

STUDI PERTUMBUHAN MULTIANTAGONIS *TRICHODERMA* SP. DAN *STREPTOMYCES* SP. DALAM SUSPENSI AKAR, HUMAT CAIR DAN EKSTRAK KENTANG GULA

Multiplication Study of Multiantagonist *Trichoderma* sp. and *Streptomyces* sp. in Root Suspension, Liquid Humic and Sugar Potato Extract

Ika Nurfitriana, Penta Suryaminarsih*), Wanti Mindari, Sri Wiyatiningsih

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur

Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar, Surabaya

*)Email: penta_s@upnjatim.ac.id

ABSTRAK

Perkembangan multiantagonis *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp. pada umumnya dilakukan pada piring agar dan media cair yang ditutupi untuk perbanyakan dan memudahkan pemanenan sel. Suspensi akar yang mengandung mikroorganisme dan humat cair merupakan bahan biopestisida dan pupuk yang diharapkan dapat lebih efektif untuk perbanyakan agensi hayati sehingga memiliki nilai lebih. Studi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan hidup dan perkembangan *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp. pada media cair tersebut dengan metode penggojokan selama 48 jam. Metode perhitungan dan pengamatan deskriptif, tiap perlakuan diulang 3 kali. Hasil pengamatan pada hari ke-10, 14 dan 17 sebelum inokulasi *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp menunjukkan bahwa pada media humat cair terdapat mikroorganisme namun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan jumlah mikroorganisme pada media suspensi akar. Pada hari ke-17 setelah inokulasi agensi hayati *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp menunjukkan bahwa pada media humat cair agens hayati tersebut tidak tumbuh, sedangkan media suspensi akar hanya *Streptomyces* yang tumbuh namun jumlahnya tidak sebanyak yang dikembangkan pada ekstrak kentang gula.

Kata kunci: pertumbuhan, *Trichoderma* sp. *Streptomyces*. sp, humat cair, suspensi akar

ABSTRACT

Multiplication of multiantagonist *Trichoderma* sp. and *Streptomyces* sp. done on agar plates and liquid media covered for multiplication and facilitate cell harvesting. Root suspension containing microorganisms and humic liquid is a biopesticide and fertilizer material that was expected to be more effective for biodegradation of biological agents to have more value. This study aims to determine the ability of life and propagation *Trichoderma* sp. and *Streptomyces* sp. in root suspension, humic liquid and sugar potato extract. This study used a descriptive observations on days 10th, 14th and 17th before inoculation of *Trichoderma* sp. and *Streptomyces* sp showed that in liquid humic medium there are microorganisms but fewer number of microorganisms on root suspension media. The 17th day after inoculation of the *Trichoderma* sp. and *Streptomyces* sp showed that in the humic liquid medium, the biological agent did not grow, while the root suspension medium was only *Streptomyces* growing but not as much as developed on sugar potato extract.

Keywords: growth, *Trichoderma* sp., *Streptomyces* sp., liquid humic, root suspension

PENDAHULUAN

Mikroorganisme sebagai agensia hayati pada saat ini sudah sampai pada tataran aplikasi, dengan harapan dapat mengefisienkan sumber daya alam, konservasi dan pelestarian lingkungan, serta menghasilkan produk pertanian yang lebih murah dan sehat. Mujoko *et al.* (2005), telah mengadakan penelitian tentang efektivitas bakteri *Actinomycetes* yang berasal dari tanah lahan pertanian cabe, terhadap penyakit layu fusarium. Hasil penelitian pemanfaatan *Actinomycetes* sebagai jamur antagonis tunggal pada beberapa media sintesis dan media semi alami, efektif mengendalikan penyakit layu fusarium.

Eksplorasi *Actinomycetes* sebagai agensia hayati penyakit layu fusarium tomat di Jawa Timur, menemukan kandidat *Streptomyces* sp. dari lahan cabe, lebih dapat menghambat pertumbuhan koloni jamur patogen *F. oxysporum* dibandingkan kandidat-kandidat *Streptomyces* sp. dari lahan tomat dan jagung pada pengujian *in vitro* dan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat pada skala rumah kaca (Suryaminarsih dan Mujoko, 2012). Kombinasi agensia hayati *S. griseorubens* f.sp. *capsicum*, *G. virens* dan *T. harzianum* kompatibel menghambat perkembangan *F. oxysporum* dalam kondisi *in vitro*. Campuran dua agensia hayati *S. griseorubens* *G. virens* dan *T. harzianum* memiliki kemampuan menghambat perkembangan keparahan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan meningkatkan produksi buah yang dihasilkan pada panen pertama (Suryaminarsih *et al.* 2015).

Spesies *Streptomyces* sp. menunjukkan adanya gen multiplikasi kitin yang tinggi (Williamsom, *et al.* 2000; Saito *et al.*, 2003) seperti halnya *Streptomyces coelicolor* dan *S. griseus* (Itoh *et al.*, 2003). Enzim kitinase merupakan enzim penting yang diperlukan untuk mengendalikan serangga (Zhang *et al.*, 2002). Mekanisme antagonisme yang dilakukan actinomycetes meliputi: a) Antibiosis yaitu dengan mengeluarkan berbagai macam antibiotik. b). Kompetisi, terutama terhadap penggunaan sumber karbon. c). Parasitisme. Hal ini terjadi karena actinomycetes mampu mengeluarkan enzim kitinase untuk merusak dinding sel jamur (Robert, 1999). Actinomycetes juga merupakan pendegradasi bahan organik di alam, penghasil antibiotik dan digunakan untuk komponen komersial lainnya (Saugar, *et al.*, 2002; Bently *et al.*, 2002; Basilo, *et al.*, 2003).

Asam humat (AH) berfungsi sebagai pembenah tanah mengandung komponen utama dari humat substansi, yang dihasilkan dari biodegradasi bahan organik mati, mengandung karboksil dan fenolat sehingga berperilaku fungsional asam berbasam dua kadang-kadang sebagai asam tribasic (Tan, 1998). Penambahan asam humat dari jerami pada tanah memberikan peningkatan P tersedia yang lebih tinggi dibanding biochar. Secara umum dosis optimum biochar yang memberikan pengaruh yang baik terhadap sifat fisik dan kimia berkisar antara 2-3 g/kg (Mindari *et al.*, 2018)

Ekstrak akar beberapa tanaman yang digunakan dari hasil penelitian (Wiyatiningsih, 2017) yaitu cairan ekstrak daging, ekstrak kentang, ekstrak ketan hitam, legen siwalan, susu sapi cair, madu dan air gula dengan mikroorganisme berasal dari rizosfer akar tanaman kelapa, akar tanaman tebu, akar tanaman siwalan, akar tanaman bakau dan akar tanaman tunjang, serta mikroorganisme yang hidup di dalam legen siwalan, legen kelapa dan susu sapi cair, dapat bertahan efektif sebagai mikroorganisme peningkat ketahanan tanaman terhadap serangan patogen hingga 2 tahun. Mikroorganisme yang terkandung mempunyai peran sebagai agensia hayati, dekomposer dan PGPR, kandungan unsur hara dalam formula dapat meningkatkan produksi/hasil panen dengan tetap memperhatikan ekologi, lingkungan, ekonomi kerakyatan dan kesehatan manusia. Penggunaan mikroorganisme tersebut juga dapat mengurangi residu senyawa kimia dalam tanah dan tanaman.

Pertumbuhan agens hayati *Streptomyces* sp. lebih lambat dibandingkan pertumbuhan *Trichoderma* sp. yang memang merupakan agens hayati. Kompetitor peran humat dan ekstrak akar sebagai pupuk cair yang nantinya juga akan diberikan sebagai pupuk oleh karena itu perlu kiranya meningkatkan peran agens hayati dalam kedua pupuk cair tersebut serta diharapkan dapat lebih efektif untuk perbanyak agens hayati sehingga memiliki nilai lebih. Studi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan hidup dan perkembangan *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp. pada media cair tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Kecamatan Menganti, Kabupaten Gresik pada bulan Mei hingga Juli 2018.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pH meter, autoklaf, beaker glass, pengaduk, pemanas, LAF, cawan petri, jarum ose, bor pemotong, erlenmeyer, shaker, tabung reaksi, vorteks.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanah, jerami, air steril, ekstrak daging, ekstrak kentang, ekstrak ketan hitam, legen siwalan, susu sapi cair, madu, air gula, akar tanaman tebu, akar tanaman siwalan, akar tanaman bakau, akar tanaman tunjang, legen kelapa, kentang, aquadest, media PDA (Potato Dextrosa Agar), plastik pembungkus, Media Glucose Nitrat Agar (GNA), biakan agens hayati *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp.

Pembuatan media tumbuh

Asam humat

Asam humat (AH) cair (Mindari *et al.* 2018) adalah produk turunan dari bahan organik membusuk yang larut dalam alkali tetapi tidak larut dalam asam merupakan bagian tanah, sisa tanaman jerami. Sebelum digunakan untuk media tumbuh asam humat dicairkan dengan air steril sehingga PH 7.

Fobio

Komposisi Fobio yang digunakan dari hasil penelitian (Wiyatiningsih, 2017) yaitu cairan ekstrak daging, ekstrak kentang, ekstrak ketan hitam, legen siwalan, susu sapi cair, madu dan air gula dengan mikroorganisme berasal dari rizosfer akar tanaman kelapa, akar tanaman tebu, akar tanaman siwalan, akar tanaman bakau dan akar tanaman tunjang, serta mikroorganisme yang hidup di dalam legen siwalan, legen kelapa dan susu sapi cair, dapat bertahan efektif sebagai mikroorganisme peningkat ketahanan tanaman terhadap serangan patogen hingga 2 tahun.

Ekstrak Kentang Gula (EKG)

Kentang sebanyak 250 g dipotong kecil, kemudian direbus dengan 1 l air ditambah 20 g gula selama 30 menit setelah mendidih kemudian disaring, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 1,5 atm, temperatur 121°C selama 30 menit.

Media PDA (Potato Dextrose Agar)

Menimbang media PDA instan 10 g, memasukkan semua bahan ke dalam beaker gelas menambahkan aquadest 500 ml kemudian mengaduk sampai homogen sambil memanaskan diatas pemanas, mensterilkan media PDA ke dalam autoklaf pada suhu 121°C 30 menit. Plating media dilakukan dengan cara: mensterilkan laminar air flow

dengan alkohol 96%, menyalakan lampu UV selama 15 menit, mencairkan media PDA, menyalakan api bunsen, memasukkan media yang sudah dicairkan ke dalam cawan petri, menutup kembali cawan petri kemudian diberi plastik agar tidak terkontaminasi.

Media Glucose Nitrat Agar (GNA)

Glucose Nitrat Agar (GNA) merupakan media selektif untuk pertumbuhan *Streptomyces* spp. Pembuatan GNA dengan cara melarutkan 1 g glukosa, 1,75 KH₂PO₄, 0,85 g NaNO₃, 0,75 g KCL, 2,5 MgSO₄ 7H₂O dan 20 g agar ke dalam 1 l aquadest, selanjutnya disterilkan dengan suhu 121 °C, tekanan 1,5 atm menggunakan autoklaf selama 30 menit.

Persiapan Agens Hayati

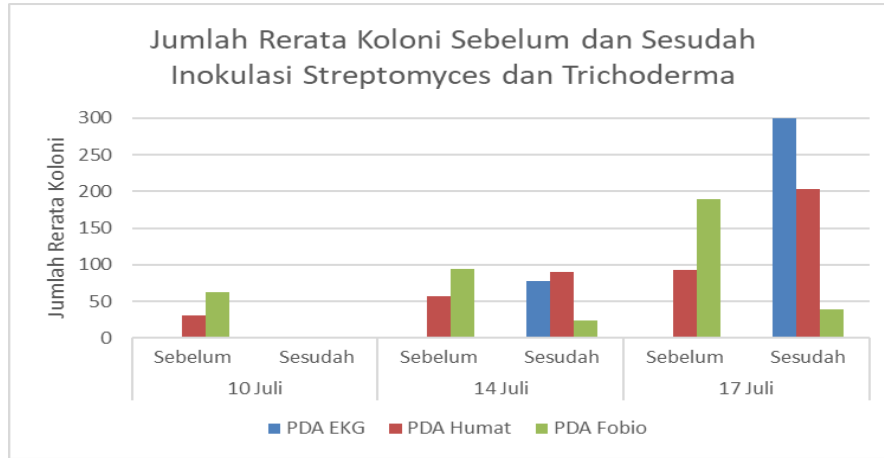
Menyiapkan biakan agens hayati *Trichoderma* sp. (7 hari) dan *Streptomyces* sp. (14 hari) selanjutnya dibuat irisan agens hayati dengan menggunakan bor pemotong berdiameter 0,5 cm. Masing masing agens hayati 3 irisan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang masing masing berisi larutan EKG, asam humat, dan ekstrak akar Fobio. Campuran tersebut selanjutnya dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 60 permenit selama 3 hari sebagai kontrol digunakan air steril.

Pengamatan Populasi Mikroorganisme

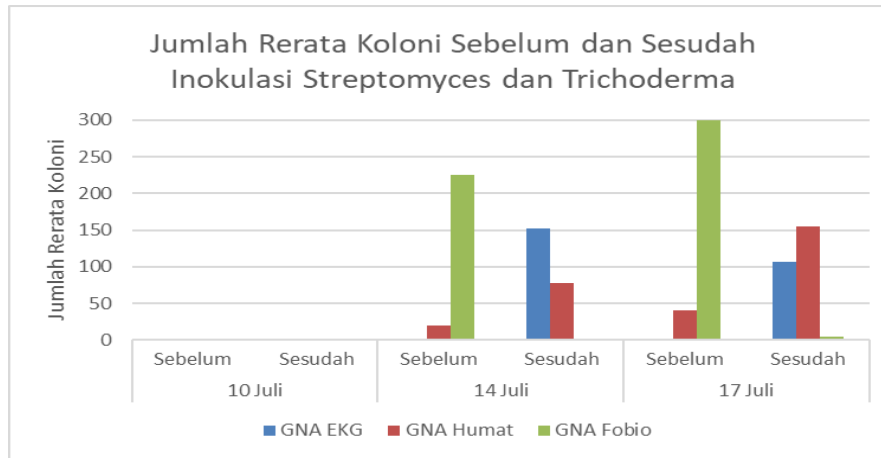
Pengamatan populasi mikroorganisme dilakukan pada hari ke 0, 3 dan 7 setelah inokulasi agens hayati dengan metode tuang kocok yaitu mengambil 1 ml suspensi agens hayati pada masing masing perlakuan diinvestasikan pada 9 ml media PDA cair (50°C) dalam tabung reaksi dilakukan pengocokan dengan vorteks, setelah itu dituangkan pada petri steril. Masing masing perlakuan diamati setelah 7 hari plating pada media PDA dan GNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Mikroorganisme pada Media PDA dan GNA



Gambar 1. Diagram batang jumlah rerata koloni mikroorganisme pada media PDA



Gambar 2. Diagram batang jumlah rerata koloni mikroorganisme pada media GNA

Populasi mikroorganisme yang dikembangkan pada larutan humat mengalami perkembangbiakan yang lebih stabil di media biakan PDA pada kondisi setelah diinokulasikan *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp. dari pengamatan hari ke 0, 3, dan 7 dengan jumlah 31, 90 dan 203 koloni. Sedangkan pada larutan Fobio populasi mikroorganisme mengalami penurunan dari sebelum sampai sesudah inokulasi di hari ke 3 (95 dan 24) dan hari ke 7 (190 dan 40) koloni. Hasil perhitungan populasi

mikroorganisme pada media GNA dalam larutan humat mengalami perkembangbiakan yang lebih stabil setelah diinokulasikan *Trichoderma* sp. dan *Streptomyces* sp. dari pengamatan hari ke 3 dan 7 dengan jumlah 78 dan 155 koloni. Sedangkan pada larutan Fobio populasi mikroorganisme mengalami penurunan dari sebelum sampai sesudah inokulasi di hari ke 3 (226 dan 0) dan hari ke 7 (300 dan 4) koloni. Pertumbuhan *Streptomyces griseus* sangat maksimal pada media yang padat dalam sepuluh hari dan media terendam 3 sampai 5 hari, diikuti oleh lisis miselium. Pertumbuhan mikroba tersebut diikuti meningkatnya pH media, kandungan amonia dan kebutuhan nitrogen (Puspawati, 2016)

Hasil penelitian Wiyatiningsih (2017) fobio mengandung nutrisi (PO_4), (SO_4), N, K, Mg dan Ca. Sedangkan mikroorganisme untuk pertumbuhan membutuhkan nutrisi meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi (Cappuccino dan Sherman, 2014). Residu tanaman atau bahan organik memiliki potensi untuk dijadikan substrat yang dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme antagonis. Humat memiliki potensi lebih tinggi sebagai media tumbuh untuk meningkatkan populasi mikroorganisme antagonis sehingga dapat menekan patogen tanah. Asam humat diketahui mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme. Jumlah sel-sel bakteri pemfiksasi nitrogen dan jumlah nitrogen yang difiksasinya juga makin banyak dengan pembubuhan asam humat (Rao, 1994).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil perhitungan populasi mikroorganisme pada media PDA dan GNA di larutan EKG, Humat, dan Fobio dapat disimpulkan bahwa larutan yang memiliki potensi tinggi untuk menumbuhkan mikroorganisme adalah larutan Humat.

DAFTAR PUSTAKA

- Basilio, A., I. Gonzalez, M.F. Vicente, J. Gorrochategui, A. Cabello, A. Gonzalez and O. Genilloud, 2003. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. *J. Appl. Microbiol.*, 95: 814–23
- Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeño-Tárraga A.-M., Challis G.L., Thomson N.R., James K.D. et al. 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature* 417: 141–147.
- Cappuccino, J.G., and N Sherman. 2014. *Manual Laboratorium Biologi*. EGC, Jakarta, Indonesia.

- Itoh, Y., K. Takahashi, H. Takizawa, N. Nikaidou, H. Tanaka, H. Nishihashi, T. Watanabe and Y. Nishizawa, 2003. Family 19 chitinase of *Streptomyces griseus* HUT6037 increases plant resistance to the fungal disease. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67: 847–55.
- Laila, A. F., Suryaminarsih, P., & Marhaeni J, K. S. (2017). Penyalutan Benih Tomat Dengan Agens Hayati *Trichoderma* Sp. Dan *Actinomyces* Sp. Untuk Pencegahan Penyakit Layu *Fusarium* (*Fusarium* sp.). *Berkala Ilmiah Agroteknologi-PLUMULA*, 5(1).
- Mindari, W., Sassongko, P. E., Khasanah, U., & Pujiono, P. (2018). Rasionalisasi Peran Biochar dan Humat terhadap Ciri Fisik-Kimia Tanah. *Jurnal Folium*, 1(2).
- Mujoko, T., I. R. Sastrahidayat, dan Tutung Hadiastono. 2005. Pemanfaatan *Actinomyces* Antagonis sebagai Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici pada Tanaman Tomat. *Agrivita* 27(1) : 41-46.
- P. Suryaminarsih, Kusningrum, Ni'matuzaroh and T. Surtiningsih. 2015. "Antagonistic Compatibility of *Streptomyces griseorubens*, *Gliocladium virens* and *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* cause of Tomato Wilt Diseases," *Int. J. Plant Soil Sci.*, vol.5, pp. 82-89.
- Puspawati, Mi Made, Ni Nengah Darmkati. (2016). Uji Kesesuaian Substrat Organik Terhadap *Streptomyces* Spp. (Mikroorganisme Antagonis Jamur Akar Putih). https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_penelitian_1_dir/988636cd6a0d89fa63a36bd04118dada.pdf
- Rao, N.S.S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. UI Press, Jakarta.
- Roberts, M.F. 1999. Phospholipases: Generation of lipid-derived second messengers. In *Signal transduction* (ed. S. Ari), pp. 89–146. Birkhauser, Boston.
- Saito A., T. Fujii K. Miyashita. 2003. Distribution and evolution of chitinase genes in *Streptomyces* species: involvement of gene-duplication and domain-deletion. *Journal of Microbiology*. ISSN: 0003-6072 (Print) 1572-9699 (Online)
- Saugar, I., E. Sanz, M.A. Rubio, J.C. Espinosa and A. Jimenez, 2002. Identification of a set of genes involved in the biosynthesis of the aminonucleoside moiety of antibiotic A201A from *Streptomyces capreolus*. *European J. Biochem.*, 269: 5527–35
- Suryaminarsih dan Mujoko. 2012. Kompatibilitas campuran agensia hayati *Streptomyces* sp., *Gliocladium* sp., *Trichoderma harzianum* dalam memperbaiki pertumbuhan tanaman tomat terinfeksi penyakit layu *Fusarium*. *Prosiding Seminar Nasional Perhorti*.
- Tan, K.H. (1998). *Principles of Soil Chemistry*. 3 rd Edition. Marcel Dekker, Inc. New York. 521 hal.
- Williamson, N., P. Brian and E.M.H. Wellington, 2000. Molecular detection of bacterial and streptomycete chitinases in the environment. *Anton. Leeuw. Int. J.G.*, 78: 315–21.
- Wiyatiningsih S. 2017. Fobio (Formula Biopestisida) Ramah Lingkungan Berbasis Mikroorganisme. Program CPPBT.
- Zhang, Y.X., Perry, K., Vinci, V.A., Powell, K., Stemmer, W.P.C. and del Cardayre, S.B. (2002) Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria. *Nature* 415, 644–646.