



**ANTAGONISME *Trichoderma viride* TERHADAP *Aspergillus* spp.
KONTAMINAN BIJI KACANG TANAH (*Arachis hypogea* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Susyatin Umul Amanah
NIM 111810401004**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**ANTAGONISME *Trichoderma viride* TERHADAP *Aspergillus* spp.
KONTAMINAN BIJI KACANG TANAH (*Arachis hypogea* L.)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Susyatin Umul Amanah
NIM 111810401004**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala berkah, rahmat, hidayah serta nikmat yang dianugerahkan, shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. orang tua tercinta yaitu Ayahanda Suseno dan Ibunda Wahyuni Kholisatin atas setiap do'a, perhatian, dukungan, motivasi serta kasih sayang yang tiada henti dan tiada duanya;
2. kakekku Subandi dan Almh. Nenek Siti Asiyah yang selalu memanjatkan do'a serta memberikan semangat agar kelak cucunya bisa menjadi manusia yang dapat membanggakan keluarga;
3. Ibunda Esti Utarti yang telah memberikan kepercayaan untuk melaksanakan penelitian dan memberikan bimbingan serta kasih sayang yang tak ternilai harganya;
4. semua Pahlawan tanpa tanda jasa yang dengan penuh keikhlasan telah mendidik dan mengajarkan berbagai ilmu pengetahuan baik secara formal maupun informal;
5. Almater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

*“Perubahan adalah hukum kehidupan. Barang siapa hanya melihat masa lalu dan hari ini, pastilah dia akan kehilangan masa depannya”
(Louise Sastrawijaya)^{*)}*



^{*)} Sastrawijaya, L. 2010. *100% Motivated!*. Jakarta: Erlangga

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Susyatin Umul Amanah

NIM : 111810401004

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Antagonisme *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. Kontaminan Biji Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) Secara *In Vitro*“ adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Juni 2016

Yang menyatakan,

Susyatin Umul Amanah

NIM 111810401004

SKRIPSI

**ANTAGONISME *Trichoderma viride* TERHADAP *Aspergillus* spp.
KONTAMINAN BIJI KACANG TANAH (*Arachis hypogea* L.)
SECARA *IN VITRO***

Oleh

**Susyatin Umul Amanah
NIM 111810401004**

Pembimbing

**Dosen Pembimbing Utama : Drs. Siswanto, M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.**

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Antagonisme *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. Kontaminan Biji Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) Secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA)

Universitas Jember pada:

hari :

tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.
NIP 196805031994011001

Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.
NIP 198409262008121002

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

ANTAGONISME *Trichoderma viride* TERHADAP *Aspergillus* spp. KONTAMINAN BIJI KACANG TANAH (*Arachis hypogea* L.) SECARA *IN VITRO*; Susyatin Umul Amanah, 111810401004; 2016: 37 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Biji kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) merupakan sumber protein nabati yang tinggi. Biji kacang tanah juga memiliki kandungan nutrisi yang lengkap yakni lemak, air, karbohidrat fosfor, dan kalori (DepKes RI, 1996). Hal tersebut menyebabkan biji kacang tanah menjadi substrat yang cocok bagi pertumbuhan kapang penyebab kontaminasi pada biji-bijian. Salah satunya adalah *Aspergillus* spp. yang beberapa strainnya mampu menghasilkan senyawa toksik yang berbahaya apabila dikonsumsi oleh makhluk hidup. Penanganan serta pencegahan terhadap kontaminasi *Aspergillus* spp. dapat dilakukan salah satunya dengan bantuan kapang sebagai musuh alami. *Trichoderma viride* adalah salah satu kapang yang kerap digunakan sebagai agen pengendali hayati dan musuh alami kapang-kapang kontaminan maupun fitopatogen.

Penelitian dilakukan dengan melakukan isolasi kapang *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang tanah kemudian dilakukan uji penghambatan pertumbuhannya oleh *T. viride* secara *in vitro*. Pengujian penghambatan pertumbuhan dilakukan dengan menggunakan suspensi spora *T. viride* serta produk ekstrak metabolit sekunder dari *T. viride* yang telah diinkubasi dengan waktu inkubasi bervariasi yaitu; 27, 30, dan 33 hari. Penghambatan pertumbuhan suspensi spora *T. viride* ditunjukkan dengan ketidakmampuan isolat *Aspergillus* spp. untuk tumbuh dengan baik ketika ditumbuhkan berdampingan dengan *T. viride*. Hambatan pertumbuhan dari ekstrak metabolit sekunder ditunjukkan dengan perbedaan lebar diameter koloni yang terbentuk pada *Aspergillus* spp. kontrol dengan *Aspergillus* spp. yang diberi perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari hasil isolasi *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang tanah didapatkan dua isolat yang merupakan anggota dari Genus *Aspergillus* berdasarkan identifikasi makroskopis maupun mikroskopis,

yaitu isolat *Asp1* dan *Asp2*. Pengujian penghambatan pertumbuhan terhadap kedua isolat menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan oleh *T. viride*. Indeks daya hambat terhadap *Asp1* adalah sebesar 1,17%, sedangkan pada isolat *Asp2* mencapai 43,48%. Penghambatan menggunakan produk ekstrak metabolit sekunder *T. viride* menunjukkan indeks penghambatan pertumbuhan tertinggi adalah pada produk ekstrak metabolit dengan waktu inkubasi *T. viride* selama 33 hari yakni mencapai 52,8% terhadap *Asp1* dan 11,9% terhadap *Asp2*. Indeks daya hambat pertumbuhan pada *Asp1* terkecil adalah pada pemberian ekstrak metabolit sekunder dengan waktu inkubasi *T. viride* 30 hari yaitu hanya sebesar 8,3%. Sedangkan pada *Asp1* adalah pada waktu inkubasi 27 hari yang hanya mencapai 33,9%. Perbedaan pengaruh hambatan pertumbuhan pada kedua isolat ini dimungkinkan karena adanya perbedaan resistensi kedua isolat terhadap senyawa metabolit *T. viride* serta perbedaan kecepatan tumbuh kedua isolat *Asp1* dan *Asp2*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Antagonisme *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. Kontaminan Biji Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L.) Secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata satu (S1) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam;
2. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi atas kemudahan-kemudahan yang telah diberikan;
3. Drs. Siswanto, M.Si. dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing yang dengan ikhlas dan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan, bantuan, dan nasihat kepada penulis sampai skripsi ini terselesaikan;
4. Dr. Kahar Muzakar, S.Si. dan Bapak Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat konstruktif demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Ayahanda Suseno dan Ibunda Wahyuni Kholisatin serta seluruh anggota keluarga atas segala dukungan baik moral maupun materiil;
6. Ir. Endang Soesetyaningsih selaku Teknisi Laboratorium Mikrobiologi yang selalu siap membantu dan membimbing selama penelitian;
7. adik-adikku Reftine Susandy Adiasih dan Wahyu Fadqurrohman yang senantiasa memberikan keceriaan dan kekonyolan;
8. sahabat sekaligus keluarga kedua “Keluarga Sarap”, kakak Retna Hermawati “nyett”, Arasho Lutfita Romi Endriani, Mbak Wulan Nursiyam N., adik kecil Anggi Erlyta, dan Bapak Nasikhul Ibad yang selalu jadi tempat berbagi

paling indah, serta sahabatku Gayut Widya Prakosa dan Galen Rahardian yang tak hentinya menghibur dan mendukung dengan segala bullyannya;

9. partner di Laboratorium Mikrobiologi Lt.1, Ahjumma Eriani dan Amin yang tak pernah henti dan bosan memberikan masukan, kritik, bantuan dan bullyan selama melakukan penelitian, Anis, Hilmah, beb Nur Putri yang selalu rela memberi bantuan, masukan, semangat dan waktu untuk dibully;
10. adik-adik Laboratorium, Elak, Uyung, Caca, Ifa, Nenny, Putri Sultan, dek Lisa, dan Vivta atas segala waktu dan tenaga ketika dibutuhkan;
11. seluruh penghuni Kost Kuning “Kost Marno No. 20” terutama sahabat-sahabat gilaku “Biatchs squad” Esti, ibuk Dedew, curut Icha Addhina, Nopret, teteh Ika Puji, Fanny, Nuril atas segala ‘caci maki’, semangat dan cintanya selama ditanah rantau, serta adik kos gila, si kembar Defa Defi, dan entong Eni yang selalu menjadi teman penghilang stress selama penyusunan skripsi ini;
12. sahabat jauhku yang diseberang sana, Sri Wahyuningsih dan Paramitha Hardiyanta yang selalu memberi dukungan dan dorongan semangat serta doa setiap waktu;
13. teman-teman Ampibi 2011 atas kebersamaan dan seluruh keceriaan selama menimba ilmu bersama di Biologi FMIPA UNEJ;
14. semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis berusaha sebaik mungkin dalam penyusunan naskah skripsi ini, tetapi tidak dapat terlepas dari berbagai kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat konstruktif demi perbaikan naskah ini. Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jember, 20 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biji Kacang Tanah	4
2.2 Mikotoksin pada Biji Kacang Tanah	5
2.2.1 Kontaminasi pada Biji Kacang Tanah.....	6
2.2.2 <i>Aspergillus</i> spp. Penyebab Kontaminasi pada Biji Kacang Tanah.	7
2.2.3 <i>Aflatoksin</i>	9
2.3 <i>Trichoderma viride</i> Sebagai Agen Hayati	10
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Rancangan Penelitian	15

3.3 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.4 Prosedur Penelitian	17
3.4.1 Isolasi <i>Aspergillus</i> spp.....	17
3.4.2 Uji Antagonisme <i>Trichoderma viride</i> terhadap <i>Aspergillus</i> spp. Terpilih	17
3.4.3 Pengujian Antifungal Metabolit Sekunder <i>Trichoderma</i> <i>viride</i> terhadap <i>Aspergillus</i> spp. Terpilih.....	18
3.4.3.1 Pembuatan Kultur Cair dan Produksi Metabolit <i>T.viride</i>	18
3.4.3.2 Isolasi Metabolit Sekunder dari Kultur Cair <i>T. viride</i> ..	18
3.4.3.3 Pengujian Antifungal Metabolit Sekunder <i>T. viride</i>	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
5.1 Isolasi <i>Aspergillus</i> spp.	20
4.2 Pengujian Daya Hambat <i>T. viride</i> terhadap <i>Aspergillus</i> spp. Terpilih	23
4.3 Pengujian Antifungal Ekstrak Metabolit Sekunder <i>T.</i> <i>viride</i> terhadap <i>Aspergillus</i> spp. Terpilih	23
BAB 5. Kesimpulan dan Saran	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Kimia Biji Kacang Tanah (per 100gr bahan kering)	5
4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis	
<i>Aspergillus</i> spp. Kontaminasi Biji Kacang Tanah	22



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Biji Kacang Tanah (<i>Arachis hypogea</i> L.)	5
2.2 Mikroskopis <i>Aspergillus flavus</i> (perbesaran 400x).....	8
2.3 <i>Aspergillus niger</i>	8
2.4 Mikroskopis <i>Aspergillus parasiticus</i>	9
2.5 Struktur Kimia Aflatoxin <i>B1</i> , <i>B2</i> , <i>G1</i> , dan <i>G2</i>	10
2.6 Mikroskopis <i>Trichoderma viride</i>	11
2.7 Morfologi Makroskopis <i>Trichoderma viride</i> pada Media PDA	11
4.1 Besar Daya Hambat <i>T. viride</i> terhadap Isolat <i>Asp1</i> dan <i>Asp2</i> (inkubasi 5x24 jam)	23
4.2 Zona Hambatan Pertumbuhan <i>T. viride</i> terhadap Isolat <i>Asp1</i> dan <i>Asp2</i> (waktu inkubasi 5x24 jam).....	24
4.3 Besar Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder <i>T. viride</i> terhadap <i>Asp1</i> dan <i>Asp2</i> (inkubasi 5x24 jam).....	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. KOMPOSISI MEDIA POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)	34
B. KOMPOSISI MEDIA POTATO DEXTROSE BROTH (PDB)	34
C. HASIL PENGAMATAN MORFOLOGI MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS ISOLAT HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH.....	35
D. HASIL PENGUJIAN DAYA HAMBAT <i>T. VIRIDE</i> TERHADAP <i>Asp1</i> DAN <i>Asp2</i> HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH	36
E. HASIL PENGUJIAN DAYA HAMBAT <i>T. VIRIDE</i> TERHADAP <i>Asp1</i> DAN <i>Asp2</i> HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH	36
F. HASIL PENGUJIAN ANTIFUNGAL METABOLIT SEKUNDER <i>T. VIRIDE</i> TERHADAP <i>Asp1</i> DAN <i>Asp2</i>	36
G. HASIL PENGUJIAN ANTIFUNGAL METABOLIT SEKUNDER <i>T. VIRIDE</i> TERHADAP <i>Asp1</i> DAN <i>Asp2</i>	37

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) merupakan salah satu produk pertanian yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman ini biasa dimanfaatkan bijinya untuk dikonsumsi. Selain dikonsumsi dengan cara merebus bijinya secara langsung, kacang tanah memiliki nilai ekonomi yang sangat tinggi sebagai bahan pangan. Diantaranya adalah pembuatan selai dengan bahan dasar biji-bijian ini. Minyak nabati dan susu yang berasal dari biji kacang juga sudah mulai dikembangkan di India. Bahkan menurut FAO, pada tahun 2003 produksi minyak dari kacang tanah mencapai 10% dari pasaran minyak masak dunia. Namun, permasalahan pada pengelolaan biji pasca panen (produksi) tanaman ini masih sangat banyak. Selain faktor penyimpanan dan pengeringan, masalah lain yang sering muncul adalah kontaminasi penyakit yang kerap menyerang biji kacang tanah pasca panen.

Kontaminasi biji pasca panen merupakan masalah dalam pengawetan bahan pangan yang sering dialami oleh para petani. Hal ini dapat menurunkan kualitas (mutu) kacang tanah karena mengubah kenampakan biji (menjadi keriput, kisut, dan lain-lain), merubah cita rasa menjadi pahit atau asam, merubah warna serta merubah/menurunkan nilai nutrisi yang ada pada kacang tersebut. Menurut Paramawati *et al.* (2006), sebagian besar biji kacang tanah yang telah mengalami penyimpanan di Indonesia masih memiliki a_w (*water activity*) $> 0,8$. Iklim tropis menjadi penyebab utama kadar air dalam biji kacang tanah masih terbilang cukup tinggi. Kandungan air tersebut menyebabkan biji kacang tanah menjadi tempat tinggal yang baik bagi kapang. Salah satu kapang penyebab kontaminasi tersebut adalah kapang dari Genus *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*) atau spesies lainnya seperti *Penicillium* dan *Fusarium* (Maryam, 2006; Kasno, 2009). Kontaminasi yang terdapat pada kacang dapat menyebabkan terbentuknya zat-zat karsinogenik yang membahayakan apabila dikonsumsi oleh manusia (Bahri, 2001). Menurut Satish *et al.* (2007), kontaminan pada bahan pangan pasca panen

di dunia didominasi oleh kapang kelompok *Aspergillus*. Lebih dari 25% tanaman sereal di dunia bahkan diketahui telah terkontaminasi mikotoksin dan 300 metabolit lain yang berasal dari *Aspergillus*. Metabolit tersebut dapat menjadi toksik bagi manusia maupun hewan yang mengonsumsi biji yang telah terkontaminasi.

Upaya penanggulangan yang dilakukan untuk menekan tingkat kontaminasi yang terjadi pada biji kacang tanah sudah banyak dilakukan. Dalam kurun waktu 50 tahun terakhir, penggunaan pestisida sintesis (kimia) dianggap sebagai solusi paling ampuh untuk menanggulangi masalah kontaminasi biji pasca panen. Namun seperti yang diketahui, penggunaan bahan kimia yang berlebihan dan terus-menerus akan menyebabkan kerusakan pada lahan tanam serta membahayakan apabila terakumulasi dalam produk pangan. Hal ini dikarenakan bahan kimia yang terdapat dalam fungisida tidak dapat diuraikan oleh tubuh sehingga akan terakumulasi dalam tubuh. Cara aman yang dapat dilakukan untuk menekan tingkat kontaminasi pada biji pasca panen adalah dengan memperhatikan proses penyimpanan dan pengelolaan biji tersebut. Alternatif lain dalam penanganan penyakit pasca panen tersebut adalah dengan menggunakan bantuan biofungisida sebagai agen pengendali hayati.

Penggunaan biofungisida sebagai agen pengendalian hayati dapat dilakukan dengan bantuan mikroba antagonis (bakteri, khamir, dan cendawan). Beberapa penelitian telah dilakukan dalam rangka mencari agen biologi dalam pengendalian hayati. Beberapa mikroba telah diketahui memiliki kemampuan sebagai agen biofungisida, antara lain adalah *Trichoderma viride*. Kapang yang berasal dari genus *Trichoderma* ini telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan dari *Aspergillus niger* indigenous akar kacang tanah secara *in vitro* (Gajera, *et. al.*, 2011). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa *Trichoderma* mampu menghambat pertumbuhan radial *Fusarium solani* (Morsy *et al*, 2009). *Trichoderma* juga mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen hasil isolasi dari biji jagung (Bouziane *et al* 2011). Penelitian tersebut bahkan menunjukkan bahwa *Trichoderma viride* mampu menghentikan pertumbuhan *Monileila* sp.,

Absidia sp., *Phoma* sp., *Penicillium* sp., dan *Botrytis* sp. dalam waktu 4 hari inkubasi.

1.2 Rumusan Masalah

Kontaminasi kapang *Aspergillus* spp. dapat mengakibatkan kerugian serta penurunan kualitas dan nilai gizi pada kacang tanah. Penggunaan *Trichoderma viride* sebagai biofungisida alternatif sudah memberikan bukti bahwa kapang tersebut memiliki kemampuan antagonis pada beberapa kapang yang bersifat kontaminan pada tanaman ataupun bahan pangan. Pengujian daya hambat *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang akan didapat hasil berupa besar daya hambat yang dihasilkan *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. Selain itu, dari pengujian daya hambat ini dapat diketahui apakah *Trichoderma viride* mampu digunakan sebagai pengendali hayati terhadap kontaminasi *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang tanah secara *in vitro*.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian kali ini dibatasi pada biji kacang tanah yang digunakan, yakni biji kacang tanah lokal pasca panen (telah melalui proses penyimpanan) serta kapang yang diuji hanya pada genus *Aspergillus* yang paling dominan. Pengujian juga dilakukan dengan menggunakan produk ekstraksi metabolit dari *Trichoderma viride*.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat *T. viride* terhadap *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang tanah secara *in vitro*.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi daya hambat *T. viride* terhadap *Aspergillus* spp. kontaminasi biji kacang tanah secara *in vitro*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biji Kacang Tanah

Kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) merupakan tanaman pangan kelompok semak yang berasal dari Amerika Selatan, tepatnya dari Brazil. Tanaman ini seringkali dimanfaatkan bijinya untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Kacang tanah adalah komoditas yang mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi dan merupakan salah satu sumber bahan pangan yang bernilai gizi tinggi terutama kandungan protein dan lemak nabatinya.

Kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) merupakan tanaman kelompok famili Fabaceae. Tanaman ini adalah sejenis tanaman tropika yang mampu tumbuh mencapai 30 – 50 cm dan menghasilkan daun-daun kecil (Pratita, 2012).

Kedudukan kacang tanah dalam sistematika (taksonomi) sebagaimana dikutip dari Cronquist (1981), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Arachis</i> L.
Spesies	: <i>Arachis hypogea</i> L.

Biji kacang tanah merupakan salah satu sumber protein nabati yang ekonomis. Biji tanaman ini berbentuk agak bulat sampai lonjong serta terbungkus kulit biji tipis berwarna putih, merah atau ungu. Inti biji terdiri dari lembaga (embrio) dan putih telur (albumen). Bijinya berkeping dua (*dicotyledonae*).



Gambar 2.1 Biji kacang tanah (*Arachis hypogea L.*)
Sumber: Pratita, 2012

Pemanfaatan terbesar biji kacang tanah adalah sebagai bahan makanan dan industri. Menurut Handayani (2008), dalam 100 gram biji kacang tanah, mengandung 43% protein, 34% lemak, 8% karbohidrat, 31% serat, 25% vitamin E, dan beberapa bahan mineral lain.

Berikut adalah tabel komposisi kimia yang terdapat dalam biji kacang tanah per 100 gram bahan kering:

Komposisi		Jumlah
Kadar air	(g)	4,0
Protein	(g)	25,3
Lemak	(g)	42,8
Karbohidrat	(g)	21,1
Fosfor	(mg)	335,0
Kalori	(kal)	425,0
BDD	(%)	100,0

Tabel 2.1 Komposisi kimia biji kacang tanah (per 100 gram bahan kering)
Sumber: Departemen Kesehatan RI, (1996).

Protein yang terkandung dalam biji kacang tanah jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan protein yang terkandung di dalam daging, telur, dan kacang soya (kacang kedelai). Kacang tanah sebagai bahan pangan menjadi substrat yang sangat cocok bagi pertumbuhan jamur toksigenik yang dapat menghasilkan mikotoksin.

2.2 Mikotoksin pada Biji Kacang Tanah

Mikotoksin adalah racun yang dikeluarkan oleh kapang dan bersifat mengganggu kesehatan. Mikotoksin merupakan hasil metabolit sekunder yang

dihasilkan oleh spesies kapang tertentu selama pertumbuhannya pada bahan pangan maupun pakan (Rahayu, 2006). Apabila bahan makan atau pakan tersebut masuk ke dalam tubuh, maka individu akan mengalami mikotoksikosis yaitu gangguan kesehatan dengan berbagai bentuk perubahan klinis dan patogen.

Mikotoksin tidak terlihat, bersifat korosif dan dapat mematikan bahkan ketika jamur penghasilnya sudah tidak ada. Racun tersebut dapat merusak jaringan organ dengan mengoksidasi protein, dampak organ tertentu, dan efek immunosupresif miliki (dapat menyebabkan kanker, cacat embrio dan mutasi genetik (Machmud, 1989). Mikotoksin yang berasal dari hasil metabolit sekunder kapang ini tidak hanya berbahaya pada kesehatan apabila terkonsumsi, namun juga dapat menimbulkan kerugian ekonomi dan berpengaruh pada nilai dagang suatu produk pertanian (Maryam, 2006).

Kontaminasi mikotoksin di Indonesia sangat sulit dihindari oleh para petani. Hal ini disebabkan karena Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki iklim dengan tingkat kelembababan, curah hujan dan suhu yang tinggi. Kondisi tersebut sangat mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan kapang penghasil mikotoksin. Menurut (Maryam, 2006), komoditi pertanian seperti kacang-kacangan, jagung dan sereal lainnya banyak tercemar oleh kapang *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, dan *Penicilium* sebagai penghasil mikotoksin.

Biji-bijian yang kurang kering (kadar air >12%), akan mudah ditumbuhi oleh berbagai jenis kapang yang diantaranya berpotensi menghasilkan mikotoksin seperti *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus ochraceus* (Rahayu, 2006). Kapang tersebut dapat menghasilkan racun yang berbahaya bagi tubuh manusia apabila terkonsumsi.

2.2.1 Kontaminasi pada Biji Kacang Tanah

Aspergillus adalah spesies kapang yang banyak tersebar di alam. Kapang ini tumbuh pada bahan-bahan organik dan memiliki konidia yang bersifat aerosol (tidak terlihat) (Barnes dan Marr, 2006). Kontaminasi *Aspergillus* pada organisme biasa disebut dengan *Aspergillosis*. Dalam bidang kesehatan, *Aspergillosis* lebih dikenal dengan infeksi organ tubuh oleh kapang yang termasuk dalam genus

Aspergillus. Namun dalam bidang pertanian, *Aspergillosis* adalah kontaminasi yang disebabkan oleh kapang *Aspergillus* pada tanaman pertanian. Tanaman-tanaman pertanian yang sering terserang oleh kapang ini adalah biji-bijian dan sereal. Hal ini dikarenakan kandungan dalam biji-bijian dan sereal sebagian besar adalah protein sehingga dapat menjadi tempat hidup yang sangat baik bagi kapang ini.

Kontaminasi *Aspergillus* pada biji kacang tanah dapat mengurangi nilai gizi serta nilai jual dari biji tersebut. Biji kacang tanah yang terserang *Aspergillus* akan mengalami perubahan warna, bentuk dan rasa. Selain itu, adanya kontaminasi kapang *Aspergillus* akan menyebabkan munculnya senyawa toksik pada biji tersebut. Contohnya saja pada biji kacang tanah yang terserang kapang *Aspergillus flavus* penghasil mikotoksin jenis *Aflatoksin B1*. Mikotoksin jenis ini adalah mikotoksin yang bersifat karsinogenik apabila dikonsumsi oleh manusia maupun hewan.

2.2.2 *Aspergillus* spp. Penyebab Kontaminasi pada Biji Kacang Tanah

Kapang yang umum mencemari sereal dan kacang-kacangan adalah *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* dan *Aspergillus parasiticus*. Diantara ketiganya, *A. flavus* dan *A. parasiticus* adalah kapang yang mampu menghasilkan mikotoksin pada biji-bijian. Kedua kapang ini sangat berbahaya bagi kesehatan manusia karena menghasilkan *Aflatoksin* (mikotoksin yang dihasilkan oleh (*A. flavus* dan *A. parasiticus*)).

a. *Aspergillus flavus*

Kapang jenis ini sering menyebabkan kerusakan pada makanan. Konidia pada *A. flavus* berwarna kuning sampai hijau dan mungkin membentuk skerotia. Konidiofornya tidak berwarna, kasar, bagian atas agak bulat sampai kolumner, vesikel agak bulat sampai berbentuk batang pada kepala yang kecil, sedangkan pada kepala yang besar bentuk globosa. Konidia besar dengan bermacam-macam warna (Pitt dan Hocking, 2007). Dapat menghasilkan *Aflatoksin* yang membahayakan bagi kesehatan apabila dikonsumsi oleh manusia dan hewan. *Aflatoksin* tergolong kedala, mikotoksin utama yang banyak mengkontaminasi

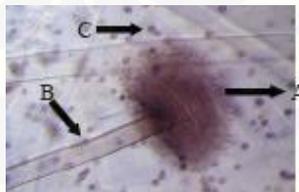
produk-produk pertanian seperti jagung, kacang tanah, bahan pakan ternak dan produk ternak. Aflatoksin B1 yang dihasilkan *A. flavus* merupakan yang paling toksik karena bersifat karsinogenik, hepatotoksik, dan mutagenik bagi manusia, mamalia, dan unggas (Kasno, 2009).



Gambar 2.2. Mikroskopis *Aspergillus flavus* (perbesaran 400x)
Sumber: Hastuti, 2010

b. *Aspergillus niger*

Konidia atas berwarna hitam, hitam kecoklatan atau coklat violet. Bagian atas membesar dan membentuk globusa. Konidiofor halus, tidak berwarna, atas tegak berwarna kuning. Vesikel berbentuk globusa dengan bagian atas membesar, bagian ujung seperti batang kecil. Konidia kasar menunjukkan lembran atau bahkan pita berwarna hitam coklat (Wangge, *et al*, 2012). Menyebabkan kerusakan pada biji-bijian sehingga dapat mengurangi nilai jual dan kualitas gizi kacang tanah.



Gambar 2.3. *Aspergillus niger* (A. kepala konidia; B. Konidiofor; C. Konidia)

Sumber: Indrayoga *et al*, 2013.

Kapang ini bersifat saprofit dan menyebabkan kerusakan pada buah-buahan, sayuran, dan produk makanan lain sehingga menyebabkan turunnya nilai ekonomi bahan pangan tersebut (Gautam *et al.*, 2011). Selain itu, Gautam *et al*,

(2011) menyatakan bahwa kapang *A. niger* merupakan ancaman terbesar bagi petani dalam hal penyimpanan pasca panen terutama pada daerah yang beriklim tropis. Kontaminasi *A. niger* juga berbahaya apabila dikonsumsi. Sekitar 10% strain dari kapang *A. niger* terbukti mampu menghasilkan senyawa toksik berupa ochratoxin A (Schuster et al., 2002).

c. *Aspergillus parasiticus*

Koloni hijau gelap, konidiofor dengan satu set sterigmata, bentuk visikelnnya bulat (Wangge, et. al, 2012). Kapang ini dapat menghasilkan mikotoksin berbahaya yaitu *Aflatoksin* yang bersifat karsinogenik bagi manusia dan hewan.



Gambar 2. 4. Mikroskopis *Aspergillus parasiticus*
Sumber: Schimmelpilze, 2011

2.2.3 *Aflatoksin*

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus*. Mikotoksin strain B1 pada jenis ini bahkan diketahui sangat toksik dan bersifat karsinogenik (pemicu kanker), hepatotoksik (racun hati) dan mutagenik (pemicu mutasi gen) bagi manusia, mamalia dan unggas (Kasno, 2009)

Saat ini telah diketahui paling sedikitnya terdapat 4 macam *Aflatoksin* alamiah yang paling sering dijumpai dan bersifat toksik, diantaranya adalah *Aflatoksin B1*, *B2*, *G1*, *G2*. Namun diantara keempat jenis *Aflatoksin* tersebut, yang memiliki tingkat toksisitas tertinggi adalah *Aflatoksin B1* (Pratita, 2012). Senyawa bifuran ini bersifat non polar, stabil terhadap panas dan tahan terhadap perlakuan fisik (Rahayu, 2010). Oleh karena itu, cemaran *Aflatoksin* pada bahan pangan akan sulit dihilangkan. Bahkan menurut (Rahayu, 2010), *Aflatoksin B1*

yang mencemari pakan dan dikonsumsi sapi perah tidak akan hilang sama sekali tetapi berubah menjadi *Aflatoksin M1*. Mikotoksin ini merupakan racun yang muncul pada susu dan memiliki tingkat toksisitas mirip dengan *Aflatoksin B1*.

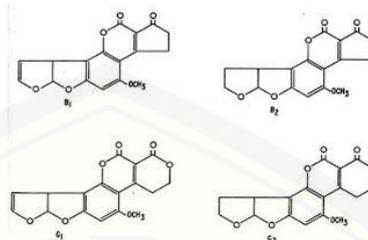


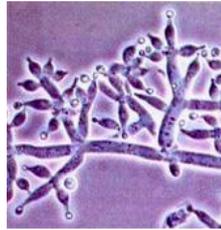
Fig. 1 Structures of aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂.

Gambar 2.5. Struktur kimia *Aflatoksin B1, B2, G1 dan G2*
Sumber: Suganthi, et al., 2011

Tempat metabolisme utama dari mikotoksin ini adalah organ hati, namun ada juga yang menyerang darah dan organ lainnya. Metabolisme *Aflatoksin* terdiri dari tiga tahap, yaitu bioaktivasi, konjugasi dan dekonjugasi. Pada ketiga tahap tersebut tubuh mencoba untuk mengurangi tingkat toksisitas dari *Aflatoksin*. *Aflatoksin* akan dikeluarkan tubuh melalui cairan empedu dan air seni (Kasno, 2003). Apabila racun tersebut tidak dapat dikeluarkan dari tubuh, maka tubuh akan mengalami perubahan patologis dan menimbulkan beberapa gejala seperti keturunan lahir cacat (efek teratogenik) dan kanker (manusia dan hewan) (Pratita, 2012). Pada hewan, *Aflatoksin* menyebabkan bobot organ dalam menjadi bervariasi (pembesaran hati, *fatty liver syndrome*), pengurangan bursa fabricus dan tymus, perubahan tekstur dan warna organ (hati, tenggorokan), anemia, haemorrhage, immunosupresif, nefrosis, kerusakan kulit, dan penurunan efisiensi breeding (Kasno, 2003).

2.3 *Trichoderma viride* Sebagai Agen Hayati

Kapang *Trichoderma viride*. diklasifikasikan dalam Kingdom Plantae, Divisi Amastigomycota, Kelas Deutromycetes, Ordo Moniliales, Famili Moniliaceae, Genus *Trichoderma* dan Species *Trichoderma viride*. (Tandion, 2008). *Trichoderma* spp. memiliki konidiofor bercabang-cabang teratur, tidak membentuk berkas, konidium jorong, bersel satu, dalam kelompok-kelompok kecil terminal, kelompok konidium berwarna hijau biru (Semangun 1996).



Gambar 2.6. Mikroskopis *Trichoderma viride*
Sumber: Neemproduct, 2010

a. Morfologi *Trichoderma viride*

Koloni *Trichoderma viride* pada media agar pada awalnya terlihat berwarna putih, selanjutnya miselium akan berubah menjadi berwarna kehijau-hijauan. Kemudian sebagian koloni akan berwarna hijau dengan bagian tengah koloni dikelilingi miselium yang masih berwarna putih. Pada akhirnya seluruh medium akan berwarna hijau (Nurhayati, 2001).



Gambar 2.7. Morfologi makroskopis *Trichoderma viride*
Sumber: dokumentasi

b. Mekanisme Antagonis *Trichoderma viride*

Mikroorganisme antagonis adalah mikroorganisme yang mempunyai pengaruh yang merugikan terhadap mikroorganisme lain yang tumbuh dan berasosiasi dengannya (Ismail dan Terirawe, tanpa tahun). Antagonisme meliputi (a) kompetisi nutrisi atau sesuatu yang lain dalam jumlah terbatas tetapi tidak diperlukan oleh organisme pengganggu tumbuhan (OPT), (b) antibiosis sebagai hasil dari pelepasan antibiotika atau senyawa kimia lain oleh mikroorganisme lain yang berbahaya bagi OPT, (c) predasi, hiperparasitisme, dan mikroparasitisme atau bentuk eksploitasi langsung terhadap OPT oleh organisme yang lain (Gultom, 2008).

Inokulasi *Trichoderma* kedalam tanah dapat menekan serangan penyakit layu yang menyerang di persemaian dikarenakan oleh adanya pengaruh toksin yang dihasilkan cendawan ini. Selain itu, *Trichoderma* memiliki kemampuan berkompetisi terutama dengan patogen dalam mendapatkan Nitrogen dan Karbon (Djarmiko dan Rohadi, 1997).

Menurut Gultom (2008), mekanisme utama pengendalian patogen tanaman yang bersifat tular tanah dengan menggunakan *Trichoderma* dapat melalui:

- a. Mikoparasit (memarasit miselium cendawan lain dengan menembus dinding sel dan masuk kedalam sel untuk mengambil zat makanan dari dalam sel sehingga cendawan akan mati).
- b. Menghasilkan antibiotik seperti alametichin, paraceisin, trichotoxin yang dapat menghancurkan sel cendawan melalui pengrusakan terhadap permeabilitas membran sel, dan enzim kitinase, laminarinase yang dapat menyebabkan lisis dinding sel.
- c. Mempunyai kemampuan berkompetisi memperebutkan tempat hidup dan sumber makanan.
- d. Mempunyai kemampuan melakukan interfensi hifa. Hifa *Trichoderma* akan menyebabkan perubahan permeabilitas dinding sel.

c. Potensi *Trichoderma viride* Sebagai Agen Hayati

Agen hayati adalah organisme yang dapat berkembangbiak sendiri seperti parasitoid, predator, parasit, arthropoda pemakan tumbuhan dan patogen. Sedangkan agen hayati yang digunakan untuk pengendalian penyakit pada organisme lain disebut dengan agen antagonis (Lilik, *et al.*, 2010).

Penggunaan cendawan antagonis dalam pengendalian patogen pada organisme dinilai sebagai salah satu alternatif dan dianggap aman serta dapat memberikan hasil yang cukup memuaskan (Darmono, 1994). Purwantisari dan Hastuti (2009) menyatakan bahwa pengendalian hayati dengan menggunakan agen hayati seperti *Trichoderma viride* sangatlah diharapkan dapat mengurangi ketergantungan dan mengatasi dampak negatif dari pemakaian perstisida sintetik yang selama ini masih dipakai untuk pengendalian penyakit tanaman di Indonesia.

d. Pemanfaatan *Trichoderma viride* dalam Mengendalikan Penyakit Tanaman

Kemampuan *Trichoderma* dalam pengendalian penyakit tanaman telah banyak dibuktikan oleh beberapa penelitian. Banyak hasil penelitian yang memang ditujukan untuk melihat kemampuan antagonisme kapang ini dalam pengendalian penyakit tanaman menunjukkan hasil yang positif. Hal ini secara tidak langsung membuktikan bahwa *Trichoderma* memiliki kemampuan antagonisme terhadap mikroorganisme penyebab penyakit pada tanaman.

Talanca, *et al.*, (1998) menjelaskan bahwa kemampuan antagonisme *Trichoderma* berhubungan dengan mekanisme-mekanisme berikut:

- a. *Trichoderma* mengeluarkan toksin yang dapat menekan pertumbuhan bahkan mematikan mikroorganisme lain.
- b. *Trichoderma* menghasilkan enzim hidrolitik β -1,3 glukonase, kitinase dan selulase.

Djarmiko dan Rohadi (1997) melaporkan bahwa mikroorganisme antagonis terutama *Trichoderma* spp. mempunyai kemampuan berkompetisi dengan patogen terbawa tanah terutama dalam mendapatkan nitrogen dan karbon. Selain itu, cendawan *Trichoderma* spp. mempunyai kemampuan untuk menghasilkan enzim hidrolitik β -1,3 glukonase, kitinase dan selulase. Enzim-enzim inilah yang secara aktif merusak sel-sel jamur yang sebagian besar tersusun dari β -1,3 glukon (linamirin), dan kitin sehingga dengan mudah jamur *Trichoderma* spp. dapat melakukan penetrasi ke dalam hifa jamur inangnya (Talanca, *et al.*, 1998).

e. Pemanfaatan Bioaktif *Trichoderma*

Pemanfaatan mikroorganisme dalam hal penanganan berbagai masalah kehidupan mulai banyak dilakukan. Senyawa bioaktif hasil produksi dari mikroorganisme sudah banyak digunakan dalam berbagai aspek sehari-hari. Misalnya untuk pengobatan yaitu berupa antibiotik. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam produksi senyawa metabolit tertentu sudah mulai banyak dieksplorasi. Terutama mikroorganisme yang mampu memproduksi

metabolit yang bermanfaat positif bagi kebutuhan manusia. Sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengisolasi metabolit hasil dari mikroorganisme baik bakteri maupun fungi. Misalnya saja *lactic acid* yang berasal dari bakteri asam laktat yang bermanfaat dalam pengawetan bahan pangan. Sedangkan untuk kelompok fungi, *Trichoderma* adalah salah satu fungi yang mampu menghasilkan metabolit berupa senyawa bioaktif yang bermanfaat dalam bidang pertanian (Vinale, *et al.* 2014).

Menurut Vinale, *et al.* (2014), produk metabolit sekunder dari genus *Trichoderma* bersifat toksik bagi mikroorganisme patogen pertanian. Hal ini menjadikan *Trichoderma* kerap digunakan dalam pencegahan maupun penanganan masalah pertanian. Senyawa tersebut diantaranya adalah *pyrone*, *koningin*, *viridin*, *azaphilone*, dll. Senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan fungi lain sehingga akan mematikan fungi tersebut. Selain itu, beberapa metabolit juga mampu menghambat kerja dari metabolit lain yang dihasilkan fungi lain selain *Trichoderma*. *Viridiol* (mirip dengan antibiotik *viridin*) yang dihasilkan oleh *T. virens* terbukti mampu menghambat biosintesis *Aflatoksin* yang dihasilkan mikrob patogen.

Tidak hanya berperan toksik bagi mikroorganisme lain, *Trichoderma* mampu memaksimalkan pengambilan nutrisi oleh tanaman sehingga sangat efektif dan kompetitif daibandingkan dengan mikroorganisme lain. Hal ini dimungkinkan oleh adanya produksi asam-asam organik seperti *gluconat*, *citrat* dan asam fumarat yang mampu menurunkan pH tanah dan melarutkan fosfat, besi, mangan dan magnesium (Vinale, *et al.*, 2014).

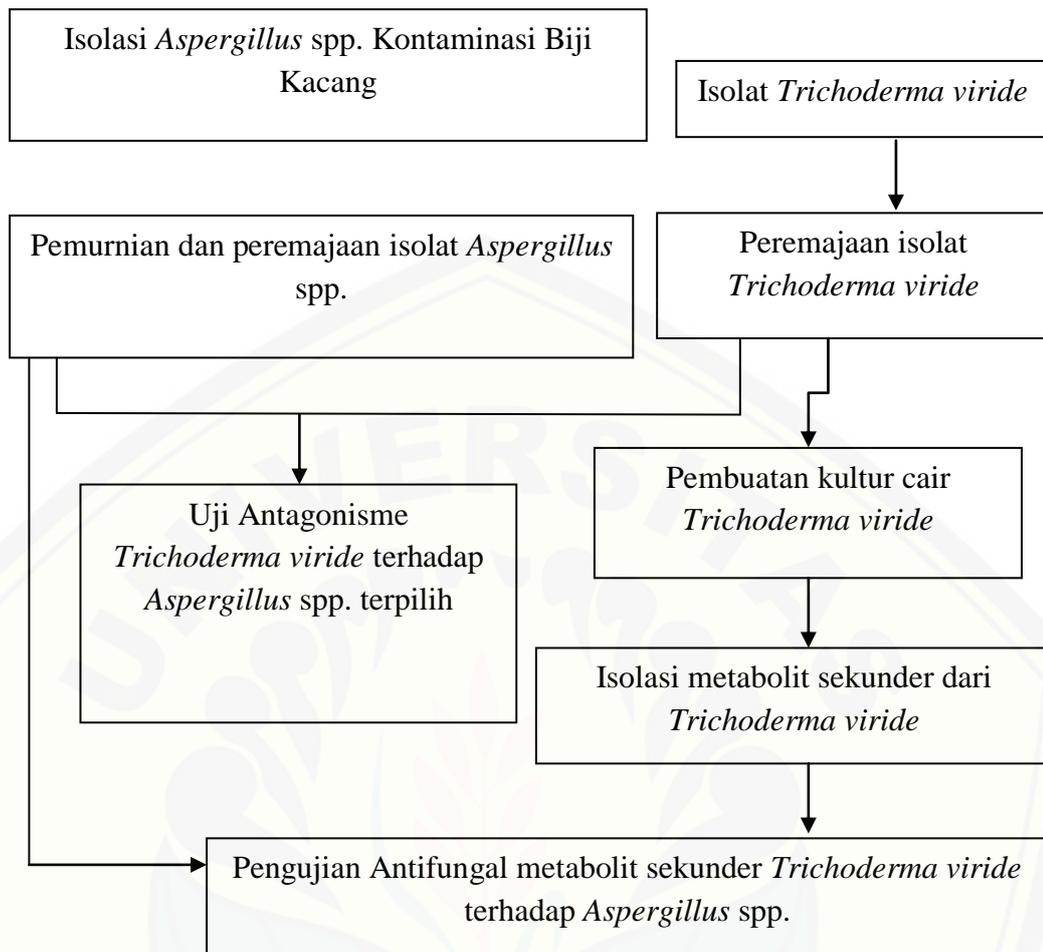
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan September 2015 – Februari 2016 di Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Dasar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian deskriptif. Proses penelitian dilakukan di laboratorium dan data yang didapat adalah data kualitatif dan data kuantitatif yang disajikan dalam bentuk tabel, grafik maupun foto dokumentasi hasil pengamatan. Diagram alir disajikan pada gambar 3.2.1



Gambar 3.2.1 Diagram Alir Penelitian

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah timbangan, aluminium foil, tisu, labu Erlenmeyer, kapas, mikro pipet, pipet volum, tabung reaksi, petridish, penggaris, gelas benda, bunsen, pinset, gelas ukur, mikroskop, jarum ose, haemocytometer, kertas cawan, penggaris, botol *schott*, pisau, set *slide culture*, inkubator, lup, sedotan, *vacuum filtration*, kertas filter (Whatmann No.1), *optilab*.

Bahan yang digunakan adalah biji kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) yang didapatkan dari pasar Tanjung Jember (biji yang sudah mengalami penyimpanan), media PDA, kultur murni *T. viride* yang berasal dari stok Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Jember, Alkohol 70%, aquades steril, media PDB, *ethyl acetat* (EtOAc).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Isolasi *Aspergillus* spp.

Biji kacang tanah yang telah diambil dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil menggunakan pisau steril kemudian dikukus (dibungkus aluminium foil) dan dimasukkan ke dalam petri yang berisi media PDA steril. Inkubasi dilakukan dalam inkubator dengan suhu 29 °C selama 72 jam (Gajera *et al.*, 2011).

Isolat yang didapatkan kemudian dilakukan pemurnian dengan cara inokulasi pada media PDA *plate* dan diinkubasi pada suhu 29 °C selama 72 jam. Identifikasi *Aspergillus* spp. dilakukan dengan pengamatan makroskopis maupun mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati bentuk koloni, warna, garis radial serta titik-titik air yang terbentuk dalam petri. Sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan membuat slide kultur tiap isolat sehingga dapat diketahui bentuk konidianya. Isolat *Aspergillus* spp. yang didapat kemudian diremajakan secara berkala untuk uji selanjutnya.

3.4.2 Uji Antagonisme *T. viride* terhadap *Aspergillus* spp. Terpilih

Uji antagonisme *Trichoderma viride* terhadap *Aspergillus* spp. dilakukan dengan cara menyiapkan medium PDA steril dalam cawan petri kemudian kertas cawan (diameter ±4mm) masing-masing diletakkan di bagian pinggir cawan dengan arah yang berlawanan (Tondje *et.al.*, 2007). Kertas yang diletakkan di sebelah kanan sebelumnya direndam dalam suspensi spora *Trichoderma viride* ($\pm 10^8$ cfu/ml) dan kertas sebelah kiri direndam dengan suspensi spora *Aspergillus* spp. ($\pm 10^8$ cfu/ml). Kontrol dibuat dengan menginokulasikan kertas cawan yang direndam dengan supensi konidia *Aspergillus* spp. tanpa berdampingan dengan *Trichoderma viride*. Kemudian diinkubasi pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 5x24 jam (Umrah *et al.*, 2009) lalu diukur diameter *Aspergillus* spp. dengan rumus (Singh, *et al.*, 2002):

$$\left\{ \frac{A_k - A_t}{A_t} \right\} \times 100\%$$

Keterangan:

Ak: kontrol (*Aspergillus* spp. tanpa *Trichoderma viride*)

At: perlakuan (*Aspergillus* spp. berdampingan dengan *Trichoderma viride*)

Pengulangan dilakukan 3 kali dengan pengulangan penghitungan 5 kali tiap pengulangan.

3.4.3 Pengujian Antifungal Metabolit Sekunder *T. viride* terhadap *Aspergillus* spp. Terpilih

3.4.3.1 Pembuatan Kultur Cair dan Produksi Metabolit

Kultur murni *T. viride* pada medium PDA plate diambil sebanyak ± 7 mm luasan. Selanjutnya diinokulasikan pada 1 liter medium PDB steril dan diinkubasi dengan variasi waktu inkubasi selama 27, 30, dan 33 hari (setelah mencapai fase stasioner) pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Kemudian dilakukan filtrasi untuk mendapatkan filtrat kultur dengan cara disaring menggunakan *vacuum filtration* yang telah diberi kertas saring (Whatman No.1; Brentford, UK) (Vinale, *et al.*, 2006).

3.4.3.2 Isolasi Metabolit Sekunder dari Kultur Cair *T. viride*

Filtrat cair yang dihasilkan dari proses filtrasi sebelumnya kemudian dilakukan ekstraksi lebih lanjut dengan menggunakan *ethyl acetat* (EtOAc). Ekstraksi dilakukan dengan cara *basic extraction* menggunakan *ethyl acetat* (EtOAc) (*ethyl acetat*: filtrat kultur - 1:1). Fasa organik yang terbentuk merupakan metabolit sekunder kemudian dipisahkan untuk uji lebih lanjut (Vinale, *et al.*, 2014).

3.4.3.3 Pengujian Antifungal

Pengujian antifungal menurut metode yang dilakukan Vinale, *et. al* (2006), adalah menggunakan kertas cawan yang telah direndam dengan suspensi spora *Aspergillus* kemudian ditanam pada media PDA plate. Sebanyak 10 μL crude ekstrak (metabolit sekunder) ditetaskan pada masing-masing kertas cawan untuk selanjutnya dilakukan inkubasi selama 5-74 jam pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Sebagai

kontrol ditetaskan 10 μ L EtOAc pada kertas cawan dengan suspensi spora *Aspergillus*. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap diameter koloni yang terbentuk (Vinale, *et al.*, 2006). Pengulangan dilakukan 3 kali dengan pengulangan penghitungan 5 kali tiap pengulangan.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. *Trichoderma viride* mampu menghambat pertumbuhan *Asp1* dan *Asp2* yang merupakan isolat anggota Genus *Aspergillus* hasil isolasi dari biji kacang tanah (*Arachis hypogea* L.).
2. Hasil pengujian daya hambat *T. viride* menggunakan suspensi spora *T. viride* menunjukkan bahwa *T. viride* mampu menghambat pertumbuhan *Asp1* sebesar 1,17% dan 48,43% pada *Asp2* dengan waktu inkubasi 5x24 jam.
3. Hasil pengujian daya hambat menggunakan produk ekstraksi metabolit *T. viride* paling besar terdapat pada produk metabolit dari hasil inkubasi *T. viride* selama 33 hari, yaitu sebesar 11,98% terhadap *Asp1* dan 52,8% terhadap *Asp2* dengan waktu inkubasi 5x24 jam.
4. Daya hambat pertumbuhan oleh produk ekstrak metabolit *T. viride* lebih besar yakni mencapai 52,8%, jika dibandingkan dengan pengujian langsung menggunakan suspensi spora dari *T. viride* yang hanya mencapai 48,43%.

5.2 Saran

Kapang merupakan mikroorganisme yang berpotensi besar dalam agen pengendali hayati. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang potensi kapang sebagai pengendali fitopatogen terutama pada *T. viride*. Selain itu, perlu dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang dihasilkan *T. viride* sehingga dapat dijadikan acuan dalam pemanfaatan *T. viride* dimasa akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahri, S. 2001. *Mewaspadaai Cemaran Mikotoksin pada Pakan dan Produk Peternakan di Indonesia*. Balai Penelitian Veteriner. 15 hlm.
- Barnes, P. D., dan Marr, K. A. 2006. *Aspergillosis: Spectrum of Disease, Diagnosis, and Treatment*. Journal of Infection Disease Clinics of North America. Vo. 20.
- Benkeblia, N., dan Lanzotti, V. 2007. *Allium Thiosulfinates: Chemistry, Biological Properties and their Potential Utilization in Food Preservation*. Food 1(2). 193-201. Global Science Books.
- Blaszczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., Jedryczka, M. 2014. *Trichoderma spp. – application and prospect for use in organic farming and industry*. Journal of Plant Protection Research. Vol 54, No. 4.
- Bouziane. Z., Dehimat. L., Abdel. A. W., Benabdelkader. M., Kacem. C. N. 2011. *The Antagonism between Trichoderma viride and Other Pathogenic Fungal Strains in Zea Mays*. Agriculture and Biology Journal of North America.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York. Columbia University Press.
- Darmono, T. W. 1994. *Kemampuan Beberapa Isolat Trichoderma sp. dalam Menekan Inokulum Phytophthora sp. dalam Jaringan Buah Kakao*. Menara Perkebunan. Vol. 65. No. 1 : 34-42
- Departemen Kesehatan RI. 1996. *Pedoman Praktis Pemantauan Gizi Orang Dewasa*. Jakarta: Depkes.
- Diba, K., Koldbacheh, P., Mirhendi, S.H., Rezaire, S., and Mahmoudi, M. 2007. *Identification of Aspergillus Species Using Morphological Characters*. Pak. J. Med. Sci., 23: 867-872.
- Djarmiko, H. A. dan Rohadi, S. S. 1997. *Efektifitas Trichoderma harzianum Hasil Perbanyakan dalam Sekam Padi dan Bekatul Terhadap Patogenitas Plasmodiophora brassicae pada Tanah Latosol dan Andosol*. Majalah Ilmiah UNSOED, Purwokerto. Vol. 2. No. 23. Hlm 10-22.
- Gajera, H., Rakholia, K., Vakharia, D. 2011. *Bioefficacy of Trichoderma Isolats Against Aspergillus niger van Tieghem Inciting Collar Rot In Groundnut*. Journal of Plant Protection Research Vol. 51, No. 3. 4 hlm.

- Gautam, A. K., Sharma, S., Avasthi, S., dan Bhadauria, R. 2011. *Diversity, Pathogenity and Toxicologi of A. niger; An Important Spoilage Fungi*. Research Journal of Microbiology. 6 (3): 270-280.
- Gultom, J. M. 2008. *Pengaruh Pemberian Beberapa Jamur Antagonis dengan Berbagai Tingkat Konsentrasi Untuk Menekan Perkembangan Jamur Phytium sp. Penyebab Rebah Kecambah pada Tanaman Tembakau (Nicotiana tabaccum Linn.)*. USU.
- Handayani, F, D,. 2008. *Biologi Carphophilus hemipterus Linn. (Coleoptera: Nitidulidae) pada Kacang Tanah (Arachis Hypogea Linn.)*
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma species – Opportunistic, Avirulent Plant Symbionts*. Nat. Rev Microbiol 2, 43-56.
- Hastuti, U. S. 2010. *Pencemaran Bahan Makanan dan Makanan Hasil Olahan Oleh Berbagai Spesies Kapang Kontaminan Serta Dampaknya Bagi Kesehatan*. Universitas Malang.
- Indrayoga, P. M., Sudarma, I. M., Puspawati, N. M. 2013. *Identifikasi Jenis dan Populasi Jamur Tanah pada Habitat Tanaman Kubis (Brassica oleracea Linn.) Sehat dan Sakit Akar Gada pada Sentra Produksi Kubis di Kecamatan Baturiti Tabanan*. E-jurnal Agroekoteknologi Tropika. Vol. 2, No. 3. Hlm: 1-11.
- Ismail dan Teriwawe. *Tanpa tahun. Potensi Agens Hayati Trichoderma spp. Sebagai Agens Pengendali Hayati*. Seminar Regional Inovasi Teknologi Pertanian mendukung Program Pembangunan Pertanian Propinsi Sulawesi Utara,
- Kasno, A. 2003. *Varietas Kacang Tanah Tahan Aspergillus flavus Sebagai Komponen Esensial dalam Pencegahan Kontaminasi Aflatoksin*. Orasi Pengukuhan Profesor Riset. Departemen Pertanian. 61p.
- Kasno, A. 2009. *Pencegahan Infeksi Aspergillus flavus dan Kontaminasi Aflatoksin pada Kacang Tanah*. Jurnal IPTEK Tanman Pangan. Vol. 4 No. 2.
- Leroy, F., Vust. D. L.. 2003. *Latic Acid Bacteria as Fuctional Strater Culture for Food Fermentation Industry*. Trends in Food science and Technology. Vol. 15. Issue 2.
- Lilik, R., Wibowo, B. S., Irwan, C. 2010. *Pemanfaatan Agens Antagonis dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Pangan dan Holtikultura*. Universitas Sumatera Utara.

- Machmud, M. 1989. *Groundnut Aflatoxin Problems in Indonesia*. P. 215 – 222. In D. Mc. Donald. and V.K. Mehan (Eds). *Aflatoxin Contamination of Groundnut*. ICISAT, India.
- Maryam, R. 2006. *Pengendalian Terpadu Kontaminasi Mikotoksin*. Balai Penelitian Veteriner: Bogor. WARTAZOA Vol. 16 No. 1 T. 2006. hlm. 21
- Mishra, B. K., Mishra, R. K., Mishra, R. C., Tiwart, A. K., Yadav, R. S., and Dikshit, A. 2011. *Biocontrol Efficiency of Trichoderma viride Isolats Against Fungal Plant Pathogens Causing bDisease in Vigna radiate L.* *Archives of Applied Science Researches*. Scholar Research Library. 363.
- Montealegre, J.R., Herrera, R., Velasquez, J.C., Silva, P., Besoain, X., and Perez, L.M. 2005. *Biocontrol of Root and Crown Rot in Tomatoes Under Greenhouse Conditions using Trichoderma harzianum and Paenibacillus lentimorbus*. Additional effect of solarization. *Electronic Biotech*. 8: 249-257.
- Neemproduct. 2010. :www.neemproducts.com/trichoderma.html. diakses tanggal 25 Maret 2015.
- Nurhayati, H. 2001. *Pengaruh Pemberian Trichoderma sp .dan Mulsa Terhadap Persentase Serangan Penyakit Antraknosa pada Buah Tanaman Cabai Merah Besar (Capsicum annum Linn.)*. Skripsi Fakultas Pertanian UNTAD. Palu.
- Paramawati, R., Arief, R. W., Triwahyudi, S. 2006. *Upaya Menurunkan Kontaminasi Aflatoksin B1 Pada Kacang Tanah Dengan Teknologi Pasca Panen (Studi Kasus di Lampung)*. *Jurnal Enjiniring Pertanian*. 4:1.
- Pitt, J. I. dan A.D. Hocking. 1997. *Fungi and Spoilage*. Blackie Academic and Professional. London.
- Pratita, N. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Kapang Mikotoksin pada Biji Kacang Tanah yang Dijual di Pasar Tradisional Pulo Brayon Medan*. Skripsi Fakultas Pertanian. Universitas Medan.
- Purwani, E., Retnaningtyas, E., Widowati, D. Tanpa tahun. *Pengembangan Model Pengawetan Alami dari Ekstrak Lengkuas (Languas galanga), Kunyit (Curcuma domestica) dan Jahe (Zingiber officinale) Sebagai Pengganti Formalin Pada Daging Segar*. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS.

- Rahayu, E. S. 2010. *Mengantisipasi Bahaya Mikotoksin*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada.
- Rahayu, W.P., (2006), *Mikotoksin dan Mikotoksis : Mikrobiologi Keamanan Pangan*. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. IPB. Bogor.
- Reino, J.L., Guetrero, R.F., Hernandez-Gallan, R., Collado, I.G.. 2008. *Secondary Metabolites from Species of The Biocontrol Agent Trichoderma*. *Phytochem Rev.* 7: 89-123.
- Rodriguez, P., Soares, C., Kozakiewicz, Z., Paterson, R.R.M., Lima, N., and Venancio, A. 2007. *Identification and Characterization of Aspergillus flavus and Aflatoxins*. *Communicating Rurrent Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. A. Mendez-Vilas ed.: 527-528.
- Samsons, R.A. dan Hoekstra, J.C. 1995. *Introduction to Food-borne Fungi. Fourth Edition*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft; ISBN: 90-70351-27-7; 60-61; 64-65.
- Satish, S., Mohana, D. C., Raghavendra., Raveesha, K. A. 2007. *Antifungal Activity of Some Plant Extracts Against Important Seed Borne Pathogens of Aspergillus sp.*. *Journal of Agricultural Technology*.
- Scarselleti. R., Faull. J. L. 1994. *In Vitro activity of 6PP, a metabolite of Trichoderma harzianum, in the Inhibition of Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici*. *Mycol Res* 1994; 98; 1207-09.
- Schimmelpilze. 2011. www.schimmel-schimmelpilze.de/aspergillus-parasiticus.html. diakses tanggal 25 Maret 2015.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, E., Frisvad, J., and Dijck, P, v. 2002. *On The Safety of Aspergillus niger*. A review. *Applied Microbiol. Biotech.* 59: 426-435.
- Semangun, H. 1996. *Penyakit – Penyakit Tanaman Holtikultura di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Singh, R., Singh, B. K., Upadhyay, R. S., Rai, B., dan Su Lee, Y. 2002. *Biological Control of Fusarium wilt Disease of Pigeonpea*. *Journal of Plant Pathol.* Vol. 18. No. 5: 279-283.
- Strakowska, J., Blaszczyk, L., Chefkowski, J., 20014. *The Significance of Cellulolytic Enzymes Produce by Trichoderma in Opportunistic Lifestyle of This Fungus*. *Journal of Basic Microbiology.* 54 (Suppl. 1): S2-13.

- Suganthi, U., Suresh, K. P, and Parvatham, R. 2011. *Effect of Aflatoxin on Feed Conversion Ratio in Broilers: A Metaanalysis*. Journal of Animal Science. Vol. 24. No. 12 : 1757-1762.
- Takahiro, I., Nonaka, K., Suga, T., Masuma, R., Omura, S., Shiomi, K. 2013. *Cytosporone S with Antimicrobial Activity, Isolated from the Fungus Trichoderma sp. FKI-6626*. Bioorg Med Chem Lett 23;679-81.
- Talanca, A. H., Sumartiningsih, dan Wakman, W. 1998. *Daya Hambat Jamur Trichoderma spp. pada Beberapa Jenis Jamur Patogen*. Risalah Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan XI PEI, PFI, dan HPTI Sul-Sel, Maros 5 Desember 1998 Hlm 317-322.
- Tandion, H. 2008. *Pengaruh Jamur Antagonis Trichoderma harzianum dan Pupuk Organik Untuk Mengendalikan Patogen Tular Tanah Sclerotium roflsii Sacc. pada Tanaman Kedelai (Glycine max Linn.) di Rumah Kasa*.
- Umrah. Anggraeni, T. Esyanti, R. R., Nyoman, I., Aryantha. 2009. *Antagonis dan Efektivitas Trichoderma sp. Dalam Menekan Perkembangan Phytophthora palmivora pada Buah Kakao*. Jurnal Agroland. Vol. 16. No. 1 : 9-16 Maret 2009.
- Vinale, F., Manganiello. G., Nigro. M., Mazzei. P., Piccolo. A., Pascale. A., Ruocco. M., Maraa. R., Lombardi. N., Lanzuise. S., Varlese. R., Cavallo. P., Lorito. M., Woo. L. S. 2014. *A Novel Metabolite with Beneficial Properties for Agricultural Applications*. Molecules Article.
- Vinale. F., Marra. R., Scala. F., Ghisalberti. E. L., Lorito. M., Sivasithamparam. K. 2006. *Major Secondary Metabolites Produce by Two Commercial Trichoderma Strains Active Against Different Phytopathogens*. Letter in Applied Microbiology.
- Wangge, A., Suprpta, D. N., Wirya, G. N. A. S. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Penghasil Mikotoksin pada Biji Kakao Kering yang Dihasilkan di Flores*. Jurnal Agriculture Science and Biotechnology. Vol 1. No. 1. Hlm 1-9.
- Yamato, T., Hemmi, S., Yamamoto, I., Tsubaki, K. 1970. *Inventor; Trichoviridin, a New Antibiotic*. JP Patent 45015435.

LAMPIRAN

A. KOMPOSISI MEDIA POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)

Bahan	Jumlah
Aquadest	1000 ml
Kentang	200 gr
Dextrose	10 gr
Agar	15 gr

B. KOMPOSISI MEDIA POTATO DEXTROSE BROTH (PDB)

Bahan	Jumlah
Aquadest	1000 ml
Kentang	200 gr
Dextrose	10 gr

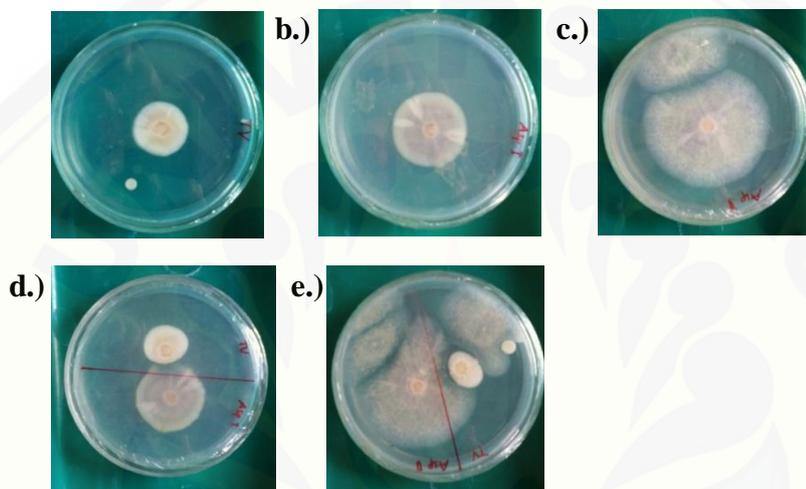
C. HASIL PENGAMATAN MORFOLOGI MAKROSKOPIS DAN
MIKROSKOPIS ISOLAT HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH

Isolat	Ciri Morfologi
<p>Isolat 1</p>  <p>The image shows a petri dish with a dark, circular colony on the left and a micrograph on the right showing large, dark, spherical conidia on long, thin hyphae.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Warna permukaan koloni Hitam ▪ Konidia besar ▪ Warna permukaan bawah koloni putih kekuningan ▪ Hifa terlihat tinggi tegak ▪ Bentuk konidia bulat
<p>Isolat 2</p>  <p>The image shows a petri dish with a light-colored, circular colony on the left and a micrograph on the right showing a dark, spherical conidium with vesicles on a long, thin hypha.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Warna permukaan koloni hijau terang ▪ Warna permukaan bawah koloni putih kekuningan ▪ Miselium pinggiran koloni berwarna putih ▪ Konidia dengan vesikel membulat
<p>Isolat 3</p>  <p>The image shows a petri dish with a dark, circular colony on the left and a micrograph on the right showing a branched, regular conidiophore with terminal clusters of conidia.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Warna permukaan koloni hijau tua • Warna permukaan bawah koloni hijau keputihan • Memiliki garis radial • Konidiofor bercabang-cabang teratur • Konidium jorong, bersel satu, berada dalam kelompok-kelompok terminal
<p>Isolat 4</p>  <p>The image shows a petri dish with a light-colored, circular colony on the left and a micrograph on the right showing branched, septate hyphae with terminal clusters of conidia.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Warna permukaan koloni putih • Warna permukaan bawah koloni putih kekuningan • Hifa berseptata • Konidia bercabang

D. HASIL PENGUJIAN DAYA HAMBAT *T. VIRIDE* TERHADAP *Asp1* DAN *Asp2* HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH

Isolat	Daya Hambat (%)
<i>Asp1</i>	1,17
<i>Asp2</i>	48,43

E. HASIL PENGUJIAN DAYA HAMBAT *T. VIRIDE* TERHADAP *Asp1* DAN *Asp2* HASIL ISOLASI DARI BIJI KACANG TANAH

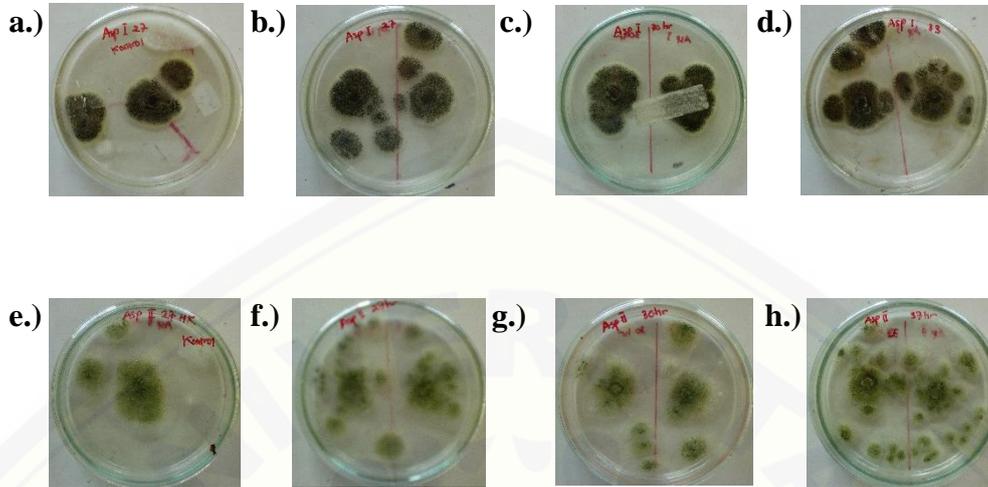


Keterangan: a.) Koloni *T. viride* (kontrol); b.) koloni *Asp.1* (kontrol); c.) koloni *Asp2* (kontrol); d.) koloni *T.viride* dan *Asp2* yang ditumbuhkan secara berdampingan; e.) koloni *T. viride* dan *Asp.2* yang ditumbuhkan secara berdampingan

F. HASIL PENGUJIAN ANTIFUNGAL METABOLIT SEKUNDER *T. VIRIDE* TERHADAP *Asp1* DAN *Asp2*

Isolat	Persentase Daya Antifungal Ekstrak Metabolit Sekunder <i>T. Viride</i>		
	27 hari	30 hari	33 hari
<i>Asp1</i>	10,80	8,30	11,98
<i>Asp2</i>	33,97	47,17	52,80

G. HASIL PENGUJIAN ANTIFUNGAL METABOLIT SEKUNDER *T. VIRIDE* TERHADAP *Asp1* DAN *Asp2*



Keterangan: a.) koloni *Asp1* dengan EtOAc (kontrol); b.) koloni *Asp1* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 27 hari; c.) koloni *Asp1* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 30 hari; d.) koloni *Asp1* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 33 hari; e.) koloni *Asp2* dengan EtOAc (kontrol); f.) koloni *Asp2* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 27 hari; g.) koloni *Asp2* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 30 hari; h.) koloni *Asp2* dengan ekstrak metabolit sekunder *T. viride* yang telah diinkubasi selama 33 hari