthora* sp. adalah kulit pangkal batang membusuk dan berbatas jelas. Kulit pangkal batang yang membusuk tersebut mengeluarkan cairan berwarna kecoklatan. Pembusukan dapat meluas hingga ke perakaran sehingga menyebabkan pembusukan akar. Selain itu, pembusukan juga dapat meluas kesamping dan melingkari pangkal batang sehingga tanaman mati (Balitjestro, 2009).

Pengendalian *Phytophthora* sp. hingga saat ini dilakukan dengan menggunakan batang bawah yang tahan terhadap *Phytophthora* sp., pengaturan drainase lahan yang baik dan pemakaian fungisida sistemik (Hartman dkk., 2008). Pengaturan drainase lahan yang kurang baik akan membuat air tergenang sehingga menciptakan kondisi yang baik bagi pertumbuhan *Phytophthora*. Hal ini erat kaitannya dengan tingkat keasaman tanah. Perkembangan *Phytophthora* akan terjadi sangat pesat apabila tingkat keasaman tanah antara 6,0-6,5 (Erwin dkk., 2010).

Metode yang umum digunakan oleh masyarakat dalam mengendalikan *Phytophthora* adalah dengan menggunakan fungisida sistemik. Fungisida sistemik adalah fungisida yang bekerja dengan cara masuk ke dalam sistem pembuluh tanaman sehingga mampu menghambat infeksi kapang patogen yang menyerang jaringan tanaman. Fungisida ini menyebabkan seluruh bagian tanaman bersifat toksik bagi kapang patogen, termasuk *Phytophthora* sp. Fungisida sistemik yang umum digunakan untuk mengendalikan *Phytophthora* adalah *benthiavalicarb-isopropyl* (Miyake dkk., 2005), *phosphonate* (Aryantha & Guest, 2004) serta *phenylamide* (PAFs) yang terdiri dari *metalaxyl* (*ridomil*), *oxadixyl* (*sandofan*), *benalaxyl* (*balben*) dan *ofurace* (*patafol*) (Gisi & Cohen, 1996). Pemakaian fungisida sistemik secara terus-menerus dan tidak sesuai dengan dosis dapat menyebabkan timbulnya strain-strain *Phytophthora* baru yang kebal terhadap fungisida. Selain itu, pemakaian fungisida sistemik dapat menyebabkan pencemaran lingkungan serta matinya organisme non target pada lingkungan tersebut. Oleh karena itu, diperlukan metode alternatif dengan menggunakan agen hayati untuk mengendalikan dan menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp.

Agen hayati yang dapat digunakan untuk melawan *Phytophthora* sp. pada tanaman apel adalah mikroba antagonis. Menurut Linderman (2003) mikroba antagonis adalah mikroba yang mempunyai pengaruh merugikan terhadap mikroba lain yang tumbuh dan berasosiasi bersama. Hal ini terjadi karena adanya persaingan antarmikroba dalam hal ruang hidup, nutrisi dan faktor lingkungan. Salah satu jenis mikroba yang digunakan untuk melawan *Phytophthora* sp. adalah kapang antagonis. Kapang antagonis dapat diisolasi dari tanah lokal di sekitar tanaman apel yang terserang *Phytophthora*. Selain murah dan ramah lingkungan, penggunaan

kapang antagonis diharapkan lebih efektif dalam mengendalikan dan menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp. sehingga dapat meningkatkan produktivitas tanaman apel. Hal ini sesuai dengan penelitian Yuliani (2002 dalam Purwantisari dkk., 2008) yang menyebutkan bahwa penggunaan biofungisida yang berisi kapang antagonis secara ekonomis lebih murah jika dibandingkan dengan fungisida kimia karena dapat bertahan dalam periode yang cukup lama ketika diintroduksi ke alam. Menurut Singh dan Islam (2010) *Trichoderma harzianum* terbukti mampu melawan dan menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*, sedangkan Adebola dan Amadi (2010) menyebutkan bahwa *Aspergillus repens* merupakan kapang antagonis terhadap *P. palmivora*.

1.2 Permasalahan

Permasalahan yang ingin dikaji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik *Phytophthora* sp. patogen yang menyerang tanaman apel di kebun percobaan Banaran, Kota Batu?
2. Isolat kapang apa sajakah yang bersifat antagonis terhadap *Phytophthora* sp. patogen pada tanaman apel?

1.3 Tujuan

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui karakteristik *Phytophthora* sp. patogen yang menyerang tanaman apel di kebun percobaan Banaran, Kota Batu.
2. Mendapatkan isolat kapang antagonis yang mampu menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp. patogen tanaman apel.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan biofungisida mikroba pengendali *Phytophthora* sp. patogen pada tanaman apel.
2. Mencegah pencemaran lingkungan dan risiko gangguan kesehatan pada manusia oleh pestisida kimia sintetik.
3. Meningkatkan produktivitas tanaman apel.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Tanaman Apel

Tanaman apel merupakan tanaman subtropika yang berasal dari Asia Barat (Prihatman, 2000). Tanaman ini mempunyai tinggi batang sekitar 7-10 meter. Batang tanaman apel bercabang pendek dan berbentuk bulat. Daun berbentuk bulat telur dan memiliki gerigi-gerigi kecil pada tepinya (Gambar 2.1) (Iptek, 2005; Kusumaagrowisata, 2010). Perbanyakan tanaman apel dapat dilakukan secara vegetatif dan generatif. Teknik perbanyakan vegetatif dilakukan dengan okulasi (*budding*), sambung (*grafting*) dan stek, sedangkan perbanyakan generatif dilakukan dengan biji. Perbanyakan generatif tidak banyak dilakukan karena membutuhkan waktu yang lama dan sering menghasilkan bibit yang menyimpang dari induknya (Irawan, 2007). Menurut Woodland (2000) tanaman apel termasuk ke dalam Kingdom Plantae, Sub Kingdom Tracheobionta, Super Divisi Spermatophyta, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Subkelas Rosidae, Ordo Rosales, Famili Rosaceae dan Genus *Pyrus*.



Gambar 2.1 Tanaman Apel

Tanaman apel dapat tumbuh dan berbuah dengan baik pada ketinggian 700-1.200 meter dengan ketinggian optimal 1.000-1.200 meter di atas permukaan air laut. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah yang memiliki curah hujan 1.000-2.600 mm/tahun dengan hari hujan 110-150 hari/tahun. Curah hujan yang tinggi saat tanaman

apel berbunga akan menyebabkan bunga gugur sehingga tidak dapat menjadi buah (Prihatman, 2000).

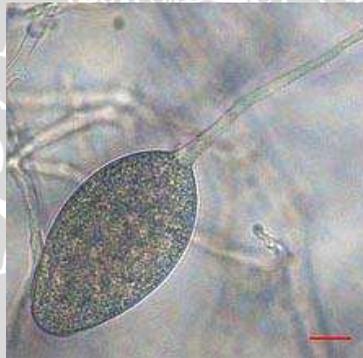
Tanaman apel membutuhkan cahaya matahari yang cukup antara 50-60% setiap harinya, terutama pada saat pembungaan. Suhu yang sesuai untuk tanaman apel berkisar antara 16-27°C sedangkan kelembaban udara yang sesuai berkisar antara 75-85%. Tanaman ini tumbuh dengan baik pada tanah yang mempunyai aerasi, penyerapan air dan porositas yang baik, sehingga pertukaran oksigen, pergerakan hara dan kemampuan penyimpanan air optimal. Tanah yang sesuai untuk tanaman apel adalah latosol, andosol dan regosol, serta derajat keasaman tanah (pH) yang cocok untuk tanaman apel adalah 6-7 (Prihatman, 2000).

Buah apel memiliki potensi dan nilai ekonomis yang tinggi. Buah ini dapat digunakan sebagai komoditas agrowisata serta dimanfaatkan masyarakat dan industri dalam pembuatan jus, keripik, jenang, dodol dan sari apel. Sentra produksi buah apel di Indonesia adalah Malang (Batu dan Poncokusumo) dan Pasuruan (Nongkojajar). Budidaya tanaman apel di daerah tersebut telah dilakukan sejak tahun 1950 dan berkembang pesat pada tahun 1960 hingga saat ini. Selain itu, daerah lain yang banyak ditanami apel adalah Situbondo dan Banyuwangi (Jawa Timur), Tawangmangu (Jawa Tengah), Buleleng dan Tabanan (Bali), Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur dan Sulawesi Selatan (Prihatman, 2000).

Produksi buah apel semakin menurun sejak tahun 1990. Penurunan produksi buah tersebut disebabkan oleh semakin tuanya tanaman apel yang dibudidayakan oleh masyarakat. Rata-rata umur tanaman apel saat ini lebih dari 25 tahun. Kondisi ini menyebabkan produksi buah apel semakin menurun. Selain itu, kerusakan lahan dan cuaca yang tidak menentu juga dapat menurunkan produksi buah apel sebesar 20-40%. Tidak hanya itu, pemakaian pestisida dan fungisida yang tidak tepat untuk mencegah hama dan penyakit yang menyerang tanaman apel, seperti serangan yang diakibatkan oleh *Phytophthora* sp., menyebabkan produksi buah apel mengalami penurunan yang cukup signifikan. Setiap 0,5 hektar kebun apel menghasilkan 10-15 ton buah apel dalam satu kali musim panen, namun produksi buah tersebut mengalami penurunan tajam hingga 5-7 ton (Luthfianto, 2008; Bhirawan, 2009; Bhirawan 2010).

2.2 *Phytophthora* sp.

Phytophthora berasal dari kata *phyto* yang berarti tanaman dan *phthora* yang berarti merusak. *Phytophthora* memiliki variasi karakter morfologi, yang terdiri dari bentuk sporangium, sporangiofor, keberadaan papila, klamidosfor, antheridia dan tipe reproduksi. Bentuk sporangium dibagi menjadi beberapa macam, antara lain bulat, elips (gambar 2.2 menurut Bush dkk., 2006.), lemon, obpyryform, meruncing pada bagian ujung dan tidak beraturan. Tipe sporangiofor terdiri dari bercabang, tidak bercabang, berumpun, berbentuk payung, simpodium sederhana dan simpodium panjang. Klamidosfor terletak pada bagian tengah, ujung atau berumpun. Tipe antheridia dibagi menjadi dua, yaitu *paragynous* dan *amphigynous* sedangkan oospora terdiri dari plerotik dan aplerotik (Drenth & Guest, 2004).



Gambar 2.2 Sporangium *Phytophthora* sp. non-papila

Phytophthora sp. adalah kapang patogen pada tanaman yang hidup di tanah lembab. Kondisi tersebut menyebabkan *Phytophthora* sulit untuk dikendalikan (Perry, 2008). Selain itu, patogen ini hanya dapat tumbuh pada suhu yang sesuai. *Phytophthora coctarum* diketahui dapat tumbuh dengan baik pada suhu 13°C, tetapi kapang ini sangat aktif pada suhu 21°C.

Phytophthora memiliki waktu generasi yang pendek. Penyebaran *Phytophthora* terjadi melalui air dan udara. *Phytophthora* memiliki kemampuan untuk menghasilkan beberapa tipe spora yang berbeda, seperti sporangia, zoospora, klamidospora dan oospora (Drenth & Guest, 2004). Menurut Bioweb (2007)

Phytophthora termasuk ke dalam Domain Eukarya, Kingdom Stramenopila, Phylum Oomycota, Class Oomycetes, Order Peronosporales dan Family Pythiaceae.

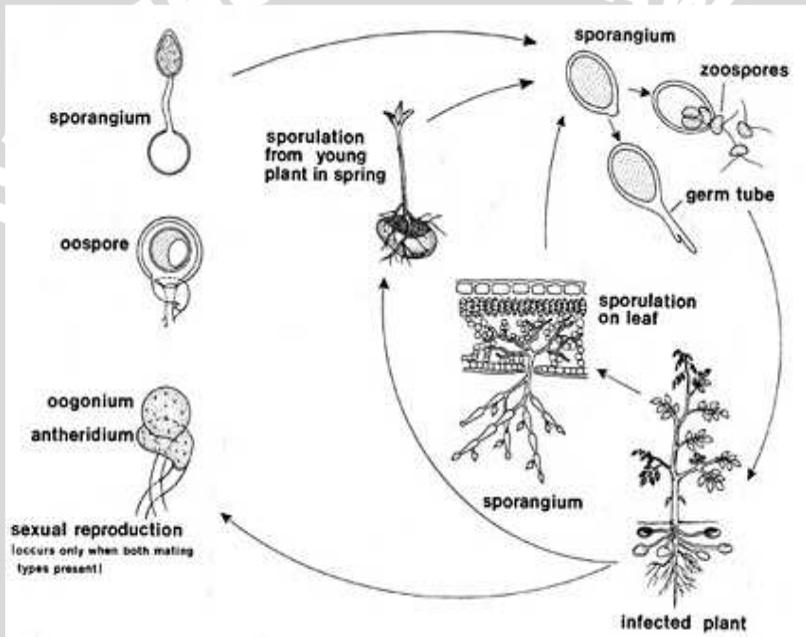
Phytophthora dapat bertahan hidup di dalam tanah selama beberapa tahun tanpa inang dan dalam kondisi yang tidak menguntungkan. Menurut Moore dkk. (2010) oospora *Phytophthora* dapat bertahan di dalam tanah selama sepuluh tahun. CABI dan EPPO (1990) menyebutkan bahwa zoospora *P. cinnamoni* dapat bertahan selama enam minggu sedangkan miselium dan klamidosfor dapat bertahan selama enam tahun di tanah yang lembab. Apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan, klamidosfor akan memasuki fase dorman sampai kondisi lingkungan kembali sesuai. Apabila kondisi lingkungan telah sesuai, *Phytophthora* akan memproduksi miselium, sporangia, zoospora serta klamidosfor kembali (CABI dan EPPO, 1990).

Phytophthora sp. merupakan organisme eukariotik karena memiliki inti sel dan membran pada setiap organel. *Phytophthora* sp. termasuk ke dalam Kingdom Stramenopila karena memiliki *whiplash flagellum* dan *tinsel flagellum* pada zoosporanya. *Whiplash flagellum* terletak pada bagian ujung posterior zoospora dan membantu *Phytophthora* bergerak di dalam air. *Tinsel flagellum* terletak di ujung anterior zoospora dan mendorong spora melewati air (Bioweb, 2007).

Dinding sel *Phytophthora* sebagian besar (80-90 %) tersusun atas polimer β -linked glucose yang terdiri dari protein, lipid dan beberapa polisakarida lain. Komponen β -glucan dapat dibagi menjadi selulosik (β -1,4-linked) dan non-selulosik (β -1,4-linked dan β 1,6-linked) (Bartnicki-Garcia, 1966; Tokunaga dan Bartnicki-Garcia, 1971). *Phytophthora* dapat menyimpan makanan berupa pati. Oleh sebab itu, *Phytophthora* sp. termasuk ke dalam Kelas Oomycetes. *Phytophthora* sp. diklasifikasikan ke dalam Ordo Peronosporales karena bersifat patogen pada tanaman. Ordo ini terdiri dari tiga famili yaitu Peronosporaceae, Pythiaceae dan Albuginaceae. Pythiaceae terdiri dari parasit obligat dan nonobligat (Bioweb, 2007).

Phytophthora dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual (Gambar 2.3). Perkembangbiakan seksual jarang ditemukan di alam jika dibandingkan dengan perkembangbiakan aseksual

(Nelson, 2008). Pada perkembangbiakan seksual, oogonium (n) dan antheridium (n) melebur menjadi satu dan membentuk oospora ($2n$). Oospora selanjutnya akan berkembang membentuk sporangium. Sporangium akan menghasilkan *motile* spora yang dapat bergerak dan melakukan penetrasi ke dalam akar, batang dan mahkota tanaman sehingga menyebabkan tanaman menjadi busuk. Penyebaran *Phytophthora* sp. terjadi melalui air hujan, irigasi, peralatan pertanian, perbanyakan vegetatif dan tanah yang terkontaminasi.



Gambar 2.3 Siklus hidup *Phytophthora* sp.

Perkembangbiakan *Phytophthora* secara aseksual terjadi pada kondisi kelembaban yang tinggi. Sporangium terbentuk melalui peristiwa sporulasi dan menghasilkan 10-12 *motile* spora (zoospora) (Metapathogen, 2010). Zoospora akan dihasilkan jika kelembaban tanah mencapai 91-100% dan kisaran suhu antara 3-26°C dengan suhu optimum antara 18-22°C (Nelson, 2008). Sporangium juga dapat membentuk *germ tube* melalui peristiwa germinasi atau perkecambahan. Penetrasi ke dalam jaringan tanaman terjadi ketika

ujung *germ tube* berdiferensiasi menjadi *appresorium* (Metapathogen, 2010). Hifa akan menembus sel dan menyerap nutrisi sebagai makanan bagi pertumbuhan kapang. Tanaman yang terinfeksi akan menunjukkan beberapa gejala pada hari ke-3 sampai hari ke-5 (American Phytopathological Society, 1998).

2.3 Penyakit yang Ditimbulkan oleh *Phytophthora* sp.

Phytophthora sp. yang terdapat dalam tanah dapat menyerang tanaman apabila keadaan lingkungan menguntungkan. Hampir seluruh bagian tanaman dapat diserang patogen ini. Infeksi yang sangat cepat dan fatal terjadi melalui akar, pangkal batang sampai ke cabang tanaman (Sunarwati, 1995).

Beberapa penyakit tanaman yang ditimbulkan akibat serangan *Phytophthora* sp. pada tanaman apel adalah busuk pangkal batang, busuk batang dan busuk akar. Gejala umum tanaman yang terinfeksi *Phytophthora* adalah pertumbuhan tanaman terhambat, tanaman menjadi kerdil jika dibandingkan dengan tanaman yang tidak terinfeksi, daun jarang dan berwarna kuning, buah yang dihasilkan berukuran kecil dan berwarna pucat (Goldberg, 2000).

Busuk pangkal batang umumnya didahului dengan gejala bercak basah pada kulit batang dan berwarna gelap. Bercak yang mula-mula terjadi di permukaan kulit akan meluas ke bagian kambium dan kayu. Bercak yang timbul dapat melingkari batang sehingga tanaman mati. Apabila terjadi infeksi patogen sekunder berupa kapang lain atau bakteri yang menyebabkan kayu menjadi busuk maka tanaman menjadi lebih cepat mati walaupun batang belum terlingkari *Phytophthora* sp. (Sunarwati, 1995).

Busuk batang pada tanaman apel disebabkan oleh *Phytophthora cactorum*, *P. cambivora* dan *P. cryptogea*. Kapang-kapang tersebut dapat berasosiasi dengan *Phytophthora syringae*, *P. megasperma* dan *P. drechsleri*. Busuk batang berkaitan erat dengan sistem drainase lahan yang buruk. Tanah yang lembab dapat menciptakan kondisi yang baik bagi perkembangan dan penyebaran *Phytophthora* (Hartman dkk., 2008).

Kanker batang terdapat pada bagian pangkal batang tanaman apel ditunjukkan dengan kulit batang berbentuk cekung dan berwarna gelap. Jaringan pada bagian dalam kulit kayu akan membusuk dan basah serta mengeluarkan cairan kemerahan seperti

lapisan karat (Gambar 2.4). Apabila jaringan yang membusuk tersebut dibersihkan maka akan tampak jaringan berwarna merah (Hartman dkk., 2008).



Gambar 2.4 Kanker batang pada tanaman apel

Phytophthora sp. juga menyebabkan tanaman terserang busuk akar (Gambar 2.5). Gejala yang terlihat adalah tanaman menjadi layu, daun muda menguning, klorosis dan pertumbuhannya terganggu. Daun yang baru muncul berukuran kecil dan berwarna hijau terang sampai kuning. Jaringan akar yang diserang menjadi lunak dan berubah warna menjadi coklat gelap (Ellis, 2008).



Gambar 2.5 Penyakit busuk akar pada tanaman apel

2.4 Mikroba Antagonis terhadap *Phytophthora* sp.

Mikroba antagonis didefinisikan sebagai mikroba yang memiliki pengaruh negatif terhadap mikroba lain yang tumbuh dan berasosiasi bersama. Hal ini terjadi karena adanya persaingan antarmikroba dalam hal ruang hidup, nutrisi dan cekaman faktor lingkungan (Linderman, 2003). Beberapa spesies mikroba antagonis berhasil diisolasi dan dievaluasi keefektifannya sebagai agen hayati pengendali penyakit tanaman. *Bacillus subtilis* terbukti efektif dalam mengendalikan penyakit rebah kecambah akibat serangan *Rhizoctonia solani* pada tanaman krisan serta *Pseudomonas fluorescens* efektif dalam mengendalikan penyakit akar bengkak akibat serangan *Plasmodiophora brassicae* pada tanaman caisin (Hanudin dkk., 2010).

Mikroba antagonis juga dapat dijadikan sebagai salah satu cara untuk mengendalikan *Phytophthora* sp. Bakteri, kapang dan aktinomisetes yang bersifat antagonis terhadap *Phytophthora* sp. dapat menghasilkan antibiotik atau metabolit sekunder yang menghambat pertumbuhan vegetatif, perkecambahan spora dan sporulasi (Linderman, 2003). Selain itu, mikroba antagonis dapat menghambat pertumbuhan *Phytophthora* dengan melakukan kompetisi ruang dan nutrisi, mikoparasitisme serta menginduksi terjadinya resistensi pada tanaman (Whipps, 2001 dalam Noveriza dan Quimio 2004). Beberapa kapang antagonis terhadap *Phytophthora* sp. yang telah banyak dikenal adalah *Trichoderma* sp., *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Mucor* sp., *Aspergillus* sp., *Gliocladium* sp. dan *Penicillium* sp. (Noveriza & Quimio, 2004).

Trichoderma sp. dapat mengendalikan kapang *Phytophthora* sp. dengan menghambat produksi sporangia serta melisiskan miselium dan zoosporanya (Noveriza & Quimio, 2004). Beberapa jenis *Trichoderma* yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati, yaitu *T. virens*, *T. viride* dan *T. harzianum*. *Trichoderma* memiliki kapasitas reproduksi yang tinggi, mampu bertahan pada kondisi yang tidak menguntungkan, efisien dalam menggunakan nutrisi dan sangat agresif dalam melawan penyakit tanaman (Benítez dkk., 2004).

Penggunaan agen pengendali hayati (APH) dalam mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT) semakin berkembang. Cara tersebut dinilai lebih unggul jika dibandingkan dengan pengendalian menggunakan pestisida. Beberapa keunggulan

penggunaan agen pengendali hayati tersebut antara lain: (1) aman bagi manusia, musuh alami dan lingkungan; (2) dapat mencegah timbulnya ledakan OPT sekunder; (3) produk tanaman yang dihasilkan bebas dari residu pestisida; (4) banyak terdapat di sekitar tanaman sehingga dapat mengurangi ketergantungan petani pada pestisida sintesis; dan (5) menghemat biaya produksi karena aplikasi cukup dilakukan satu atau dua kali dalam satu musin panen (Hanudin dkk., 2010).

2.5 Mekanisme Penghambatan *Pytophthora* sp. oleh Kapang Antagonis

Kemampuan kapang antagonis untuk tumbuh dengan cepat adalah salah satu mekanisme kapang tersebut dalam mengendalikan kapang patogen. Keefektifan kapang antagonis ditunjukkan oleh kemampuannya untuk tumbuh lebih cepat melebihi pertumbuhan patogen. Interaksi dari kedua kapang tersebut dapat dilihat dari adanya penghambatan patogen melalui kompetisi nutrisi (Noveriza & Quimio, 2004).

Aspergillus memproduksi antibiotik yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening sebagai zona hambat. *Aspergillus* juga menghasilkan enzim litik yang dikeluarkan ke lingkungan sehingga berpengaruh merugikan terhadap organisme lain. *Aspergillus* sp. menghasilkan beberapa antibiotik, seperti *nominine*, *aflavinines*, *paspalinine* dan *aspernomine* (Gloer, 1995 dalam Noveriza & Quimio, 2004).

Mekanisme antagonis *Trichoderma* dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain kompetisi untuk mendapatkan ruang dan nutrisi, menghasilkan metabolit yang dapat menghambat perkecambahan spora patogen, berinteraksi dengan patogen melalui kontak langsung dan sintesis enzim hidrolitik yang bersifat toksik serta membunuh sel dengan antibiosis. Mekanisme antibiosis *Trichoderma* terjadi dengan melibatkan senyawa dengan berat molekul rendah yang dapat berdifusi atau dengan menghasilkan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan mikrobial lain. Beberapa strain *Trichoderma* menghasilkan senyawa toksik yang bersifat volatil dan non-volatil, seperti *harzianic acid*, *alamethicins*, *tricholin*, *peptaibols*, antibiotik, *6-penthy- α -pyrone*, *massoilactone*, *viridin*, *gliovirin*, *glisoprenins*, *heptelidic acid* serta beberapa

senyawa toksik lain. *Gliovirin* merupakan senyawa yang sangat efektif untuk dijadikan sebagai agen pengendali hayati, sedangkan *peptaibols* termasuk ke dalam kelas peptida linier yang memiliki aktivitas antimikrobia tinggi dalam melawan bakteri Gram positif dan kapang. *Peptaibols* bersinergi dengan enzim pendegradasi dinding sel untuk menghambat pertumbuhan kapang patogen (Benítez dkk., 2004).

Mekanisme antagonis *Trichoderma* juga dapat dilakukan dengan mikoparasitisme. *Trichoderma* berinteraksi dengan patogen dan menyebabkan hifa mengalami perubahan bentuk serta rusak. Mekanisme mikoparasitisme ini juga melibatkan perubahan morfologi, seperti pelinggaran hifa dan pembentukan appresorium. *Trichoderma* melekat pada patogen dengan mengikat senyawa lektin melalui dinding sel patogen. *Trichoderma* melingkari patogen dan membentuk appresorium kemudian menghasilkan enzim pendegradasi dinding sel serta *peptaibols* yang membantu hifa *Trichoderma* masuk ke dalam lumen patogen dan mengasimilasi isi dinding sel (Benítez dkk., 2004).

Enzim pendegradasi dinding sel yang dihasilkan oleh *Trichoderma* adalah enzim kitinolitik dan glukanolitik (Noveriza dan Quimio, 2010) serta proteolitik yang berperan dalam aktivitas mikoparasitisme. Enzim kitinase terdiri dari *1,4- β -acetylglucosaminidases* (GlcNAcases), endokitinase dan eksokitinase. Gen GlcNAcases terdiri dari *exc1* (= *nag1*), *exc2*, *tvnag1*, dan *tvnag2*. Nag1 dapat memicu ekspresi gen kitinase. Sinyal transduksi dari mekanisme mikoparasitisme ini melibatkan komponen jalur sinyal cAMP dan MAP kinase, seperti protein G subunit α (G- α) yang mengontrol enzim ekstraselular, produksi antibiotik dan pelinggaran antagonis mengelilingi hifa inang. Jumlah protein G subunit α akan semakin meningkat selama proses pelinggaran hifa patogen oleh *Trichoderma*. Jumlah protein tersebut dapat dideteksi dengan penambahan aktivator protein G (mastoparan dan fluoroaluminate) (Benítez dkk., 2004).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Agustus 2010 sampai dengan Maret 2011. Penelitian dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang serta Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro), Kota Batu, Propinsi Jawa Timur. Pengambilan sampel tanah dilakukan di kebun percobaan Banaran, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu.

3.2 Isolasi *Phytophthora* sp.

Sampel tanah diambil berdasarkan metode *search sampling*, yaitu di bawah kanopi tanaman apel yang menunjukkan gejala penyakit yang disebabkan oleh *Phytophthora* sp. (Gambar 3.1). Sampel tanah diambil dari lima titik yang masing-masing merupakan komposit dari tiga *sampling*. Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman 0-10 cm dari permukaan tanah. Sampel diambil dengan menggunakan bor tanah dan dimasukkan dalam kantong plastik. Sampel tanah disimpan dalam kotak isothermis untuk dibawa ke laboratorium guna perlakuan lebih lanjut.



Gambar 3.1 Gejala penyakit pada tanaman apel akibat serangan *Phytophthora* sp. di kebun percobaan Banaran, Kecamatan Bumiaji

Isolasi *Phytophthora* sp. dari sampel tanah dilakukan dengan menggunakan metode umpan (*baiting method*) menurut Muryati, dkk. (2009) yang dimodifikasi (Gambar 3.2). Buah apel varietas manalagi digunakan sebanyak lima buah dengan tiga ulangan. Masing-masing buah apel mewakili masing-masing sampel tanah pada lima titik berbeda. Buah apel sehat dibersihkan dengan air mengalir dan permukaan buah didesinfeksi dengan ethanol 70%. Buah diiris dengan silet steril sehingga membentuk sobekan mirip bangun prisma dengan panjang ± 2 cm, lebar ± 1 cm dan kedalaman $\pm 0,5$ cm. Sampel tanah yang telah diambil kemudian disisipkan ke dalam sobekan tersebut. Bagian bawah buah ditusuk dengan jarum enten steril pada lima titik yang berbeda. Buah diletakkan pada suspensi tanah dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari.



Gambar 3.2 Metode umpan menggunakan buah apel

Buah yang menunjukkan gejala busuk dan berwarna kecoklatan dibuat sayatan tipis $5 \times 5 \text{ mm}^2$ pada bagian permukaan dan disterilisasi dengan larutan NaOCl 1% selama 30 detik (Kwon dkk., 2007). Sayatan tersebut dicuci dengan akuades steril tiga kali kemudian diinokulasi dalam cawan petri berisi medium *V8 Juice Agar* yang ditambah dengan 30 mg/L streptomycin. Biakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh dipindahkan ke dalam cawan petri lain berisi medium *V8 Juice Agar* dan diinkubasi selama lima hari pada suhu ruang.

3.3 Isolasi Kapang Antagonis terhadap *Phytophthora*

Kapang antagonis diisolasi dari tanah di sekitar tanaman apel yang terserang *Phytophthora*. Sampel diambil pada lima titik berbeda yang masing-masing merupakan komposit dari tiga

sampling. Sampel diambil dengan menggunakan bor tanah. Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman 0-10 cm dari permukaan tanah kemudian dimasukkan dalam kantong plastik. Sampel tanah disimpan dalam kotak isothermis untuk dibawa ke laboratorium guna perlakuan lebih lanjut.

Sampel tanah diambil sebanyak 25 g dan dilarutkan ke dalam 225 ml larutan garam fisiologis 0,85% untuk dilakukan seri pengenceran sampai 10^{-4} . Suspensi sampel pada setiap tingkat pengenceran diambil 0,1 ml dan dinokulasikan ke dalam cawan petri steril. Masing-masing cawan yang berisi suspensi sampel tersebut dituangi dengan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang mengandung 30 mg/L streptomycin (Aryantha & Guest, 2006). Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

3.4 Pemurnian Isolat Kapang

Isolat kapang dimurnikan menurut Funder (1953). Kapang yang telah diisolasi, dicuplik dan ditanam pada medium PDA. Biakan diinkubasi selama lima hari pada suhu ruang. Spora kapang dari biakan tersebut diambil satu oose dan disuspensikan dalam 40 μ L akuades steril yang mengandung 20 μ L Tween 80 pada gelas obyek. Suspensi spora diambil dengan oose dan digoreskan pada permukaan medium PDA pada cawan petri secara *continous streak*. Biakan spora diinkubasikan selama 10-18 jam pada suhu ruang (sampai spora berkecambah). Pertumbuhan spora diamati menggunakan mikroskop stereo. Satu spora yang berkecambah dicuplik, kemudian dipindahkan ke dalam medium PDA yang baru dalam cawan petri. Biakan diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu ruang. Koloni kapang yang tumbuh merupakan isolat murni yang berasal dari satu spora (isolat monospora). Isolat kapang yang sudah murni digunakan untuk uji antagonis dan identifikasi berdasarkan karakter fenotip.

3.5 Karakterisasi Fenotip Isolat *Phytophthora* dan Kapang Antagonis

Phytophthora sp. dan kapang antagonis diidentifikasi berdasarkan pengamatan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis menurut Jutono dkk. (1973), Koneman dkk. (1978) dan (Kwon dkk., 2007). Karakter morfologi koloni isolat yang diamati secara makroskopis meliputi bentuk, tepi, permukaan dan warna

koloni. Karakter kapang yang diamati secara mikroskopis meliputi struktur hifa, badan pembentuk spora, bentuk konidia, konidiofor, metula, phialid, vesikula dan penyerapan warna. Bagian-bagian dari kapang yang diamati secara mikroskopis tersebut dilakukan dengan pewarnaan menggunakan *lactophenol cotton blue* (LCB) dan pembuatan *slide* kultur. Biakan kapang dicuplik dengan menggunakan jarum enten dan diletakkan pada gelas obyek yang telah ditetesi dengan LCB. Hifa kapang diurai menggunakan jarum dengan bantuan mikroskop stereo. Hifa yang telah terurai ditutup dengan gelas penutup dan diamati menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX21 pada perbesaran 400x.

Pembuatan *slide* kultur dilakukan menggunakan metode Harris (1986). Medium agar dipotong $7 \times 7 \text{ mm}^2$ dengan menggunakan jarum enten dan diletakkan pada gelas obyek steril. Isolat kapang diinokulasikan pada tiap sisi dari potongan medium agar dan ditutup dengan gelas penutup. Biakan diinkubasikan pada suhu ruang selama 48 jam dalam cawan petri steril yang telah diberi kapas dan telah dilembabkan dengan akuades steril. Gelas penutup diambil dan ditetesi dengan etanol 95% kemudian diletakkan pada gelas obyek steril lain yang berisi satu tetes *Lactophenol cotton blue* (LCB). Preparat diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX21 pada perbesaran 400x.

Seluruh karakter dari isolat *Phytophthora* dan kapang antagonis dianalisis secara numerik menggunakan program CLAD 97 untuk menentukan klaster berdasarkan nilai similaritas fenotip. *Aspergillus niger* digunakan sebagai acuan terhadap isolat kapang antagonis. Isolat yang memiliki karakter fenotip bersangkutan diberi tanda positif (+), sedangkan isolat yang tidak memiliki karakter fenotip bersangkutan diberi tanda negatif (-). Karakter fenotip yang bertanda positif (+) diubah menjadi angka 1, sedangkan yang bertanda negatif (-) diubah menjadi angka 0 agar dapat dianalisis dengan program CLAD 97. Nilai silmilaritas ditentukan dengan *simpel matching method* (SS_M) menggunakan rumus 3.1 (Sembiring, 2002 dalam Suharjono, 2008).

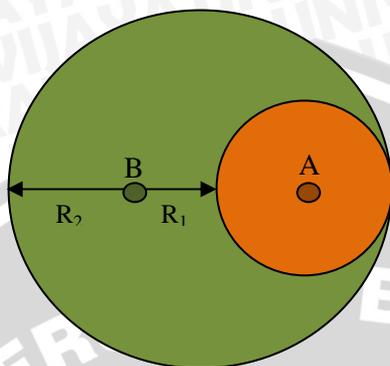
$$SS_M = \frac{(a + d)}{(a + b + c + d)} 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

a = jumlah karakter yang (+) untuk kedua strain; b = jumlah karakter yang (+) untuk strain pertama dan (-) untuk strain kedua; c = jumlah karakter yang (-) untuk strain yang pertama dan (+) untuk strain yang kedua; d = jumlah karakter yang (-) untuk kedua strain

3.6 Uji Penghambatan Pertumbuhan *Phytophthora* sp. oleh Kapang Antagonis

Percobaan untuk uji penghambatan oleh kapang antagonis terhadap *Phytophthora* sp. dilakukan menurut rancangan acak kelompok faktorial dengan tiga ulangan. Perlakuan pada percobaan tersebut adalah jenis kapang antagonis dan jenis isolat *Phytophthora*. Parameter yang diamati yaitu persentase penghambatan kapang antagonis terhadap pertumbuhan *Phytophthora*.

Uji penghambatan *Phytophthora* sp. oleh kapang antagonis dilakukan dengan *dual culture method* menurut Mpika dkk. (2009) yang dimodifikasi. Isolat *Phytophthora* ditumbuhkan pada medium *V8 Juice Agar*, sedangkan isolat kapang yang berpotensi sebagai antagonis ditumbuhkan pada medium PDA. Biakan diinkubasi selama empat hari pada suhu ruang. Umur biakan kapang antagonis ditentukan berdasarkan kemampuan kapang tersebut dalam melakukan invasi terhadap kapang *Phytophthora* sp. yang menginfeksi tanaman dan telah menunjukkan gejala serangannya (Mpika dkk., 2009). Kapang antagonis maupun *Phytophthora* pada bagian tepi koloni dicuplik dengan menggunakan *cork bor* yang berdiameter empat milimeter. Kedua cuplikan masing-masing isolat tersebut kemudian diinokulasikan pada medium *V8 Juice Agar* dengan jarak tiga centimeter pada cawan petri (Gambar 3.3). Biakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. *Phytophthora* sp. yang tumbuh diukur jarak pertumbuhan koloninya yang menjauhi atau mendekati kapang antagonis.



Gambar 3.3 *Dual culture method*

A = Isolat antagonis; B = *Phytophthora* sp.

Persentase penghambatan dapat dihitung dengan menggunakan rumus 3.2 (Anggraeni & Suharti, 1996 dalam Dewi, 2000).

$$P = \frac{R_2 - R_1}{R_2} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

P = persentase penghambatan kapang antagonis terhadap *Phytophthora* sp.; R₁ = jarak pertumbuhan *Phytophthora* yang mendekati antagonis; R₂ = jarak pertumbuhan *Phytophthora* yang menjauhi antagonis

Data persentase penghambatan kapang antagonis terhadap pertumbuhan *Phytophthora* dilakukan analisis ragam yang dilanjutkan dengan uji *Games howell* pada selang kepercayaan 95%. Analisis statistik data tersebut dilakukan menggunakan program SPSS versi 16.

3.7 Pengamatan Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan *Phytophthora* oleh Kapang Antagonis

Uji mekanisme penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh kapang antagonis dilakukan menurut Aryantha & Guest (2006). Irisan medium *V8 Juice Agar* dengan ukuran ± 5x5 mm² diletakkan pada gelas obyek steril. Isolat *Phytophthora* yang berumur empat hari pada bagian tepi koloni dicuplik dengan menggunakan jarum enten kemudian diinokulasikan pada satu sisi dari irisan agar. Kapang

antagonis dengan umur yang sama dicuplik dengan menggunakan jarum enten kemudian diinokulasikan pada sisi lain irisan agar. Irisan medium agar yang telah diinokulasi dengan kedua kapang tersebut ditutup dengan gelas penutup. Biakan diinkubasikan pada suhu ruang selama 1-5 hari dalam cawan petri steril. Biakan yang tumbuh diamati struktur hifa, sporangium dan adanya senyawa yang dihasilkan oleh kapang antagonis. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX21.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

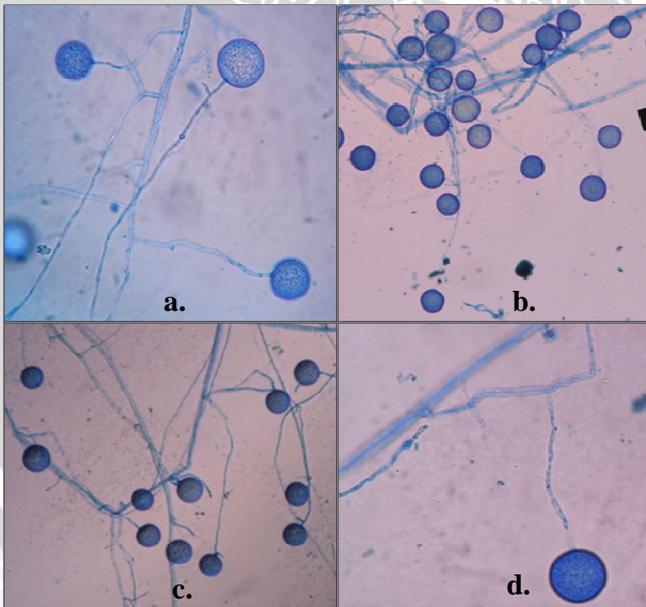


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 *Phytophthora* sp. dan Kapang Antagonis Hasil Isolasi

4.1.1 *Phytophthora* sp. hasil isolasi

Phytophthora sp. telah berhasil diisolasi dari sampel tanah di sekitar tanaman apel yang terserang penyakit menggunakan metode umpan (*baiting method*). Hasil isolasi menunjukkan bahwa isolat *Phytophthora* yang diperoleh antara lain M1, M4, MB1 dan MB2. Isolat-isolat tersebut memiliki karakter morfologi yang hampir sama, antara lain koloni berbentuk bulat dengan tepi rata memenuhi cawan petri dan permukaan koloni berfilamen. Koloni pada bagian atas dan bawah berwarna putih. Elevasi koloni rata dengan permukaan medium agar (tipis) dan memiliki tekstur yang lengket jika dicuplik menggunakan jarum enten. Koloni *Phytophthora* dapat tumbuh pada medium V8 Juice Agar (V8A), Carrot Agar (CA) dan *Potatoes Dextrose Agar* (PDA).



Gambar 4.1 Struktur morfologi isolat *Phytophthora* sp.
a. isolat M1; b. isolat M4; isolat MB1; isolat MB2 (perbesaran 400x)

Sporangium *Phytophthora* berbentuk bulat, tunggal dan berpapila dengan ukuran yang bervariasi (Gambar 4.1). Sporangiofor tidak bercabang dan berdinding halus serta lebarnya 2,5-5 µm. Hifa *Phytophthora* memiliki sekat dan bercabang. Hifa tersebut berdinding halus dan tipis serta lebarnya 5-7,5 µm. Klamidosfor berbentuk bulat hingga oval dan terletak pada bagian interkalar dengan diameter 15 µm.

Beberapa spesies *Phytophthora* diketahui merupakan patogen pada tanaman apel, yaitu *Phytophthora cactorum*, *P. cambivora*, *P. drechsleri* dan *P. parasitica* (Matheron dkk., 1988). Menurut Rivard (2007) *Phytophthora cactorum* dicirikan dengan sporangium berpapila dan terletak pada bagian terminal dengan bentuk elips, obpyriform atau bulat. Sporangium berkelompok dengan tipe sporangiofor sederhana. Masing-masing sporangium menghasilkan lebih dari 50 zoospora. Klamidosfor tumbuh pada medium V8 Juice Agar yang diinkubasi pada suhu 4°C. Klamidosfor terletak pada bagian terminal dan interkalar. Antheridium berbentuk bulat dan bertipe paragynous, sedangkan oospora bertipe plerotik. Oogonia berwarna hialin dan berdinding halus.

4.1.2 Kapang antagonis hasil isolasi

Kapang hasil isolasi dari sampel tanah asal kebun percobaan Banaran, Kecamatan Bumiaji ditemukan sebanyak 20 isolat. Isolat-isolat tersebut antara lain *Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.2, *Trichoderma* sp.3, *Trichoderma* sp.4, *Trichoderma* sp.6, *Trichoderma* sp.7, *Aspergillus* sp.1, *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3, *Aspergillus* sp.4, *Aspergillus* sp.5, *Aspergillus* sp.6, *Penicillium* sp.1, *Penicillium* sp.2, *Penicillium* sp.3, *Penicillium* sp.4, *Penicillium* sp.5, K9, K14 dan K26.

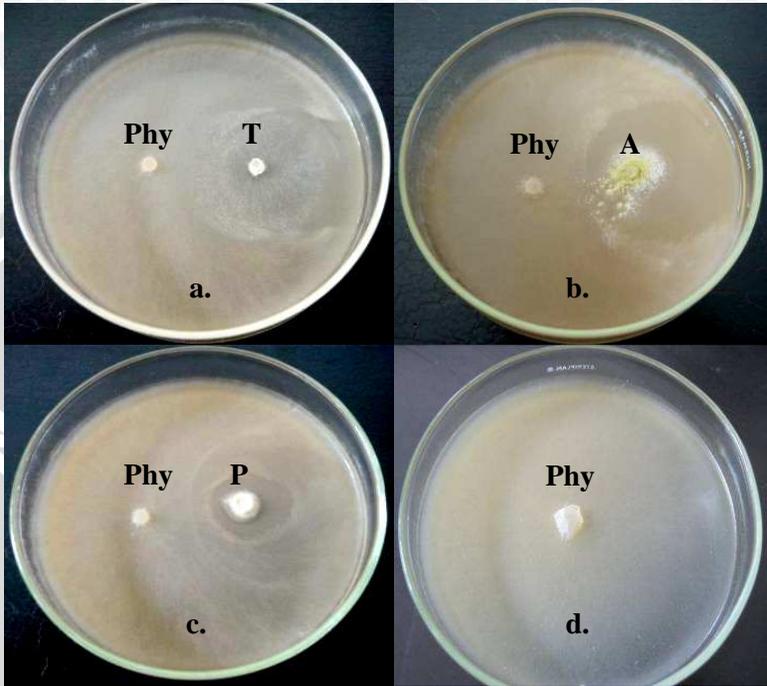
Penicillium sp. dan *Trichoderma* sp. adalah kapang yang umum dijumpai dalam tanah. Kapang tersebut merupakan kapang pemacu pertumbuhan tanaman. *Penicillium* sp. dan *Trichoderma* sp. mampu melindungi tanaman dari serangan patogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. *Trichoderma harzianum* merupakan kapang yang paling potensial sebagai agen pengendali hayati kapang-kapang patogen tanaman seperti *Fusarium*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* dan *Phytium* sp. (Purwantisari dan Hastuti, 2009).

4.2 Penghambatan Pertumbuhan *Phytophthora* oleh Kapang Antagonis

Uji antagonis dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *dual culture method* untuk mengetahui jenis-jenis isolat kapang yang mampu menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan, isolat kapang yang mampu menghambat pertumbuhan *Phytophthora* sp. adalah *Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.4, *Trichoderma* sp.6, *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 dan *Penicillium* sp.1. Penghambatan *Phytophthora* oleh kapang antagonis diamati pada hari kedua. Menurut Yuleli (2009) *Aspergillus* dan *Penicillium* merupakan kapang antagonis yang mempunyai daya antibiosis dan berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman sedangkan Mpika dkk. (2009) menjelaskan bahwa *Trichoderma* sp. merupakan kapang yang sangat potensial dalam melawan *Phytophthora*.

Penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* sp. oleh *Trichoderma* sp. dapat dilihat dari pola pertumbuhan koloninya. Koloni *Trichoderma* sp. melakukan kontak langsung dengan koloni *Phytophthora* dan menekan pertumbuhan patogen tersebut. Mekanisme *Trichoderma* sp. dalam menghambat *Phytophthora* sp. diduga dengan melakukan kompetisi ruang dan nutrisi (Gambar 4.2a). Menurut Singh dan Islam (2010) kompetisi nutrisi dan penghambatan pertumbuhan miselium merupakan mekanisme aksi sederhana yang dilakukan oleh beberapa antagonis.

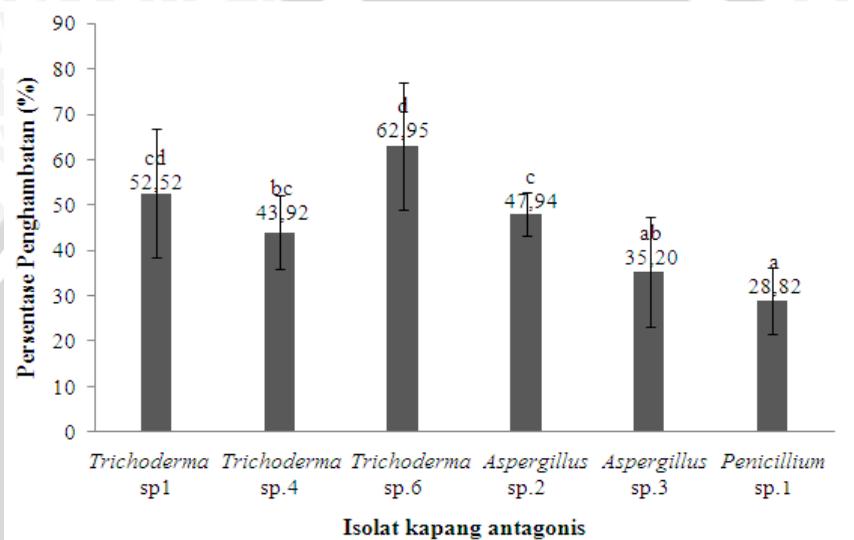
Aspergillus sp. dan *Penicillium* sp. menghasilkan zona bening sebagai zona hambat dalam melawan *Phytophthora* (gambar 4.2b dan 4.2c). Adanya zona hambat tersebut menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. memproduksi senyawa antibiotik untuk menghambat pertumbuhan *Phytophthora*. Menurut Avis & Belanger (2002) salah satu sifat kapang antagonis adalah pertumbuhannya yang lebih cepat jika dibandingkan dengan patogen atau menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Adanya produksi senyawa antibiotik dari *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan *Phytophthora*.



Gambar 4.2 Uji penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* sp. oleh *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. pada hari ke-2
 a. *Trichoderma* sp.1 (T) dan *Phytophthora* sp. (Phy); b. *Aspergillus* sp.2 (A) dan *Phytophthora* sp. (Phy); c. *Penicillium* sp.1 (P) dan *Phytophthora* sp. (Phy); d. kontrol

Berdasarkan analisis ragam yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa persentase penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh kapang antagonis tidak berbeda secara signifikan pada penggunaan keempat isolat kapang patogen tersebut ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan keempat isolat *Phytophthora* tidak berpengaruh terhadap persentase penghambatan yang dihasilkan. Sementara itu, persentase penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* berbeda secara signifikan pada penggunaan keenam isolat kapang antagonis ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan keenam isolat kapang antagonis tersebut berpengaruh terhadap persentase penghambatan

pertumbuhan *Phytophthora*. Setiap isolat kapang antagonis memiliki kemampuan dan sifat penghambatan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Phytophthora*.



Gambar 4.3 Rata-rata persentase penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* sp. oleh berbagai isolat kapang antagonis

Penicillium sp.1 memiliki rata-rata persentase penghambatan terkecil, sedangkan *Trichoderma* sp.6 memiliki rata-rata persentase penghambatan terbesar terhadap pertumbuhan *Phytophthora* sp. dari tiga ulangan. Rata-rata persentase penghambatan *Penicillium* sp.1 adalah 28,82%, sedangkan rata-rata persentase penghambatan *Trichoderma* sp.6 adalah 62,95% (Gambar 4.3). Dalam genus yang sama, perbedaan isolat kapang antagonis menyebabkan perbedaan besarnya persentase penghambatan terhadap *Phytophthora* sp. Pada Genus *Trichoderma*, isolat sp. 6 memiliki daya penghambatan sebesar 62,95% yang tidak berbeda dengan isolat sp.1 (52,52%) tetapi berbeda dengan isolat sp.4 (43,92%), namun isolat sp.1 dan sp.4 memiliki daya hambat yang sama terhadap pertumbuhan *Phytophthora* sp. Perbedaan rata-rata persentase penghambatan antarisolat kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain perbedaan spesies kapang, perbedaan kecepatan

pertumbuhan koloni dan sporulasi kapang antagonis, serta mekanisme antagonisme. Pertumbuhan *Phytophthora* sp. lebih cepat jika dibandingkan dengan kapang antagonis. Namun demikian Singh dan Islam (2010) menyatakan bahwa kapang antagonis seperti *Trichoderma* sp. memiliki laju pertumbuhan lebih cepat jika dibandingkan dengan *Phytophthora* sehingga dapat menyebabkan berkurangnya nutrisi dan penghambatan pertumbuhan *Phytophthora*.

4.3 Pengamatan Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan *Phytophthora* oleh Kapang Antagonis

4.3.1 Penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh *Trichoderma* sp.

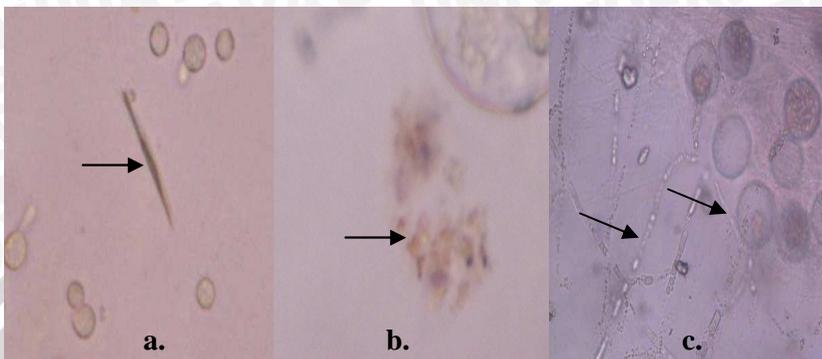
Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, dapat diketahui bahwa penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh *Trichoderma* sp. dilakukan dengan mekanisme mikoparasitisme. Mekanisme ini melibatkan kontak langsung antara hifa *Phytophthora* dengan *Trichoderma*. Mekanisme yang sama ditunjukkan oleh Singh dan Islam (2010) yang menyebutkan bahwa *Trichoderma* mampu memparasit hifa *Phytophthora* sehingga menyebabkan hifa lisis. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, tampak adanya pelinggaran hifa *Phytophthora* oleh *Trichoderma* sp.1. Pelinggaran hifa tersebut dapat diamati setelah masa inkubasi 48 jam (Gambar 4.4a). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh adanya penetrasi hifa *Trichoderma* sp.6 ke dalam hifa *Phytophthora* (Gambar 4.4b). Lidia (2005 dalam Sofie 2007) mengatakan bahwa mikoparasitisme merupakan mekanisme yang paling berperan pada asosiasi antara *Trichoderma* sp. dengan kapang patogen tanaman. Kapang ini diketahui memiliki kemampuan mikoparasitik terhadap kapang patogen dengan menghasilkan berbagai macam enzim litik, terutama kitinase dan glukunase.

Trichoderma harzianum menghasilkan enzim ekstraselular β -1,3-glukanase dan kitinase yang dapat mendegradasi dinding sel kapang patogen untuk menyerang dan menghancurkan propagul patogen yang ada di sekitarnya (Yuleli, 2009). *Trichoderma* juga mampu menghasilkan selulase untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel kapang patogen pada spesies *P. infestans* (Salma dan Gunarto, 1999 dalam Purwantisari dan Hastuti 2009).



Gambar 4.4 Mekanisme mikoparasitisme *Trichoderma* sp. yang berumur empat hari terhadap *Phytophthora* sp. dengan umur yang sama setelah inkubasi pada hari ke-2
a. pelingkaran hifa *Phytophthora* sp. oleh *Trichoderma* sp.1; **b.** penetrasi hifa *Trichoderma* sp.6 ke dalam hifa *Phytophthora* (perbesaran 400x)

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa terdapat suatu senyawa yang dihasilkan oleh *Trichoderma* sp. di sekitar dinding miselium. Senyawa tersebut berbentuk prisma, jarum panjang dan beberapa senyawa lain yang berwarna merah. Senyawa berbentuk prisma banyak dijumpai di sekitar dinding miselium *Trichoderma* sp.1 dan sedikit pada *Trichoderma* sp.4 serta *Trichoderma* sp.6. Senyawa berbentuk jarum hanya ditemukan di sekitar dinding miselium *Trichoderma* sp.6 (Gambar 4.5a), sedangkan senyawa berwarna merah banyak terdapat di sekitar dinding miselium *Trichoderma* sp.4 dan sedikit pada *Trichoderma* sp.1 serta *Trichoderma* sp.6 (Gambar 4.5b). Senyawa yang dihasilkan oleh *Trichoderma* tersebut diduga bersifat toksik yang berperan dalam pelisisan hifa dan perusakan sporangium patogen (Gambar 4.5c). Pelisisan hifa tersebut dapat diamati pada hari pertama hingga hari kelima waktu inkubasi dan pelisisan akan semakin banyak dari hari ke hari. Menurut Singh dan Islam (2010) *Trichoderma* sp. dapat melawan *Phytophthora* sp. dengan memproduksi senyawa yang bersifat toksik, seperti enzim, senyawa volatil dan non-volatil serta antibiotik. Antibiotik yang dihasilkan oleh *Trichoderma* sp. antara lain *2-phenyl-ethanol*, *tyrosol*, *6-penthyll-a-pyrone* dan *sorbicillin* (Noveriza & Quimio, 2004).

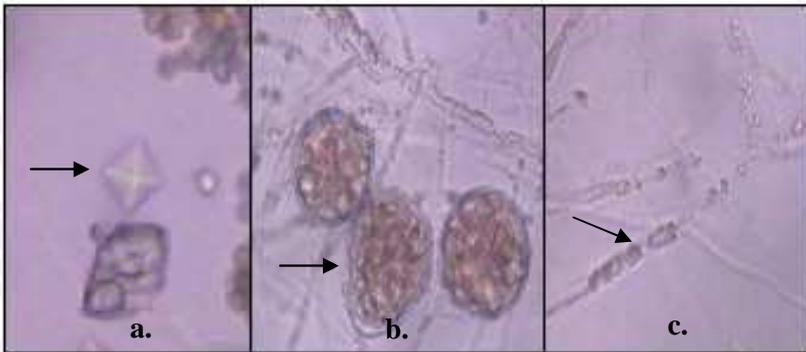


Gambar 4.5 Mekanisme antibiosis *Trichoderma* sp. yang berumur empat hari terhadap *Phytophthora* sp. dengan umur yang sama

a. senyawa berbentuk jarum yang dihasilkan oleh *Trichoderma* sp.6 setelah inkubasi pada hari ke-2; b. senyawa berwarna merah yang dihasilkan oleh *Trichoderma* sp. setelah inkubasi pada hari ke-2; c. pelisisan hifa dan perusakan sporangium *Phytophthora* sp. oleh *Trichoderma* sp. setelah inkubasi pada hari ke-3 (perbesaran 400x)

4.3.2 Penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh *Aspergillus* sp.

Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh *Aspergillus* sp. dilakukan dengan mekanisme antibiosis. Mekanisme ini diketahui dengan dihasilkannya suatu senyawa berbentuk kristal di sekitar area tumbuh *Aspergillus* (Gambar 4.6a). Senyawa tersebut diduga bersifat toksik yang dapat melisiskan hifa dan merusak struktur sporangium *Phytophthora*. Hal ini diperkuat dengan hasil pengamatan secara makroskopis yang menunjukkan adanya zona bening sebagai zona hambat di sekitar koloni *Aspergillus* sp. Hasil serupa dilaporkan Noveriza dan Quimino (2004) yang menyatakan bahwa *Aspergillus* sp. menyebabkan hifa patogen tumbuh secara abnormal.

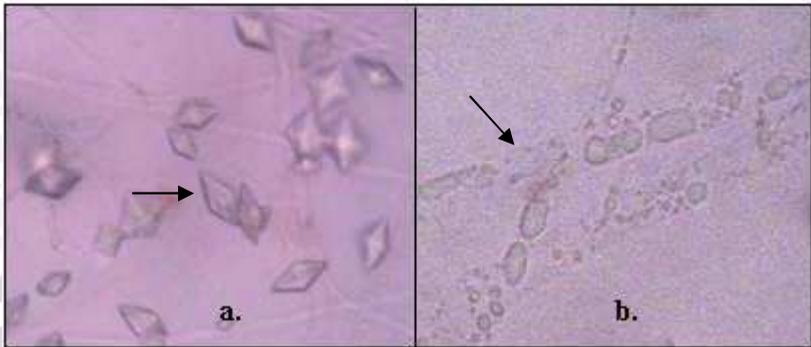


Gambar 4.6 Mekanisme antibiosis *Aspergillus* sp. yang berumur empat hari terhadap *Phytophthora* sp. dengan umur yang sama

- a. senyawa kristal yang diduga bersifat toksik setelah inkubasi pada hari ke-2; b. perusakan sporangium *Phytophthora* setelah inkubasi pada hari ke-5; c. pelisisan hifa *Phytophthora* setelah inkubasi pada hari ke-5 (perbesaran 400x)

4.3.3 Penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* oleh *Penicillium* sp.

Penicillium sp.1 dapat menghambat pertumbuhan *Phytophthora* dengan mekanisme antibiosis. Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis diketahui bahwa *Penicillium* sp.1 menghasilkan senyawa metabolit berbentuk prisma (kristal). Senyawa ini diduga bersifat toksik yang dikeluarkan oleh *Penicillium* untuk melawan *Phytophthora* dan menyebabkan hifa lisis (Gambar 4.7). *Penicillium* sp.1 diketahui paling banyak menghasilkan senyawa berbentuk kristal jika dibandingkan dengan isolat kapang antagonis lainnya. Menurut Yuleli (2009) *Penicillium notatum* dan *Penicillium chrisogenum* menghasilkan antibiotik yang bekerja seperti pestisida sehingga sistem perakaran tanaman terlindung dari infeksi mikroba yang bersifat patogen. *Penicillium* menghasilkan senyawa toksik *citrinin* ($\text{CH}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_5$) yang berbentuk kristal. Selain itu, *Penicillium* sp. juga menghasilkan metabolit sekunder berupa *griseofulvin* yang dapat mengurangi infeksi tanaman oleh beberapa mikroba tanah.



Gambar 4.7 Mekanisme antibiosis *Penicillium* sp. yang berumur empat hari terhadap *Phytophthora* sp. dengan umur yang sama setelah inkubasi pada hari ke-2
a. senyawa kristal yang diduga bersifat toksik; b. pelisisan hifa *Phytophthora* (perbesaran 400x)

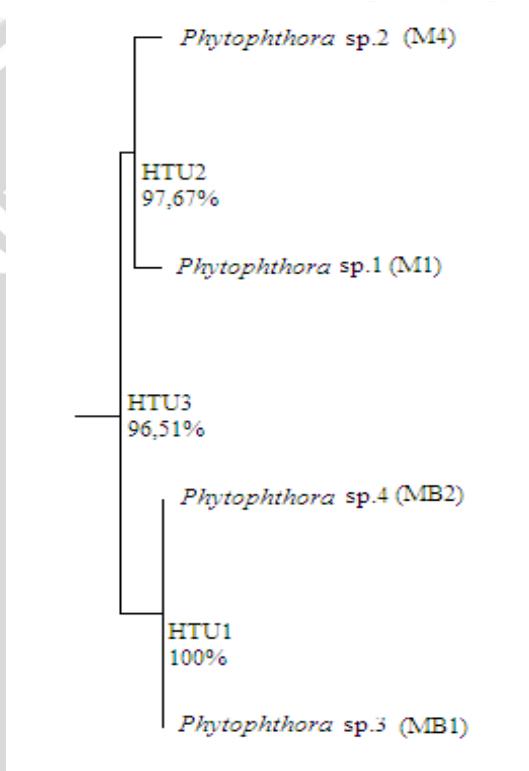
Penicillium oxalicum diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase, glukonase dan protease yang dapat mendegradasi dinding sel patogen (Sempere & Santamarina, 2010). *Penicillium funiculosum* menghasilkan selulase yang dapat menurunkan produksi sporangia, zoospora dan klamidosfor *Phytophthora cinnamomi*. Penggunaan *Penicillium* sp. ini sangat efektif digunakan pada konsentrasi 10-25 unit/ml. Miselium *Phytophthora* akan rusak jika konsentrasi spora *P. funiculosum* yang digunakan lebih dari 25 unit/ml (Downer, 2001).

4.4 Karakteristik Isolat *Phytophthora* sp. dan Kapang Antagonis Secara Fenotipik

4.4.1 Karakteristik fenotip isolat *Phytophthora* sp.

Hasil konstruksi dendrogram (Gambar 4.8) menunjukkan bahwa nilai similaritas karakter fenotip dari keempat isolat *Phytophthora* sp. adalah 96,61%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Phytophthora* M1, M4, MB1 dan MB2 merupakan anggota dari genus yang sama. Isolat-isolat *Phytophthora* tersebut dibedakan berdasarkan bentuk klamidosfor. Klamidosfor isolat M1 dan M4 berbentuk bulat, sedangkan klamidosfor isolat MB1 dan MB2 berbentuk bulat dan oval.

Isolat M1 memiliki kesamaan karakter fenotip dengan isolat M4 sebesar 97,67%. Kedua isolat tersebut berbeda karena sebagian miselia isolat M1 tumbuh tegak lurus terhadap permukaan medium agar sedangkan isolat M4 memiliki miselia yang tumbuh mendatar di permukaan medium. Berdasarkan nilai similaritas karakter fenotip, isolat M1 dan M4 termasuk ke dalam satu genus yang sama.



Gambar 4.8 Dendrogram yang menunjukkan hubungan antara empat spesies yang tergolong ke dalam Genus *Phytophthora* didasarkan atas nilai similaritas SS_M

Isolat *Phytophthora* MB2 dan MB1 memiliki nilai similaritas karakter fenotip sebesar 100%. Kedua isolat tersebut memiliki karakter yang sama, yaitu bentuk koloni bulat, koloni bagian atas dan bawah berwarna putih. Koloni memiliki elevasi rata dengan permukaan medium agar (tipis), memiliki tekstur yang lengket dan tidak ditemukan struktur reproduksi pada kedua isolat tersebut.

Koloni dapat tumbuh pada medium *V8 Juice Agar*, *Carrot Agar* dan *Potatoes Dextrose Agar*. Sporangium *Phytophthora* MB2 dan MB1 berbentuk bulat, tunggal dan memiliki papila. Sporangium berdinding tipis, halus dan berpigmen biru tua. Sporangiofor tidak bercabang. Hifa memiliki sekat yang jelas dan bercabang. Hifa tersebut berdinding halus dan berpigmen biru tua. Klamidosfor berbentuk bulat atau oval. Klamidosfor tersebut berdinding tipis dan halus serta terletak pada bagian interkalar. Adanya kesamaan karakter antara kedua isolat *Phytophthora* tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat MB2 dan MB1 termasuk ke dalam satu spesies yang sama.

4.4.2 Karakteristik fenotip isolat kapang antagonis

Berdasarkan hasil konstruksi dendogram (Gambar 4.9) dapat diketahui bahwa nilai similaritas karakter fenotip dari keenam isolat kapang antagonis dan acuan adalah 58,02%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut merupakan anggota dari genus yang berbeda. Berdasarkan identifikasi secara fenotipik diketahui keenam isolat kapang antagonis dan acuan tersebut termasuk dalam tiga genus yaitu Genus *Aspergillus* (sp.1, sp.2, dan *A. niger*), *Trichoderma* (sp.1, sp.4, dan sp.6), dan *Penicillium*. Isolat-isolat kapang tersebut dibedakan berdasarkan percabangan konidiofor, struktur koloni, pertumbuhan koloni dan rumpun konidia. Kesamaan karakter fenotip ketujuh isolat tersebut terletak pada adanya phialid, bentuk koloni bulat, badan pembentuk spora (konidium), konidia berpigmen, konidia berdinding tipis, konidiofor berdinding tipis, sitoplasma bergranula, hifa bercabang dan bersekat serta berdinding halus.

Aspergillus sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 memiliki nilai similaritas karakter fenotip sebesar 93,93% (HTU1). Hal ini menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut termasuk dalam satu genus yang sama. *Aspergillus* sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 dibedakan berdasarkan bentuk vesikula dan adanya reaksi perubahan warna pada medium. *Aspergillus* sp.3 memiliki bentuk vesikula *subglobuse* dan tidak ada reaksi perubahan warna pada medium, sedangkan *Aspergillus* sp.2 memiliki bentuk vesikula *subglobuse* hingga oval serta terjadi perubahan warna pada medium menjadi hijau kekuningan.

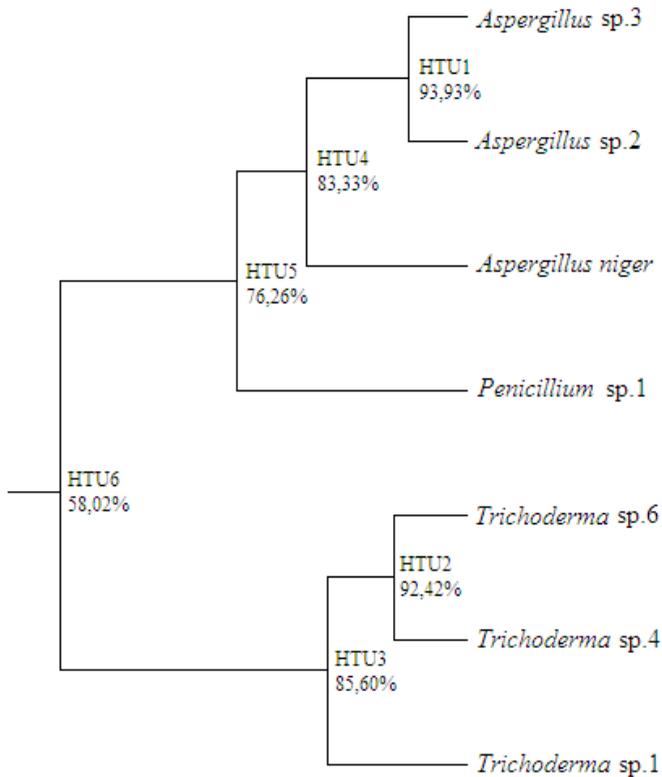
Aspergillus sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 memiliki similaritas karakter fenotip sebesar 83,33% dengan *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* berbeda dengan *Aspergillus* sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 karena *A. niger* memiliki pigmen konidia berwarna cokelat kehitaman, sedangkan *Aspergillus* sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 memiliki pigmen konidia berwarna hijau. Dinding konidia *A. niger* berdinding kasar sedangkan *Aspergillus* sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 berdinding halus. *A. niger* memiliki struktur phialid *biseriate*, vesikula berbentuk globuse, koloni dwi warna dan terdapat garis radial pada bagian atas koloni sedangkan *Aspergillus* sp.3 dan *Aspergillus* sp.2 tidak memiliki karakter bersangkutan.

Penicillium sp.1 memiliki similaritas karakter fenotip sebesar 76,26% dengan kelompok *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 dan *A. niger*. Nilai tersebut menunjukkan bahwa *Penicillium* sp.1 memiliki genus yang berbeda dengan *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 dan *A. niger*. Keempat isolat kapang tersebut memiliki similaritas sifat fenotip berdasarkan dinding konidia, tipe konidia, rantai konidia, hifa berpigmen biru tua, ketebalan sekat hifa dan pertumbuhan koloni secara diskontinyu. Perbedaan antara *Penicillium* sp.1 dengan kelompok *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus* sp.3 dan *A. niger* dapat dilihat dari adanya metula, metula bercabang, konidiofor bercabang dan memiliki tipe *biverticillate-symetrical* serta memiliki eksudat.

Trichoderma sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 memiliki nilai similaritas karakter fenotip sebesar 92,42%. Hal ini menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 adalah anggota dari genus yang sama. *Trichoderma* sp.6 dibedakan dengan *Trichoderma* sp.4 berdasarkan garis radial pada bagian bawah koloni, kepekatan pigmen hifa dan reaksi perubahan warna koloni. *Trichoderma* sp.4 memiliki garis radial pada bagian bawah koloni dan hifa berpigmen biru tua, sedangkan *Trichoderma* sp.6 memiliki karakter sebaliknya.

Trichoderma sp.1 memiliki similaritas karakter fenotip sebesar 85,60% dengan kelompok *Trichoderma* sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 (HTU2). *Trichoderma* sp.1 dibedakan dengan kelompok *Trichoderma* sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 berdasarkan bentuk konidia dan ketebalan sekat hifa. *Trichoderma* sp.1 memiliki konidia satu tipe, yaitu berbentuk elips, sedangkan *Trichoderma* sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 memiliki dua tipe konidia, yaitu berbentuk elips dan bulat. Selain itu, *Trichoderma* sp.1 memiliki hifa yang bersekat

tebal, sedangkan *Trichoderma* sp.6 dan *Trichoderma* sp.4 memiliki hifa yang bersekat tipis.



Gambar 4.9 Dendrogram yang menunjukkan hubungan antara enam spesies kapang antagonis yang didasarkan atas nilai similaritas SS_M

Henry dkk. (2000 dalam Yuliarni 2010) mengatakan bahwa nilai similaritas 100% dapat dinyatakan sebagai satu strain yang sama dan nilai similaritas 99% dinyatakan sebagai satu spesies yang sama, sedangkan nilai similaritas 89-98% termasuk dalam genus yang sama. Hasil berbeda ditunjukkan oleh isolat acuan *Aspergillus niger* terhadap isolat *Aspergillus* sp.2 dan sp.3 serta isolat *Trichoderma* sp.1 terhadap *Trichoderma* sp.4 dan sp.6. Hal ini

kemungkinan disebabkan karakter-karakter fenotip setiap isolat uji yang diamati belum mencakup keseluruhan. Berdasarkan sistem klasifikasi secara numerik, semakin banyak karakter yang diuji maka hasilnya akan semakin baik (Suharjono dkk., 2007).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh dapat disimpulkan beberapa hal, antara lain:

1. Berdasarkan karakteristik fenotip, isolat M1, M4, MB1 dan MB2 merupakan anggota dari Genus *Phytophthora* yang memiliki karakter koloni berbentuk bulat, tepi rata memenuhi cawan, permukaan berfilamen, dan berwarna putih; sporangium berbentuk bulat dan tunggal, sporangiofor tidak bercabang dan berdinding halus, hifa berdinding halus, klamidosfor terletak pada bagian interkalar.
2. Isolat *Penicillium* sp.1 memiliki rata-rata persentase penghambatan terendah (28,82%) sedangkan *Trichoderma* sp.6 memiliki rata-rata persentase penghambatan tertinggi (62,95%) terhadap pertumbuhan isolat *Phytophthora* dibandingkan isolat kapang antagonis lain (*Trichoderma* sp.1, *Trichoderma* sp.4, *Aspergillus* sp.2, dan *Aspergillus* sp.3).

5.2 Saran

Saran yang dapat direkomendasikan untuk penelitian lebih lanjut, antara lain:

1. Perlu dilakukan identifikasi secara molekular dan filogenetik untuk menentukan takson *Phytophthora* dan kapang antagonis yang ditemukan.
2. Perlu dilakukan uji patogenisitas secara *in vivo* kapang antagonis yang dicobakan secara tunggal ataupun kombinasi terhadap pertumbuhan *Phytophthora* dalam skala lapang atau semi lapang pada tanaman apel untuk mengetahui efektivitas atau efikasinya pada berbagai kondisi lingkungan.
3. Perlu dilakukan isolasi, identifikasi, dan uji hayati metabolit kapang antagonis yang dapat menghambat pertumbuhan *Phytophthora*.
4. Membuat formula biofungisida yang dapat diadopsi oleh masyarakat untuk diaplikasikan di lahan perkebunan apel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebola, M. O dan J. E. Amadi. 2010. Screening Three *Aspergillus* Species for Antagonistic Activities Against The Cocoa Black Pod Organism (*Phytophthora palmivora*). **Agric. Biol.** 1(3): 362-365.
- American Phytopathological Society. 1998. **The Irish Potato Famine and the Birth of Plant Pathology**. <http://www.apsnet.org/online/feature/lateblit/chapter1/epidemic.htm>. Tanggal akses 14 Juni 2010.
- Aryantha, I. N .P. dan D. I. Guest. 2004. Phosphonate (PO_3^-) Effectiveness Againsts *Phytophthora cinnamomi* Rands on *Thryptomene calycina*, *Banksia grandis* and *Banksia spinulosa*. **Plant Pathol. J.** 3 (1): 19-25.
- Aryantha, I. N .P. dan D. I. Guest. 2006. Mycoparasitic and Antagonistic Inhibition on *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathol. J.** 5 (3): 291-298.
- Avis, T. J. dan R. R. Belanger. 2002. Mechanisms and Means of Detection of Biocontrol Activity of Pseudozyma Yeast Against Plant-Pathogenic Fungi. **FEMS Yeast Res.** 2: 5-8.
- Balitjestro. 2009. **Patogen, Gejala pada Tanaman, dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Patogen**. http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=100:phytophthora-sp-patogen-penyebab-penyakit-pada-tanaman-jeruk-dan-buah-subtropika-bagian-pertama&catid=57:hama-a-penyakit&Itemid=60. Tanggal akses 05 Maret 2010.
- Bartnicki-Garcia, S. 1966. Chemistry of Hyphal Walls of *Phytophthora*. **J. Gen. Microbiol.** 42 (1):57-69.
- Benítez, T., A. N. Rincon, M. C. Limon dan A. C. Codon. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **Internat. Microbiol.** 7: 249-260.
- Bhirawan. 2009. **Produksi Terus Merosot, Budidaya Apel Kembali Digiatkan**. <http://www.harianbhirawa.com>. Tanggal akses 14 September 2010.
- Bhirawan. 2010. **Kemarau Basah Menyebabkan Produksi Apel Anjlok**. <http://www.harianbhirawa.com>. Tanggal akses 14 September 2010.

- Bioweb. 2007. **Classification Information.** benrud_jaco/index_files/Page365.htm. Tanggal akses 08 Maret 2010.
- Bush, E. A., E. L. Stromberg, C. Hong, P. A. Richardson dan P. Kong. 2006. **Illustration of key morphological characteristics of *Phytophthora* species identified in Virginia nursery irrigation water.** <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/diagnosticguide/2006/va/>. Tanggal akses 06 April 2011.
- CABI dan EPPO. 1990. **Data Sheets on Quarantine Pests: *Phytophthora cinnamomi*.**
- Dewi, S. 2000. Uji Antagonis *Trichoderma* dan *Gliocladium* Terhadap *Fusarium* Penyebab Penyakit Layu Pada Beberapa Jenis Tanaman Pisang di Kebun Raya Purwodadi Secara In Vitro. **Skripsi.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang.
- Downer, A. J., J. A. Menge dan E. Pond. 2001. Effects of Cellulytic Enzymes on *Phytophthora cinnamomi*. **Phytopathology** 91(9):839-846.
- Drenth dan D. I. Guest. 2004. Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. **ACIAR Monograph.** No. 114.
- Ellis, M. A. 2008. **Phytophthora Root and Crown Root of Fruit Trees.** Ohio State University Extension. USA.
- Erwin, R. Sitepu dan S. H. Hastuty. 2010. **Memerangi Penyakit Lanas Pada Tembakau.** Balai Penelitian Tembakau Deli-PTP Nusantara II (Persero). Medan.
- Funder, S. 1953. **Practical Mycology: Manual For Identification of Fungi.** Hafner Publishing Company. New York.
- Gisi, U. dan Y. Cohen. 1996. Resistance to Phenylamide Fungicides: A Case Study with *Phytophthora infestans* Involving Mating Type and Race Structure. **Ann. Rev. Phytopathol.** 34: 549-72.
- Goldberg, N. P. 2000. **Apple Diseases Control.** New Mexico State University. USA.
- Hanudin, E. Sutarya, S. Mihardja dan S. Sanusie. 2010. **Mikroba Antagonis Sebagai Agen Hayati Penyakit Tanaman.** Balai Penelitian Tanaman Hias. <http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/wr262044.pdf>. Tanggal akses 13 Desember 2010.

- Harris, J. L. 1986. Modified Method for Fungal Slide Culture. **Clinical Microbiol.** 24 (3): 460-461.
- Hartman, J., J. Beale dan P. Bachi. 2008. Root and Collar Rots of Tree Fruits. **Plant Pathol., Fact Sheet.** University of Kentucky. UK.
- Iptek. 2005. **Apel.** http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=16. Tanggal akses 14 Maret 2010.
- Irawan, G. 2007. Potensi Pengembangan Tanaman Apel (*Malus Sylvestris Mill*) Berdasarkan Aspek Agroklimat di Jawa Timur. **Skripsi.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang.
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi dan Soesanto. 1973. **Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (Untuk Perguruan Tinggi).** Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kusumaagrowisata. 2010. **Produk Kusuma Agro Wisata Trading.** <http://www.kusuma-agrowisata.com/agro/id/product.php>. Tanggal akses 12 Oktober 2010.
- Koneman, E. R., G. D. Roberts dan S. A. Wright. 1978. **Practical Laboratory Mycology.** Preston Street. USA.
- Kwon, J. H., H. J. Jee, S. S. Shen dan Y. S. Chae. 2007. Phytophthora Rot of Broad Bean (*Vicia faba*) Caused by *Phytophthora nicotianae* in Korea. **Plant Pathol. J.** 23(1) : 31-33.
- Linderman, R. G. 2003. Biological Control Options for *Phytophthora* Species. **Sudden Oak Death Online Symposium.** www.apsnet.org/online/SOD. Tanggal akses 21 Maret 2010.
- Luthfianto, N. 2008. **Apel Batu Diserang Hama, Produktivitas Turun Drastis.** <http://203.77.237.21/einvest/homepage/3579/umum/0/>. Tanggal akses 14 September 2010.
- Matheron, M. E., D. J. Young dan J. C. Matejka. 1988. *Phytophthora* Root and Crown Rot of Apple Trees in Arizona. **Plant Disease** 72: 481-484.
- Metapathogen. 2010. *Phytophthora infestans.* <http://www.metapathogen.com/phytophthora/>. Tanggal akses 14 Juni 2010.

- Miyake, Y., J. Sakai, M. Shibata, N. Yonekura, I. Miura, K. Kumakura dan K. Nagayama. 2005. Fungicidal Activity of *Benthiavalicarb-isopropyl* against *Phytophthora infestans* and Its Controlling Activity Against Late Blight Disease. **J. Pestic. Sci.** 30 (4): 390-396.
- Moore, K., M. Ryley, M. Schwingharner, G. Cumming dan L. Jenkins. 2010. **Chickpea: Phytophthora Root Rot Management.** www.pulseaus.com.au. Tanggal akses 03 Juni 2011.
- Mpika, J., I. B. Kébé1, A. E. Issali, F. K. N'Guessan, S. Druzhinina, M. Komon-Zélazowska, C. P. Kubicek dan S. Aké. 2009. Antagonist Potential of *Trichoderma* Indigenous Isolates for Biological Control of *Phytophthora Palmivora* The Causative Agent of Black Pod Disease on Cocoa (*Theobroma Cacao* L.) in Côte d'Ivoire. **African J. Biotechnol.** 8 (20): 5280-5293.
- Muryati, L. Octriana, D. Emilda, P.J. Santoso dan D. Sunarwati. 2009. Effect Of Organic Fertilizers On Susceptibility Of Potted Durian Seedlings To *Phytophthora* Diseases. **J. Fruit and Ornamental Plant Research.** 17(1): 67-77.
- Nelson, S. C. 2008. Late Blight of Tomato (*Phytophthora infestans*). **Plant Disease.** PD-45.
- Noveriza, R. dan T. H. Quimio. 2004. Soil Mycroflora of Black Pepper Rhizospere In The Philippine And Their In Vitro Antagonism Againt *Phytophthora capsici* L. **Indonesian J. Agric. Sci.** 5(1) 2004:1-10.
- Perry, E. J. 2008. **Phytophthora Root and Crown Rot in the Garden.** <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn74133.html>. Tanggal akses 08 Maret 2010.
- Prihatman, K. 2000. **Apel.** <http://www.warintek.ristek.go.id/pertanian/apel.pdf>. Tanggal akses 16 Maret 2010.
- Purwantisari, S. dan R. B. Hastuti. 2009. Uji Antagonisme Jamur Patogen *Phytophthora infestans* Penyebab Penyakit Busuk Daun dan Umbi Tanaman Kentang dengan Menggunakan *Trichoderma* spp. Isolat Lokal. **BIOMA** 11(1): 24-32.
- Purwantisari, S., R. S. Ferniah dan B. Raharjo. 2008. Pengendalian Hayati Penyakit Lodoh (busuk umbi kentang) dengan Agen Hayati Jamur-jamur Antagonis Isolat Lokal. **BIOMA** 10 (2): 13-19.

- Rivard, C. 2007. *Phytophthora cactorum*. Department of Plant Pathology. North Carolina State University.
- Sempere, F. dan M. P. Santamarina. 2010. Study of The Interactions Between *Penicillium oxalicum* currie & thom and *Alternaria alternata* (fr.) Keissler. Brazilian **J. Microbiol.** 41(3): 700-706.
- Singh, A. dan M. N. Islam. 2010. In Vitro Evaluation of Trichoderma spp. Against *Phytophthora nicotianae*. **Int. J. Expt. Agric.** 1(1): 20-25.
- Sofie, M. 2007. Asosiasi *Trichoderma viride* dan *Gliocladium* sp. serta Aplikasinya dalam Kompos untuk Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Pisang Cavendish. **Skripsi.** Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suharjo, L. Sembiring, J. Subagja, T. Ardyati dan L. Lisdiana. 2007. Sistematik Numerik Stain-strain Anggota Genus Pendegradasi Alkilbenzen Sulfonat Liniar Berdasarkan Sifat Fenotip dan *Protein Fingerprinting*. **BIOTA** 12(1): 47-54.
- Suharjo. 2008. Keanegaraman dan Potensi *Pseudomonas* Stain Indigenous Pendegradasi Surfaktan Anionik di Ekosistem Sungai Tercemar Detergen. **Disertasi.** Fakultas Biologi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sunarwati, D. 1995. Pengaruh Fungisida Terhadap Pertumbuhan Isolat Jamur *Phytophthora* sp. Patogen Pada Tanaman Jeruk (*Cytrus* sp.) Secara *In vitro*. **Skripsi.** Laporan Penelitian Kerjasama Balai Penelitian Hortikultura Tlekung dan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Tokunaga, J. dan S. Bartnicki-Garcia. 1971. Structure and Differentiation of Cell Wall of *Phytophthora Palmivora* Cysts, Hyphae and Sporangia. **Archiv Fur Mikrobiol.** 79 (4):293-310.
- Triwiratno, A. 2008. **Koleksi Varietas Baru Apel Dari Negara Belanda.** Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro).
- Woodland, D. W. 2000. **Contemporary Plant Systematics.** Andrew University Press Berrien Springs Michigan. United State of America.

Yuleli. 2009. Penggunaan Beberapa Jenis Fungi Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Karet (*Hevea Brasiliensis*) di Tanah Gambut. **Tesis**. Program Studi Biologi. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.

Yuliarni, F. F. 2010. Patogenitas Kapang Entomopatogen Isolat Kalimantan Barat Terhadap *Lepidoshapes beckii* Newman Hama Tanaman Jeruk. **Skripsi**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi medium

- a. *Potato Dextrose Agar* (PDA) dalam 1 liter akuades:

PDA	39 g
-----	------

- b. *V8 Juice Agar* (V8A) dalam 1 liter akuades:

<i>V8 juice</i>	200 ml
CaCO ₃	3 g
Agar	15 g

Lampiran 2. *Screening* isolat kapang antagonis terhadap isolat *Phytophthora* sp.

Isolat kapang yang ditemukan pada tanaman apel	Isolat <i>Phytophthora</i> sp.			
	M1	M2	MB1	MB2
<i>Trichoderma</i> sp.1	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.2	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.3	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.4	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.6	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.7	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp.1	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp.2	+	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp.3	+	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp.4	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp.5	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp.6	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.1	+	+	+	+
<i>Penicillium</i> sp.2	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.3	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.4	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.5	-	-	-	-
K9	-	-	-	-
K14	-	-	-	-
K21	-	-	-	-

(+)= terdapat penghambatan; (-)= tidak terdapat penghambatan

Lampiran 3. Rata-rata persentase penghambatan isolat kapang antagonis terhadap isolat *Phytophthora* sp.

Isolat Kapang Antagonis	M1	M4	MB1	MB2
<i>Trichoderma</i> sp.1	52,68	50,22	54,23	52,77
<i>Trichoderma</i> sp.4	44,34	41,32	46,15	43,89
<i>Trichoderma</i> sp.5	52,79	44,33	35,43	45,57
<i>Trichoderma</i> sp.6	65,16	62,92	63,83	59,9
<i>Aspergillus</i> sp.2	52,14	45,47	44,75	49,41
<i>Aspergillus</i> sp.3	28,77	36,07	38,83	37,13
<i>Penicillium</i> sp.1	26,51	33,5	33,17	22,1

Lampiran 4. Pengaruh perbedaan isolat *Phytophthora* sp. terhadap persentase penghambatan pertumbuhannya

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70.017	3	23.339	.096	.962
Within Groups	16469.442	68	242.198		
Total	16539.459	71			

Lampiran 5. Pengaruh perbedaan isolat kapang antagonis terhadap persentase penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* sp.

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	15.580	5	47.716	.000

a. Asymptotically F distributed.

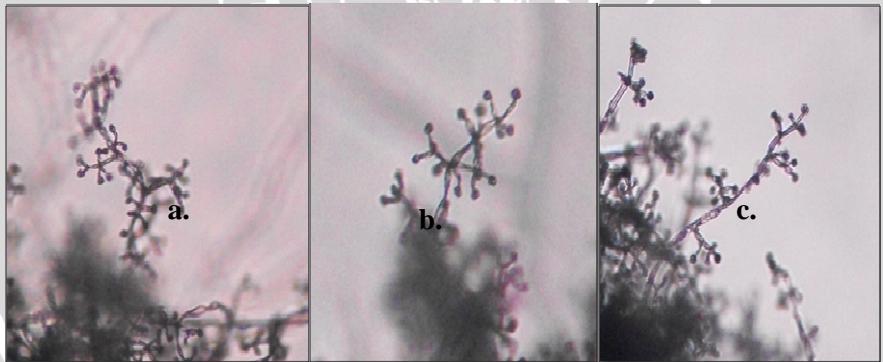
Lampiran 6. Perbedaan rata-rata persentase penghambatan pertumbuhan *Phytophthora* sp. oleh masing-masing isolat kapang antagonis

(I) kapang antagonis	(J) kapang antagonis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
<i>Trichoderma</i> sp1	<i>Trichoderma</i> sp.4	8.5917	4.69720	.474	-6.3863	23.5696
	<i>Trichoderma</i> sp.6	-10.4375	5.77513	.482	-28.4278	7.5528
	<i>Aspergillus</i> sp.2	4.5750	4.30769	.888	-9.6310	18.7810
	<i>Aspergillus</i> sp.3	17.3158*	5.38475	.041	.5084	34.1233
	<i>Penicillium</i> sp.1	23.6958*	4.59372	.001	8.9487	38.4430
<i>Trichoderma</i> sp.4	<i>Trichoderma</i> sp1	-8.5917	4.69720	.474	-23.5696	6.3863
	<i>Trichoderma</i> sp.6	-19.0292*	4.70264	.009	-34.0261	-4.0323
	<i>Aspergillus</i> sp.2	-4.0167	2.70534	.678	-12.6201	4.5868
	<i>Aspergillus</i> sp.3	8.7242	4.21405	.342	-4.5842	22.0326
	<i>Penicillium</i> sp.1	15.1042*	3.14085	.001	5.3116	24.8967
<i>Trichoderma</i> sp.6	<i>Trichoderma</i> sp1	10.4375	5.77513	.482	-7.5528	28.4278
	<i>Trichoderma</i> sp.4	19.0292*	4.70264	.009	4.0323	34.0261
	<i>Aspergillus</i> sp.2	15.0125*	4.31362	.036	.7858	29.2392
	<i>Aspergillus</i> sp.3	27.7533*	5.38950	.000	10.9304	44.5763
	<i>Penicillium</i> sp.1	34.1333*	4.59929	.000	19.3667	48.9000
<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Trichoderma</i> sp1	-4.5750	4.30769	.888	-18.7810	9.6310
	<i>Trichoderma</i> sp.4	4.0167	2.70534	.678	-4.5868	12.6201
	<i>Trichoderma</i> sp.6	-15.0125*	4.31362	.036	-29.2392	-.7858
	<i>Aspergillus</i> sp.3	12.7408*	3.77501	.041	.3980	25.0837
	<i>Penicillium</i> sp.1	19.1208*	2.52140	.000	11.1522	27.0894

Lampiran 6. (Lanjutan)

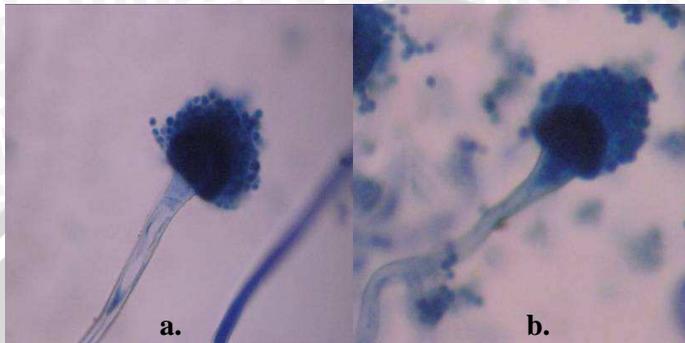
(I) kapang antagonis	(J) kapang antagonis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aspergillus sp.3	<i>Trichoderma</i> sp1	-17.3158*	5.38475	.041	-34.1233	-.5084
	<i>Trichoderma</i> sp.4	-8.7242	4.21405	.342	-22.0326	4.5842
	<i>Trichoderma</i> sp.6	-27.7533*	5.38950	.000	-44.5763	-10.9304
	<i>Aspergillus</i> sp.2	-12.7408*	3.77501	.041	-25.0837	-.3980
	<i>Penicillium</i> sp.1	6.3800	4.09839	.635	-6.6432	19.4032
<i>Penicillium</i> sp.1	<i>Trichoderma</i> sp1	-23.6958*	4.59372	.001	-38.4430	-8.9487
	<i>Trichoderma</i> sp.4	-15.1042*	3.14085	.001	-24.8967	-5.3116
	<i>Trichoderma</i> sp.6	-34.1333*	4.59929	.000	-48.9000	-19.3667
	<i>Aspergillus</i> sp.2	-19.1208*	2.52140	.000	-27.0894	-11.1522
	<i>Aspergillus</i> sp.3	-6.3800	4.09839	.635	-19.4032	6.6432

Lampiran 7. Gambar mikroskopis isolat *Trichoderma* sp.



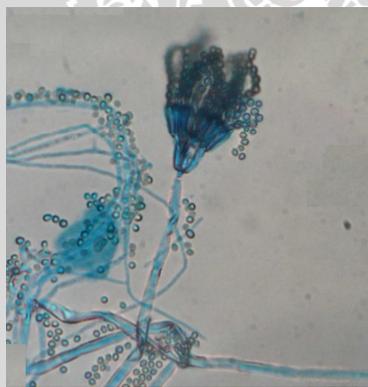
a). *Trichoderma* sp.1; b). *Trichoderma* sp.4; c). *Trichoderma* sp.6 (400x)

Lampiran 8. Gambar mikroskopis isolat *Aspergillus* sp.



a). *Aspergillus* sp.2; b). *Aspergillus* sp.3 (400x)

Lampiran 9. Gambar mikroskopis isolat *Penicillium* sp.1



(400x)

Lampiran 10. Karakteristik fenotip isolat *Phytophthora*

Karakter	Isolat <i>Phytophthora</i>			
	M1	M4	MB1	MB2
Badan pembentuk spora (sporangium)	+	+	+	+
Bentuk sporangium bulat	+	+	+	+
Sporangium tunggal	+	+	+	+
Hifa bersekat	+	+	+	+
Hifa tidak bersekat	-	-	-	-
Hifa bercabang	+	+	+	+
Hifa berdinding halus	+	+	+	+
Hifa berdinding kasar	-	-	-	-
Hifa bersekat jelas	+	+	+	+
Hifa berpigmen biru tua	+	+	+	+
Hifa berpigmen tipis	-	-	-	-
Sporangium berpigmen biru tua	+	+	+	+
Sporangiofor bercabang	-	-	-	-
Sporangiofor tidak bercabang	+	+	+	+
Sitoplasma hyalin	-	-	-	-
Sitoplasma bergranula	+	+	+	+
Sporangium berdinding tebal	-	-	-	-
Sporangium berdinding tipis	+	+	+	+
Hifa berdinding tebal	-	-	-	-
Hifa berdinding tipis	+	+	+	+
Sporangium berdinding kasar	-	-	-	-
Sporangium berdinding halus	+	+	+	+
Klamidosfor ditemukan	+	+	+	+
Klamidosfor tidak ditemukan	-	-	-	-
Klamidosfor interkalar	+	+	+	+
Klamidosfor berdinding halus	+	+	+	+
Klamidosfor berdinding kasar	-	-	-	-

Lampiran 10. (Lanjutan)

Karakter	Isolat <i>Phytophthora</i>			
	M1	M4	MB1	MB2
Klamidosfor berinding tebal	-	-	-	-
Klamidosfor berbentuk bulat	+	+	+	+
Klamidosfor berbentuk oval	-	-	+	+
Bentuk koloni bulat	+	+	+	+
Warna koloni bagian atas putih	+	+	+	+
Warna koloni bagian bawah putih	+	+	+	+
Pertumbuhan koloni rata dgn media	+	+	+	+
Sebagian miselia tumbuh tegak lurus	+	-	-	-
Struktur koloni lengket	+	+	+	+
Struktur reproduksi ditemukan	-	-	-	-
Struktur reproduksi tidak ditemukan	+	+	+	+
Koloni tumbuh pada medium V8A	+	+	+	+
Koloni tumbuh pada medium CA	+	+	+	+
Koloni tumbuh pada medium PDA	+	+	+	+
Papila	+	+	+	+

(+)= memiliki karakter bersangkutan; (-)= tidak memiliki karakter bersangkutan

Lampiran 11. Karakteristik fenotip isolat kapang antagonis

Karakter	Isolat Kapang						
	<i>Trichoderma</i> sp.1	<i>Trichoderma</i> sp.4	<i>Trichoderma</i> sp.6	<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Aspergillus</i> sp.3	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.1
Konidia berpigmen	+	+	+	+	+	+	+
Konidia berpigmen hijau	+	+	-	+	+	-	+
Konidia berpigmen coklat-hitam	-	-	-	-	-	+	-

Lampiran 11. (Lanjutan)

Karakter	Isolat Kapang						
	<i>Trichoderma</i> sp.1	<i>Trichoderma</i> sp.4	<i>Trichoderma</i> sp.6	<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Aspergillus</i> sp.3	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.1
Konidia berpigmen pekat	+	+	+	+	+	+	+
Konidia berdinging tipis	+	+	+	+	+	+	+
Konidia berdinging halus	+	+	+	+	+	-	+
Konidia berdinging kasar	-	-	-	-	-	+	-
Konidia 2 tipe	-	+	+	-	-	-	-
Konidia 1 tipe	+	-	-	+	+	+	+
Konidia bulat	-	+	+	+	+	+	+
Konidia elips	+	+	+	-	-	-	-
Konidia berantai	-	-	-	+	+	+	+
Konidiofor bercabang	+	+	+	-	-	-	+
Konidiofor bercabang >2	+	+	+	-	-	-	-
Konidiofor di ujung hifa	-	-	-	-	-	-	-
Konidiofor bertingkat	+	+	+	-	-	-	-
Konidiofor tidak bercabang	-	-	-	+	+	+	-
Philiade/sterigma	+	+	+	+	+	+	+
Philiade uniseriate	-	-	-	+	+	-	-
Phialiade biseriate	-	-	-	-	-	+	-
Metula	-	-	-	-	-	-	+
Vesikula	-	-	-	+	+	+	-
Vesikula globuse	-	-	-	-	-	+	-
Vesikula subglobuse	-	-	-	-	+	-	-
Vesikula subglobuse-oval	-	-	-	+	-	-	-
Sel kaki	-	-	-	+	+	+	-
Konidiofor biverticillate-symetrical	-	-	-	-	-	-	+
Metula bercabang	-	-	-	-	-	-	+
Sitoplasma hyalin	-	-	-	-	-	-	-
Sitoplasma bergranula	+	+	+	+	+	+	+
Hifa bercabang	+	+	+	+	+	+	+

Lampiran 11. (Lanjutan)

Karakter	Isolat Kapang						
	<i>Trichoderma</i> sp.1	<i>Trichoderma</i> sp.4	<i>Trichoderma</i> sp.6	<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Aspergillus</i> sp.3	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.1
Hifa tidak bercabang	-	-	-	-	-	-	-
Hifa bersekat	+	+	+	+	+	+	+
Hifa bersekat tebal	+	-	-	+	+	+	+
Hifa bersekat tipis	-	+	+	-	-	-	-
Hifa berdinding kasar	-	-	-	-	-	-	-
Hifa berdinding halus	+	+	+	+	+	+	+
Hifa berpigmen biru tua	+	+	-	+	+	+	+
Hifa berpigmen biru muda	-	-	+	-	-	-	-
Bdn pembentuk spora = sporangium	-	-	-	-	-	-	-
Bdn pembentuk spora = konidium	+	+	+	+	+	+	+
Konidiofor bersekat	-	-	-	-	-	-	+
Reaksi perubahan wrn medium	-	-	+	+	-	-	-
Medium menjadi kecoklatan	-	-	+	-	-	-	-
Medium menjadi hijau kekuningan	-	-	-	+	-	-	-
Struktur koloni bag. atas spt beludru	-	-	-	-	-	-	+
Struktur koloni bag. atas spt pasir	-	-	-	+	+	+	-
Struktur koloni bag. atas bergranula	+	+	+	-	-	-	-
Konidiofor berbentuk verticillate	+	+	+	-	-	-	-
Rumpun konidia berbentuk spt bola	+	+	+	-	-	-	-
Pertumbuhan koloni cepat	+	+	+	-	-	-	-
Koloni memenuhi cawan pada hari ke-3	+	+	+	-	-	-	-
Bentuk koloni bulat	+	+	+	+	+	+	+

Lampiran 11. (Lanjutan)

Karakter	Isolat Kapang						
	<i>Trichoderma</i> sp.1	<i>Trichoderma</i> sp.4	<i>Trichoderma</i> sp.6	<i>Aspergillus</i> sp.2	<i>Aspergillus</i> sp.3	<i>A. niger</i>	<i>Penicillium</i> sp.1
Tepi koloni entire	+	+	+	-	-	-	-
Konidia berpigmen tipis	-	-	-	-	-	-	+
Konidiofor berdinding halus	+	+	+	+	+	+	+
Konidiofor berdinding kasar	-	-	-	-	-	-	-
Koloni kontinyu	+	+	+	+	-	-	-
Koloni dwi warna	-	+	+	+	-	+	-
Garis radial koloni atas	-	+	+	-	-	+	-
Garis radial koloni bawah	-	+	-	-	-	-	-
Tepi koloni tidak rata	-	-	-	+	+	+	+
Eksudat	-	-	-	-	-	-	+
Koloni diskontinyu	-	-	-	+	+	+	+
Tepi koloni filiform	-	-	-	+	+	+	+

(+)= memiliki karakter bersangkutan; (-)= tidak memiliki karakter bersangkutan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 12. Matriks persentase similaritas sifat fenotip antarisolat *Phytophthora* sp.

====Similarity coefficients table=====

A	1.000000							
B	0.976744	1.000000						
C	0.953488	0.976744	1.000000					
D	0.953488	0.976744	1.000000	1.000000				
HTU1(3 4)	0.953488	0.976744	1.000000	1.000000	1.000000			
HTU2(1 2)	0.988372	0.988372	0.965116	0.965116	0.965116	1.000000		
HTU3(5 6)	0.970930	0.982558	0.982558	0.982558	0.982558	0.982558	1.000000	

Lampiran 13. Matriks persentase similaritas sifat fenotip antarisolat kapang antagonis

====Similarity coefficients table=====

A	1.000000																	
B	0.878788	1.000000																
C	0.833333	0.924242	1.000000															
D	0.636364	0.545455	0.530303	1.000000														
E	0.666667	0.575758	0.530303	1.000000														
F	0.575758	0.545455	0.500000	0.848485	1.000000													
G	0.681818	0.590909	0.545455	0.803030	0.712121	1.000000												
HTU1(4 5)	0.651515	0.560606	0.530303	0.969697	0.833333	0.787879	1.000000											
HTU2(2 3)	0.856061	0.962121	0.962121	0.553030	0.522727	0.568182	0.545455	1.000000										
HTU3(1 9)	0.904040	0.934344	0.919192	0.590909	0.540404	0.606061	0.580808	0.952020	1.000000									
HTU4(6 8)	0.626263	0.555556	0.520202	0.929293	0.888889	0.762626	0.944444	0.537879	0.567340	1.000000								
HTU5(7 11)	0.644781	0.567340	0.528620	0.887205	0.829966	0.841751	0.892256	0.547980	0.580247	0.920875	1.000000							
HTU6(10 12)	0.774411	0.750842	0.723906	0.739057	0.685185	0.723906	0.736532	0.750000	0.790123	0.744108	0.790123	1.000000						