

**Physiological and Genetic Characterization of
Trichoderma spp. From Several Banana Production Center in West
Sumatera that Potential to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp.
cubense Caused Fusarium Wilt Disease on Banana**

ABSTRACT.

The objective of the research were : to characterize the physiological and genetic variation of *Trichoderma* isolates. This research consisted of 2 steps : 1) Study of physiological character used 15 *Trichoderma* isolates. Parameters observed were: the potential of conidia germination , the colony diameter and temperatur influence to conidia germination. 2) Study of genetic characters use *Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain reaction* (RAPD-PCR) that amplicatd with four primers (OPA 2, OPA 17, OPB-05 and Primer 2). Analysis result of genetic variation of *Trichoderma* make as dendrogram.

The result of the research indicated that *Trichoderma* spp had the great physiological and genetic variation, S6 and T1 isolates had the physiological character were better than the others. *Trihoderma* isolates from the same region not always had the same genetic profile.

I. PENDAHULUAN

Salah satu penyakit penting yang menyebabkan kerugian yang paling besar pada pertanaman pisang adalah penyakit layu Fusarium (penyakit Panama) yang disebabkan oleh jamur tular tanah *Fusarium oxysporum* Schlecht f. *sp.cubense* (E.F. Smith) Snyder and Hansen (Foc) (Pegg *et al*, 1996).

Salah satu alternatif pengendalian yang mempunyai harapan untuk dikembangkan adalah penggunaan agensia hayati *Trichoderma* spp. Keberhasilan *Trichoderma* untuk pengendalian patogen tular tanah telah banyak dilaporkan. Masalah yang dihadapi dalam penggunaan *Trichoderma* spp. untuk pengendalian Foc adalah belum ditemukan strain spesifik yang berpotensi menekan pertumbuhan patogen ini. *Trichoderma* spp. indigenous yang berasal dari rizosfir pertanaman pisang diharapkan dapat digunakan sebagai agen pengendalian hayati dan memiliki efektifitas yang tinggi dalam menekan pertumbuhan Foc. Menurut Watanabe (2002), *Trichoderma* mempunyai habitat yang tersebar luas pada berbagai jenis tanah, lahan pertanian dan substrat organik. Jamur ini terdiri dari berbagai spesies dan strain dengan karakter yang berbeda. Beberapa hasil penelitian terdahulu membuktikan bahwa isolat-isolat *Trichoderma* mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menekan pertumbuhan jamur patogen (Nagamani dan Mew, 1987; Bernald *et al*, 2004; Nurbailis *et al*, 2005).

Hasil penelitian Nagamani dan Mew (1987) menunjukkan bahwa hasil isolasi *Trichoderma* dari 23 Propinsi di Filipina ternyata memiliki tingkat mikoparasitisme yang berbeda-beda terhadap *R. solani* penyebab hawar pelepah pada padi. Sukanto dan Tombe (1995) melaporkan bahwa isolat *Trichoderma* yang berbeda mempunyai sifat antagonis yang berbeda terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanilliae*. Hasil penelitian Nurbailis *et al* (2005) juga menunjukkan bahwa isolat *Trichoderma* spp. yang diisolasi dari beberapa sentra produksi pisang di Sumatera Barat memperlihatkan kemampuan yang berbeda dalam menekan pertumbuhan Foc secara *in vitro* dan *in planta*. Menurut Hjeljord dan Tronsmo (2003) kemampuan jamur *Trichoderma* dalam menekan pertumbuhan jamur patogen sangat ditentukan oleh persentase perkecambahan konidia.

Perbedaan kemampuan isolat *Trichoderma* dalam menekan pertumbuhan *Foc* disebabkan adanya perbedaan karakter fisiologi dan genetik masing-masing isolat. Dalam hal ini informasi dasar tentang karakter fisiologi dan genetik isolat *Trichoderma* spp yang telah diuji yang berpotensi menekan pertumbuhan *Foc* belum diketahui. Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kajian karakter fisiologi dan genetik dari isolat *Trichoderma* spp. dalam kaitannya terhadap kemampuan isolat dalam menekan perkembangan patogen.

Selain dari adanya perbedaan karakter fisiologi antar isolat *Trichoderma*, adanya perbedaan karakter genetik isolat juga berpengaruh terhadap kemampuan isolat dalam menekan pertumbuhan patogen. Hasil penelitian Goes *et al* (2002) menunjukkan bahwa kemampuan isolat *Trichoderma* dalam menekan pertumbuhan *R. solani* berbeda dan hasil analisis keragaman genetik antar isolat dengan menggunakan penanda RAPD menunjukkan bahwa isolat *Trichoderma* yang memiliki kemampuan antagonisme yang baik terdapat dalam kelompok genetik yang sama dengan tingkat kesamaan genetik 40%.

Pemahaman tentang adanya keragaman intraspecies dan interspecies penting untuk tujuan pemilihan isolat yang akan digunakan sebagai agens pengendali hayati dan perbaikan sifat isolat. Keragaman intraspecies dan interspecies *Trichoderma* yang tinggi sangat menguntungkan dalam pengendalian hayati dan merupakan faktor penting dalam kesuksesan pengendalian hayati penyakit layu *Fusarium* pada pisang.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi secara fisiologis dan genetik isolat-isolat *Trichoderma* yang berasal dari beberapa sentra produksi pisang di Sumatera Barat yang berpotensi menekan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* penyebab penyakit layu *Fusarium* pada pisang.

II. DESAIN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Fitopatologi jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Unand dan di laboratorium Biotek Perkebunan Karet Bogor. Penelitian ini terdiri dari 2 tahap yaitu : 1) kajian karakter fisiologi isolat *Trichoderma* spp. dan 2) kajian karakter genetik isolat *Trichoderma* spp dengan menggunakan penanda RAPD.

Pelaksanaan

1. Kajian Karakter Fisiologi Isolat *Trichoderma* spp

Perbanyakkan isolat *Trichoderma*. 33 Isolat *Trichoderma* yang berasal dari beberapa sentra produksi pisang di Sumatera Barat, 15 dari isolat tersebut digunakan dalam penelitian ini diperbanyak dalam medium PDA selama 7 hari.

Evaluasi Daya Kecambah konidia. Daya kecambah konidia ditentukan dengan menggunakan metode slide culture. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop monokuler dengan perbesaran 400 kali. Persentase perkecambahan dihitung dari 100 konidia. Konidia dinyatakan berkecambah apabila tabung kecambah telah melebihi diameter konidia.

Luas Koloni. Luas koloni ditentukan dengan cara menumbuhkan fungal mat *Trichoderma* yang berdiameter 10 mm di dalam cawan petri yang berisi medium PDA dan diinkubasikan pada suhu ruang. Pengukuran diameter koloni dilakukan pada hari ketiga setelah inokulasi.

Sensitivitas Konidia terhadap Suhu. Sensitivitas konidia terhadap suhu ditentukan dengan cara mengambil suspensi konidia dari tiap isolat dengan konsentrasi 10^6 konidia/ml sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setiap isolat diperlakukan dengan suhu 20° , 30° , 35° dan 45° selama 10 menit. Setelah diberi perlakuan, daya kecambah konidia masing-masing isolat ditentukan menurut metode yang dilakukan pada evaluasi daya kecambah.

2. Kajian Keragaman Genetik Isolat *Trichoderma* spp.

Untuk mengetahui keragaman genetik antar isolat *Trichoderma* dilakukan dengan teknik *Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain reaction* (RAPD-PCR).

Perbanyak Isolat. Isolat ditumbuhkan pada medium Potato Dextrosa Agar (PDA) dan diinkubasikan selama 7 hari pada suhu ruang.

Perbanyak miselium untuk ekstraksi DNA. Miselium dipanen dari biakan jamur yang telah berumur 7 hari dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 100 ml media cair 2 % Malt extract *Broth* (MEB) dan diinkubasikan selama 2-4 hari pada *rotary shaker* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu ruang. Miselia dipanen dengan cara disaring menggunakan kertas Whatman No.1 dan dicuci dua kali dengan air suling steril.

Ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dari miselia *Trichoderma spp* menggunakan metode yang dikemukakan oleh Castle *et al.* (1998). Miselia jamur sebanyak 50-100 µg digerus dalam nitrogen cair dengan menggunakan mortar. Serbuk miselium dipindahkan ke dalam tabung ependorf dan diberi 500 µl bufer ekstraksi (10mM EDTA, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), SDS-protease (0.5 mg/ml)). Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30-40 menit sambil sesekali digoyang. Kemudian ditambahkan 1 volume campuran fenol : kloroform : isoamil alkohol (25:24:1) dan divorteks. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 15 menit. Fase cair yang terpisah diambil dan dipindahkan ke tabung ependorf baru, kemudian ditambahkan 0.25 volume 7.5M amonium asetat dan disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung ependorf yang baru dan ditambahkan pada 11.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang ada dibuang dan pelet yang didapatkan dicuci dengan etanol 70% dan etanol dibuang dan pelet DNA dikeringkan dengan vakum. Pelet DNA dilarutkan dalam 100 µl TE lalu disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi DNA dengan Teknik RAPD-PCR. Hasil ekstraksi DNA diamplifikasi dengan teknik RAPD-PCR menggunakan 4 macam primer dengan urutan basa (Tabel 2).

Tabel 2. Urutan basa Primer untuk amplikasi DNA *Trichoderma spp*

Primer	Urutan basa (5'---3')
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPA-17	GACCGCTTGT
OPB-05	TGCGCCCTTC
Primer 2	GTTTCGCTCC

Volume final campuran reaksi PCR adalah 25 μ l. Komposisi reaksi PCR sebagai berikut : 1 kali PCR buffer (10 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM Tris-HCl, 2mM MgSO₄, 0.1% Triton X-100, pH 8.8), 0.1 mM tiap d NTP, 3 mM MgCl₂, 0.4 μ M primer, 1 unit *Taq* DNA polimerase (New England BioLabs Inc.), 20-25 ng DNA sampel dan ditambahkan air sehingga volume mencapai 25 μ l. Amplifikasi DNA dengan menggunakan mesin PCR berlangsung dengan urutan sebagai berikut: Tahap I: pra-amplifikasi PCR selama 5 menit pada suhu 92°C; Tahap II : amplifikasi PCR dilakukan sebanyak 40 siklus reaksi, dengan pemisahan utas DNA genom (denaturasi) pada suhu 92°C selama 1 menit. Penempelan primer (*annealing*) pada suhu 39°C selama 30 detik; sintesis pada suhu 72°C selama 2 menit; dan tahap III: Pasca amplifikasi pada suhu 72°C selama 5 menit.

Analisis DNA pada *Agarose gel electrophoresis*. Fragmen DNA hasil amplifikasi untuk setiap primer diambil sebanyak 8 μ l dan ditambah dengan 2 μ l larutan penanda (0,25% *Bromophenol Blue* dan 40% (w/v) Sukrosa) kemudian dipisahkan dengan elektroforesis pada gel agarosa 1.5% dengan menggunakan buffer TBE 1X dan dilanjutkan dengan pewarnaan melalui perendaman gel agarosa dalam larutan etidium bromida 0.5 μ g/ml selama 30 menit dan dibilas dengan H₂O selama 30 menit. Pita DNA hasil amplifikasi diamati di atas transiluminator UV dan dilanjutkan dengan pemotretan menggunakan alat Gel UV dokumentasi.

Analisis Data Hasil RAPD. Pita polimorfik masing-masing sampel DNA diamati untuk menentukan adanya perbedaan isolat. Setiap posisi pita DNA diubah ke dalam bentuk data biner dengan memberi nilai 1 jika ada pita dan 0 jika tidak ada pita. Data biner ini selanjutnya diolah dengan menggunakan program komputer *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSys) versi 2.02. Berdasarkan nilai kesamaan genetik tersebut dilakukan analisis pengelompokan (*cluster analysis*) menggunakan metode *unweight pair group method average* (UPGMA). Hasil analisis pengelompokan tersebut berupa dendogram kesamaan genetik yang menunjukkan hubungan kesamaan antar isolat.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakterisasi Fisiologis

3.1.1. Evaluasi Daya Kecambah.Konidia

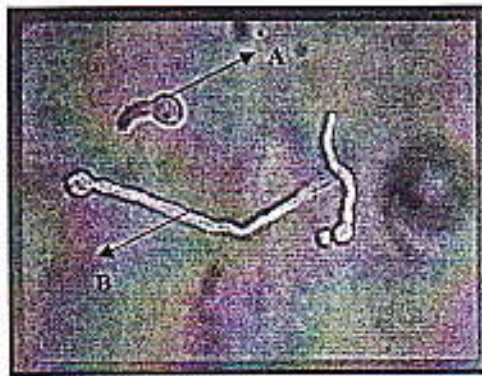
Hasil analisis ragam evaluasi daya kecambah menunjukkan perbedaan yang nyata antara isolat. Hasil uji lanjut dapat dilihat pada tabel 3.1.1. Daya kecambah isolat *Trichoderma* spp sangat bervariasi. Daya kecambah konidia yang tertinggi terdapat pada isolat P1 (100,00%) dan T1 (89,50%), sedangkan isolat T9 memiliki daya kecambah yang paling rendah (23,50%).

Tabel 3.1.1. Rata-rata daya kecambah konidia berbagai isolat *Trichoderma*

Isolat	Rata-rata daya kecambah konidia (%)
P1	100,00 a
T1	89,50 ab
T3	85,50 bc
T4	84,50 bc
S2	80,00 bc
P4	78,75 bcd
P6	78,50 bcd
S10	76,00 cd
P7	75,25 cd
S6	68,50 de
S11	60,00 e
T11	58,25 e
T12	43,50 f
S9	32,75 fg
T9	23,50 g

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Tukey (HSD) pada taraf nyata 5%

Perbedaan variasi daya kecambah masing-masing isolat diduga disebabkan adanya perbedaan kebutuhan nutrisi dari setiap isolat. Menurut Tanada dan Kaya (1993) perkecambahan konidia sangat tergantung pada kondisi lingkungan seperti kelembaban, suhu, cahaya dan nutrisi. Kriteria konidia yang berkecambah dapat dilihat pada Gambar 3.1.1.



Gambar 3.1 1. Perkecambahan konidia *Trichoderma* spp setelah 24 jam (A = konidia B = Tabung kecambah) (perbesaran 400x)

Dari Tabel 5.1.1 dapat dilihat bahwa isolat yang berasal dari daerah yang sama mempunyai kemampuan berkecambah yang berbeda. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan strain ataupun spesies dari *Trichoderma* yang diisolasi dari berbagai daerah. Menurut Watanabe (2000) *Trichoderma* terdiri dari berbagai strain dan spesies yang tersebar luas pada berbagai jenis tanah dan substrat organik. bagaimanapun juga secara genetika masing-masing strain akan memiliki karakter yang berbeda.

Isolat P1 dan T1 memperlihatkan daya kecambah yang lebih tinggi dari isolat lainnya. Tingginya kemampuan berkecambah dari isolat tersebut menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan selanjutnya menjadi lebih cepat dari isolat lainnya. Isolat *Trichoderma* spp yang mempunyai kemampuan tumbuh yang baik akan mempunyai daya kompetisi yang tinggi terhadap patogen. Nurbailis (2005) melaporkan bahwa isolat P1 (asal Kab. Padang Pariaman) dan isolat T1 (asal Kabupaten Tanah Datar) merupakan isolat yang efektif menekan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in vitro.

3.1.2. Luas Koloni

Hasil analisis ragam luas koloni isolat *Trichoderma* spp. berbeda nyata, hasil uji lanjut dapat dilihat pada Tabel 5. 1.2.

Tabel 5.1.2. Luas koloni isolat *Trichoderma* spp

Perlakuan	Rata-rata luas koloni (4 hr dlm mm)
T1	5919.2 a
P4	5740.2 ab
P6	5515.8 abc
P7	5360.8 cd
T3	5360.2 cd
P1	5260. cd
S2	4152
S6	5239.8 cd
T12	5220,4 cd
T4	5190.6 cde
S11	5157.8 cde
T9	5084.2 ef
S10	5043 ef
T9	5040,6 ef
T11	5035 ef

Angka-angka yang terletak pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji Tukey pada taraf nyata 5 %.

Isolat *Trichoderma* spp memiliki kemampuan pertumbuhan yang bervariasi. pertumbuhan koloni isolat T1 lebih tinggi dari isolat lainnya. Hal ini paralel dengan tingginya daya kecambah isolat tersebut yaitu 89,50% (Tabel 3.1.1.). Isolat P1 dengan daya kecambah 100% ternyata pertumbuhan koloninya selanjutnya lebih lambat dari isolat T1. Diduga kedua isolat ini berbeda strain ataupun spesies karena berasal dari daerah yang berbeda (Tabel 1). Pertumbuhan yang cepat dari isolat *Trichoderma* mengindikasikan isolat tersebut mempunyai daya kompetisi yang tinggi terhadap jamur patogen. Nurbailis *et al* (2005) melaporkan bahwa isolat T1 dan P1 mampu menghambat pertumbuhan *Foc* lebih 50% dalam medium PDA.

3.1.3. Sensitivitas konidia terhadap suhu

Sensitivitas konidia terhadap berbagai suhu memperlihatkan perbedaan yang nyata, hasil uji lanjut dapat dilihat pada Tabel 3.1.3. Sensitivitas konidia terhadap suhu dari isolat yang diuji bervariasi. Secara umum perkecambahan

konidia *Trichoderma* spp. sampai pada suhu 30^o tidak terganggu. Semua isolat yang diuji masih mampu berkecambah di atas 86%. Samago *et al* (2002). melaporkan bahwa perkecambahan konidia *T. stromaticum* dapat terjadi pada suhu 25 – 30^o C.

Tabel 3.1.3. Sensitivitas konidia terhadap berbagai suhu

Isolat	Rata-rata daya kecambah konidia (%)			
	20	30	35	40
S6	99,00 a	91,50 ab	56,50 bc	49,00 ab
S2	96,75 b	92,25 ab	61,25 ab	35,75 bc
P6	94,75 bc	93,00 ab	69,25 a	44,75 ab
T1	94,50 bc	95,50 a	38,25 d	43,50 ab
T11	93,75 bc	94,75 a	46,50 ed	46,50 ab
S1	93,00 bc	92,25 ab	49,25 cd	46,00 ab
P7	93,00 bc	90,25 bc	44,50 d	28,50 c
P4	92,75 bc	92,75 ab	20,75 e	8,25 d
T9	92,75 bc	89,25 bc	15,25 e	6,25 d
S9	89,50 c	87,00 bc	41,50 d	44,75 ab
S11	87,50 c	88,25 bc	23,75 e	23,75 c
T12	86,75 c	85,75 c	60,75 ab	46,00 ab

Angka-angka yang terletak pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji Tukey pada taraf nyata 5 %.

Dari Tabel 3.1.3. dapat dilihat perkecambahan konidia *Trichoderma* spp mulai menurun pada perlakuan suhu 35^o dan 45^o. Hal ini menunjukkan ada isolat yang sangat sensitif terhadap perubahan suhu seperti isolat P4 dan T9 dengan perlakuan suhu 45^oC sudah mengalami penurunan yang sangat drastis (8,25% dan 6,25%). Diduga jika perlakuan suhu ditingkatkan di atas 45^o C isolat P4 dan T9 tidak mampu lagi berkecambah.

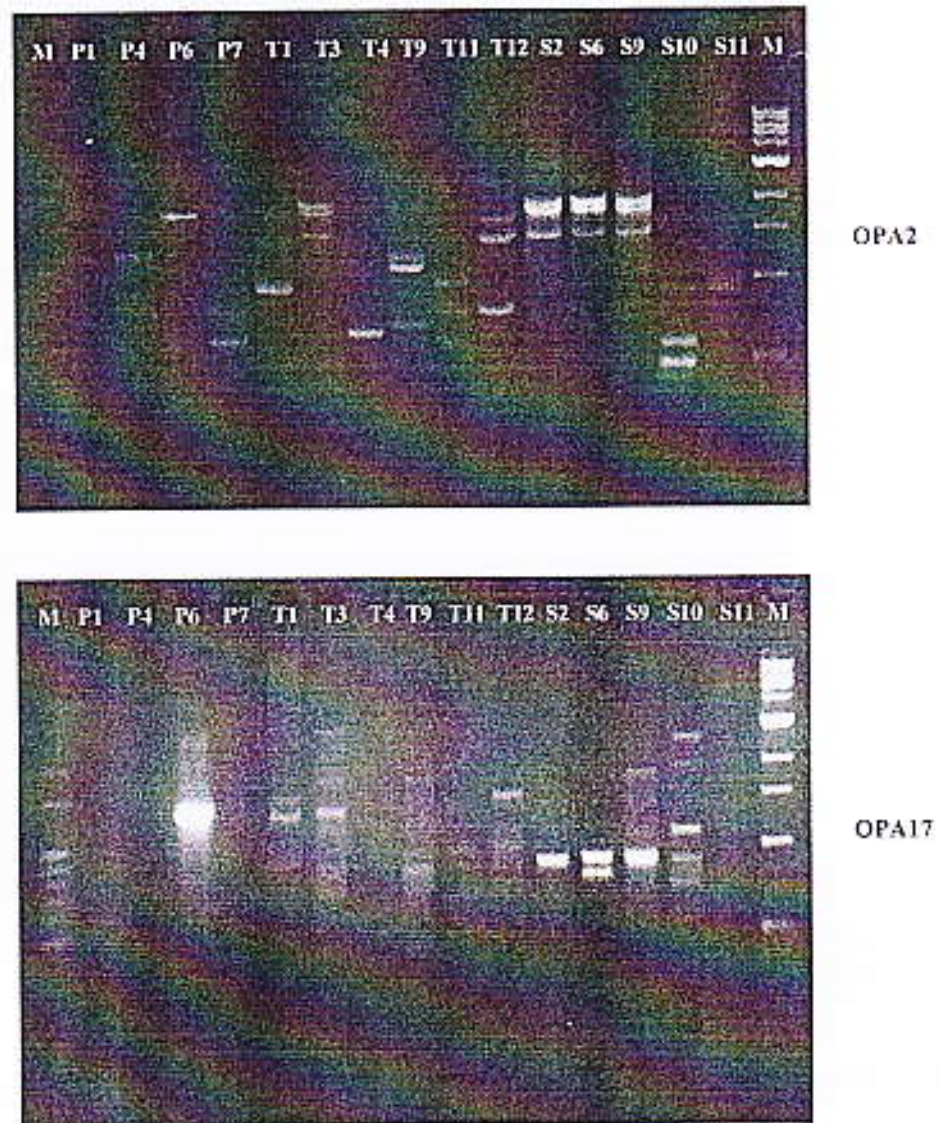
Isolat S6 tergolong isolat yang tahan terhadap perubahan suhu, sampai pada perlakuan suhu 45^o isolat tersebut masih mampu berkecambah 49%. Hal ini menunjukkan tingginya daya adaptasi isolat S6 terhadap perubahan suhu. Nurbailis *et al* (2005) melaporkan bahwa isolat S6 merupakan salah satu isolat yang unggul dalam menekan pertumbuhan Foc baik secara in vitro maupun in planta.

3.2. Karakterisasi Genetik

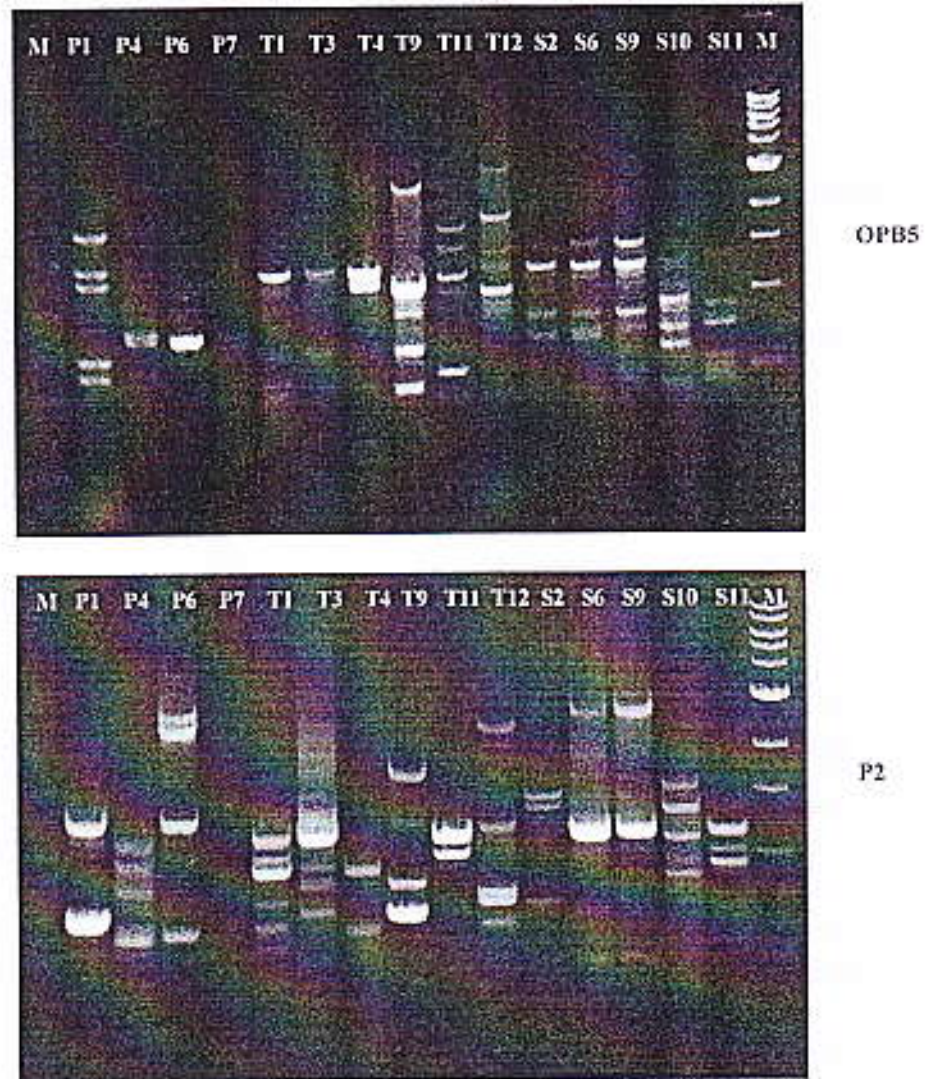
Profil Pita RAPD

Hasil seleksi 4 primer terhadap DNA total 15 isolat *Trichoderma* menunjukkan bahwa primer OPB5 menghasilkan pola pita DNA polimorfik yang lebih banyak dan dapat membedakan isolat *Trichoderma*. Perbedaan profil pita

DNA hasil amplifikasi dengan menggunakan primer OPA2, OPA17 dan OPB5 dapat dilihat pada Gambar 1. Jumlah dan ukuran pita sangat berperan dalam menentukan tingkat keragaman *Trichoderma*. Ukuran pita DNA hasil amplifikasi yang diperoleh berkisar antara 100 –500 pasang basa (pb).



Gambar 1. Profil pita DNA 15 isolat *Trichoderma* hasil amplifikasi dengan teknikRAPD menggunakan primer OPA2, OPA17 M : Marker 100 pb DNA ladder (RBC). P1, P4, P6, P7 : isolat yang berasal dari kabupaten Padang Pariaman, T1, T3, T4, T9, T11, T12 : isolat yang berasal dari kabupaten Tanah Datar, S2, S6, S9, S10, S11 : isolat yang berasal dari kabupaten Solok.



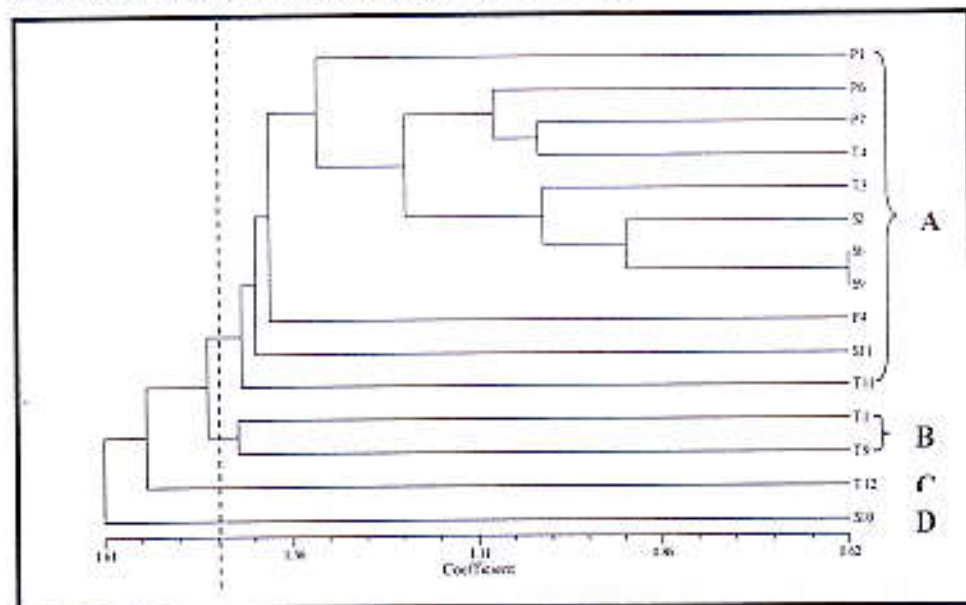
Gambar 2. Profil pita DNA 15 isolat *Trichoderma* hasil amplifikasi dengan teknik RAPD menggunakan primer OPB5 dan P2 M : Marker 100 pb DNA ladder (RBC).

Pita DNA hasil amplifikasi PCR tidak selalu nampak jelas pada gel elektroforesis. Menurut Grattapaglia *et al.* (1992 diacu dalam Motulo 2000), hal ini dipengaruhi oleh sebaran situs penempelan primer pada genom, jumlah fragmen yang diamplifikasi, kemurnian dan konsentrasi DNA genom. Runtuwu *et al.* (2002) menambahkan bahwa DNA cetakan yang tidak murni dapat mengganggu penempelan primer pada situsnya dan akan menghambat aktivitas enzim polimerase yang berfungsi untuk melakukan polimerisasi DNA. DNA cetakan yang banyak mengalami fragmentasi dapat menghilangkan situs

penempelan primer. Menurut Lengkong *et al.* (2001) ketajaman pita DNA hasil PCR sangat tergantung pada konsentrasi DNA, konsentrasi $MgCl_2$, konsentrasi *tag polimerase* DNA, dan jumlah siklus amplifikasi PCR

Analisis Keragaman Genetik Isolat-isolat *Trichoderma*

Hasil analisis keragaman genetik dari 15 isolat *Trichoderma* berdasarkan pada penanda RAPD dengan tiga primer acak (OPA2, OPA17, OPB5) ditampilkan dalam bentuk dendogram (Gambar 2).



Gambar 3. Dendogram keragaman genetik 15 isolat *Trichoderma* dengan menggunakan 3 primer (OPA2, OPA17 dan OPB5).

Pada dendogram terlihat bahwa 15 isolat *Trichoderma* terpisah ke dalam 14 genotip. Hal ini menunjukkan bahwa ada keragaman genetik yang tinggi dari isolat *Trichoderma* spp. Tingginya keragaman genetik isolat *Trichoderma* spp disebabkan perbedaan daerah dan hamparan pengambilan sampel. Keragaman genetik yang tinggi dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi gen, reproduksi seksual dan paraseksual, faktor seleksi, dan migrasi gen dari suatu tempat ketempat lain (McDonald dan McDermott 1993; McDonald 1997). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Goes *et al* (2002) yang mengemukakan bahwa isolat *Trichoderma* yang berasal dari Brazil memiliki keragaman genetik yang tinggi.

Pada dendrogram juga dapat dilihat bahwa isolat S6 dan S9 mempunyai tingkat keragaman paling kecil dengan koefisien 0,62 atau bisa juga dikatakan bahwa kedua isolat ini memiliki karakter genetik yang hampir sama. Kesamaan karakter genetik ini mungkin disebabkan karena kedua isolat ini berasal dari daerah yang sama, yaitu dari kabupaten Solok.

Berdasarkan penelitian terdahulu isolat yang efektif menekan pertumbuhan Foc baik *in planta* maupun *in vitro* adalah T1, S6, dan S10 (Nurbailis *et al*, 2005). Namun dari hasil analisis DNANYa ketiga isolat ini berbeda dan tidak terkelompok menjadi satu. Hal ini mungkin disebabkan karena ketiga isolat ini merupakan strain yang berbeda karena berasal dari daerah yang berbeda, walaupun S6 dan S10 berasal dari kabupaten yang sama tetapi pengambilan sampel dilakukan di nagari yang berbeda yaitu S6 dari nagari Pasar Baru dan S10 dari nagari Padang Kunyit (Tabel 1).

IV. KESIMPULAN

1. Isolat *Trichoderma* S6 dan T1 merupakan isolat yang mempunyai karakter fisiologi yang lebih baik dari isolat lainnya.
2. Karakter fisiologi yang unggul dari isolat S6 dan T1 paralel dengan kemampuannya menghambat pertumbuhan Foc secara *in vitro* dan *in planta*
3. Isolat *Trichoderma* spp yang diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer OPA-02 dan OPA-05 memiliki keragaman genetik yang tinggi
4. Isolat yang berasal dari daerah yang sama tidak selalu memiliki profil genetik yang sama.
5. Isolat T1 dan S6 merupakan isolat yang efektif menekan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* namun tidak memiliki profil genetik yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Bernal, Alexander, Andrew, Charlos, M., Mario, M., Gonzales M, Fernandez, Osvaldo. 2004. Use of *Trichoderma* spp. – like alternative ecological for the control of *Fusarium oxysporum* schlecht f.sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyd & Hans. Farming Research Center and Faculty of farming Sciences. Central University of the Villas.

- Cook, R. J., and Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Amer. Phytopathology. Soc., St. Paul, Minnesota.
- Daryanto, 2002. Langkah Penanggulangan Penyakit Layu Pisang di Indonesia. Makalah yang disampaikan pada Seminar Nasional Penyakit Layu Pisang di Padang.
- Goes LB, da Costa ABL, Freire LLC, de Oliveira NT. 2002. Randomly amplified polymorphic DNA of *Trichoderma* isolates and antagonism against *Rhizoctonia solani*. Brazilian Archives of Biology and Technology 45(2):151-160.
- Harman, G.E. 2000. Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant disease/April 2000. Publication No. D-2000-0208-01F.
- Hjeljord LG, Tronsmo A. 2003. Effect of germination initiation on competitive capacity of *Trichoderma atroviride* PI conidia. Phytopathology 93(12):1593-1598.
- McDonald BM, McDermott JM. 1993. Population genetic of plant pathogenic fungi, electrophoretic markers given unprecedented precision to analysis of genetic structure of population. *Bio Science* 43:311-319.
- McDonald BA. 1997. The population genetics of fungi: tools and techniques. *Phytopathology* 87:448-453.
- Nagamani A dan Mew TW 1987. *Trichoderma* a potential biological control in the rice-based cropping System. IRRI Seminar. 1987.
- Nurbailis, Mardinus, Natsir N, Dharma A dan Habazar T. 2005. Isolation and Screening *Trichoderma* Isolates from Banana Production Center in West Sumatera Potential for Inhibitig the Growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense cause Panama disease In vitro. Makalah yang disampaikan pada The Internasional Conference of Crop Security 2005. Brawijaya University, Malang Indonesia.
- Pegg, K.G. and Langdon PW 1987. *Fusarium* Wilt (Panama disease). A review In Banana and Plantain breeding Strategies (Eds.) Persley GJ and d.Langhe EA. Proceeding and Internasional Workshop Held at Cairns. Australia, ACIAR proceeding, 21 ; 23 - 119
- Samago, S., Pomella, A, Hebbbar, P.K., Bailey, B., Costa, J.C.B., Samuels, G.J., and Lumsdem. 2002. Production and germination of conidia of *T.stromaticum*, a mycoparasite of *Cripellis pernicioso* on Cacao. *Phytopathology*: 92 (10); 1033-1037.
- Sukanto dan Tombe M. 1995. Antagonisme *Trichoderma viride* terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp.vanillae secara in vitro. Balai Penelitian tanaman rempah dan obat. Prociding Kongres Nasional XIII dan seminar ilmiah PFI. 600-604.
- Tanada , Y and Kaya H.K. 1993. Insect Pathology. San Diego. Academic Press, INC. Harcourt Brace Jovanovich, Publisher.

- Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of culture fungi and key to species. Second edition, CRC Press, Boca raton London New York Washington D.C.
- Well HD. 1986. *Trichoderma* as a biocontrol agent. P. 72-82, in Mukerji KG ang Garg KL (Eds) Biocontrol of plant disease Vol. I CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.