

HIPERPARASITISME BEBERAPA AGENS BIOKONTROL TERHADAP *Ganoderma boninense* PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG KELAPA SAWIT

Agus Susanto, Sudharto Ps dan Daisy Tambajong

ABSTRAK

Trichoderma dan *Gliocladium* merupakan agens biokontrol yang potensial terhadap *Ganoderma boninense* penyebab penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit. Informasi detail tentang mekanisme agens biokontrol terhadap *G. boninense* akan sangat membantu strategi aplikasinya di lapangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa salah satu mekanisme antagonisme *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, dan *Gliocladium viride* adalah sebagian besar melalui mikoparasitisme dengan cara melilit hifa *G. boninense* kemudian mengeluarkan enzim kitinase dan glukukanase.

Kata Kunci: Hiperparasitisme, agens biokontrol, *Ganoderma boninense*

ABSTRACT

Trichoderma and *Gliocladium* are considered as important biocontrol agents for controlling basal stem rot disease in oil palm caused by *Ganoderma boninense*. Detailed information about antagonistic mechanisms of biocontrol agents against *G. boninense* in the field. In this study showed that a major antagonistic mechanism of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* and *Gliocladium viride* as mycoparasitic mechanism by coiling around hifa of *Ganoderma* and then releasing enzymes of chitinase and glucanase.

Key words: hyperparasitism, biocontrol agents, *ganoderma boninense*

PENDAHULUAN

Penyakit busuk pangkal batang (BPB) kelapa sawit yang disebabkan oleh *Ganoderma boninense*, saat ini menjadi penyakit terpenting pada perkebunan kelapa sawit di Indonesia (6). Pada beberapa kebun kelapa sawit di Indonesia, penyakit ini telah menimbul-

kan kematian sampai 50 % atau lebih dari seluruh populasi tanaman kelapa sawit, sehingga mengakibatkan penurunan produksi kelapa sawit per satuan luas (13).

Berdasarkan sifat patogen maka pengendalian yang menjanjikan adalah pengendalian hayati. Turner (13) menyatakan bahwa jamur *Trichoderma*,

Penicillium, dan *Gliocladium* bersifat antagonistik terhadap *Ganoderma* dan berpeluang sebagai agens biokontrol. *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp. adalah spesies yang tersebar luas di seluruh dunia (8), hampir pada semua jenis tanah dan selain habitat alaminya. Kedua cendawan ini banyak ditemukan di daerah yang banyak bahan organikya. *Trichoderma* dan *Gliocladium* ternyata mempunyai kemampuan menekan *Ganoderma* secara in vitro maupun secara in vivo (1, 4, 7, 10).

Untuk menentukan strategi yang tepat di lapangan selain didukung oleh pemilihan agens biokontrol yang tepat juga perlu diketahui mekanisme detail agens biokontrol tersebut termasuk salah satunya hiperparasitisme selain antibiosis, enzim lisis, dan kompetisi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Pertanian IPB dan Puslitbang Biologi LIPI Cibinong Jawa Barat yang berlangsung dari bulan Desember 2000 sampai April 2001.

Persiapan kultur

Isolat *G. boninense* ditumbuhkan pada cawan petri dengan medium PDA, dengan posisi 2 cm dari tepi petri. Setelah biakan patogen berumur 4 hari ditumbuhkan kandidat agens biokontrol, dengan posisi berlawanan dari *G. boninense*. Kultur diinkubasikan pada suhu 29 °C, dan dihentikan setelah terjadi interaksi antara agens biokontrol dan *G. boninense*. Interaksi ditandai dengan bertemunya kedua hifa uji atau adanya

zone penghambatan antara pertemuan kedua koloni. Daerah pertemuan antara kedua hifa atau daerah dipotong sebesar 1 x 1 cm². Pada potongan sampel ini akan terikut agens biokontrol dan *G. boninense*.

Fiksasi

Potongan sampel bersih dimasukkan ke dalam larutan glutaraldehide 2,5 % selama 2 jam pada suhu 4 °C. Volume larutan glutaraldehide yang digunakan sebanyak 30 kali volume sampel. Setelah prefiksasi, sampel mendapat perlakuan fiksasi akhir yaitu direndam dalam asam tannic 2 % selama 6 jam pada suhu 4 °C. Sampel dicuci dengan bufer 0,2 M sodium cacodylate pH 8,2 selama 15 menit pada suhu 4 °C. Pencucian diulangi sebanyak 4 kali. Selanjutnya sampel dicuci dengan larutan 1 % OSO₄ selama 2 jam pada suhu 4 °C. Terakhir sampel dicuci dengan air destilata selama 15 menit pada suhu 4 °C dan diulangi satu kali.

Dehidrasi

Selanjutnya sampel didehidrasi secara bertahap yaitu pertama sampel dimasukkan pada 50 % alkohol selama 5 menit pada suhu 4 °C dan diulang 4 kali. Setelah selesai sampel dimasukkan ke dalam 75 % alkohol pada suhu 4 °C selama 20 menit, yang dilanjutkan pada 85 % alkohol selama 20 menit pada suhu 4 °C. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam 95 % alkohol selama 20 menit pada suhu kamar. Akhirnya sampel dimasukkan pada alkohol absolut selama 10 menit pada suhu ruang dan diulang 2 kali.

Pengeringan kering t-Butanol

Sampel direndam di dalam t-butanol selama 10 menit pada suhu kamar dengan volume cukup terendam dan diulang 2 kali. Kemudian difreezer pada suhu -20°C sampai t-butanolnya hilang yang biasanya membutuhkan waktu 30 menit. Selanjutnya sampel di diletakkan pada vacuum chamber selama 2 jam.

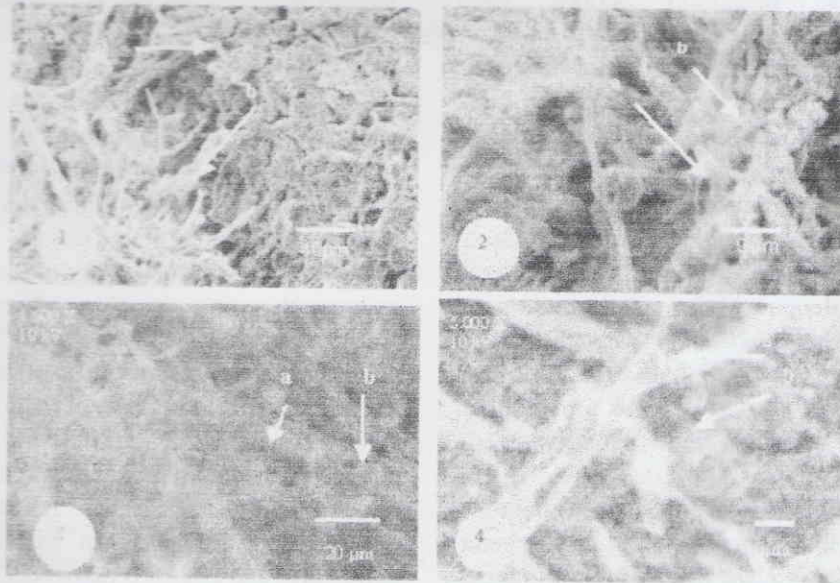
Pelapisan logam

Sampel yang sudah kering selanjutnya diletakkan pada tempat spesimen pada elektron mikroskop dengan melekatkan double selotipe. Sampel diletakkan pada vacuum chamber

untuk menghilangkan ion. Sampel dilapisi dengan campuran emas dan platina dengan ketebalan kurang dari 10 nm. Spesimen diambil dari tempat vacuum chamber dan selanjutnya diobservasi pada scanning electron microscope (SEM) tipe JSM-5000.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Interaksi antara hifa agens biokontrol dan *G. boninense* dapat dilihat dengan jelas menggunakan elektron mikroskop tipe SEM. Interaksi masing-masing spesies dapat dilihat pada masing-masing gambar berikut ini.



keterangan: a = hifa *G. boninense* ; b = hifa atau sel agens biokontrol
1 = *T. harzianum*; 2 = *T. viride*; 3 = *G. viride*; 4 = *Bacillus* sp.

Gambar 1. Interaksi antara *T. harzianum*, *G. viride*, *T. viride* dan *Bacillus* sp. dengan *G. boninense*

Pada Gambar 1 terlihat bahwa interaksi antara hifa *T. harzianum* tidak semua mampu mendesak miselium *G. boninense* sehingga akan terbentuk zona pembatas antara kedua hifa tersebut. Tetapi ada beberapa hifa yang mampu melewati zona pembatas tersebut dan melakukan penetrasi pada organ calon tubuh buah *G. boninense*. Pada gambar terlihat beberapa hifa *T. harzianum* melilit calon organ *G. boninense*. Interaksi antara *T. viride* terhadap *G. boninense* sedikit berbeda dengan *T. harzianum* terhadap *G. boninense*. Zona kosong hampir tidak ada dan hampir semua sisi koloni *T. viride* yang berlawanan dengan *G. boninense* mampu menempel dan mendesak miselium *G. boninense*, meskipun sedikit yang mengalami overlapping. Tetapi parasitasinya hampir sama yaitu hifa *T. viride* mampu menetrasi primordia tubuh buah dan mengkolonisasinya. Dibandingkan dengan *T. harzianum*, parasitasi *T. viride* lebih kompak terjadi sehingga hifa yang memarasit akan lebih banyak. Mikoparasitik *Gliocladium viride* agak berbeda dengan kedua agens biokontrol di atas. *Gliocladium viride* mampu melakukan pertumbuhan di atas koloni *G. boninense* dan banyak melakukan pelilitan (coiling) dan penetrasi pada miselium tersier *G. boninense*.

Sedangkan mekanisme penghambatan agens biokontrol *Bacillus* sp. berbeda dengan ketiga spesies cendawan agens biokontrol di atas. Penghambatan tidak melalui hiperparasitik, tetapi melalui antibiosis dengan mengeluarkan antibiotik. Hifa *G. boninense* yang rusak akibat antibiotik *Bacillus* sp. Hifa *G. boninense* yang mengalami kontak

langsung dengan antibiotik akan mengalami kerusakan dan membran hifa menjadi pecah sehingga menjadi tidak silindris lagi serta cairan sel akan keluar.

Mekanisme antagonisme *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp. pada patogen lain juga menunjukkan sebagai mikoparasit yang sangat aktif (4). Elad *et al.* (9) melaporkan bahwa *T. harzianum* mampu memarasit *Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*. Hifa dari *T. harzianum* membelit dan melubangi hifa cendawan *Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*. *Trichoderma harzianum* dalam memarasit sklerosium *S. rolfsii* melalui kolonisasi lapisan luar sklerosia (rind) dan selanjutnya melakukan penetrasi ke dalam bagian tengah sklerosia (medulla). dan di dalam, *T. harzianum* melakukan pertumbuhan. Yang terjadi pada sklerosium adalah sitoplasma mengalami agregasi dan selanjutnya vakuola pecah (2). Pertemuan *T. harzianum* dengan *S. rolfsii* melalui senyawa yang ada pada *S. rolfsii* yaitu lektin. Dengan adanya senyawa tersebut *T. harzianum* akan mengenal secara spesifik patogen yang akan diparasit (3). Bersamaan dengan proses mikoparasitik terjadi pula produksi antibiotik volatil pyrone dan enzim pendegradasi dinding sel hifa inang yaitu enzim kitinase dan glukonase. Apabila inangnya mengandung selulosa, cendawan ini juga akan mengeluarkan enzim selulase (12).

Proses mikoparasitik terdiri atas empat tahap yaitu (1) pertumbuhan kemotropis. Kemotropis di sini adalah kemotropis positif yaitu pertumbuhan yang menuju stimulus kimia, (2) pengenalan (rekognisi). Rekognisi antara

Trichoderma dengan patogen tanaman bersifat spesifik. Lektin merupakan bahan kimia yang berperan penting dalam pengenalan *Trichoderma* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. Galaktosa pada dinding sel *Trichoderma* akan mudah berasosiasi dengan lektin yang ada pada *Rhizoctonia*. Spesifitas beberapa isolat *Trichoderma* terhadap *S. rolfsii* sangat ditentukan oleh agglutinin yang diproduksi *S. rolfsii*. Semakin banyak agglutinin yang diproduksi akan semakin banyak pula konidia *Trichoderma* yang terlekat olehnya. Lektin ini adalah protein dengan berat molekul 55 dan 60 kDa (3). Perlekatan dan pelilitan. Setelah terjadi proses rekognisi, selanjutnya *Trichoderma* akan membentuk organ seperti cantolan atau organ seperti appressorium. Pada tingkatan yang lebih lanjut *Trichoderma* selanjutnya akan melilit hifa patogen sasaran. (4) Lisis. Proses yang terakhir adalah degradasi dinding sel patogen. Untuk keperluan ini *Trichoderma* mengeluarkan enzim kitinase dan glukukanase. Hal ini disebabkan komponen utama dinding sel patogen khususnya cendawan terdiri atas kitin dan glukukan.

Peran enzim kitinase dalam mekanisme antagonisme adalah pada saat terjadi mikoparasitik. Interaksi mikoparasitik dengan cepat menginduksi ekspresi kitinase beberapa jam setelah kontak antar miselium *Trichoderma* dan cendawan patogen (5, 9,11).

KESIMPULAN

Salah satu mekanisme antagonisme *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma*

viride, dan *Gliocladium viride* terhadap *G. boninense* adalah hampir sama yaitu sebagian besar melalui parasitisme dengan cara melilit hifa *G. boninense* kemudian mengeluarkan enzim kitinase dan glukukanase.

DAFTAR PUSTAKA

1. ABADI A. L. 1987. Biologi *Ganoderma boninense* Pat pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dan pengaruh beberapa mikroba tanah antagonistik terhadap pertumbuhannya. Disertasi. PPS IPB. Bogor. 147p.
2. BANHAMOU, N. and I. CHET. 1996. Parasitism of sclerotia *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathol.* 86:405-416.
3. BARAK, R., Y. ELAD, D. MIRELMAN and I. CHET. 1985. Lectins: a possible basis for specific recognition in the inter-action of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathol.* 75: 458-462.
4. CAMPBELL, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge Univ. Press. Cambridge. UK. 218p.
5. CARSOLO C., A. GUTIER-REZ, B. JIMENEZ, M. VAN MONTAGU and A. HERRERA-ESTRELLA 1994. Characterization of ech-42, a *Trichoderma harzianum* endochitinase gene expressed during mycoparasitism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 10903-10907.
6. DARMONO T. W. 1998. *Ganoderma* in oil palm in Indonesia: current status and prospective use of antibodies for the detection of infection. In. Harman, G.E. & C.P. Kubicek. (Eds.) *Trichoderma and Gliocladium* Volume 1: Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor & Francis Ltd. UK. 393p.
7. DHARMAPUTRA O. S. 1989. Fungi antagonistik terhadap *Ganoderma boninense* Pat. penyebab penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit di kebun Adolina,

- Sumatera Utara. laporan tahunan kerjasama penelitian P.P. mariat-Biotrop tahun 1989.
8. DOMSCH K.H., W. GAMS and T.H. ANDERSON. 1993. Compedium of soil fungi. IHW-Verlag. 860p.
 9. ELAD Y., I. CHET, P. BOYLE and Y. HENIS. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathol.* 73: 85-88.
 10. HADIWIYONO, M. S. SINAGA, B. TIAHJONO dan I. ANAS. 1997. Evaluasi kemang-kusan *Trichoderma viride*, *Gliocladium fimbriatum*, dan *Pseudomonas* kelompok fluoresen sebagai agens pengendali hayati *Ganoderma boninense*. Pat pada balok kayu kelapa sawit. *Buletin Hama & Penyakit Tumbuhan* 9(2): 26-31.
 11. HARAN. S., H. SCHICKLER, A. OPPENHEIM and I. CHET. 1996. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathol.* 86: 980-985.
 12. JEFFRIES P. and T. W. K. Young. 1994. Interfungal parasitic relationships. CAB International. London. 296p .
 13. TURNER, P. D. 1981. Oil palm diseases and disorders. Oxford University Press. Oxford. 280 p.