

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN PENGARUH METABOLIT
SEKUNDER *Trichoderma* sp. ISOLAT HAJIMENA TERHADAP
PENYAKIT BULAI PADA TANAMAN JAGUNG MANIS**

(Skripsi)

Oleh

**Agista Wanda Aulia
1714121028**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN PENGARUH METABOLIT SEKUNDER *Trichoderma* sp. ISOLAT HAJIMENA TERHADAP PENYAKIT BULAI PADA TANAMAN JAGUNG MANIS

Oleh

AGISTA WANDA AULIA

Jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt L.) merupakan salah satu jenis jagung yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Penyakit yang sering terjadi pada tanaman jagung adalah bulai (*downy mildew*) yang disebabkan oleh patogen *Peronosclerospora* spp. dan dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 100%. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara molekuler dan mengetahui pengaruh metabolit sekunder *Trichoderma* sp. isolat Hajimena terhadap penyakit bulai. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dan Kecamatan Tanjung Senang dari bulan Agustus 2021 hingga Januari 2022. Penelitian ini dilaksanakan dengan melakukan uji molekuler pada *Trichoderma* sp. isolat Hajimena dan menguji beberapa konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* yaitu 0; 25; 50; 75; dan 100% pada tanaman jagung manis. Perlakuan disusun menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 5 ulangan. Benih jagung manis direndam ke dalam metabolit sekunder *Trichoderma* dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian ditanam pada polybag berisi campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1. Setelah 8 hst (hari setelah tanam), dilakukan inokulasi penyakit bulai (*Peronosclerospora* spp.) pada tanaman jagung. Tanaman diamati untuk mengetahui masa inkubasi, keterjadian, dan keparahan penyakit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji molekuler pada *Trichoderma* sp. isolat Hajimena merupakan *Trichoderma asperellum* dan konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* berpengaruh tidak nyata terhadap perkembangan penyakit bulai.

Kata kunci: bulai, metabolit sekunder, *Trichoderma* sp., *Trichoderma asperellum*, *Peronosclerospora* spp.

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN PENGARUH METABOLIT
SEKUNDER *Trichoderma* sp. ISOLAT HAJIMENA TERHADAP
PENYAKIT BULAI PADA TANAMAN JAGUNG MANIS**

Oleh

AGISTA WANDA AULIA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar

SARJANA PERTANIAN

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

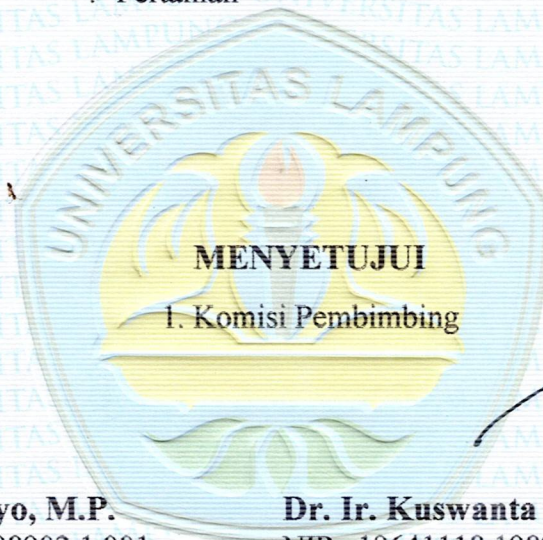
Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN PENGARUH METABOLIT SEKUNDER *Trichoderma* sp. ISOLAT HAJIMENA TERHADAP PENYAKIT BULAI PADA TANAMAN JAGUNG MANIS**

Nama Mahasiswa : **Agista Wanda Aulia**

No. Pokok Mahasiswa : 1714121028

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian



Ir. Joko Prasetyo, M.P.
NIP 19590214 198902 1 001

Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP 19641118 198902 1 002


2. Ketua Jurusan Agroteknologi

Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 19630508 198811 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Ir. Joko Prasetyo, M.P.**



Sekretaris : **Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.**



Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **27 Juni 2022**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp. Isolat Hajimena Terhadap Penyakit Bulai pada Tanaman Jagung Manis**" merupakan hasil karya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Agustus 2022
Yang menyatakan,



Agista Wanda Aulia
NPM 1714121028

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Iwan Slamet Widodo dan Ibu Evi Ronida. Penulis dilahirkan di Bandar Lampung, 28 Februari 2000. Penulis menyelesaikan pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) Al-azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2005, Sekolah Dasar (SD) Al-azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 29 Bandar Lampung pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 13 Bandar Lampung pada tahun 2017.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa di Program Studi Agroteknologi pada tahun 2017 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif dalam organisasi Perma AGT sebagai Anggota Bidang Kaderisasi pada tahun 2018. Selain itu, penulis pernah menjadi asisten dosen Genetika Pertanian pada tahun 2020.

Penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Beringin Raya, Kecamatan Kemiling, Bandar Lampung pada bulan Januari-Maret 2021. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Pertanian Lampung (BPP Lampung) di Hajimena, Natar, Lampung Timur pada bulan Juli-Agustus 2020.

MOTTO

*“Tidak masalah seberapa lambat.kau berjalan
asalkan kau tidak berhenti”*

(Penulis)

*“Ada cita-cita yang harus dikejar
Ada sukses yang harus dicari
Ada kebahagiaan yang harus diciptakan
Ada orang tua yang harus dibahagiakan.”*

(Anonim)

*“Apabila sesuatu yang kau senangi tidak terjadi,
Maka senangilah apa yang terjadi.”*

(Ali bin Abi Thalib)

*“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada
kemudahan”*

(QS. Al-Insyirah: 5-6)

SANWACANA

Bismillahirrahmanirrahim.

Alhamdulillah rabbil'alamin, segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp. Isolat Hajimena Terhadap Penyakit Bulai pada Tanaman Jagung Manis". Skripsi ini merupakan syarat bagi penulis untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian dari Universitas Lampung..

Skripsi ini dapat terselesaikan tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung
3. Dr. Ir. Yuyun Fitriana, M.P., selaku Ketua Bidang Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
4. Ir. Joko Prasetyo, M.P., selaku Dosen Pembimbing Pertama atas bimbingan, bantuan, nasihat, motivasi, dan saran yang telah diberikan hingga penulisan skripsi ini terselesaikan.
5. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dosen Pembimbing Kedua atas bimbingan, bantuan, nasihat, motivasi, dan saran yang telah diberikan hingga penulisan skripsi ini terselesaikan.

6. Dr. Tri Maryono, S. P., M.Si., selaku Dosen Pembahas atas bimbingan, bantuan, nasihat, motivasi, dan saran yang telah diberikan hingga penulisan skripsi ini terselesaikan.
7. Keluarga tersayang; kedua orangtua Bapak Iwan Slamet Widodo dan Ibu Evi Ronida serta adik tercinta Ghias Akbar Nugeraha. Terimakasih atas doa, bantuan, dukungan, dan motivasi yang selalu mengiringi perjuangan penulis selama ini.
8. Teman-teman grup “yang penting wisuda” Nur Baitullah Juniar, Riski Mardiana, Yosephine Indah, Fika Wulandini, Ega Utari, dan Aydila Andhaya yang selalu membantu dan mendampingi penulis selama menjadi mahasiswa Universitas Lampung.
9. Teman-teman tercinta, Arvi Yuniar Kusuma dan Kasfi Kurniawan yang selalu menjadi pendengar yang baik dan memberikan dukungan kepada penulis.
10. Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, terima kasih atas dukungan untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar.

Bandar Lampung, Agustus 2022

Penulis,

Agista Wanda Aulia

NPM. 1714121028

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Jagung (<i>Zea mays saccharata</i> Sturt L.)	5
2.2 Metabolit Sekunder <i>Trichoderma</i> sp.	6
2.3 Identifikasi Molekuler.....	7
a. Isolasi DNA.....	7
b. Amplifikasi DNA (PCR).....	8
c. Elektroforesis	8
d. Sekuensing DNA	9
2.4 Penyakit Bulai Jagung (<i>Peronosclerospora</i> spp.).....	9
III. BAHAN DAN METODE	11
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Rancangan Percobaan dan Analisis Data.....	12
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.4.1 Persiapan Isolat <i>Trichoderma</i> sp.	12

3.4.2 Identifikasi <i>Trichoderma</i> sp. Isolat Hajimena Secara Molekuler	12
3.4.3 Persiapan Media Tanam.....	14
3.4.4 Ekstraksi dan Aplikasi Metabolit Sekunder <i>Trichoderma</i> sp.....	15
3.4.5 Penyiapan Suspensi dan Inokulasi Spora <i>Peronosclerospora</i> spp.	15
3.4.6 Pengamatan dan Pengumpulan Data.....	16
3.4.6.1 Masa Inkubasi.....	16
3.4.6.2 Keterjadian Penyakit	16
3.4.6.3 Keparahan Penyakit.....	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Hasil Penelitian	18
4.1.1 Identifikasi Molekuler <i>Trichoderma</i> sp.....	18
4.1.2 Masa Inkubasi	19
4.1.3 Keterjadian Penyakit	20
4.1.4 Keparahan Penyakit.....	21
4.2 Pembahasan.....	22
IV. SIMPULAN DAN SARAN	25
5.1 Simpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Primer yang digunakan dalam penelitian.....	14
2. Kategori penyakit dalam pengamatan.....	17
3. Pengaruh metabolit sekunder <i>Trichoderma asperellum</i> isolat Hajimena terhadap selang waktu kemunculan gejala awal penyakit bulai setelah inokulasi.....	20
4. Pengaruh metabolit sekunder <i>Trichoderma asperellum</i> isolat Hajimena terhadap keterjadian penyakit bulai	20
5. Pengaruh metabolit sekunder <i>Trichoderma asperellum</i> isolat Hajimena terhadap keparahan penyakit bulai.....	21
6. Data hasil pengamatan masa inkubasi	32
7. Uji homogenitas ragam variabel masa inkubasi.....	32
8. Uji aditifitas ragam variabel masa inkubasi.....	32
9. Analisis ragam masa inkubasi penyakit	33
10. Data hasil pengamatan keterjadian 8 HSI	33
11. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 9 HSI	34
12. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 8 HSI.....	34
13. Analisis ragam keterjadian penyakit 8 HSI.....	35
14. Data hasil pengamatan keterjadian 11 HSI	35
15. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 11 HSI	35

16. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 11 HSI.....	36
17. Analisis ragam keterjadian penyakit 11 HSI.....	36
18. Data hasil pengamatan keterjadian 14 HSI.....	37
19. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 11 HSI	37
20. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 14 HSI.....	37
21. Analisis ragam keterjadian penyakit 14 HSI.....	38
22. Data hasil pengamatan keterjadian 17 HSI	38
23. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 17 HSI	39
24. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 17 HSI.....	39
25. Analisis ragam keterjadian penyakit 17 HSI.....	40
26. Data hasil pengamatan keterjadian 20 HSI	40
27. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 20 HSI	40
28. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 20 HSI.....	41
29. Analisis ragam keterjadian penyakit 20 HSI.....	41
30. Data hasil pengamatan keterjadian 23 HSI	42
31. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 23 HSI	42
32. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 23 HSI.....	42
33. Analisis ragam keterjadian penyakit 23 HSI.....	43
34. Data hasil pengamatan keterjadian 26 HSI	43
35. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 26 HSI	44
36. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 26 HSI.....	44

37. Analisis ragam keterjadian penyakit 26 HSI.....	45
38. Data hasil pengamatan keterjadian 29 HSI	45
39. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 29 HSI	45
40. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 29 HSI.....	46
41. Analisis ragam keterjadian penyakit 29 HSI.....	46
42. Data hasil pengamatan keterjadian 8 HSI	47
43. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 8 HSI	47
44. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 8 HSI.....	47
45. Analisis ragam keterjadian penyakit 8 HSI.....	48
46. Data hasil pengamatan keterjadian 11 HSI	48
47. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 11 HSI	49
48. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 11 HSI.....	49
49. Analisis ragam keterjadian penyakit 11 HSI.....	50
50. Data hasil pengamatan keterjadian 14 HSI	50
51. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 14 HSI	50
52. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 14 HSI.....	51
53. Analisis ragam keterjadian penyakit 14 HSI.....	51
54. Data hasil pengamatan keterjadian 17 HSI	52
55. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 17 HSI	52
56. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 17 HSI.....	52
57. Analisis ragam keterjadian penyakit 17 HSI.....	53

58. Data hasil pengamatan keterjadian 20 HSI	53
59. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 20 HSI	54
60. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 20 HSI.....	54
61. Analisis ragam keterjadian penyakit 20 HSI.....	55
62. Data hasil pengamatan keterjadian 23 HSI	55
63. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 23 HSI	55
64. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 23 HSI.....	56
65. Analisis ragam keterjadian penyakit 23 HSI.....	56
66. Data hasil pengamatan keterjadian 26 HSI	57
67. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 26 HSI	57
68. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 26 HSI.....	57
69. Analisis ragam keterjadian penyakit 26 HSI.....	58
70. Data hasil pengamatan keterjadian 29 HSI	58
71. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 29 HSI	59
72. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 29 HSI.....	59
73. Analisis ragam keterjadian penyakit 29 HSI.....	60
74. Data hasil pengamatan keterjadian 32 HSI	60
75. Uji homogenitas ragam variabel keterjadian penyakit 32 HSI	60
76. Uji aditifitas variabel keterjadian penyakit 32 HSI.....	61
77. Analisis ragam keterjadian penyakit 32 HSI.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skor keparahan penyakit bulai	17
2. <i>Trichoderma</i> sp. isolat Hajimena ; a: Pengamatan secara makroskopis; b: Pengamatan secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x Pohon filogeni <i>Trichoderma</i> sp. isolat Hajimena berdasarkan NCBI.....	18
3. Pohon filogeni <i>Trichoderma</i> sp. isolat Hajimena menggunakan primer ITS1 dan ITS4 dengan metode <i>neighbor joining tree</i>	19
4. Persiapan tanah; a: penimbangan tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1; b: pencampuran tanah dan pupuk kandang; c: pengukusan tanah	62
5. Perendaman benih jagung dalam larutan metabolit sekunder <i>Trichoderma asperellum</i> isolat Hajimena; a: konsentrasi metabolit sekunder 0 % (kontrol); b: konsentrasi metabolit sekunder 25 %; c: konsentrasi metabolit sekunder 50 %; d: konsentrasi metabolit sekunder 75 %; e: konsentrasi metabolit sekunder 100 %	62
6. Inokulasi penyakit; a: pemanenan spora <i>Peronosclerospora</i> spp. pada tanaman bergejala; b: inokulasi penyakit bulai pada tanaman.	62
7. Proses elektroforesis dalam uji molekuler.	63
8. Proses inkubasi dalam pembuatan metabolit sekunder	63
9. Metabolit sekunder <i>Trichoderma asperellum</i> isolat Hajimena	63
10. Tanaman bergejala bulai	64
11. Tanaman Percobaan	64

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt L.) merupakan salah satu sumber karbohidrat setelah beras dan sumber protein yang penting dalam kebutuhan masyarakat Indonesia. Selain itu, jagung manis lebih digemari karena memiliki rasa yang lebih manis. Jagung manis varietas lokal memiliki kadar gula hingga 9–11% dan pada varietas *Hybrid Super Sweet Corn* memiliki kadar gula 16–18% (Siswono, 2004 dalam Mariani *et al.*, 2019). Iskandar (2003) melaporkan bahwa kandungan gizi pada jagung manis berupa energi 96 kal, protein 3,5 g, lemak 1,0 g, karbohidrat 22,8 g, kalsium 3,09 mg, fosfor 111 mg, besi 0,7 mg, vitamin A 400 SI, vitamin B 0,15 mg, vitamin C 12,0 mg, dan air 72,7 g.

Produksi jagung di Indonesia pada tahun 2018 mencapai 30,1 juta ton, mengalami peningkatan dibandingkan hasil produksi pada tahun 2017 yang sebesar 28,9 juta ton (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2019). Namun menurut data Badan Pusat Statistik (2019), pada tahun yang sama terjadi peningkatan impor jagung manis sebesar 42,26% menjadi 737,2 ribu ton dari 517,5 ribu ton pada 2017. Data tersebut menunjukkan bahwa produksi jagung manis belum dapat mencukupi kebutuhan konsumsi masyarakat Indonesia. Oleh karena itu perlu adanya upaya untuk meningkatkan dan mempertahankan produksi jagung manis nasional agar dapat memenuhi kebutuhan masyarakat.

Produksi tanaman jagung dapat berubah-ubah, salah satu faktornya yaitu serangan patogen pada tanaman jagung. Serangan patogen pada tanaman jagung dapat mempengaruhi keberhasilan budidaya serta kualitas dan kuantitas produk. Penyakit yang biasanya terjadi pada tanaman jagung yaitu bulai atau *downy*

mildew. Penyakit ini disebabkan oleh patogen *Peronosclerospora* spp. yang menyerang hampir setiap musim terutama yang ditanam di luar musim tanam atau terlambat tanam (Sudana *et al.*, 2002). Patogen ini cukup berbahaya karena dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 100% seperti yang pernah terjadi di Lampung pada tahun 1996 (Subandi *et al.*, 1996).

Pengendalian yang dilakukan selama ini yaitu dengan menggunakan varietas tahan dan menggunakan fungisida berbahan aktif metalaksil. Namun, patogen bulai dilaporkan telah resisten terhadap metalaksil (Burhanuddin, 2009). Anugrah dan Widiyantini (2018) menyatakan bahwa pengendalian menggunakan metalaksil dapat meningkatkan resiko terjadinya resistensi. Oleh karena itu, perlu dicarikan alternatif pengendalian yang lain. Salah satu alternatif pengendalian yang perlu diuji adalah dengan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap infeksi penyebab bulai. Metabolit sekunder *Trichoderma* sp. dilaporkan memiliki kemampuan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Elad *et al.*, 2001; Harni *et al.*, 2017). Peningkatan ketahanan perlu sejak dini dilakukan karena masa kritis tanaman jagung terhadap penyebab bulai terbilang dini yaitu 0–14 hst.

Berbagai spesies *Trichoderma* sp. dilaporkan memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mengendalikan infeksi patogen (Harni *et al.*, 2017; Akter *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi terlebih dahulu baik secara morfologi maupun molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendapatkan hasil identifikasi yang akurat hingga tingkat spesies.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara molekuler dan mengetahui pengaruh metabolit sekunder *Trichoderma* sp. isolat Hajimena terhadap penyakit bulai.

1.3 Kerangka Pemikiran

Salah satu penyakit yang sering terjadi pada tanaman jagung manis adalah bulai atau *downy mildew*. Penyakit bulai pada tanaman jagung disebabkan oleh *Peronosclerospora* spp. yang menyerang pada bagian daun. Penyakit ini berkembang pesat pada daerah dengan tingkat kelembapan tinggi dan suhu udara 27 °C. Fase vegetatif (umur tanaman 0–14 hst) merupakan masa kritis tanaman jagung terhadap infeksi penyebab penyakit bulai (Prihatman, 2000). Menurut Dewi dan Paeru (2017), penyakit bulai dapat menyebabkan kehilangan hasil mencapai 90%. Oleh karena itu, usaha pengendalian penyakit harus dilakukan sedini mungkin, misalnya dengan perlakuan benih.

Metabolit sekunder pada *Trichoderma* dilaporkan berpotensi sebagai pelindung tanaman dari serangan patogen karena mengandung enzim, toksin, hormon, dan antibiotik (Adriansyah *et al.*, 2015). Metabolit sekunder merupakan senyawa hasil biosintesis turunan dari metabolit primer yang terbentuk saat dalam kondisi cekaman atau stres yang berfungsi sebagai pertahanan diri dari lingkungan maupun serangan organisme lain (Nofiani, 2008). Walaupun demikian, metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan organisme karena terbentuk diakhir pertumbuhan berupa sisa metabolisme (Soesanto, 2015). Metabolit sekunder dapat berperan sebagai pemicu sistem ketahanan tanaman terhadap tekanan biotik dan abiotik (Harman *et al.*, 2004). Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder *Trichoderma* sp. dilaporkan mengandung 6-pentyl- α -pyrone (6PP) yang dapat memicu ketahanan tanaman dengan meningkatkan produksi enzim seperti peroksidase, polifenol, oksidase, dan β -1,3-glukanase pada jaringan tunas dan akar. Peningkatan produksi enzim tersebut dapat meningkatkan respon ketahanan tanaman (Vinale *et al.*, 2014).

Metabolit sekunder dapat berperan sebagai elisitor yang berfungsi dalam ketahanan terhadap serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) (Soesanto, 2008). Elisitasi merupakan suatu cara untuk merangsang pembentukan metabolit sekunder pada sel tanaman dengan memberikan elisitor (Byun *et al.*, 1992).

Elisitor yang digunakan dapat berupa elisitor biotik (polisakarida, protein, glikoprotein atau fragmen-fragmen dinding sel yang berasal dari fungi, bakteri, dan tanaman) maupun abiotik. Elisitor merupakan molekul sinyal yang dapat memacu terbentuknya metabolit sekunder dalam sel tanaman dengan mengaktifkan jalur sekunder dalam merespon stres. Tanaman akan memproduksi metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai pertahanan diri dari serangan patogen (Sharma *et al.*, 2011).

Sebelum digunakan perlu dilakukannya identifikasi karena *Trichoderma* memiliki sifat genetik yang berbeda-beda dan menyebabkan kemampuan metabolit sekunder yang dihasilkan dalam mengendalikan patogen juga berbeda (Ekowati *et al.*, 2009). Metabolit sekunder *T. amazonicum* dan *T. virens* dapat menekan intensitas penyakit VSD (*Vascular Streak Dieback*) pada bibit kakao (Harni *et al.*, 2017), *T. harzianum* dapat menekan perkembangan patogen *Botrytis cinerea*, *R. solani*, *G. graminis* var. *tritici*, dan *Pythium ultimum* (Akter *et al.*, 2019). Identifikasi biasanya dilakukan dengan cara mengamati morfologi dan karakterisasi isolat seperti perbedaan tekstur, warna koloni, dan rata-rata waktu tumbuh koloni. Namun, identifikasi secara morfologi tidak dapat digunakan untuk membedakan jamur hingga tingkat spesies sehingga perlu dilakukan identifikasi secara molekuler melalui proses PCR karena menghasilkan produk yang akurat dalam melakukan diagnosis (McPherson and Moller, 2004 dalam Taribuka *et al.*, 2016).

1.4 Hipotesis

Isolat Hajimena merupakan salah satu spesies dari *Trichoderma* sp. dan metabolit sekundernya dapat menekan penyakit bulai (*Peronosclerospora* spp.) pada tanaman jagung manis.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jagung (*Zea mays saccharata* Sturt L.)

Klasifikasi ilmiah tanaman jagung menurut Rukmana (2010) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Graminae
Famili : Graminaeae
Genus : *Zea*
Spesies : *Zea mays saccharata* Sturt L.

Tanaman jagung termasuk tanaman C₄ yang pertumbuhannya memerlukan cahaya yang penuh. Tanaman jagung dapat tumbuh optimal pada ketinggian 0–1300 m di atas permukaan laut dengan temperatur udara yaitu 23–27 °C. Kemudian, tingkat kemasaman tanah (pH) tanah yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman jagung berkisar antara 5,6–6,2. Selain itu, syarat tumbuh tanaman jagung juga berupa ketersediaan air yang cukup. Curah hujan yang ideal untuk tanaman jagung pada umumnya 200–300 mm per bulan (Riwandi *et al.*, 2014).

Jagung memiliki 3 macam akar yaitu akar seminal, akar adventif, dan akar kait atau penyangga. Akar seminal merupakan akar yang berkembang dari radikula dan embrio. Akar adventif merupakan akar yang berkembang dari buku pada ujung mesokotil dan terus berkembang ke atas hingga 7–10 buku yang lama-

kelamaan akan merubah akar ini menjadi serabut akar tebal untuk membantu penyerapan unsur hara dan air. Akar kait atau penyangga merupakan akar yang berasal dari buku ke-2 dan ke-3 akar adventif yang ada di atas permukaan tanah. Selain untuk membantu penyerapan unsur hara dan air, akar kait atau penyangga berfungsi juga untuk menopang tanaman agar tetap tegak (Subekti *et al.*, 2008).

Batang tanaman jagung tidak bercabang, bentuknya silindris, serta terdiri dari beberapa ruas dan buku ruas. Tongkol jagung akan muncul pada bagian ruas buku. Terdapat 3 komponen jaringan utama pada batang tanaman jagung, yaitu kulit (*epidermis*), jaringan pembuluh (*bundles vaskuler*), dan pusat batang (*pith*). Daun jagung terdiri dari helaian daun, ligula, dan pelepah daun yang erat melekat pada batang. Panjang daun jagung berkisar antara 30–150 cm dan lebar daun 4–15 cm. Sifat tulang daun tanaman jagung yaitu keras dengan tepi daun yang halus tetapi terkadang bentuknya berombak. Ujung daun tanaman jagung memiliki bentuk yang beragam, yaitu runcing, runcing agak bulat, bulat, bulat agak tumpul, dan tumpul. Daun jagung terdapat di buku-buku batang dengan jumlah daun pada tiap tanaman berkisar antara 10–18 helaian daun. Uniknya, jumlah daun sama seperti jumlah buku yang ada pada batang tanaman (Subekti *et al.*, 2008).

2.2 Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp.

Pengendalian penyakit bulai pada jagung (*Peronosclerospora* spp.) dapat menggunakan agensia hayati, yaitu *Trichoderma* sp. yang memang dikenal efektif sebagai agen biokontrol terhadap beberapa patogen karena kemampuan mereka untuk menginduksi resistensi pada tanaman. Pemberian *Trichoderma* sp. pada tanaman jagung dapat menguatkan dinding sel tanaman. Hal ini disebabkan *Trichoderma* sp. meningkatkan jumlah enzim peroksidase dan enzim polifenoloksidase pada rizosfer tanaman yang berperan dalam menguatkan dinding sel tanaman. Maka dari itu, *Trichoderma* sp. dimanfaatkan sebagai agensia hayati karena kemampuannya dalam menghambat infeksi patogen (Harman *et al.*, 2004).

Selain itu, *Trichoderma* sp. yang diekstraksi dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Induksi tanaman merupakan suatu mekanisme untuk mengaktifkan sistem ketahanan dengan menstimulasi mekanisme resistensi yang dimiliki oleh suatu tanaman (Halimah dan Puspita, 2017). Metabolit akan bekerja seperti elisitor yang mampu menginduksi pembentukan senyawa tertentu sebagai respon pertahanan tanaman dengan cara mengaktifkan sinyal transduksi dan menyebabkan aktivasi dan ekspresi gen yang terkait dengan biosintesis senyawa metabolit sekunder (Vinale *et al.*, 2014; Angelova *et al.*, 2006). Mekanisme induksi ketahanan tanaman oleh metabolit sekunder *Trichoderma* mampu meningkatkan pertahanan kimiawi pada tanaman, seperti pengaktifan pembentukan enzim yang terlibat biosintesis fitoaleksin sehingga tanaman memproduksi lebih banyak metabolit sekunder (Vinale *et al.*, 2008).

2.3 Identifikasi Molekuler

Teknik molekuler dapat digunakan dalam ilmu taksonomi untuk mengidentifikasi suatu spesies dengan mengembangkan metode PCR dan analisis sequence DNA. Identifikasi molekuler merupakan alternatif lain dalam identifikasi suatu mikroorganisme yang dinilai lebih akurat karena dapat mengidentifikasi hingga tingkat spesies dan dapat memberikan kepastian hubungan kekerabatan dengan spesies. Hal ini disampaikan oleh Sette *et al.* (2006) bahwa teknik identifikasi molekuler menunjukkan spesifitas dan sensitivitas yang tinggi sehingga dapat mengidentifikasi mikroorganisme dan dapat mengklasifikasikan strain mikroba pada tingkat taksonomi hierarki yang beragam. Teknik molekuler ini dilakukan dengan berbagai tahapan, yaitu :

a. Isolasi DNA

Tahap pertama dalam melakukan identifikasi secara molekuler adalah isolasi DNA. Isolasi DNA dilakukan untuk mendapatkan DNA murni yang tidak tercampus dengan komponen sel lainnya (protein dan karbohidrat). Hasil isolasi DNA yang diperoleh akan digunakan untuk proses amplifikasi DNA dengan *Polimerase Chain Reaction* (PCR) (Hendris *et al.*, 2015).

b. Amplifikasi DNA (PCR)

Pada teknik amplifikasi DNA (PCR) terjadi proses pemanjangan nukleotida dari primer yang merupakan pasangan komplemen dari utai DNA sehingga diperoleh kopian sekuen dalam jumlah besar dengan waktu yang singkat (Garibyan and Avashia, 2013). PCR dilakukan untuk mengamplifikasi DNA dengan primer yang sesuai dengan pasangan komplemen utas DNA. Proses PCR melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dimana tiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda (Setiawan, 2016).

Terdapat beberapa tahapan selama proses PCR, yaitu denaturasi, penempelan (*annealing*), dan pemanjangan (*extension*). Denaturasi merupakan proses pemanasan DNA template hingga mencapai rentang suhu 90–94 °C yang menyebabkan pemisahan DNA untai ganda menjadi tunggal. Selanjutnya, pada tahap penempelan (*annealing*) menggunakan suhu sekitar 55 °C dimana terjadi penempelan primer pada DNA target. Tahap yang terakhir adalah pemanjangan (*extension*) pada suhu 72 °C. Setelah primer menempel, enzim *taq-polimerase* akan memulai pemanjangan dan pembentukan untai DNA baru (Alsohaili & Bani-Hasan, 2018).

c. Elektroforesis

Teknik yang mengukur laju pergerakan atau perpindahan partikel-partikel bermuatan dalam satu medan listrik disebut elektroforesis. Prinsip kerja pada elektroforesis ini berdasarkan pada pergerakan partikel-partikel yang bermuatan negatif (anion) dimana dalam hal ini adalah DNA yang bergerak menuju kutub positif (anode), begitu juga sebaliknya partikel yang bermuatan positif akan bergerak menuju kutub negatif (Klug & Cummings, 1994 dalam Remelia, 2008). Elektroforesis DNA menggunakan gel agarose dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi agarose, arus listrik, dan suhu (Fahlevi *et al.*, 2017).

d. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA merupakan teknik penentuan urutan basa nukleotida yaitu adenin (A), sitosin (C), guanin (G), dan Timin (T) dalam suatu molekul DNA. Proses ini akan menghasilkan elektroferogram (grafik yang menunjukkan basa penyusun DNA) dan *text file* (urutan basa hasil sekuensing) (Setiawan, 2016).

2.4 Penyakit Bulai Jagung (*Peronosclerospora* spp.)

Bulai atau *downy mildew* merupakan salah satu anggota dari kelas Oomycetes yang memiliki kemiripan dengan jamur dari sisi morfologi, fisiologi, dan ekologi. Namun, Oomycetes merupakan bagian dari kerajaan Chromista bukan kerajaan fungi. Berikut taksonomi bulai menurut Kirk (2018) :

Kingdom : Chromista
 Filum : Stramenopiles
 Kelas : Oomycetes
 Ordo : Peronosporales
 Famili : Peronosporaceae
 Genus : Peronosclerospora

Penyakit bulai (*downy mildew*) pada tanaman jagung merupakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang cukup besar. Pada tahun 1892, penyakit ini mulai banyak mendapatkan perhatian dan akhirnya pada tahun 1897 publikasi tentang penyakit bulai ditulis oleh Raciborski. Selanjutnya pada tahun 1914 sampai 1936 penyakit bulai selalu ditulis setiap tahunnya dalam laporan “Hama dan Penyakit pada Tanaman Pertanian” (Semangun, 1993).

Faktanya terdapat banyak spesies penyebab penyakit bulai yang hanya dapat dibedakan melalui ciri-ciri morfologinya, antara lain bentuk serta ukuran konidia dan konodifor, perbedaan inang, dan perbedaan morfologi lainnya (Bonde *et al.*, 1992). Konidia spesies *Peronosclerospora* spp. berbentuk bulat yang membedakan spesies ini dengan spesies lainnya serta tanaman jagung sebagai inangnya (Wakman, 2006).

Penyakit bulai (*downy mildew*) disebabkan oleh jamur *Peronosclerospora* spp. yang berkembang pesat pada suhu udara 27 °C atau pada keadaan udara yang lembab. Penyakit ini dapat menyerang saat tanaman berumur 0–14 hst yang merupakan fase kritis dimana tanaman jagung mudah terinfeksi penyakit ini dapat menyerang saat tanaman berumur 0–14 hst yang merupakan fase kritis dimana tanaman jagung mudah terinfeksi penyakit ini (Prihatman, 2000). Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit ini berbeda-beda pada umur tanaman tertentu. Pada tanaman berumur 2–3 minggu, gejala yang timbul berupa daun runcing dan kecil, lambatnya pertumbuhan batang, warna menjadi kuning, sedangkan tanda penyakit ini berupa adanya konidium jamur berwarna putih di sisi bawah daun tanaman jagung. Pada tanaman berumur 3–5 minggu, gejalanya berupa pertumbuhan tanaman yang terganggu, warna daun menjadi kuning dimulai dari pangkal daun yang kemudian meluas, sedangkan pada daun tua akan nampak garis berwarna kecoklatan, dan perubahan bentuk pada tongkol jagung (Semangun, 2004).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk identifikasi dan pembuatan metabolit sekunder *Trichoderma* sp. serta di Kecamatan Tanjung Senang untuk penanaman dan pengumpulan data pada bulan Agustus 2021 hingga Januari 2022.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, Laminar Air Flow, jarum ose, oven, sentrifuse, tabung sentrifuse, erlenmeyer, tabung mikrosentrifuse, bor gabus, pipet tetes, rotamixer, mortar, orbital shaker, mikropipet, timbangan, autoklaf, elektroforesis, *Digi-Doc-Imaging System*, tube, plastik tahan panas, plastik warp, aluminium foil, elektroforesis, mikroskop, meteran, karet, microwave, polybag, dan spidol.

Bahan-bahan yang digunakan adalah *Trichoderma* sp. isolat Hajimena, konidia *Peronosclerospora* spp., agarose, *ethidium bromide* (ETBr), larutan buffer, larutan bufeer TE, CTAB 2%, *phenol-chloroform isoamyl alcohol* (PCI), *chloroform isoamyl alcohol* (CI), isopropanol dingin, alkohol 70%, media PSA (*Potato Sucrose Agar*), media PSB (*Potato Sucrose Broth*), aquadest, tanah, benih jagung manis varietas favorit.

3.3 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Perlakuan disusun menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 5 ulangan. Perlakuan pada penelitian ini adalah konsentrasi metabolit sekunder *Trichoderma* sp. yaitu 0;25; 50; 75; dan 100%. Data hasil pengamatan diuji homogenitas ragam dengan uji Bartlett dan diuji kemenambahan data dengan uji aditifitas (uji Tukey). Jika uji homogenitas ragam dan uji kemenambahan data memenuhi syarat, maka selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dan uji nilai tengah antar perlakuan menggunakan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada α 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap yaitu persiapan isolat *Trichoderma* sp., identifikasi *Trichoderma* sp. isolat Hajimena secara molekuler, persiapan media tanam, ekstraksi dan aplikasi metanolit sekunder *Trichoderma* sp., penyiapan suspensi dan inokulasi spora *Peronosclerospora* spp., serta pengamatan dan pengumpulan data.

3.4.1 Persiapan Isolat *Trichoderma* sp.

Isolat *Trichoderma* sp. asal Hajimena yang digunakan merupakan koleksi dari penelitian sebelumnya. Isolat *Trichoderma* sp. diremajakan dengan cara memisahkan koloni *Trichoderma* sp. dari satu media ke media PSA lainnya dan kemudian diinkubasi selama 7-14 hari.

3.4.2 Identifikasi *Trichoderma* sp. Isolat Hajimena Secara Molekuler

Isolat *Trichoderma* sp. isolat Hajimena berumur 2–3 minggu dipanen dengan cara menambahkan 10 mL air steril pada cawan yang berisi biakan jamur. Kemudian, suspensi konidia dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Pelet diambil, kemudian ditambahkan

alkohol 70% sebanyak 500 μ l ke dalam tabung sentrifus dan disentrifus kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, setelah itu supernatan dibuang dan pelet ditambahkan 1000 μ l larutan buffer ekstraksi DNA 1. Kemudian, pelet yang telah diberikan buffer dihomogenkan dengan rotamixer hingga pelet tersuspensi dalam larutan, lalu dimasukkan ke dalam mortar yang sebelumnya sudah didinginkan. Mortar berisi pelet dan buffer didiamkan di dalam pendingin selama 1–2 hari untuk diinkubasi.

Setelah 1–2 hari diinkubasi, pelet dan buffer dalam mortar ditumbuk selama 15 menit. Kemudian, dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400 μ l dan di waterbath pada suhu 65 °C selama 1 jam. Setelah itu, pelet diambil dan dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL baru yang ditambahkan *phenol chloroform isoamyl alcohol* (PCI) sebanyak 500 μ l lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Larutan bagian atas diambil sebanyak 400 μ l dan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 mL baru lalu ditambahkan *chloroform isoamyl alcohol* (CI) dengan perbandingan 1:1, lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Larutan bagian atas diambil sebanyak 400 μ l dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang ditambahkan isopropanol dingin dengan volume yang sama lalu dihomogenkan dengan cara dikocok. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu -20 °C selama 20 menit, lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit. Pelet hasil sentrifus diambil dan ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 μ l yang kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifus dibuang dan pelet yang didapatkan dikering anginkan selama 1–2 hari. Setelah itu, ditambahkan larutan buffer TE sebanyak 20 μ l.

Proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan untuk amplifikasi DNA fungi. Ekstraksi genom DNA fungi di amplifikasi menggunakan primer universal. Primer tersebut adalah ITS1 dan ITS4. *Setting* yang digunakan yaitu proses predenaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit, kemudian proses denaturasi dengan suhu 95 °C selama 1 menit, selanjutnya proses annealing pada suhu 48 °C

selama 2 menit, kemudian extention pada suhu 72 °C selama 1 menit, dan fnal extention dengan suhu 72 °C selama 5 menit, dengan siklus 30 kali.

Setelah itu dilakukan proses elektroforesis dengan mencampurkan agarose sebanyak 0,5% dan 1µl *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/mL) dengan larutan TBE sebanyak 20 mL. Kemudian dilakukan elektroforesis pada voltase 55 V selama 60 menit. Pada proses elektroforesis ini digunakan marker 1 kb Ladder sebanyak 3 µl. Sampel DNA sebanyak 3 µl yang telah dicampurkan loading dye sebanyak 1 µl dimasukkan ke dalam sumur elektroforesis menggunakan mikropipet. Hasil dari elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan *Digi Doc-Imaging System* (Major Science).

Tabel 1. Primer yang digunakan dalam penelitian

	Primer	Sumber
ITS1	5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'	Legiastuti dan
ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	Aminingsih (2012)

Hasil amplifikasi DNA dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia, Tangerang, Indonesia untuk dilakukan proses sekuensing (pembacaan untaian nukleotida DNA). Hasil sekuensing berupa template DNA digunakan dalam proses alignment menggunakan *tool multiple sikuense alignment* yang kemudian diidentifikasi dengan metode informatika pada pangkalan data Bank Gen NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) secara online dalam laman <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Analisis filogeni jamur melalui pohon filogenik dilakukan dengan software MEGA.

3.4.3 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan berupa campuran dari tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1. Tanah yang digunakan yaitu *top soil*. Sebelum digunakan, tanah dan pupuk kandang disterilisasi terlebih dahulu menggunakan

alat pengukus selama 3 jam dan kemudian dipindahkan ke *polybag* berukuran 10kg.

3.4.4 Ekstraksi dan Aplikasi Metabolit Sekunder *Trichoderma* sp.

Sebanyak dua cawan petri berisikan isolat *Trichoderma* sp berumur 7 hari hasil peremajaan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi media PSB (*Potato Sucrose Broth*) sebanyak 500 mL. Selanjutnya, media PSB yang telah diisi dengan *Trichoderma* sp. diinkubasi selama 10 hari pada suhu ruang 27 °C. Selama inkubasi, erlenmeyer yang berisi jamur *Trichoderma* sp. diletakkan di *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya media PSB disentrifus 4000 rpm selama 15 menit (Harni *et al.*, 2017). Hasil sentrifuse ini berupa supernatan dan endapan. Supernatan yang diperoleh diambil dan disimpan dilemari pendingin sampai saat akan digunakan.

Benih jagung yang akan digunakan direndam dalam supernatan *Trichoderma* sp. selama 15 menit dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 0% (kontrol, direndam dalam 100 mL aquades); 25% (25 ml metabolit sekunder dan 75 mL aquades); 50% (50 mL metabolit sekunder dan 50 mL aquades); 75% (75 mL metabolit sekunder dan 25 mL aquades); dan 100% (direndam dalam 100 mL metabolit sekunder). Penanaman dilakukan pada pukul 17.00 WIB.

3.4.5 Penyiapan Suspensi dan Inokulasi Spora *Peronosclerospora* spp.

Spora *Peronosclerospora* spp. dipanen dari daun tanaman jagung bergejala bulai yang ditandai dengan adanya klorosis berwarna putih dan terdapat spora pada permukaan daun. Daun direndam dalam larutan aquades dan gula, kemudian pada bagian atas dan bawah daun yang terdapat spora *Peronosclerospora* spp. diserut hingga terlepas dan jatuh ke dalam larutan. Inokulasi dilakukan dengan cara meneteskan suspensi *Peronosclerospora* spp. kerapatan 10^5 spora/cc sebanyak 2 mL pada titik tumbuh tanaman jagung berumur 8 hari setelah tanam. Inokulasi ini dilakukan pada pukul 02.00 sampai 05.00 WIB saat kelembapan udara tinggi.

3.4.6 Pengamatan dan Pengumpulan Data

Pengamatan dan pengumpulan data dilakukan selama 40 hari. Variabel yang diamati yaitu masa inkubasi, keterjadian penyakit, dan keparahan penyakit.

3.4.6.1 Masa Inkubasi

Masa inkubasi merupakan selang waktu dari mulai dilakukannya inokulasi penyebab penyakit hingga munculnya gejala awal penyakit pada tanaman. Pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari sejak awal inokulasi hingga muncul gejala awal penyakit bulai.

3.4.6.2 Keterjadian Penyakit

Kejadian penyakit dihitung menggunakan rumus perhitungan (Ginting, 2013) sebagai berikut:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

KP : Kejadian penyakit

n : Jumlah tanaman yang terserang

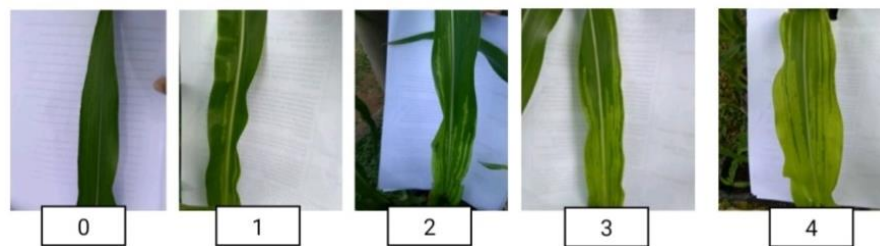
N : Total tanaman yang diamati

3.4.6.3 Keparahan Penyakit

Pengamatan keparahan penyakit dapat dilakukan dengan menghitung keparahan penyakit bulai pada daun jagung dengan bantuan skor. Tingkat kerusakan tanaman akibat penyakit bulai terdiri dari enam skor. Skor dan tingkat keparahan daun (%) yang digunakan untuk menghitung keparahan penyakit dapat dilihat pada Tabel 2, dengan visualisasinya pada Gambar 1 (Agustamia *et al.*, 2016).

Tabel 2. Skor penyakit dalam pengamatan

Skor	Luas permukaan daun jagung terserang bulai	Kategori skor keparahan
0	0%	Tanaman sehat
1	>0–20%	Serangan ringan
2	>20-40%	Serangan agak ringan
3	>40–50%	Serangan sedang
4	>50–75%	Serangan berat
5	>75–100%	Serangan sangat berat



Gambar 1. Skor keparahan penyakit bulai (Rahmadanti, 2019).

Perhitungan keparahan penyakit pada tanaman sampel yang telah dilakukan penilaian menggunakan rumus sebagai berikut (Agustamia *et al.*, 2016):

$$I = \sum \frac{n \times v}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan :

- I : Intensitas keparahan penyakit (%)
- n : Jumlah daun yang diamati dari kategori serangan
- v : Skor kategori serangan
- V : Skor dari kategori serangan tertinggi
- N : Jumlah daun yang diamati

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil identifikasi molekuler yang dilakukan menunjukkan bahwa *Trichoderma* isolat Hajimena merupakan spesies *T. asperellum*.
2. Pemberian metabolit sekunder *Trichoderma* isolat Hajimena pada benih jagung manis dengan berbagai konsentrasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap masa inkubasi, keterjadian penyakit, dan keparahan penyakit .

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan kesimpulan, saran pada penelitian ini yaitu:

1. Lama perendaman benih jagung manis pada metabolit sekunder *Trichoderma* sp. dapat dilakukan dalam rentang waktu yang lebih lama.
2. Perlu adanya kajian penelitian yang mengkaji lama perendaman benih dalam metabolit sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Adie, B., Chico, J.M., Rubio-Somoza, I., and Solano, R. 2007. Modulation of plant defenses by ethylene. *J. Plant Growth Regul.* 26: 160–177.
- Adriansyah, A., M. Arri., M. Hamawi, dan I. Ikhwan. 2015. Uji metabolit sekunder *Trichoderma* sp. sebagai antimikrobia patogen tanaman *Pseudomonas solanacearum* secara in vitro. *Gontor Agrotech Science Journal.* 2(1): 19–30.
- Agustamia, C., Widiastuti, A., dan Sumardiyono, C. 2016. Pengaruh stomata dan klorofil pada ketahanan beberapa varietas jagung terhadap penyakit bulai. *Jurnal Perlindungan Tanaman.* 20(2): 89–94.
- Akter, F., Ahmed, G. U., and Alam, M. F. 2019. *Trichoderma* : a complete tool box for climates smart agriculture. *Madridge Journal of Agriculture and Environmental Sciences.* 2(1): 40–43.
- Alsohaili, S. A. and Bani-Hasan, B. M. 2018. Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the northern eastern desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences.* 11(3): 329–337.
- Angelova, Z., Georgiev, S., and Roos, W. 2006. Elicitation of plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 20(2): 72–83.
- Ankala, A., Luthe, D.S., Williams, W.P., and Wilkinson, J.R. 2009. Integration of ethylene and jasmonic acid signaling pathways in the expression of maize defense protein Mir1-CP. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* 22(12): 1555–1564.
- Anugrah, F.M. dan Widiyantini, F. 2018. Pengaruh fungisida berbahan aktif metalaksil, fenamidone, dan dimetomorf terhadap konidia *Peronosclerospora* spp. isolat Klaten. *Jurnal Penelitian Saintek.* 23(1): 21–31.
- Badan Pusat Statistik. 2019. *Volume Impor Jagung ke Indonesia.* <https://www.bps.go.id/indicator/12/1886/1/volume-impor-jagung-keIndonesia.html>. Diakses pada 7 April 2022.

- Baihaqi, A., Nawawi, M., dan Abadi, A.L. 2013. Teknik aplikasi *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(3): 30–39.
- Bellincampi, D., Cervone, F., and Lionetti, V. 2014. Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. *Frontiers in Plant Science*. 5: 1–8.
- Bonde, M.R., Peterson, G.L., Kenneth, R.G., and Vermeulen, H.D. 1992. Effect of temperature on conidial germination and systemic infection of maize by *Peronosclerospora* species. *Phytopathology*. 82:104-109.
- Burhanuddin. 2009. Fungisida Metalaksil Tidak Efektif Menekan Penyakit Bulai (*Peronosclerospora maydis*) di Kalimantan Barat dan Alternatif Pengendaliannya. *Prosiding Seminar Nasional Serealia 2009*. Balai Penelitian Tanaman Serealia.
- Byun, S.Y., Ryu, Y.W., Kim, P., and Pederson, H. 1992. Elicitation of sanguinarine production in two-phase culture of *Eschscholtzia californica*. *Fermentation and Bioengineering*. 73: 380-385.
- Dewi, T.Q. dan Paeru, R.H. 2017. *Panduan Praktis Budidaya Jagung*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ekowati, N., Suciarto, E.T., Muljowati, J.S., dan Dewi, R. 2009. Uji aktivitas antibiosis beberapa isolate *Gliocladium* dan *Trichoderma* terhadap mikroba patogen dengan pH awal fermentasi yang berbeda. *Jurnal Inovasi*. 3(2): 69–77.
- Elad, Y., Freeman, S., and Monte, E. 2001. Biocontrol agents: mode of action and interaction with other means of control. *IOBC/WPRS Bulletin*. 24(3): 185–188
- Fahlevi, M.R., Bakti, D., dan Sitepu, S.F. 2017. Karakterisasi molekuler *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (Coleoptera: Curculionidae) asal Sumatera Utara menggunakan metode *amplified fragment length polymorphism* (AFLP). *Jurnal Agroteknologi*. 5(4): 941–953.
- Fitmawati, A., Suwita, N., dan Sofiyanti, H. 2013. Eksplorasi dan karakterisasi keanekaragaman plasma nutfah mangga (*Mangifera*) di Sumatera Tengah. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 307–312.
- Garibyan, L. and Avashia, N. 2013. Polymerase chain reaction. *J. Invest. Dermatol.* 133(3): 1–4.
- Ginting, C. 2013. *Ilmu Penyakit Tumbuhan (Konsep dan Aplikasi)*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Halimah, N. dan Puspita, F. 2017. Induksi ketahanan dan pertumbuhan bibit kelapa sawit dengan bahan penginduksi berbeda jamur *Trichoderma virens* endofit terhadap penyakit busuk batang atas. *JOM Faperta*. 4(2): 1–15.
- 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.
- Harni, R., Amaria, W., Syafaruddin, dan Mahsunah, A.H. 2017. Potensi metabolit sekunder *Trichoderma* spp. untuk mengendalikan penyakit Vascular Streak Dieback (VSD) pada bibit kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4(2): 57–66.
- Hendris, S., Titania, T., Nugroho, dan Saryono. 2015. Identifikasi isolat fungi endofit LBKURCC43 berdasarkan sekuens ITS rDNA dari umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Photon*. 5(2): 1–7.
- Iskandar, D. 2003. Pengaruh dosis pupuk N, P, dan K terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman jagung manis di lahan kering. *Prosiding Seminar Teknologi untuk Negeri*. 2: 1–5.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2019. *Data Produksi Jagung Menurut Provinsi (2014-2018)*. <https://www.pertanian.go.id/home/?show=page&act=view&id=61>. Diakses pada 7 April 2022.
- Kirk, P.M. 2018. *Species Fungorum*. Dalam : Muis, A., Suriani., S.H. Kalqutny, dan N. Nonci. 2018. *Penyakit Bulai pada Tanaman Jagung dan Upaya Pengendaliannya*. Deepublish. Maros.
- Legiastuti, T.S. dan Aminingsih, T. 2012. Identifikasi dendawan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(2): 31–36.
- Lorenzo, O., Piqueras, R., Sanchez-Serrano, J.J., and Solano, R. 2003. Ethylene response factor1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *The Plant Cell*. 15: 165–178.
- Lotan, T. and Fluhr, R. 1990. Xylanase, a novel elicitor of pathogenesis-related proteins in tobacco, uses a nonethylene pathway for induction. *Plant Physiology*. 93: 811–817.
- Mariani, K., Subaedah, St., dan Nuhung, E. 2019. Analisis regresi dan korelasi kandungan gula jagung manis pada berbagai varietas dan waktu panen. *Jurnal Agrotek*. 3(1): 55–62.
- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan mekanisme biosintesis metabolit sekunder mikroba laut. *Jurnal Natur Indonesia*. 10(2): 120–125.

- Pirie, M.D., Vargas, M.P.B., Botermans, M., Bakker, F.T. and Chatrou, L.W. 2007. Ancient paralogy in the cpDNA *trnL-F* region in annonaceae: implications for plant molecular systematics. *American Journal of Botany*. 94(6): 1003–1016.
- Pradhipta, H. N., Kurniasari, I., dan Romadi, U. 2019. Efektivitas plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian hayati penyakit bulai pada tanaman jagung. *Agrin*. 23(1): 45–53.
- Prihatman. 2000. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman Jagung*. Rajawali Pers. Jakarta.
- Rahmadanti, T.P. 2019. Pengaruh Kerapatan Spora *Trichoderma* sp. dan Konsentrasi Ekstrak Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) Terhadap Intensitas Penyakit Bulai (*Peronosclerospora maydis*) dan Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. 71 hlm.
- Remelia, M. 2008. Analisis insersi T-DNA pembawa transposon Ac/Ds pada T0 dan aktivitas Ds pada T1 tanaman padi (*Oryza sativa* L.) kultivar nipponbare. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Riwandi, Merakati, H., dan Hasanudin. 2014. *Teknik Budidaya Tanaman Jagung dengan Sistem Organik di Lahan Marjinal*. UNIB Press. Bengkulu.
- Rukmana. 2010. *Prospek Jagung Manis*. Pustaka Baru Perss. Yogyakarta.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2004. *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. UGM Press. Yogyakarta.
- Setiawan, B. 2016. Karakterisasi fisiologi dan molekuler bakteri simbiosis nematoda entomopatogen berdasarkan sekuens gen pengkode 16S rRNA dari Bromo, Kabupaten Probolinggo. *Tesis*. Universitas Jember. Jember.
- Sette, L.D., Passarini, M.R.Z., Delarmelina, C., Salati, F., and Duarte, M.C.T. 2006. Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22: 1185–1195.
- Sharma, M., Sharma, A., Kumar, A., and Basu, S.K., 2011. Enhancement of secondary metabolites in cultured plant cells through stress stimulus. *American Journal of Plant Physiology*. 6(2): 50–71.
- Shoresh, M., Yedidia, I., and Chet, I. 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber

- by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology*. 95(1): 76–84.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Soesanto, L. 2015. Metabolit sekunder agensia pengendali hayati; terobosan baru pengendalian organisme pengganggu tanaman perkebunan. <http://www.researchgate.net/profile/LoekasSoesanto/PUBLICATION/278261729-Terobosan-baru-atasi-penggangu-tanaman/links>. diakses pada tanggal 2 Februari 2022 pukul 23.00.
- Subandi, Sudjadi, M., dan Pasaribu, D. 1996. *Laporan Hasil Pemantauan Penyakit Bulai dan Benih Palsu Pada Pertanaman Jagung Hibrida di Lampung*. Lampung.
- Subekti, N.A., Syafruddin, Efendi, R., dan Sunarti, S. 2008. *Morfologi Tanaman dan Fase Tanaman Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros.
- Sudana, W., Swastika, D.K.S., dan Soerachman. 2002. Profitabilitas dan peluang pengembangan jagung di Provinsi Lampung. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. 5: 40–53.
- Taribuka, J., Sumardiyono, C., Widyastuti, S.M., dan Wibowo, A. 2016. Eksplorasi dan identifikasi *Trichoderma* endofit pada pisang. *J. HPT Tropika*. 16(2): 115-123.
- Turnip, A., Efri, dan Prasetyo, J. 2015. Pengaruh perlakuan benih dengan *Trichoderma viride* dan *Pseudomonas fluorescens* terhadap keterjadian penyakit bulai (*Peronosclerospora maydis*) pada berbagai varietas jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 216–219.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Barbetti, M.J., Li, H., Woo, S.L., & Lorito, M. 2008. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 72: 80–86.
- Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Mazzei, P., Piccolo, A., Pascale, A., and Woo, S. 2014. A novel fungal metabolite with beneficial properties for agricultural applications. *Molecules*. 19(7): 9760–9772.
- Wakman, W. 2006. *Penyebab Penyakit Bulai Pada Tanaman Jagung, Tanaman Inang Lain, Daerah Sebaran, dan Pengendaliannya*. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVI Komda Sul-Sel. Makassar