Hayati, Juni 1994, hlm.5-9
ISSN 0854-8587

Vol.1, No.1

Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Interaksi antara *Lentinus edodes* dan *Trichoderma harzianum*

SITI NURHASANAH, GAYUH RAHAYU, DAN AGUSTIN WYDIA GUNAWAN*
Jurusan Biologi FMIPA IPB, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144

Diterima 26 April 1994/Disetujui 13 Juni 1994

Interaction between mycelia of *Lentinus edodes* (shiitake) and *T. harzianum* was studied *in vitro* under their optimum temperatures and at optimum pH for shiitake mycelial growth. *Trichoderma harzianum* was isolated from both substrates for spawning and cultivation of shiitake. Preliminary study on mycelial growth rates of both fungi indicated that the optimum temperatures for shiitake and *T. harzianum* are 25°C and 30°C, respectively. Whilst the optimum pH for shiitake mycelial growth is five. Two types of interactions were observed, that is overgrowing of the colony of *T. harzianum* on that of shiitake with intermingled mycelia, followed by growth inhibition of the first fungus to the latter, and lysis of the latter. Growth inhibition at 30°C is 8-12% greater than that at 25°C and lysis was shown three hours faster with broader lytic area at 30°C comparing with those at 25°C.

PENDAHULUAN

Lentinus edodes (Berk.) Sing. atau shiitake merupakan jenis jamur kayu yang sudah sangat lama dibudidayakan karena selain dipercayai berkhasiat bagi kesehatan juga mempunyai rasa yang unik dan nilai gizi yang tinggi (Chang dan Miles, 1989).

Dalam produksi jamur dunia, shiitake menempati urutan kedua setelah jamur kancing (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) (Ito, 1978). Oleh karena itu, shiitake memiliki arti ekonomi yang cukup penting dibandingkan jamur pangan yang lain.

Kompetisi dengan cendawan lain, bakteri, atau serangga selama pertumbuhan miselium shiitake, biasanya menyebabkan penurunan produksi jamur (San Antonio, 1981). Masalah terbesar dalam produksi shiitake adalah persaingannya dengan *Trichoderma* Pers. (Badham, 1991).

Faktor-faktor lingkungan seperti suhu dan pH diduga mempengaruhi daya saing shiitake terhadap *Trichoderma*. Dengan demikian, perlu suatu penelitian untuk mempelajari dan mengetahui bagaimana interaksi antara *Trichoderma* dengan pertumbuhan miselium shiitake serta pengaruh faktor lingkungan terhadap keduanya.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan miselium shiitake pada berbagai suhu inkubasi dan tingkat kemasaman medium, dan pertumbuhan *Trichoderma* pada berbagai suhu, serta menguji interaksi keduanya pada suhu optimum kedua cendawan dan tingkat kemasaman optimum shiitake secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Biakan Murni Shiitake. Shiitake dibersihkan dengan alkohol 70% pada bagian permukaannya. Bagian tengah tudung dipotong secara aseptik mengarah vertikal dan lamela dekat dengan ujung tangkai diiris kurang lebih 5 mm x 5 mm. Irisan tersebut ditanam pada agar miring *Potato Dextrose Agar* (PDA) Oxoid yang telah diberi kemisitin 100 mg/l, diinkubasikan pada suhu 25°C sampai miseliumnya memenuhi agar miring (Gustam, 1991).

Untuk setiap percobaan digunakan biakan shiitake pada PDA cawan yang berumur sepuluh hari dan inokulum berasal dari bagian miselium yang terujung.

Pertumbuhan Miselium Shiitake pada Berbagai Suhu Inkubasi dan Tingkat Kemasaman Medium. Biakan shiitake diinokulasikan pada medium PDA kemudian diinkubasikan pada suhu 5-35°C dengan selang 5°C. Diameter koloninya diukur setiap hari selama sepuluh hari. Untuk setiap perlakuan suhu dibuat tiga ulangan.

Setelah diketahui suhu optimum pertumbuhan miselium shiitake, biakan shiitake diinokulasikan pada medium PDA dengan pH 3, 4, 5, 6, dan 7. Selanjutnya biakan tersebut diinkubasikan pada suhu optimum yang telah diketahui. Tingkat kemasaman medium diatur dengan menambahkan larutan NaOH 4N dan HCl 1N pada medium yang telah disterilisasi. Diameter koloni diukur setiap hari selama sepuluh hari. Untuk setiap perlakuan pH dilakukan tiga ulangan.

Isolasi dan Identifikasi *Trichoderma*. *Trichoderma* diisolasi dari medium bibit dan produksi shiitake dengan cara mengambil bagian yang menunjukkan gejala terkontaminasi sebanyak sepuluh gram. Contoh ini diambil dari bagian permukaan sampai kedalaman kurang lebih 2-3 cm. Contoh tersebut diencerkan 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} dengan menambahkan akuades. Satu mililiter suspensi contoh dari setiap pengenceran dipindahkan ke dalam cawan petri. Kurang lebih 10 ml medium PDA steril (suhu 40-45°C dan pH 5.1) yang telah diberi kemisitin (100 mg/l) dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian cawan tersebut digoyang-goyangkan dengan tangan secara perlahan supaya suspensi contoh merata di dalam medium. Setelah medium membeku, cawan-cawan petri tersebut diinkubasikan dalam inkubator pada suhu ruang (27-30°C) selama 72 jam. Semua pekerjaan dilakukan secara aseptik dan untuk setiap pengenceran dilakukan

*Penulis untuk Korespondensi

tiga ulangan. Setiap koloni yang berbeda pola pertumbuhan dan warnanya diisolasi kembali.

Identifikasi dilakukan setelah diperoleh biakan murni yang berasal dari spora tunggal. Selain ciri biakan, ciri-ciri mikroskopis diamati pada kultur blok agar (Riddel, 1950) yang telah dimodifikasi yaitu *Malt Agar* yang digunakan sebagai pengganti Agar Air. *Trichoderma* diidentifikasi dengan menggunakan kunci determinasi menurut Rifai (1969). Isolat yang telah diidentifikasi disimpan dalam agar miring dan agar cawan PDA sebagai biakan sediaan untuk percobaan selanjutnya.

Pertumbuhan Miselium *Trichoderma* pada Berbagai Suhu Inkubasi. Biakan *Trichoderma* yang berumur tiga hari diinokulasikan (diameter 5 mm) pada medium PDA dan diinkubasikan pada suhu 5-35°C dengan selang 5°C. Diameter koloni diukur setiap hari selama lima hari. Masing-masing perlakuan suhu diulang sebanyak tiga kali.

Uji Interaksi. Pada uji ini, inokulum biakan shiitake dengan inokulum *Trichoderma* ditumbuhkan berhadapan dalam setiap cawan petri yang berisi medium PDA. Inokulum setiap isolat *Trichoderma* (umur 3 hari) dan shiitake (umur 10 hari) yang masing-masing berdiameter lima milimeter ditumbuhkan dengan cara oposisi langsung (Dennis dan Webster, 1971b) pada jarak 2.5 cm di tengah medium PDA (Gambar 1).

Berdasarkan percobaan sebelumnya, pertumbuhan koloni shiitake jauh lebih lambat dari *Trichoderma*. Oleh karena itu inokulum shiitake ditumbuhkan 3 x 24 jam lebih awal dan diinkubasikan pada suhu dan pH optimum shiitake. Setelah *Trichoderma* dipasangkan dengan shiitake, biakan diinkubasikan pada suhu optimum masing-masing cendawan.

Pengamatan yang dilakukan terdiri dari pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik uji interaksi dilakukan setiap 24 jam selama 72 jam (dihitung mulai dari inokulum *Trichoderma* diinokulasikan). Setiap pengamatan interaksi ini dilakukan tiga ulangan. Dari pengamatan ini dihitung persentase hambatan oleh *Trichoderma* terhadap shiitake pada jam ke-24 setelah *Trichoderma* diinokulasikan (Gambar 2). Persentase hambatan dihitung dengan rumus Skidmore (1976).

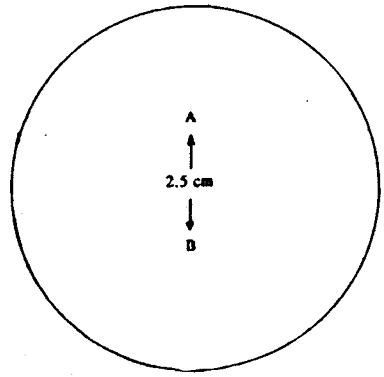
$$P = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

P: persentase hambatan, a. jari-jari koloni shiitake yang tumbuh ke arah yang berlawanan dengan koloni *Trichoderma*, b. jari-jari koloni shiitake yang tumbuh ke arah koloni *Trichoderma*

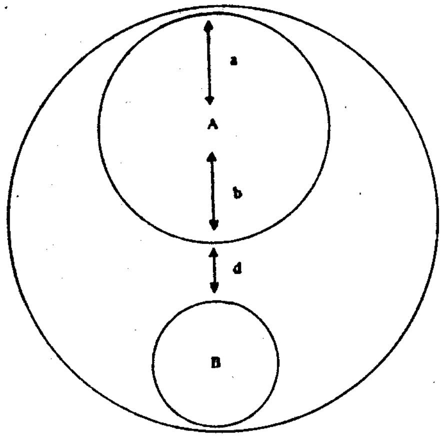
Pengamatan mikroskopik dimulai pada saat koloni kedua cendawan bersentuhan dan pengamatan dilakukan setiap tiga jam selama 12 jam (dihitung mulai dari inokulum *Trichoderma* diinokulasikan). Setiap pengamatan interaksi ini dilakukan tiga ulangan. Pengamatan secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan *Inverted Research Microscope* merek *Olympus*.

HASIL

Pembuatan Biakan Murni Shiitake. Biakan murni shiitake mulai memperlihatkan pertumbuhan pada hari ketiga setelah inokulasi. Mulanya terlihat pertumbuhan miselium yang berwarna putih pada inokulum kemudian berkembang dan memenuhi permukaan agar miring PDA pada hari ke-13. Pada agar cawan miseliumnya mencapai tepi cawan pada hari ke-10.



Gambar 1. Skema Letak Inokulum Shiitake (A) dan *Trichoderma* (B) untuk Uji Interaksi pada Medium PDA dalam Cawan Petri.

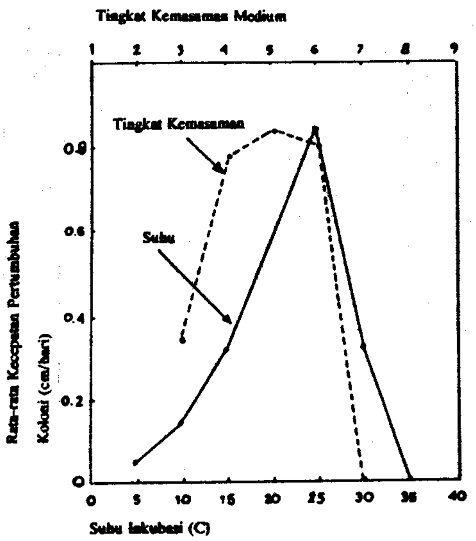


Gambar 2. Skema Cara Pengukuran Koloni Shiitake untuk Menghitung Persentase Hambatan oleh *Trichoderma*: A. inokulum shiitake, B. inokulum *Trichoderma*, a. jari-jari koloni shiitake yang tumbuh berlawanan dengan *Trichoderma*, b. jari-jari koloni shiitake yang tumbuh ke arah *Trichoderma*, d. daerah hambatan

Pertumbuhan Miselium Shiitake pada Berbagai Suhu Inkubasi dan Tingkat Kemasaman Medium. Isolat shiitake tidak dapat tumbuh sama sekali pada suhu 35°Cdan pada pH 7 (Gambar 3). Pertumbuhan maksimum miselium shiitake terjadi pada suhu inkubasi 25°C dengan rata-rata kecepatan pertumbuhan koloni 0.8 cm/hari.

Tingkat kemasaman medium yang memberikan pertumbuhan maksimum pada miselium shiitake ialah pada pH 5 dengan rata-rata kecepatan pertumbuhan koloni 0.8 cm/hari (Gambar 3).

Isolasi dan Identifikasi *Trichoderma*. *Trichoderma* yang diisolasi dari medium bibit dan produksi shiitake ialah *Trichoderma harzianum* Rifai, berturut-turut diberi kode isolat 1 dan isolat 2. Kedua isolat tersebut agak berbeda pada warna koloni dan pola pertumbuhannya secara makroskopik. Warna hijau koloni *T. harzianum* isolat 2 lebih tua dan pola pertumbuhannya lebih kompak dibandingkan isolat 1. Kedua isolat ini kemudian dipergunakan dalam uji interaksi dengan shiitake.



Gambar 3. Hubungan Pertumbuhan Miselium Shiitake dengan Suhu Inkubasi dan Tingkat Kemasaman Medium PDA

Pertumbuhan Miselium *Trichoderma harzianum* pada Berbagai Suhu Inkubasi. Biakan *T. harzianum* yang berasal dari biakan murni sudah terlihat pertumbuhannya pada hari pertama inkubasi dan miseliumnya mencapai tepi agar cawan PDA setelah tiga hari inkubasi.

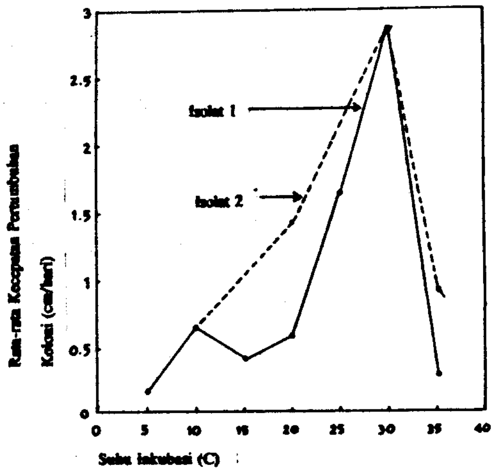
Kedua isolat *T. harzianum* dapat tumbuh pada semua suhu inkubasi. Suhu optimum bagi pertumbuhan miselium *Trichoderma harzianum* isolat 1 dan *T. harzianum* isolat 2 ialah 30°C dan masing-masing isolat mempunyai rata-rata kecepatan pertumbuhan koloni 2.9 cm/hari (Gambar 4).

Uji Interaksi. Hasil pengamatan makroskopik menunjukkan bahwa kedua isolat *T. harzianum* mampu mempengaruhi pertumbuhan miselium shiitake baik pada suhu 25°C (optimum shiitake) maupun suhu 30°C (optimum kedua isolat *T. harzianum*). Pada uji interaksi tersebut tidak terbentuk zona hambatan di antara kedua koloni, melainkan kedua isolat *T. harzianum* dapat tumbuh terus, sehingga pada jam ke-24 terlihat bahwa miselium kedua isolat *T. harzianum* tumbuh menutupi miselium shiitake. *Trichoderma harzianum* melingkupi seluruh tepi koloni shiitake dan mencapai tepi cawan petri pada jam ke-72.

Interaksi antara miselium shiitake dan *T. harzianum* ditandai dengan terhambatnya pertumbuhan miselium shiitake setelah terjadi kontak dan tertutupinya miselium shiitake oleh miselium *T. harzianum*.

Dari pengamatan mikroskopik pada masing-masing suhu inkubasi dapat dilihat percabangan berupa garpu pada miselium *T. harzianum*, lisis, dan penciutan diameter miselium shiitake sampai dengan kosongnya isi miselium shiitake. Kedua isolat *Trichoderma* tidak menunjukkan perbedaan dalam kemampuan berinteraksinya pada suhu inkubasi yang sama, tetapi suhu inkubasi yang berbeda akan menyebabkan kemampuan interaksi yang berbeda (Tabel 1).

Kontak antara miselium shiitake dan *T. harzianum* pada suhu inkubasi 25°C terjadi pada jam ke-15 dan sampai jam ke-21 belum terlihat adanya perubahan pada kedua miselium. Banyaknya percabangan (penggarpuan) pada



Gambar 4. Hubungan Pertumbuhan Miselium *T. harzianum* Isolat 1 dan 2 pada Medium PDA dengan Berbagai Suhu Inkubasi

Tabel 1. Persentase Hambatan *T. harzianum* Isolat 1 dan 2 terhadap Shiitake pada Jam ke-24

Suhu	Isolat 1 (%)	Isolat 2 (%)
25°C	13.33	16.67
30°C	25.00	25.00

miselium *T. harzianum* isolat 1 dan 2 terjadi pada jam ke-24 dan baru pada jam ke-27 terlihat lisis dan penciutan pada miselium shiitake (Tabel 2).

Seperti pada suhu inkubasi 25°C, pada suhu inkubasi 30°C kontak antara miselium shiitake dan *T. harzianum* terjadi pada jam ke-15, tetapi pada jam ke-21 sudah terlihat adanya perubahan dari kedua miselium. Pada jam ke-21 banyak ditemukan percabangan pada miselium *T. harzianum* isolat 1 dan 2. Lisis dan penciutan diameter pada miselium shiitake terjadi pada jam ke-24. Dibandingkan dengan interaksinya pada suhu 25°C, pada jam ke-27 bagian koloni yang lisis lebih luas. Pada jam ke-27 ini banyak ditemukan isi miselium shiitake yang telah kosong.

Berdasarkan pengamatan makroskopik dan mikroskopik, pengaruh negatif dari kedua isolat *T. harzianum* terhadap miselium shiitake lebih terlihat pada suhu 30°C dibandingkan pada suhu 25°C. Pada suhu optimum pertumbuhan miselium shiitake (25°C), *T. harzianum* tidak mampu tumbuh secara maksimum sehingga kemampuan menghambatnya lebih rendah.

Tabel 2. Pengamatan Mikroskopik Interaksi antara Shiitake dan *T. harzianum*

Waktu inkubasi (jam)	25°C	30°C
15	1	1
21	1	2
24	2	3
27	3	4

1: kontak miselium, 2: 1 + percabangan *T. harzianum*, 3: 2 + lisis dan penciutan miselium shiitake, 4: 3 + miselium shiitake kosong

PEMBAHASAN

Suhu optimum (25°C) yang diperlukan miselium shiitake dalam percobaan ini termasuk ke dalam kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan miselium shiitake yang dikemukakan oleh Tokimoto dan Komatsu (1978) dan Chang dan Miles (1989) yaitu 22-25°C. Akan tetapi, suhu optimum tersebut lebih tinggi dari yang dikemukakan oleh Badham (1991) yaitu 22-24°C. Galur shiitake yang berbeda memerlukan suhu yang berbeda untuk pertumbuhan miseliumnya. Galur shiitake yang digunakan pada percobaan ini biasa diinkubasikan pada ruangan bersuhu harian 21.4-26.5°C (Nurhasanah, 1992). Sedangkan tingkat kemasaman optimum (pH 5) untuk miselium shiitake juga terdapat pada kisaran pH optimum yang dikemukakan oleh Badham (1991) yaitu 4-6.

Kedua isolat *T. harzianum* (isolat 1 dan 2) mempunyai suhu optimum (30°C) yang termasuk dalam kisaran suhu optimum yang dikemukakan oleh Badham (1991) yaitu 29-31°C.

Interaksi antara miselium shiitake dan *T. harzianum* yang terjadi dalam percobaan ini sesuai dengan salah satu tipe interaksi yang dikemukakan oleh Skidmore dan Dickinson (1976). Baik *T. harzianum* isolat 1 maupun isolat 2 lebih menghambat pada suhu 30°C dibandingkan pada suhu 25°C (Tabel 1).

Dennis dan Webster (1971a) dan Abadi (1987) menyatakan bahwa isolat *T. harzianum* mengeluarkan substansi toksik yang didifusikan ke dalam medium berupa antibiotik yang larut dalam etanol. Antibiotik tersebut dapat menghambat pertumbuhan *Fomes annosus* tetapi kurang menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* (Dennis dan Webster, 1971a) dan dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma boninense* (Abadi, 1987).

Trichoderma harzianum menghasilkan metabolit yang mudah menguap yaitu karbon dioksida dan etanol (Hutchinson dan Cowan, 1972). Diperkirakan, ada pengaruh dari suhu terhadap kemampuan *T. harzianum* menghasilkan senyawa metabolit. Akan tetapi, suhu inkubasi kurang berpengaruh terhadap kemampuan isolat *T. harzianum* memproduksi metabolit baik yang tidak menguap maupun yang mudah menguap (Tronsmo dan Dennis, 1978).

Pada percobaan ini seluruh uji interaksi dilakukan pada medium PDA yang mempunyai kemasaman lima. Menurut Skidmore (1976) perubahan pH medium merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi atau menghambat pertumbuhan patogen *in vitro*. Destari (1991) menunjukkan bahwa persentase penghambatan *T. harzianum* terhadap *F. oxysporum in vitro* pada pH 4 kurang daripada pH 5. Berdasarkan hal tersebut dapat diperkirakan bahwa persentase penghambatan *T. harzianum* terhadap shiitake akan berbeda jika uji interaksi dilakukan pada pH medium *PDA* kurang dari lima.

Isi miselium shiitake yang kosong diawali dengan adanya lisis dan penciutan diameter hifa. Diduga, hal tersebut adalah akibat dari peristiwa antibiosis yang ditimbulkan oleh *T. harzianum*. Menurut Baker dan Cook (1974) lisis adalah istilah umum bagi peristiwa rusak, larut atau hancurnya suatu bahan biologi. Lisis dapat terjadi sebagai akibat antibiosis, kompetisi atau parasitisme sehingga isi sel menjadi kosong.

Hifa *Trichoderma* dapat membuat lisis dan menciutkan diameter miselium *Ganoderma boninense* (Abadi, 1987). *Trichoderma* juga dapat melilit sekeliling hifa shiitake (Komatsu, 1969 di *dalam* Dennis dan Webster, 1971b). Dalam percobaan ini hifa *T. harzianum* tidak terlihat meliliti hifa shiitake, karena hifa shiitake tersebut memiliki ukuran diameter yang lebih kecil dibandingkan dengan hifa *T. harzianum*. Menurut Dennis dan Webster (1971b) *T. harzianum* biasanya akan melilit hifa cendawan lain jika tidak menghasilkan antibiotik.

Trichoderma banyak yang memiliki enzim-enzim yang mampu merusak dinding sel cendawan yang tersusun atas kitin dan glukan serta aktivitas selulolitik yang kuat. Hal ini menyebabkan *Trichoderma* mampu bersaing dengan cendawan lain dan memperoleh nutrisi dari cendawan tersebut (Dennis dan Webster, 1971b).

DAFTAR PUSTAKA

Abadi, A.L. 1987. Biologi *Ganoderma boninense* Pat. pada Kelapa Sawit (*Elaesis guinensis* Jacq.) dan Pengaruh Beberapa Mikroba Tanah Antagonistik terhadap Pertumbuhan. Disertasi. Bogor: Fakultas Pasca Sarjana IPB (tidak dipublikasikan).

Badham, E.R. 1991. Growth and Competition between *Lentinus edodes* and *Trichoderma harzianum* on Sawdust Substrates. *Mycologia* 83(4): 455-463.

Baker, F.C. and R.J. Cook. 1974. *Biological Control of Plant Pathogen*. San Francisco: W. H. Freema and Company.

Chang, S.T. and F.G. Miles. 1989. *Edible Mushrooms and Their Cultivation*. Boca Raton: CRC Press, Inc.

Dennis, C. and J. Webster. 1971a. Antagonistic Properties of Spesies Groups of *Trichoderma*. I. Production of Nonvolatile Antibiotics. *Trans. Br. mycol. Soc.* 57(1):25-39.

Dennis, C. and J. Webster. 1971b. Antagonistic Properties of Spesies Groups of *Trichoderma*. III. Hyphal Interaction. *Trans. Br. mycol. Soc.* 57(3):363-369.

Destari, S. 1991. Uji Antagonisme antara *Trichoderma* spp. dan *Fusarium oxysporum* pada Berbagai pH Medium *in vitro*. Karya Ilmiah. Bogor: FMIPA IPB (tidak dipublikasikan).

Gustam, H. 1991. *Belajar Usaha Budidaya Jamur*. Kediri: Perc. Offset Dallas.

Hutchinson, S.A. and M.E. Cowan. 1972. Identification Biological Effects of Volatile Metabolites from Cultures of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 59:71-77.

Ito, T. 1978. Cultivation of *Lentinus edodes*. p. 461-473. *In* S. T. Chang and W. A Hayes (ed.). *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York: Academic Press.

Nurhasanah, S. 1992. Telaah Pembibitan Jamur *Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller, *P. ostreatus* var. *florida* Eger, *Tremella fuciformis* Berk., dan *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. di Yapentra Hagutani Cibodas, Cianjur. Laporan Praktek Lapang. Bogor: FMIPA IPB (tidak dipublikasikan).

Riddel. 1950. Block Cultures on Microscope Slides. p. 333-334. *In Plant Pathologist's Pocket Book*, 2nd ed.Kew, Surrey: Commonwealth Mycological Institute.

Rifai, M.A. 1969. A Revision of the Genus *Trichoderma*. *Mycol. Pap.* 116: 1-56.

San Antonio, J.P. 1981. Cultivation of Shiitake Mushroom. *Hort. Sci.* **16**:151-156.

Skidmore, A.M. 1976. Interaction in Relation to Biological Control of Plant Pathogens. p. 507 - 523. *In* C. H. Dickinson and T. F. Preece (ed.), *Microbiology of Aerial Plant Surface*. Departement of Forestry and Natural Resources, The University of Edinburgh.

Skidmore, A.M. and C. H. Dickinson. 1976. Colony Interaction and Hyphal Interference between *Septoria nodorum* and Phylloplane Fungi. *Trans. Br. mycol. Soc.* **66**(1):57-64.

Tokimoto, K. and M. Komatsu. 1978 . Biological Nature of *Lentinus edodes*. p. 445-457. *In* S. T. Chang and W. A. Hayes (ed.), *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York: Academic Press.

Tronsmo, A. and A. Dennis. 1978. Effect of Temperature on Antagonistic Properties of *Trichoderma* Species. *Trans. Br. mycol. Soc.* **71**(3):469-474.