

Kompatibilitas *Trichoderma* spp. dengan Benomyl serta Efektivitas Kombinasinya dalam Menghambat Pertumbuhan *Alternaria alternata* secara In Vitro

*Compatibility of Trichoderma spp. with Benomyl and the Effectiveness of Their Combination
in Inhibiting the Growth of Alternaria alternata In Vitro*

**Juni Safitri Muljowati, Sri Martina Wiraswati, Jihad Akbar Mubarrok,
Arif Rahman Hikam***

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Banyumas, Jawa Tengah

*corresponding author, Email: arahmanhikam@unsoed.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 15/09/2025
Disetujui : 31/03/2026

Abstract

Alternaria alternata is a phytopathogenic fungus that causes various diseases in horticultural crops, potentially resulting in significant yield losses. The use of the fungicide benomyl is effective in suppressing pathogen growth; however, its continuous application may lead to pathogen resistance and environmental residues. One alternative approach is to combine fungicides with biological control agents such as *Trichoderma* spp. This study aimed to determine the benomyl concentrations compatible with the growth of *Trichoderma* spp., determine the effective benomyl concentration for inhibiting the growth of *A. alternata*, and evaluate the effectiveness of combining *Trichoderma* spp. with benomyl in inhibiting the in vitro growth of *A. alternata*. The study employed an experimental method using a Completely Randomized Design (CRD). The tests included a compatibility test of *Trichoderma* spp. with benomyl, an efficacy test of benomyl against *A. alternata*, and a combination test of *Trichoderma* spp. and benomyl using the poisoned food technique and dual culture method. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), followed by the Least Significant Difference (LSD) test and Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at a 95% confidence level. The results showed that *Trichoderma* sp. isolate 1 was compatible with benomyl at concentrations of 0–4 ppm, while isolate 2 was compatible at concentrations of 0–5 ppm. The single application of benomyl at concentrations of 0–6 ppm against *A. alternata* growth showed that 6 ppm was the most effective concentration, with a relative inhibition value of 10.56%. The combination of *Trichoderma* spp. and benomyl at concentrations of 0–6 ppm resulted in substantially higher inhibition of *A. alternata* growth, with relative inhibition values ranging from 96.82% to 98.16%. These findings indicate that the combination of the biological control agent *Trichoderma* spp. and the fungicide benomyl has the potential to serve as a more effective integrated disease management strategy than the use of fungicide alone.

Key Words : *A. alternata*; benomyl; compatibility; biological control; *Trichoderma* spp.

Abstrak

Alternaria alternata merupakan fungi fitopatogen penyebab berbagai penyakit pada tanaman hortikultura yang dapat menurunkan hasil panen secara signifikan. Pengendalian menggunakan fungisida benomyl efektif menekan pertumbuhan patogen, namun penggunaannya secara terus-menerus berpotensi menimbulkan resistansi patogen dan residu di lingkungan. Salah satu alternatif yang dapat diterapkan adalah mengombinasikan fungisida dengan agen hayati *Trichoderma* spp. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis benomyl yang kompatibel dengan pertumbuhan *Trichoderma* spp., menentukan dosis benomyl yang efektif menghambat pertumbuhan *A. alternata*, serta mengevaluasi efektivitas kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl dalam menghambat pertumbuhan *A. alternata* secara *in vitro*. Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengujian meliputi uji kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap benomyl, uji efektivitas benomyl terhadap *A. alternata*, dan uji kombinasi *Trichoderma* spp. dengan benomyl menggunakan teknik umpan beracun dan kultur ganda. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. isolat 1 kompatibel dengan benomyl pada dosis 0–4 ppm, sedangkan isolat 2 kompatibel pada dosis 0–5 ppm. Pengujian tunggal benomyl dengan dosis 0–6 ppm terhadap pertumbuhan *A. alternata* menunjukkan bahwa dosis 6 ppm yang paling efektif dengan nilai hambatan relatif 10,56%. Kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl dengan dosis 0–6 ppm memberikan penghambatan yang jauh lebih tinggi terhadap *A. alternata* dengan nilai hambatan relatif sebesar 96,82–98,16%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi agen hayati *Trichoderma* spp. dan fungisida benomyl berpotensi menjadi strategi pengendalian terpadu yang lebih efektif dibandingkan penggunaan fungisida secara tunggal.

Kata kunci : *A. alternata*; benomyl; kompatibilitas; pengendalian hayati; *Trichoderma* spp.

PENDAHULUAN

Penyakit tanaman yang disebabkan oleh fungi fitopatogen masih menjadi salah satu faktor pembatas utama dalam produksi tanaman hortikultura. Salah satu patogen penting adalah *Alternaria alternata*, anggota filum Ascomycota yang bersifat patogen oportunistik dan mampu menginfeksi berbagai bagian tanaman, seperti daun, batang, bunga, buah, serta benih. Infeksi *A. alternata* menyebabkan penyakit bercak daun, hawar, busuk buah, dan penyakit pascapanen yang mengakibatkan penurunan kualitas maupun kuantitas hasil produksi. Kerugian hasil panen akibat infeksi *Alternaria* dilaporkan dapat mencapai 5–78%, bergantung pada jenis tanaman, tingkat serangan, dan kondisi lingkungan (Suwignyo et al., 2021). Selain menyebabkan kerusakan jaringan tanaman, *A. alternata* juga menghasilkan berbagai mikotoksin yang berperan dalam proses patogenesis dan berpotensi membahayakan kesehatan manusia melalui kontaminasi bahan pangan (Díaz et al., 2018; Rojas & Hernandez, 2014).

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh *A. alternata* hingga saat ini masih didominasi oleh penggunaan fungisida sintesis. Salah satu fungisida yang banyak digunakan adalah benomyl, yaitu fungisida sistemik dari golongan benzimidazole yang bekerja dengan menghambat pembentukan mikrotubulus melalui gangguan polimerisasi β -tubulin sehingga menghambat pembelahan sel fungi (Corcía et al., 2018). Benomyl memiliki spektrum aktivitas yang luas terhadap berbagai fungi fitopatogen dan telah dilaporkan efektif dalam mengendalikan penyakit tanaman (Semangun, 1996). Namun demikian, penggunaan fungisida secara terus-menerus dengan dosis tinggi dapat meningkatkan risiko munculnya strain patogen yang resisten, meninggalkan residu pada produk pertanian, serta menimbulkan pencemaran lingkungan (Camiletti et al., 2022; Yang et al., 2019). Oleh karena itu, strategi pengendalian yang lebih berkelanjutan perlu dikembangkan untuk mengurangi ketergantungan terhadap fungisida kimia.

Pemanfaatan agen pengendali hayati merupakan salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan dalam konsep pengendalian penyakit tanaman secara terpadu. Genus *Trichoderma* dikenal sebagai fungi antagonis yang memiliki kemampuan menghambat berbagai fungi patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, mikoparasitisme, serta produksi enzim hidrolitik seperti kitinase dan β -1,3-glukanase yang mampu mendegradasi dinding sel patogen (Amaria et al., 2013; Tozlu et al., 2018). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *Trichoderma* spp. efektif menghambat pertumbuhan beberapa spesies *Alternaria* maupun patogen tanaman lainnya (Susandi et al., 2018; Pasalo et al., 2022). Selain sebagai agen pengendali hayati, *Trichoderma* juga

diketahui mampu beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan dan berpotensi meningkatkan kesehatan tanaman.

Beberapa tahun terakhir, kombinasi antara fungisida dengan agen hayati mulai dikembangkan sebagai strategi pengendalian penyakit yang lebih efektif dibandingkan penggunaan salah satu agen secara tunggal (Manandhar et al., 2020). Pendekatan ini diharapkan mampu mempertahankan efektivitas pengendalian penyakit sekaligus menurunkan dosis fungisida yang diaplikasikan sehingga risiko resistansi patogen dan dampak negatif terhadap lingkungan dapat dikurangi. Namun demikian, keberhasilan strategi tersebut sangat bergantung pada kompatibilitas antara fungisida dengan agen hayati yang digunakan. Fungisida yang bersifat toksik terhadap *Trichoderma* dapat menghambat pertumbuhan, kolonisasi, maupun aktivitas antagonistiknya sehingga mengurangi efektivitas pengendalian hayati (Sushir et al., 2015).

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *Trichoderma* spp. masih mampu tumbuh pada medium yang mengandung benomyl dengan konsentrasi tertentu (Purnawati et al., 2007; Muljowati et al., 2022). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa benomyl memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *A. alternata*, meskipun efektivitasnya bervariasi bergantung pada dosis dan tingkat sensitivitas isolat patogen (Muljowati & Hikam, 2023). Akan tetapi, informasi mengenai tingkat kompatibilitas isolat lokal *Trichoderma* spp. terhadap benomyl pada dosis rendah serta efektivitas kombinasi keduanya dalam menghambat pertumbuhan *A. alternata* masih terbatas. Kondisi tersebut menunjukkan adanya kesenjangan penelitian, khususnya mengenai pemanfaatan isolat *Trichoderma* lokal yang kompatibel dengan fungisida untuk mendukung strategi pengendalian penyakit secara terpadu.

Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kompatibilitas dua isolat lokal *Trichoderma* spp. yang berasal dari rizosfer bambu terhadap berbagai dosis fungisida benomyl, menentukan dosis benomyl yang efektif menghambat pertumbuhan *Alternaria alternata*, serta mengevaluasi efektivitas kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl dalam menghambat pertumbuhan *A. alternata* secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah dalam pengembangan strategi pengendalian terpadu yang mampu mengurangi penggunaan fungisida sintesis tanpa menurunkan efektivitas pengendalian penyakit.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan meliputi isolat *Alternaria alternata*, dua isolat *Trichoderma* spp. (hasil isolasi dari tanah rizosfer bambu), fungisida berbahan aktif benomyl (Masalgin® 50 WP),

medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), kloramfenikol, akuades steril, alkohol 96%, serta bahan penunjang lainnya untuk kultur fungi. Peralatan yang digunakan meliputi Laminar Air Flow (LAF), autoklaf, inkubator suhu ruang, mikroskop cahaya, timbangan analitik, *hot plate magnetic stirrer*, cawan Petri, bor gabus berdiameter 5 mm, gelas ukur, Erlenmeyer, alat gelas laboratorium, penggaris, kamera digital, serta perlengkapan kultur mikrobiologi lainnya.

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas tiga tahap pengujian, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Tahap pertama merupakan uji kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap fungisida benomyl menggunakan dua isolat *Trichoderma* spp. yang diuji pada tujuh taraf dosis benomyl, yaitu 0, 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Tahap kedua merupakan uji efektivitas fungisida benomyl terhadap pertumbuhan *A. alternata* menggunakan dosis benomyl yang sama. Tahap ketiga merupakan uji efektivitas kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl terhadap pertumbuhan *A. alternata* menggunakan metode kultur ganda (*dual culture*) pada medium PDA yang telah ditambahkan benomyl sesuai dosis perlakuan.

Persiapan Kultur

Medium PDA disiapkan sesuai petunjuk pabrik, kemudian ditambahkan kloramfenikol sebagai antibiotik untuk mencegah kontaminasi bakteri. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Isolat *A. alternata* dan *Trichoderma* spp. diremajakan pada medium PDA steril dan diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang sebelum digunakan sebagai inokulum.

Uji Kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap Benomyl

Uji kompatibilitas dilakukan menggunakan metode *poisoned food technique*. Fungisida benomyl ditambahkan ke dalam medium PDA steril sehingga diperoleh konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Potongan miselium *Trichoderma* spp. berdiameter 5 mm diinokulasikan pada masing-masing medium perlakuan, kemudian diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang. Diameter koloni diukur setiap hari hingga koloni kontrol memenuhi cawan Petri. Persentase kompatibilitas dihitung berdasarkan nilai hambatan relatif (HR) terhadap kontrol dengan rumus berikut (Dalimunthe et al., 2015) :

$$HR = \frac{D_k - D_p}{D_k} \times 100\%$$

Keterangan:

HR = hambatan relatif

D_k = diameter koloni fungi pada kontrol

D_p = diameter koloni fungi pada perlakuan

Persentase kompatibilitas dihitung dengan rumus :

$$PK = 100\% - HR$$

Keterangan :

PK = Persentase kompatibilitas

HR = Hambatan relatif

Uji Efektivitas Benomyl terhadap *Alternaria alternata*

Pengujian dilakukan menggunakan metode *poisoned food technique* dengan prosedur yang sama seperti uji kompatibilitas. Potongan koloni *A. alternata* berumur tujuh hari diinokulasikan pada medium PDA yang mengandung benomyl dengan berbagai konsentrasi. Diameter koloni diamati setiap hari selama tujuh hari, kemudian dihitung nilai hambatan relatif (HR) untuk menentukan efektivitas masing-masing dosis fungisida.

Uji Kombinasi *Trichoderma* spp. dan Benomyl terhadap *Alternaria alternata*

Efektivitas kombinasi diuji menggunakan metode *dual culture* pada medium PDA yang mengandung benomyl sesuai perlakuan. Potongan koloni *Trichoderma* spp. dan *A. alternata* berdiameter 5 mm ditempatkan secara berhadapan dengan jarak sekitar 3 cm pada satu cawan Petri. Kultur diinkubasi selama tujuh hari pada suhu ruang. Luas koloni *A. alternata* diukur menggunakan metode penelusuran koloni pada kertas kalkir yang kemudian dihitung menggunakan kertas milimeter blok. Efektivitas perlakuan dinyatakan sebagai nilai hambatan relatif (HR) terhadap luas koloni patogen dibandingkan kontrol (Gargita & Khalimi, 2023).

$$HR = \frac{LK - LP}{LK} \times 100\%$$

Keterangan:

HR = hambatan relatif

LK = luas koloni kontrol

LP = luas koloni perlakuan

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf signifikansi 95% untuk uji kompatibilitas dan uji efektivitas fungisida. Data pada uji kombinasi dianalisis lebih lanjut menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikansi 95%. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap Fungisida Benomyl

Uji kompatibilitas dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan dua isolat *Trichoderma* spp. dalam mempertahankan pertumbuhan pada medium yang mengandung fungisida benomyl. Pengujian ini menjadi tahap penting sebelum penerapan pengendalian terpadu, karena keberhasilan kombinasi agen hayati dan fungisida sangat ditentukan oleh kemampuan agen hayati untuk tetap tumbuh dan menjalankan aktivitas antagonistiknya pada keberadaan fungisida.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian benomyl pada berbagai dosis berpengaruh

sangat nyata ($P < 0,05$) terhadap tingkat kompatibilitas kedua isolat *Trichoderma* spp. Berdasarkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT), seluruh perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap nilai kompatibilitas (Tabel 1). Nilai kompatibilitas *Trichoderma* sp. isolat 1 berkisar antara 8,52–100%, sedangkan isolat 2 berkisar antara 8,89–100%. Persentase kompatibilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol (0 ppm) dan dosis 1 ppm, sedangkan peningkatan konsentrasi benomyl secara bertahap menyebabkan penurunan nilai kompatibilitas pada kedua isolat.

Tabel 1. Nilai Kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap Fungisida Benomyl

Perlakuan	Persentase Kompatibilitas (%)
T1B0	100,00a
T1B1	86,11b
T1B2	75,37c
T1B3	43,33e
T1B4	27,78h
T1B5	19,26i
T1B6	8,52j
T2B0	100,00a
T2B1	97,59a
T2B2	83,52b
T2B3	58,89d
T2B4	41,30f
T2B5	30,74g
T2B6	8,89j

Keterangan: T1 = *Trichoderma* sp. isolat 1; T2 = *Trichoderma* sp. isolat 2; B0-B6 : dosis Benomyl 0-6 ppm
Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05%.

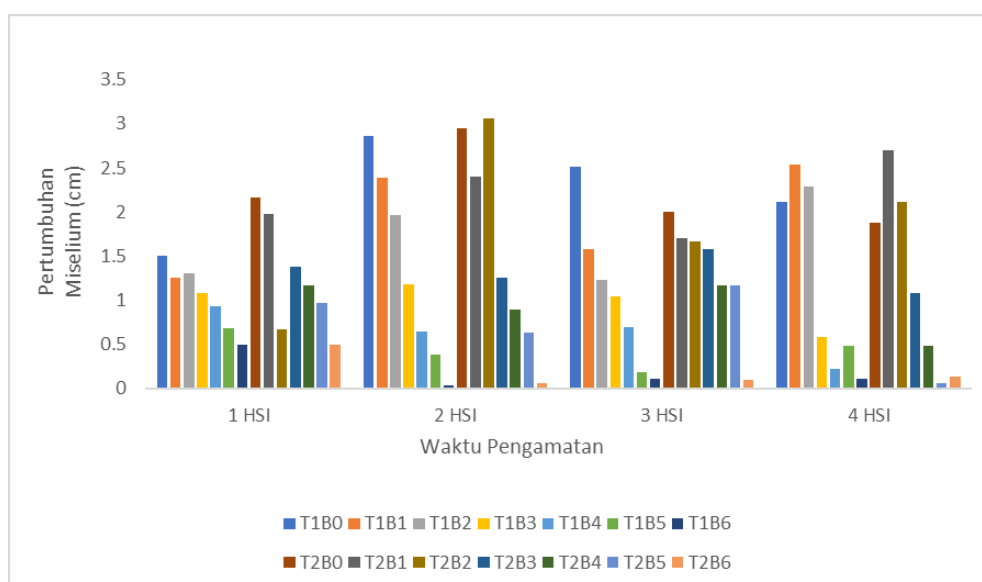
Berdasarkan klasifikasi kompatibilitas menurut Kumar et al. (2007), *Trichoderma* sp. isolat 1 tergolong kompatibel hingga dosis 4 ppm, sedangkan isolat 2 masih menunjukkan tingkat kompatibilitas hingga dosis 5 ppm (Tabel 2). Pada dosis 6 ppm, kedua isolat dikategorikan sangat tidak kompatibel karena nilai kompatibilitas menurun hingga kurang dari 10%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki tingkat toleransi yang berbeda terhadap benomyl, dengan isolat 2 memperlihatkan kemampuan adaptasi yang lebih tinggi dibandingkan isolat 1.

Tabel 2. Kategori Kompatibilitas *Trichoderma* spp. terhadap Fungisida Benomyl

Isolat	Dosis Fungisida Benomyl (ppm)						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Trichoderma</i> sp. 1	SK	SK	SK	K	KS	TK	STK
2	SK	SK	SK	K	K	KS	STK

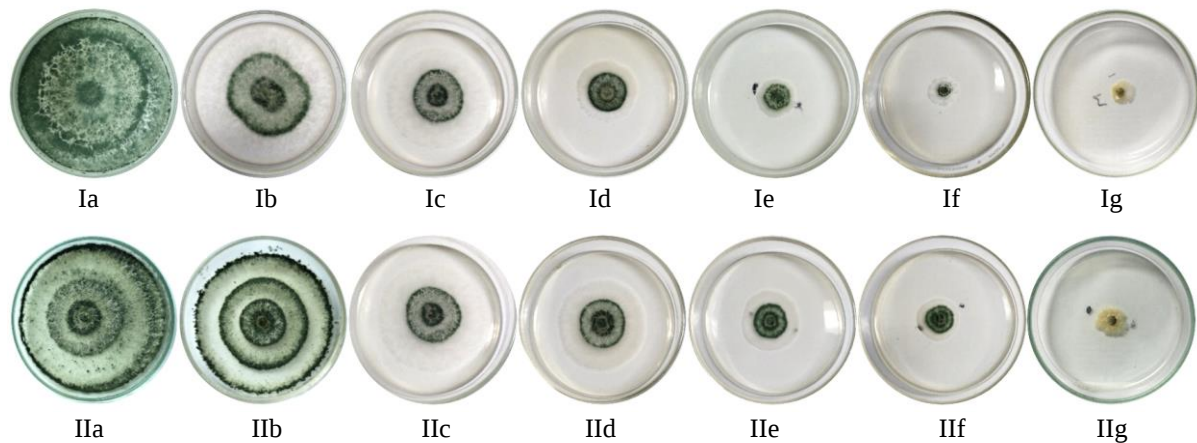
Keterangan: Sangat Kompatibel (SK), Kompatibel (K), Kompatibel Sedang (KS), Tidak Kompatibel (TK), Sangat Tidak Kompatibel (STK)

Perbedaan kompatibilitas antar isolat diduga dikarenakan kemampuan mentoleransi tekanan akibat paparan fungisida. Variasi tersebut dapat berupa perbedaan efisiensi sistem detoksifikasi sel, stabilitas membran, maupun sensitivitas protein target terhadap senyawa benzimidazole. Perbedaan karakter antar isolat *Trichoderma* telah banyak dilaporkan memengaruhi kemampuan kolonisasi, produksi metabolit sekunder, serta efektivitas sebagai agen pengendali hayati (Aswini et al., 2016).



Gambar 1. Grafik Laju Pertumbuhan Miselium *Trichoderma* spp. pada Uji Kompatibilitas selama 4 Hari Setelah Inokulasi (HSI)

Keterangan: (T1) *Trichoderma* sp. isolat 1; (T2) *Trichoderma* sp. isolat 2; (B0) pada dosis 0 ppm; (B1) dosis 1 ppm; (B2) dosis 2 ppm; (B3) dosis 3 ppm; (B4) dosis 4 ppm; (B5) dosis 5 ppm; (B6) dosis 6 ppm



Gambar 2. Hasil Uji Kompatibilitas Fungisida Benomyl terhadap Pertumbuhan *Trichoderma* spp.

Keterangan: (I) *Trichoderma* sp. isolat 1; (II) *Trichoderma* sp. isolat 2; (a) pada dosis 0 ppm; (b) dosis 1 ppm; (c) dosis 2 ppm; (d) dosis 3 ppm; (e) dosis 4 ppm; (f) dosis 5 ppm; (g) dosis 6 ppm

Laju pertumbuhan koloni selama masa inkubasi (Gambar 1) menunjukkan adanya hubungan negatif antara peningkatan dosis benomyl dan pertumbuhan miselium *Trichoderma* spp. Pada perlakuan kontrol, kedua isolat memperlihatkan pertumbuhan yang cepat hingga memenuhi cawan Petri dalam waktu empat hari. Sebaliknya, semakin tinggi dosis benomyl yang diberikan, laju pertumbuhan koloni semakin menurun, terutama pada dosis 5 dan 6 ppm. Penurunan laju pertumbuhan tersebut mengindikasikan bahwa meskipun kedua isolat masih mampu tumbuh pada konsentrasi tertentu, aktivitas fisiologisnya mulai terganggu akibat meningkatnya tekanan fungitoksik.

Fenomena tersebut berkaitan dengan mekanisme kerja benomyl sebagai fungisida sistemik dari golongan benzimidazole. Benomyl di dalam sel fungi akan dikonversi menjadi carbendazim yang berikatan dengan protein β -tubulin sehingga menghambat pembentukan mikrotubulus selama proses mitosis. Hambatan pembelahan sel menyebabkan pertumbuhan hifa menjadi lebih lambat dan perkembangan koloni tertekan (Corcía *et al.*, 2018). Pada konsentrasi rendah, *Trichoderma* spp. masih mampu mempertahankan pertumbuhan karena efek toksik fungisida belum melampaui kapasitas toleransi fisiologisnya. Akan tetapi, peningkatan konsentrasi benomyl menyebabkan semakin banyak molekul fungisida yang berinteraksi dengan protein target sehingga proses pembelahan sel dan pemanjangan hifa semakin terganggu.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Khan dan Shahzad (2007), yang melaporkan bahwa *Trichoderma harzianum* masih mampu tumbuh pada medium yang mengandung benomyl dengan konsentrasi 1–10 ppm, namun mengalami penghambatan total pada konsentrasi yang jauh lebih tinggi (100–10.000 ppm). Demikian pula, Manandhar *et al.* (2020) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi benomyl secara signifikan menurunkan pertumbuhan beberapa isolat

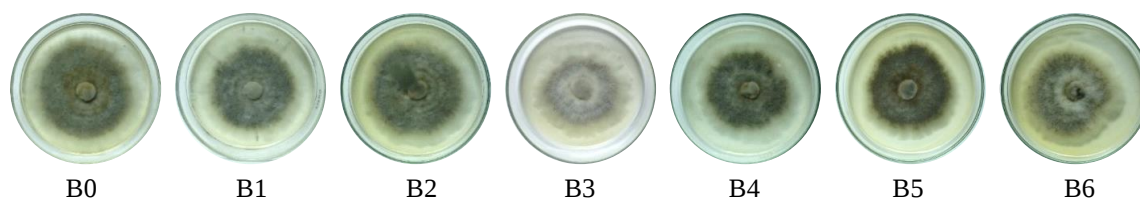
Trichoderma, sehingga kompatibilitas sangat dipengaruhi oleh dosis fungisida yang diaplikasikan. Saxena *et al.* (2014) juga melaporkan bahwa benomyl pada konsentrasi 25 ppm telah mampu menghambat pertumbuhan *T. harzianum* hingga 100%, menunjukkan bahwa toleransi *Trichoderma* terhadap fungisida memiliki batas tertentu yang dipengaruhi oleh konsentrasi bahan aktif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kedua isolat masih mampu mempertahankan kompatibilitas pada konsentrasi benomyl yang relatif rendah (≤ 5 ppm). Temuan tersebut mendukung konsep bahwa penggunaan fungisida pada dosis minimal yang masih efektif berpotensi dipadukan dengan agen pengendali hayati dalam strategi pengendalian penyakit terpadu. Pendekatan ini memungkinkan populasi *Trichoderma* tetap berkembang di lingkungan tanaman sehingga mekanisme antagonisme, seperti kompetisi ruang dan nutrisi, produksi metabolit antimikroba, serta mikoparasitisme, tetap dapat berlangsung bersamaan dengan aktivitas fungisida.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki nilai pH medium yang relatif stabil, yaitu sekitar pH 6. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa penurunan pertumbuhan *Trichoderma* spp. bukan disebabkan oleh perubahan keasaman medium, melainkan akibat efek langsung benomyl terhadap pertumbuhan fungi. Kisaran pH tersebut masih berada dalam rentang optimum pertumbuhan *Trichoderma*, yaitu sekitar pH 4,8–6,8 (Singh *et al.*, 2014). Dengan demikian, variasi pertumbuhan yang diamati dapat dikaitkan secara langsung dengan pengaruh konsentrasi fungisida.

2. Efektivitas Benomyl terhadap *Alternaria alternata*

Pengujian efektivitas benomyl dilakukan untuk menentukan dosis fungisida yang paling efektif menghambat pertumbuhan *Alternaria alternata* secara *in vitro*. Parameter yang diamati adalah nilai



Gambar 3. Hasil Uji Efek Fungisida terhadap Pertumbuhan *Alternaria alternata*

Keterangan: *A. alternata* pada fungisida benomyl; (B0) dosis 0 ppm; (B1) dosis 1 ppm; (B2) dosis 2 ppm; (B3) dosis 3 ppm; (B4) dosis 4 ppm; (B5) dosis 5 ppm; (B6) dosis 6 ppm

Hambatan Relatif (HR) berdasarkan diameter koloni *A. alternata* pada hari ke-7 setelah inokulasi, ketika koloni kontrol telah memenuhi cawan Petri.

Tabel 3. Nilai Hambatan Relatif HR benomyl terhadap diameter koloni *Alternaria alternata*

Perlakuan	Hambatan Relatif (%)
AB0	0,00a
AB1	1,37b
AB2	3,89c
AB3	8,70d
AB4	9,07d
AB5	9,07d
AB6	10,56d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05%. Kode perlakuan : (A) *A. alternata* pada fungisida benomyl; (B0) dosis 0 ppm; (B1) dosis 1 ppm; (B2) dosis 2 ppm; (B3) dosis 3 ppm; (B4) dosis 4 ppm; (B5) dosis 5 ppm; (B6) dosis 6 ppm

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian benomyl pada berbagai dosis memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan *A. alternata*. Hasil uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan dosis 0–2 ppm berbeda nyata satu sama lain, sedangkan dosis 3–6 ppm tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Berdasarkan hasil tersebut, dosis 6 ppm menghasilkan nilai HR tertinggi sehingga ditetapkan sebagai dosis tunggal yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *A. alternata* pada penelitian ini.

Penghambatan pertumbuhan *A. alternata* oleh benomyl berkaitan dengan mekanisme kerja fungisida sistemik golongan benzimidazole. Setelah diaplikasikan, benomyl akan dikonversi menjadi carbendazim yang berikatan dengan protein β -tubulin sehingga menghambat pembentukan mikrotubulus selama proses mitosis. Hambatan terhadap pembelahan sel menyebabkan pemanjangan hifa, pembentukan miselium, dan pertumbuhan koloni berlangsung lebih lambat (Corcía et al., 2018). Selain itu, benomyl juga dilaporkan mampu mengganggu sistem enzim yang berperan dalam proses invasi dan kolonisasi fungi sehingga perkembangan patogen menjadi terhambat (Sastrosuwigyono, 1985). Dengan demikian, peningkatan dosis fungisida akan meningkatkan jumlah molekul aktif yang

berinteraksi dengan target sel sehingga daya hambat terhadap pertumbuhan patogen menjadi lebih besar.

Meskipun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan efektivitas benomyl mulai mencapai kondisi yang relatif stabil pada dosis 3–6 ppm. Tidak adanya perbedaan nyata antar dosis tersebut mengindikasikan bahwa penambahan konsentrasi benomyl di atas 3 ppm hanya meningkatkan daya hambat dalam jumlah yang relatif kecil. Nilai HR tertinggi yang diperoleh pada dosis 6 ppm sebesar 10,56% masih menunjukkan bahwa benomyl sebagai perlakuan tunggal hanya memberikan penghambatan terbatas terhadap isolat *A. alternata* yang digunakan dalam penelitian ini. Kondisi tersebut mengindikasikan adanya toleransi patogen terhadap konsentrasi benomyl yang relatif rendah sehingga peningkatan dosis tidak selalu menghasilkan peningkatan efektivitas yang proporsional.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Tripathi dan Shukla (2019) yang melaporkan bahwa benomyl dosis 10 ppm hanya menghasilkan penghambatan sekitar 9,63% terhadap pertumbuhan *A. alternata*, sedangkan penghambatan total baru diperoleh pada konsentrasi yang jauh lebih tinggi. Penelitian Muljowati dan Hikam (2023), melaporkan bahwa benomyl pada dosis 25 ppm hanya mampu menghambat pertumbuhan miselium *A. alternata* sebesar 38,56%, sedangkan peningkatan dosis menjadi 125 ppm meningkatkan daya hambat hingga 59,76%. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa respons *A. alternata* terhadap benomyl sangat dipengaruhi oleh konsentrasi fungisida yang digunakan serta karakteristik isolat patogen yang diuji.

Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan benomyl secara tunggal memang mampu menekan pertumbuhan *A. alternata*, namun tingkat penghambatannya masih relatif rendah pada dosis yang diuji. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa peningkatan efektivitas pengendalian memerlukan strategi lain yang lebih berkelanjutan, salah satunya melalui kombinasi fungisida dengan agen pengendali hayati. Pendekatan tersebut diharapkan mampu meningkatkan daya hambat terhadap patogen sekaligus menurunkan kebutuhan dosis fungisida sehingga risiko resistansi patogen, residu pestisida, dan pencemaran lingkungan dapat diminimalkan (Camiletti et al., 2022).

3. Efektivitas Kombinasi *Trichoderma* spp. dan Benomyl terhadap Pertumbuhan *Alternaria alternata*

Pengujian kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas pengendalian *Alternaria alternata* melalui pendekatan pengendalian terpadu (*integrated disease management*). Perlakuan ini bertujuan untuk mengetahui apakah kombinasi agen hayati dan fungisida mampu menghasilkan penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan benomyl secara tunggal.

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Duncan terhadap Luas Koloni Patogen *Alternaria alternata*

Perlakuan	Luas Koloni Patogen (cm ²)	Hambatan Relatif (%)
Koloni Tunggal (<i>A. alternata</i>)	38,47d	-
T1AB0	0,42a	98,91
T1AB1	0,71ab	98,16
T1AB2	0,89bc	97,70
T1AB3	0,92bc	97,62
T1AB4	1,07bc	97,22
T1AB5	1,16bc	96,98
T1AB6	1,22c	96,82
T2AB0	0,41a	98,93
T2AB1	0,79abc	97,96
T2AB2	0,80abc	97,92
T2AB3	0,99bc	97,42
T2AB4	1,08bc	97,20
T2AB5	1,12bc	97,08
T2AB6	1,19c	96,91

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 0,05%

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan *A. alternata*. Berdasarkan hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT), seluruh perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap luas koloni patogen (Tabel 4). Perlakuan kontrol menghasilkan luas koloni terbesar, sedangkan kombinasi *Trichoderma* spp. dengan benomyl secara nyata menekan perkembangan koloni *A. alternata*. Nilai Hambatan Relatif (HR) yang diperoleh pada seluruh perlakuan kombinasi berkisar antara 96,82–98,16%, jauh lebih tinggi dibandingkan perlakuan benomyl tunggal yang hanya mencapai 10,56% pada dosis terbaik (Tabel 3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl memberikan efek penghambatan yang jauh lebih efektif dibandingkan aplikasi fungisida secara tunggal.

Pengamatan terhadap morfologi koloni (Gambar 4) memperlihatkan bahwa pertumbuhan *A. alternata* pada perlakuan kombinasi mengalami penekanan sejak awal masa inkubasi. Koloni *Trichoderma* spp. tumbuh lebih cepat dan segera mendominasi permukaan medium sehingga ruang tumbuh bagi *A. alternata* menjadi semakin terbatas.

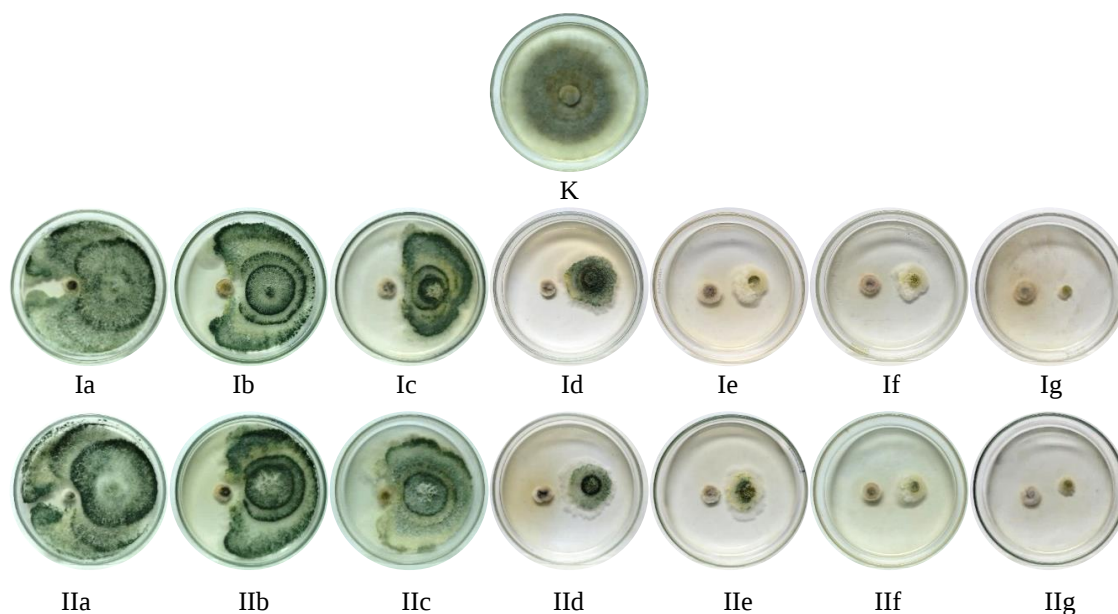
Pada akhir masa inkubasi, koloni patogen hanya berkembang pada sebagian kecil permukaan medium dan sebagian besar telah tertutupi oleh pertumbuhan *Trichoderma*. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa *Trichoderma* memiliki kemampuan kolonisasi yang lebih cepat dibandingkan *A. alternata*, sehingga mampu memenangkan kompetisi ruang dan nutrisi.

Kemampuan *Trichoderma* spp. dalam menghambat pertumbuhan patogen merupakan hasil sinergi berbagai mekanisme antagonisme. Salah satu mekanisme utama adalah kompetisi terhadap ruang dan sumber nutrisi. *Trichoderma* memiliki laju pertumbuhan miselium yang tinggi sehingga lebih cepat mengkolonisasi substrat dibandingkan fungi patogen. Dominasi ruang tersebut menyebabkan ketersediaan nutrisi bagi *A. alternata* menjadi semakin terbatas sehingga pertumbuhan patogen terhambat (Harman *et al.*, 2004). Pada penelitian ini, mekanisme tersebut tampak dari pertumbuhan koloni *Trichoderma* yang memenuhi sebagian besar permukaan medium sebelum koloni *A. alternata* berkembang secara optimal.

Selain kompetisi, penghambatan juga diduga terjadi melalui mekanisme mikoparasitisme. Selama proses ini, hifa *Trichoderma* mengenali keberadaan hifa patogen, kemudian tumbuh menuju, melilit, menempel, dan akhirnya mendegradasi dinding sel patogen menggunakan enzim hidrolitik, terutama kitinase, β -1,3-glukanase, dan protease (Monte, 2001). Enzim-enzim tersebut merusak struktur dinding sel *A. alternata*, sehingga integritas sel terganggu dan pertumbuhan miselium menjadi terhambat. Meskipun aktivitas enzimatik tidak diamati secara langsung dalam penelitian ini, tingginya nilai Hambatan Relatif menunjukkan bahwa mekanisme tersebut kemungkinan berkontribusi terhadap efektivitas penghambatan yang diamati.

Keberhasilan kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh kedua agen pengendali bekerja melalui mekanisme yang berbeda namun saling melengkapi. Benomyl menghambat pembelahan inti sel melalui gangguan pembentukan mikrotubulus, sedangkan *Trichoderma* menyerang patogen melalui kompetisi, antibiosis, dan mikoparasitisme. Kombinasi kedua mekanisme tersebut menghasilkan efek sinergis sehingga kemampuan patogen untuk mempertahankan pertumbuhan menjadi semakin rendah. Kondisi ini menjelaskan mengapa nilai HR pada perlakuan kombinasi mencapai lebih dari 96%, jauh melampaui efektivitas benomyl sebagai perlakuan tunggal.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Tozlu *et al.* (2018), yang melaporkan bahwa kombinasi isolat *Trichoderma* dengan fungisida kompatibel mampu meningkatkan efektivitas pengendalian beberapa patogen tular tanah dibandingkan penggunaan salah satu agen secara terpisah. Pagáč *et al.* (2023) juga melaporkan bahwa penggunaan fungisida pada dosis yang masih



Gambar 4. Hasil Uji Kombinasi Fungisida Benomyl dengan *Trichoderma* spp. terhadap Pertumbuhan *A. alternata*

Keterangan: (K) Koloni tunggal *A. alternata* sebagai kontrol, *Dual culture* antara *A. alternata* dengan (I) *Trichoderma* sp. isolat 1; (II) *Trichoderma* sp. isolat 2; (a) pada dosis 0 ppm; (b) dosis 1 ppm; (c) dosis 2 ppm; (d) dosis 3 ppm; (e) dosis 4 ppm; (f) dosis 5 ppm; (g) dosis 6 ppm.

kompatibel dengan *Trichoderma* dapat meningkatkan keberhasilan pengendalian penyakit sekaligus mempertahankan populasi agen hayati di lingkungan tanaman. Penelitian Kubová *et al.* (2022) menunjukkan bahwa strategi kombinasi tersebut mampu mengurangi intensitas penyakit sekaligus menekan penggunaan fungisida sintesis tanpa menurunkan efektivitas pengendalian.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat *Trichoderma* yang telah dinyatakan kompatibel terhadap benomyl pada pengujian sebelumnya tetap mampu tumbuh secara optimal ketika dikombinasikan dengan fungisida. Hal tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi benomyl yang digunakan belum memberikan efek toksik terhadap aktivitas antagonistik *Trichoderma*. Temuan ini mendukung konsep bahwa kompatibilitas merupakan faktor penting dalam pengembangan strategi pengendalian terpadu, karena penggunaan fungisida pada dosis yang terlalu tinggi justru dapat menghambat pertumbuhan agen hayati sehingga mengurangi efektivitas pengendalian penyakit (Manandhar *et al.*, 2020).

SIMPULAN

Kedua isolat *Trichoderma* spp. memiliki tingkat kompatibilitas yang berbeda terhadap fungisida benomyl, di mana *Trichoderma* sp. isolat 1 kompatibel hingga dosis 4 ppm, sedangkan isolat 2 kompatibel hingga dosis 5 ppm. Pengujian efektivitas benomyl terhadap *Alternaria alternata* menunjukkan bahwa dosis 6 ppm merupakan dosis tunggal yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan patogen, meskipun daya hambat yang dihasilkan

masih relatif rendah. Kombinasi *Trichoderma* spp. dan benomyl memberikan penghambatan yang jauh lebih tinggi terhadap pertumbuhan *A. alternata* dibandingkan penggunaan benomyl secara tunggal, dengan nilai hambatan relatif mencapai 96,82–98,16%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi *Trichoderma* spp. yang kompatibel dengan benomyl berpotensi diterapkan sebagai strategi pengendalian penyakit secara terpadu untuk meningkatkan efektivitas pengendalian *A. alternata* sekaligus mendukung pengurangan penggunaan fungisida sintesis.

DAFTAR REFERENSI

- Amaria, W., Taufiq, E. & Harni, R. 2013, Seleksi dan identifikasi jamur antagonis sebagai agens hayati jamur akar putih *Rigidoporus microporus* pada tanaman karet, *Buletin RISTRI*, 4(1), pp. 55–64.
- Aswini, A., Sharmila, T., Raaga, K., Sri Deepthi, R. & Krishna, M.S.R., 2016. In Vitro Antifungal Activity of *Trichoderma* Strains on Pathogenic Fungi Inciting Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(4), pp.425–430.
- Camiletti, B.X., Lichtemberg, P.S., Paredes, J.A., Carraro, T.A., Velascos, J. & Michailides, T.J. 2022, Characterization, pathogenicity, and fungicide sensitivity of *Alternaria* isolates associated with preharvest fruit drop in

- California citrus, *Fungal Biology*, 126(4), pp. 277–289.
- Corcía, D.V., Romero, D., de Vicente, A. & Pérez-García, A. 2018, Analysis of β -tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance, *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1–12.
- Díaz, L., Del Río, J.A. & Ortuño, A. 2018, Mechanism of the *Alternaria alternata* pathogenicity in Fortune mandarin, *Horticulturae*, 4(4), pp. 54–62.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. 2004, *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), pp. 43–56.
- Khan, M.O. & Shahzad, S. 2007, Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides, *Pakistan Journal of Botany*, 39(3), pp. 945–951.
- Kubová, Z., Pagáč, T., Víglas, J. & Olejníková, P. 2022, Detoxification and adaptation mechanisms of fungi to antifungal agents, *Acta Chimica Slovaca*, 15(1), pp. 85–96.
- Kumar, A.S., Reddy, N.E., Reddy, K.H. & Devi, M.C., 2007. Evaluation of Fungicidal Resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates Causing Mango Anthracnose in Agri Export Zone of Andhra Pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin*, 16(3), pp. 157-160.
- Manandhar, S., Timila, R.D., Karkee, A., Gupta, S.K. & Baidya, S. 2020, Compatibility study of *Trichoderma* isolates with chemical fungicides, *Journal of Agriculture and Environment*, 21(1), pp. 9–18.
- Monte, E. 2001, Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology, *International Microbiology*, 4(1), pp. 1–4.
- Muljowati, J. & Hikam, A. 2023, Evaluation of several fungicides on mycelial growth and conidial germination of *Alternaria* species causing leaf spots in sunflowers under in vitro conditions, *Asian Journal of Agriculture*, 7(1), pp. 47–51.
- Muljowati, J.S., Hikam, A.R. & Wiraswati, S.M. 2023, Kompatibilitas *Trichoderma* spp. dengan beberapa jenis fungisida sintesis, *Prosiding Seminar Nasional LPPM Unsoed*, 12(1), pp. 75–80.
- Pagáč, T., Kubová, Z., Víglas, J., Kavalová, Z. & Olejníková, P. 2023, Study on secondary metabolites of F742 and their role in antibiosis, *Acta Chimica Slovaca*, 16(1), pp. 12–21.
- Pal, K.K. & Gardener, B.M. 2006, Biological control of plant pathogens, *The Plant Health Instructor*, pp. 1–25.
- Pasalo, N.M., Kandou, F.E.F. & Singkoh, M.F.O. 2022, Uji antagonisme jamur *Trichoderma* sp. terhadap patogen *Fusarium* sp. pada tanaman bawang merah *Allium cepa* isolat lokal Tonsewer secara in vitro, *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 13(2), pp. 1–7.
- Purnawati, A., Nirwanto, H. & Rahma 2007, Kompatibilitas beberapa fungisida terhadap jamur *Trichoderma* sp. pada benih kopi robusta, *Jurnal Pertanian MAPETA*, 9(2), pp. 124–132.
- Rojas-Troncoso, R & Tiznado-Hernandez, M.E., 2014. *Alternaria alternata* (Black Rot, Black Spot). In Bautista-Banos, S., eds. Postharvest decay. United States: Academic Press, pp 147-187.
- Saxena, D., Tewari, A.K. & Rai, D. 2014, The in vitro effect of some commonly used fungicides, insecticides and herbicides for their compatibility with *Trichoderma harzianum* PBT23, *World Applied Sciences Journal*, 31(4), pp. 444–448.
- Semangun, H., 2001. *Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan Indonesia*. Yogyakarta: Gajah Mada Univ Press.
- Singh, A., Shahid, M., Srivastava, M., Pandey, S., Sharma, A. & Kumar, V. 2014, Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation, *Virology & Mycology*, 3(1), pp. 1–7.
- Susandi, Y.N., Sualang, D.S. & Paruntu, M.H. 2018, Antagonisme *Trichoderma* sp. terhadap *Alternaria porri* patogen penyakit bercak ungu tanaman bawang merah pada beberapa media, *COCOS*, 10(1), pp. 1–8.
- Sushir, M.A., Suryawanshi, K.K. & Patole, S.P. 2015, Sensitivity of *Trichoderma harzianum* Rifai against systemic fungicides, *International Journal of Applied Research*, 1(7), pp. 403–405.
- Suwignyo, S., Hersanti, H. & Widiyanti, F., 2021. Pengaruh Kitosan Nano terhadap Penyakit Bercak Coklat (*Alternaria solani* Sor.) pada Tanaman Tomat. *Agrikultura*, 32(3), pp. 239-247.
- Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R. & Örtücü, S. 2018, Investigation on the biological control of

Alternaria alternata, *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 88(8), pp. 93–99.

- Tripathi, P. & Shukla, A.K. 2019, Assessment of in vitro antifungal prospective of fungicides against *Alternaria alternata*, a causal organism of potato brown spot and early blight disease, *International Journal of Advances in Agricultural Science and Technology*, 6(10), pp. 62–71.
- Yang, L.N., He, M.H., Ouyang, H.B., Zhu, W., Pan, Z.C., Sui, Q.J., Shang, L.P. & Zhan, J. 2019, Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action, *BMC Microbiology*, 19(1), pp. 1–10.