



Efektivitas Filtrat *Trichoderma asperellum* TKD terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

The Effectiveness of *Trichoderma asperellum* TKD Filtrate on the Growth of *Aspergillus flavus* in Arabica Coffee Beans (*Coffea arabica*)

Anak Agung Devina Asana Putri¹, Meitini Wahyuni Proborini^{1*}, Putu Shinta Devi²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jalan Raya Kampus Unud Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia.

²Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar

Jalan Raya Sesetan No.312 /Jalan Raya Benoa No. 20, Pedungan, Denpasar, Bali, Indonesia.

Email: pmeitini@unud.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Holes in arabica coffee beans due to borer can decrease production; therefore, easily infected by *A. flavus* spores. This study aimed to test effectiveness of *T. asperellum* TKD filtrate on *A. flavus* in arabica coffee beans in vitro and in vivo. In vitro and in vivo treatments were negative control, positive control, 10, 30, 50, 70, and 90% (v/v) filtrate concentrations. The parameters observed were *A. flavus* population after in vitro by filtrate treatment to *A. flavus* and in vivo by filtrate treatment to arabica coffee beans. The results showed 10-90% (v/v) concentration of *T. asperellum* TKD filtrate was effective reduced *A. flavus* population in arabica coffee beans in vitro and in vivo ($P < 0,05$). In vitro test showed diameter of the largest inhibition zone was $11,56 \pm 0,83$ mm after 90% (v/v) filtrate treatment and diameter of the smallest clear zone was $3,38 \pm 1,32$ mm after 10% (v/v) filtrate treatment. In vivo test showed the smallest population was $5 \times 10^5 \pm 0,07$ CFU/g after 90% (v/v) filtrate treatment, and the largest population was $50,0 \times 10^5 \pm 0,01$ CFU/g after 10% (v/v) filtrate treatment. *T. asperellum* TKD filtrate was able to produced dependent concentration reducing *A. flavus* population in arabica coffee beans in vitro and in vivo.

Keywords: antifungal, arabica coffee, *Aspergillus flavus*, filtrate, *Trichoderma asperellum* TKD.

Abstrak

Penurunan produksi biji kopi arabika diakibatkan oleh keberadaan hama penggerek yang melubangi biji sehingga mudah terinfeksi spora *A. flavus*. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji efektivitas filtrat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* pada biji kopi arabika secara *in vitro* dan *in vivo*. Perlakuan secara *in vitro* dan *in vivo* yaitu kontrol negatif, kontrol positif, filtrat konsentrasi 10, 30, 50, 70, dan 90% (v/v). Parameter yang diamati adalah populasi *A. flavus* setelah perlakuan *in vitro* dengan pengujian filtrat ke *A. flavus* dan *in vivo* dengan pengujian filtrat ke biji kopi arabika. Hasil penelitian menunjukkan filtrat *T. asperellum* TKD konsentrasi 10-90% (v/v) efektif dalam mengurangi populasi *A. flavus* secara *in vitro* dan *in vivo* pada biji kopi arabika ($P \leq 0,05$). Pengujian secara *in vitro* menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada perlakuan 90% (v/v) filtrat yaitu $11,56 \pm 0,83$ mm, sedangkan diameter zona bening terkecil pada perlakuan 10% (v/v) filtrat yaitu $3,38 \pm 1,32$ mm. Pengujian secara *in vivo* menunjukkan populasi terkecil pada 90% (v/v) filtrat yaitu $5 \times 10^5 \pm 0,07$ CFU/g, sedangkan populasi terbesar pada 10% (v/v) filtrat yaitu $50,0 \times 10^5 \pm 0,01$ CFU/g. Filtrat *T. asperellum* TKD mampu menghasilkan konsentrasi dependen dalam mengurangi populasi *A. flavus* pada biji kopi arabika secara *in vitro* dan *in vivo*.

Kata kunci: antijamur, *Aspergillus flavus*, filtrat, kopi arabika, *Trichoderma asperellum* TKD.

Diterima: 4 Juli 2022, disetujui: 15 Juli 2022

Pendahuluan

Biji kopi arabika (*Coffea arabica*) merupakan komoditas unggulan pada subsektor perkebunan Indonesia (Martauli, 2018). Peluang biji kopi arabika di pasar ekspor didukung oleh ketersediaan lahan dalam pengembangan tanaman, namun terdapat kendala yang dihadapi oleh masyarakat yaitu teknik budidaya yang belum sesuai dengan *Good Agricultural Practices* (GAP) (Titisari, 2016). Hal tersebut menyebabkan rendahnya kualitas biji yang dihasilkan oleh tanaman kopi arabika sehingga mudah terkontaminasi oleh hama penggerek buah kopi dan mikroorganisme patogen (Maharani *et al.*, 2013; Widiastuti *et al.*, 2015).

Mikroorganisme patogen yang menginfeksi biji kopi arabika adalah spora jamur melalui vektor udara dan hama penggerek buah kopi (Maharani *et al.*, 2013). Keberadaan hama penggerek buah kopi dapat menentukan kontaminasi jamur karena ditemukan 12,5% jamur *Aspergillus* pada saluran pencernaan hama (Velmourougane *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Lilia *et al.* (2021) terdapat 13 jenis kontaminan jamur pada biji kopi arabika, salah satunya adalah *Aspergillus flavus* sebesar 83,3%. Tingginya kontaminasi *A. flavus* pada biji kopi arabika disebabkan oleh ukuran spora yang kecil dan massa spora yang ringan sehingga mudah menyebar di udara kemudian mencemari komoditas pertanian (Gandjar *et al.*, 1999).

Keberadaan *A. flavus* pada biji kopi arabika berkorelasi dengan tingkat mikotoksin (Rahayu, 2006). Pencegahan kontaminasi mikotoksin pada komoditas pertanian dapat dilakukan dengan metode fisik dan kimiawi, namun metode tersebut memiliki dampak negatif apabila digunakan dalam jangka panjang. Langkah alternatif yang dapat dilakukan dalam pengendalian *A. flavus* adalah penggunaan *Trichoderma* (Kifle *et al.*, 2016).

Trichoderma mampu memproduksi metabolit sekunder yang berperan dalam menghambat pertumbuhan patogen tanaman (Bhardwaj & Kumar, 2017). Aplikasi *Trichoderma* pada kontaminan patogen di permukaan jagung sebagai pakan konsentrat dilakukan dengan pemberian formulasi cair (filtrat) *Trichoderma asperellum* TKD (Darmayasa *et al.*, 2014). Sibero *et al.*, (2019) melaporkan bahwa filtrat *T. asperellum* MT02

mengandung metabolit sekunder, antara lain peptaibols, alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid, dan saponin yang memiliki potensi sebagai antijamur, antivirus, antioksidan, dan antikanker. Metabolit sekunder yang beragam dari *T. asperellum* TKD diharapkan mampu meningkatkan produksi biji kopi arabika dengan meminimalisir kontaminasi dari *A. flavus*. Maka dari itu, perlu dilakukan pengujian efektivitas filtrat *T. asperellum* TKD dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *A. flavus* yang diisolasi dari biji kopi arabika secara *in vitro* dan *in vivo*.

Metode Penelitian

Pemeriksaan *A. flavus* pada biji kopi arabika

Kertas saring diletakkan pada cawan petri steril, kemudian dibasahi dengan *aquadest*. Biji kopi arabika diletakkan di atas kertas saring dengan pinset steril, kemudian diinkubasi selama 7 hari dalam inkubator bersuhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Keberadaan *A. flavus* diamati dan persentase infeksi dihitung dengan rumus (Lilia *et al.*, 2021).

$$\text{Infeksi jamur (\%)} = \frac{\text{Biji yang terinfeksi jamur}}{\text{Total biji yang digunakan}} \times 100\%$$

Identifikasi *A. flavus* pada biji kopi arabika

Jamur *A. flavus* pada biji kopi arabika diremajakan pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dan diinkubasi selama 4 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Identifikasi *A. flavus* dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan pembuatan preparat hasil isolasi, kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 400x. Hasil identifikasi dibandingkan dengan literatur Pengenalan Kapang Tropik Umum (1999) dan *Fungi and Food Spoilage* (2009).

Reidentifikasi *T. asperellum* TKD

Jamur *T. asperellum* TKD diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana. *T. asperellum* TKD diremajakan pada media PDA dan diinkubasi selama 4 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

Reidentifikasi *T. asperellum* TKD dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Reidentifikasi mikroskopis dilakukan dengan pembuatan preparat hasil isolasi, kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 400x. Hasil identifikasi dicocokkan pada literatur Pengenalan Kapang Tropik Umum (1999) dan *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (2002).

Pengujian daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* dengan metode kultur ganda

Jamur *A. flavus* dan *T. asperellum* TKD diambil dengan *cork borer*, lalu diletakkan berlawanan arah dengan jarak 3 cm dari masing-masing tepi cawan Petri. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Persentase daya hambat diamati pada hari ke-7 dan dihitung dengan rumus *Percentage Inhibition of Radial Growth* (PIRG) (Mardhatillah, 2018). R1 adalah jari-jari *A. flavus* tanpa *T. asperellum* TKD, sedangkan R2 adalah jari-jari *A. flavus* dengan *T. asperellum* TKD.

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Pembuatan ekstrak filtrat *T. asperellum* TKD

Jamur *T. asperellum* TKD diinokulasikan ke media PDB pada botol vial. Botol vial berisi potongan *T. asperellum* TKD digoyang dengan kecepatan 100 rpm di *incubator shaker* selama 21 hari pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) (Darmayasa et al., 2014). Jamur *T. asperellum* TKD pada media PDB disaring dengan kain kasa dan kertas saring. Filtrat *T. asperellum* TKD dimasukkan ke dalam corong pemisah, kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 2:1 (filtrat:pelarut). Metabolit sekunder *T. asperellum* TKD yang telah terikat pada fase pelarut etil asetat dipisahkan dengan corong pemisah, lalu dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator with waterbath* (Buchi®) pada suhu 40°C , kecepatan 150 rpm, dan *vacuum* 140 mbar. Ekstrak filtrat disimpan pada botol kaca dengan pelapis aluminium foil pada suhu 4°C (Sibero et al., 2019).

Pembuatan suspensi spora *A. flavus*

Jamur *A. flavus* yang berusia 7 hari pada media PDA miring ditambahkan *aquadest* sebanyak 10 mL, kemudian jarum ose steril diusap-usapkan pada permukaan koloni. Suspensi spora *A. flavus* dipindahkan pada botol vial steril (Sudirga, 2016).

Pengujian daya hambat filtrat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* dengan metode sumur difusi

Sebanyak 500 μL suspensi spora *A. flavus* dimasukkan ke cawan petri dengan mikropipet, kemudian media PDA cair suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ dituang sebanyak 20 mL dan ditunggu hingga memadat. Lubang sumuran dibuat pada media PDA bersuspensi spora *A. flavus* dengan *cork borer*, kemudian konsentrasi ekstrak filtrat *T. asperellum* TKD dimasukkan sebanyak 20 μL dengan mikropipet ke dalam masing-masing lubang sumuran (Andriani et al., 2021). Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Diameter zona bening diukur dengan jangka sorong, kemudian hasil pengukuran disubstitusikan pada rumus (Surjowardojo et al., 2016).

$$\text{Diameter zona bening} = \frac{D1 \text{ (mm)} + D2 \text{ (mm)}}{2} - X$$

D1 adalah diameter vertikal zona bening, D2 adalah diameter horizontal zona bening, serta X adalah diameter lubang sumuran (Surjowardojo et al., 2016). Kategori kemampuan penghambatan berdasarkan diameter zona bening, meliputi lemah (≤ 5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat (≥ 21 mm) (Surjowardojo et al., 2015). Perlakuan konsentrasi filtrat *T. asperellum* TKD yang digunakan pada prosedur penelitian dengan metode sumur difusi, meliputi:

K(-) = *A. flavus* + etil asetat 1% (v/v)

K(+) = *A. flavus* + ketoconazole 10% (b/v)

TA₁₀ = *A. flavus* + filtrat *T. Asperellum* TKD konsentrasi 10% (v/v)

TA₃₀ = *A. flavus* + filtrat *T. asperellum* TKD konsentrasi 30% (v/v)

TA₅₀ = *A. flavus* + filtrat *T. asperellum* TKD konsentrasi 50% (v/v)

TA₇₀ = *A. flavus* + filtrat *T. asperellum* TKD konsentrasi 70% (v/v)

TA₉₀ = *A. flavus* + filtrat *T. asperellum* TKD konsentrasi 90% (v/v)

Aplikasi filtrat *T. asperellum* TKD terhadap populasi *A. flavus* pada biji kopi arabika

Lima gram biji kopi arabika steril diletakkan pada cawan Petri steril, lalu aplikasi

filtrat diberikan sesuai dengan Tabel 1. Inkubasi dilakukan selama 15 hari pada inkubator dengan suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) (Rahmadanty, 2021).

Tabel 1. Aplikasi filtrat *T. asperellum* TKD

Perlakuan	Keterangan
A ₀	Biji (Kontrol negatif)
A ₁	Biji + <i>A. flavus</i> (Kontrol positif)
A ₁ + TA ₁₀	Biji + <i>A. flavus</i> + 10% filtrat
A ₁ + TA ₃₀	Biji + <i>A. flavus</i> + 30% filtrat
A ₁ + TA ₅₀	Biji + <i>A. flavus</i> + 50% filtrat
A ₁ + TA ₇₀	Biji + <i>A. flavus</i> + 70% filtrat
A ₁ + TA ₉₀	Biji + <i>A. flavus</i> + 90% filtrat

Perhitungan populasi *A. flavus* (CFU/g) pada biji kopi arabika dilakukan dengan metode tuang hingga tingkat pengenceran 10^{-5} , kemudian perhitungan populasi dilanjutkan dengan rumus (Waluyo, 2019).

$$\text{CFU/g} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Persentase penurunan populasi *A. flavus* dihitung dengan rumus. CBI (*Colonies Before Incubation*) adalah jumlah koloni sebelum inkubasi dan CAI (*Colonies After Incubation*) adalah jumlah koloni setelah inkubasi (Microchem Laboratory, 2022):

$$\text{Penurunan populasi (\%)} = \frac{\text{CBI} - \text{CAI}}{\text{CBI}} \times 100$$

Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) bertaraf 5% ($P \leq 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan pengujian Duncan pada *software* IBM SPSS Statistic 25. Data kuantitatif dan kualitatif ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

Hasil dan Pembahasan**Pemeriksaan *A. flavus* pada biji kopi arabika**

Biji kopi arabika yang telah dilakukan pemeriksaan persentase infeksi *A. flavus* berasal dari gudang penyimpanan kargo di daerah Denpasar. Rerata infeksi *A. flavus* pada biji kopi arabika tersebut adalah $60 \pm 5,44\%$ (Tabel 2).

Tabel 2. Persentase infeksi *A. flavus*

N	Sub unit			Total sampel	Infeksi (%)	Rerata (%)
	I	II	III			
A	3	3	4	15	67	$60 \pm 5,44$
B	4	3	2	15	60	
C	3	4	1	15	53	

Keterangan: Nilai pada rerata infeksi merupakan rerata \pm standar deviasi. N = ulangan.

Berdasarkan prosedur pemeriksaan jamur yang telah dilakukan pada biji kopi arabika diperoleh beberapa jenis *Aspergillus* yang menginfeksi, salah satunya adalah *A. flavus* sebesar $60 \pm 5,44\%$ (Tabel 2). Infeksi *A. flavus* pada biji kopi arabika akibat kandungan gizi yang terdapat pada biji tersebut, antara lain kadar air sebesar 9,87% dan karbohidrat sebesar 58,40% (Kurniawan, 2017). Karbohidrat dan kadar air pada biji mampu

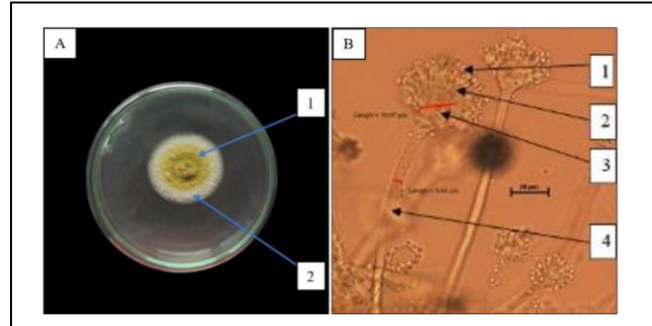
mendukung kebutuhan nutrisi bagi jamur *Aspergillus* untuk perkecambahan spora, pertumbuhan biomassa jamur, dan metabolisme sel jamur (Hamad *et al.*, 2014; Pitt & Hocking, 2009).

Identifikasi *A. flavus* pada biji kopi arabika

Karakter makroskopis *A. flavus* pada media PDA, meliputi koloni dengan permukaan berwarna hijau kekuningan dan

koloni bagian basal kuning muda, koloni kasar dan *powdery*, tidak terdapat garis radial, terdapat zona pertumbuhan, dan terdapat zonasi. Karakter mikroskopis *A. flavus* dengan

perbesaran 400x meliputi, hifa tunggal, konidia bulat, terdapat sterigma, vesikel bulat, vesikel berdiameter 19,47 μm , konidiofor tunggal, dan konidiofor berdiameter 5,44 μm . (Gambar 1).



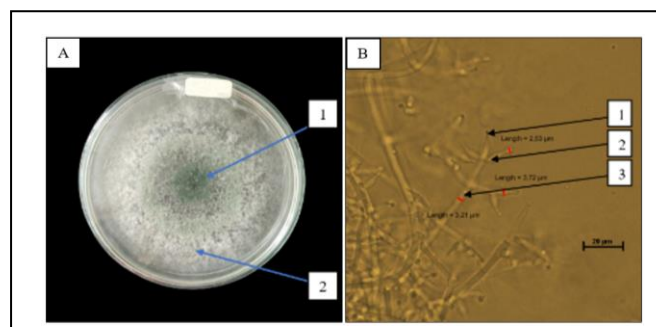
Gambar 1. Karakter morfologi *A. flavus*. Keterangan: (A) Karakter makroskopis: (1) Zona pertumbuhan dan (2) Zonasi; dan (B) Karakter mikroskopis perbesaran 400x: (1) Konidia, (2) Sterigmata, (3) Vesikel, dan (4) Konidiofor.

Jamur *A. flavus* yang telah berhasil diisolasi dari biji kopi arabika menunjukkan karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis (Gambar 1). Hasil identifikasi *A. flavus* secara makroskopis, meliputi miselium berwarna hijau kekuningan dengan tepi putih, sebalik koloni tidak berwarna, permukaan koloni datar, dan mengalami penebalan pada bagian tengah koloni. Karakter mikroskopis *A. flavus*, antara lain konidiofor berasal dari permukaan miselium, *stipe* memiliki panjang 400 μm hingga lebih dari 1 mm, tidak berwarna atau coklat pucat, berdinding kasar; vesikel bulat berdiameter 20-50 μm , umumnya terdapat metula dan fialid; metula dan fialid memiliki ukuran yang sama yaitu panjang 7-10 μm ; konidia bulat sampai subsferoid dengan diameter 3,5–5,0 μm , berdinding relatif tipis

dan kasar atau, jarang dan halus (Pitt & Hocking, 2009).

Reidentifikasi *T. asperellum* TKD

Karakter makroskopis *T. asperellum* TKD pada media PDA meliputi, koloni hijau bertepi putih, sebalik koloni putih kehijauan, koloni kasar dan *cottony*, tidak terdapat garis radial, terdapat zona pertumbuhan, dan terdapat zonasi. Karakter mikroskopis *T. asperellum* TKD dengan perbesaran 400x meliputi, hifa bersepta, konidia bulat, konidia berdiameter 2,53 μm , fialid oval, fialid berdiameter 3,72 μm , konidiofor bercabang, dan konidiofor berdiameter 3,21 μm (Gambar 2).



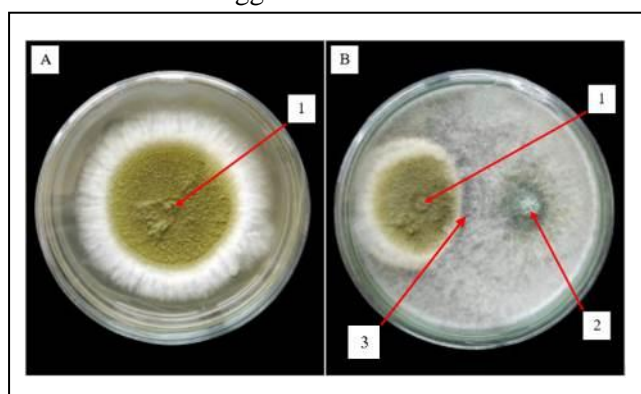
Gambar 2. Karakter morfologi *T. asperellum* TKD. Keterangan: (A) Karakter makroskopis: (1) Zona pertumbuhan dan (2) Zonasi; dan (B) Karakter mikroskopis dengan perbesaran 400x: (1) Konidia, (2) Fialid, dan (3) Konidiofor.

Hasil reidentikasi *T. asperellum* TKD dapat dilihat karakter makroskopis dan mikroskopis (Gambar 2). Menurut Wu *et al.* (2017), jamur *T. asperellum* memiliki koloni dengan permukaan berwarna hijau tua dan koloni bagian basal berwarna putih; koloni bertekstur kasar; serta pertumbuhan spora mulai terbentuk pada bagian tengah koloni. Karakter mikroskopis *T. asperellum*, meliputi konidiofor bercabang dengan cabang sekunder; percabangan utama tampak berlawanan dengan percabangan lainnya; fialid memiliki tangkai pendek dengan bagian ujung meruncing, panjang 5,24–9,75 μm dan lebar 2,00–2,55 μm ; konidia diproduksi pada ujung fialid, berwarna hijau dan berbentuk bulat hingga

bulat telur dengan permukaan berduri halus, letak yang tersebar hingga berkerumun, dan berdiameter 2,35–3,95 μm (Wang *et al.*, 2021).

Daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* dengan metode kultur ganda

Hasil pengujian menunjukkan rerata jari-jari *A. flavus* tanpa perlakuan *T. asperellum* TKD adalah $37,60 \pm 2,65$ mm, sedangkan rerata jari-jari *A. flavus* pada perlakuan antagonis adalah $16,80 \pm 0,75$ mm. Rerata persentase kemampuan daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* adalah $55,32 \pm 2,65\%$ (Gambar 3).



Gambar 3. Daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* dengan metode kultur ganda. Keterangan: (A) AF: 1) *A. flavus*; (B) TA + AF: 1) *A. flavus*; 2) *T. asperellum* TKD; 3) Zona hambatan.

Kemampuan daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* disebabkan oleh mekanisme antagonis *Trichoderma*, antara lain kompetisi, mikoparasit, dan antibiosis (Hastuti *et al.*, 2014). Ainy *et al.* (2015) menyebutkan bahwa pertumbuhan miselium yang cepat memberikan keuntungan pada *Trichoderma* untuk berkompetisi dengan jamur patogen dalam memperoleh nutrisi dan ruang. Kemampuan mikoparasitisme *Trichoderma* mampu menghasilkan enzim hidrolitik yang berperan dalam menguraikan dinding sel jamur patogen sehingga membentuk lubang pada hifa jamur patogen (Lone *et al.*, 2012). Hal tersebut menyebabkan hifa *Trichoderma* dapat melakukan penetrasi

ke dalam sel hifa jamur patogen untuk mengambil nutrisi dalam sel, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan hingga kematian jamur patogen (Hastuti *et al.*, 2014). Antibiotik yang dihasilkan oleh mekanisme antibiosis *Trichoderma* mampu merusak membran sel patogen hingga mengalami mikolisis (Ainy *et al.*, 2015).

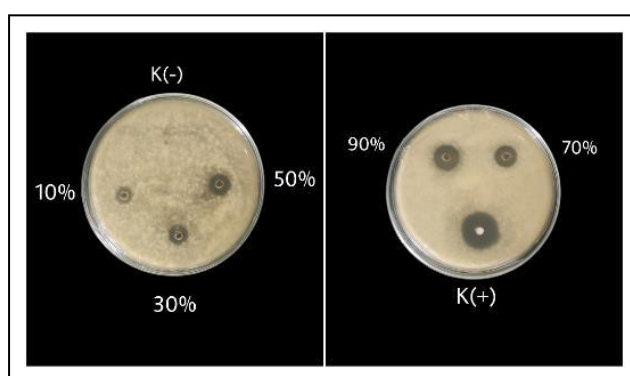
Daya hambat filtrat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* secara *in vitro*

Diameter zona bening pada perlakuan masing-masing konsentrasi filtrat *T. asperellum* TKD memiliki pengaruh yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengujian daya hambat filtrat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* secara *in vitro*

Perlakuan	Diameter zona bening (mm)
Kontrol (-)	0,00 ± 0,00 ^a
10 % (v/v)	3,38 ± 1,32 ^b
30 % (v/v)	5,63 ± 0,28 ^c
50 % (v/v)	7,58 ± 0,52 ^d
70 % (v/v)	8,58 ± 0,46 ^e
90 % (v/v)	11,56 ± 0,83 ^f
Kontrol (+)	16,60 ± 0,26 ^g

Keterangan: Nilai pada tabel 3 merupakan nilai rerata dari 4 kali ulangan. Nilai yang diikuti oleh notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai rerata yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA). Kontrol negatif adalah pelarut etil asetat konsentrasi 1% (v/v), konsentrasi filtrat adalah perbandingan ekstrak filtrat dengan pelarut etil asetat 1% (v/v), dan kontrol positif adalah suspensi sediaan antijamur ketoconazole 10% (b/v).



Gambar 4. Daya hambat filtrat *T. asperellum* TKD terhadap *A. flavus* secara *in vitro*.

Seluruh konsentrasi filtrat *T. asperellum* TKD menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* dengan terbentuknya zona bening di sekitar lubang sumuran (Tabel 3 dan Gambar 4). Berdasarkan kategori kemampuan penghambatan ekstrak terhadap pertumbuhan patogen oleh Surjowardojo *et al.* (2015) filtrat konsentrasi 10% termasuk dalam kategori lemah (≤ 5 mm), filtrat konsentrasi 30%, 50%, dan 70% termasuk dalam kategori sedang (6-10 mm), serta filtrat konsentrasi 90% termasuk dalam kategori kuat (11-20 mm). Kemampuan *T. asperellum* TKD dalam menghambat *A. flavus* kemungkinan disebabkan oleh produksi metabolit sekunder berupa lakton dengan jenis 6-pentyl- α -pyrone (6PP) yang mampu menghambat germinasi spora. Ismaiel & Ali (2017) menyebutkan bahwa 6PP pada konsentrasi 75 $\mu\text{g/mL}$ diketahui efektif dalam mengurangi produksi senyawa aflatoxin B1 yang dihasilkan oleh *A. flavus* dan *A. parasiticus* hingga persentase 54,63%. Hasil pengujian fitokimia yang dilakukan oleh Sibero *et al.* (2019) juga menyebutkan bahwa

filtrat *T. asperellum* MT02 yang diekstrak dengan etil asetat mengandung senyawa alkaloid, fenol hidrokuinon, flavonoid, dan saponin.

Aplikasi filtrat *T. asperellum* TKD terhadap populasi *A. flavus* pada biji kopi arabika secara *in vivo*

Penurunan populasi *A. flavus* pada permukaan biji kopi arabika setelah pengaplikasian masing-masing konsentrasi filtrat *T. asperellum* TKD memiliki pengaruh yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) (Tabel 4). Penurunan populasi *A. flavus* pada permukaan biji kopi arabika setelah pemberian ekstrak filtrat *T. asperellum* TKD menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak filtrat yang diaplikasikan, maka semakin tinggi persentase penghambatan populasi *A. flavus*. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Yusuf *et al.* (2012) yaitu semakin tinggi konsentrasi suatu antimikroorganisme, maka semakin besar efek penghambatan terhadap populasi mikroorganisme.

Tabel 4. Dampak aplikasi filtrat *T. asperellum* TKD terhadap populasi *A. flavus* pada biji kopi arabika

Perlakuan	Jumlah koloni <i>A. flavus</i> (CFU/g)		Penurunan <i>A. flavus</i> (%)
	Sebelum inkubasi (T ₀)	Setelah inkubasi (T ₁₅)	
AF ₀	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 ^a	0,00
AF	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	60,5 × 10 ⁵ ± 0,01 ^g	0,00
AF + TA ₁₀	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	50,0 × 10 ⁵ ± 0,01 ^f	5,30
AF + TA ₃₀	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	39,0 × 10 ⁵ ± 0,07 ^e	26,14
AF + TA ₅₀	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	20,0 × 10 ⁵ ± 0,03 ^d	62,12
AF + TA ₇₀	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	13,2 × 10 ⁵ ± 0,05 ^c	75,00
AF + TA ₉₀	52,8 × 10 ⁵ ± 0,02	5,00 × 10 ⁵ ± 0,07 ^b	90,53

Keterangan: Nilai pada tabel 4 merupakan nilai rerata dari 4 kali ulangan. Nilai yang diikuti oleh notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai rerata yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA). AF₀ = Biji kopi arabika tanpa filtrat dan tanpa *A. flavus*; AF = Biji + *A. flavus*; AF + TA₁₀ = Biji + *A. flavus* + 10% (v/v) filtrat; AF + TA₃₀ = Biji + *A. flavus* + 30% (v/v) filtrat; AF + TA₅₀ = Biji + *A. flavus* + 50% (v/v) filtrat; AF + TA₇₀ = Biji + *A. flavus* + 70% (v/v) filtrat; dan AF + TA₉₀ = Biji + *A. flavus* + 90% (v/v) filtrat.

Dampak aplikasi filtrat *T. asperellum* TKD telah terbukti mampu mengurangi populasi *A. flavus* pada permukaan biji kopi arabika (Tabel 4). Jamur *T. asperellum* kemungkinan mampu memproduksi metabolit sekunder berupa senyawa organik volatil yang berperan sebagai antijamur (Kamaruzzaman *et al.*, 2021). Senyawa organik volatil tersebut salah satunya adalah 6-pentyl- α -pyrone atau 6-pentyl-2h-pyran-2-one. Dampak dari paparan senyawa organik volatil yang diproduksi oleh *T. asperellum* adalah pertumbuhan struktur hifa jamur patogen menjadi tidak normal (Intana *et al.*, 2021). Wonglom *et al.* (2020) juga menyebutkan bahwa senyawa organik volatil yang dihasilkan oleh *T. asperellum* T1 menyebabkan perubahan morfologi pada struktur hifa jamur patogen seperti kelayuan dan tekstur yang kasar pada permukaan dinding sel jamur patogen sehingga terjadi penurunan populasi jamur patogen yang menginfeksi produk pasca panen.

Simpulan

Filtrat *T. asperellum* TKD efektif dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* yang diisolasi dari biji kopi arabika secara *in vitro* dan *in vivo* pada rentang konsentrasi 10% (v/v) hingga 90% (v/v). Konsentrasi filtrat 90% (v/v) merupakan konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* yang diisolasi dari biji kopi arabika secara *in vitro* dan *in vivo*. Filtrat *T. asperellum* TKD mampu menghasilkan konsentrasi dependen sebagai antijamur yang ditunjukkan dengan

kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Dr. Drs. Ida Bagus Gede Darmayasa atas izin dalam penggunaan isolat *T. asperellum* TKD, analisis laboratorium yang telah memberikan kepercayaan dalam pengerjaan prosedur penelitian di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan (Mikologi) Program Studi Biologi FMIPA Universitas Udayana, Bapak drh. I Putu Terunanegara, M.M. selaku Kepala Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar atas izin peminjaman lokasi penelitian, dan seluruh analis perkarantina tumbuhan Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar yang telah memberikan kepercayaan dalam pengerjaan prosedur penelitian di Laboratorium Karantina Tumbuhan.

Daftar Pustaka

- Ainy, E. Q., Ratnayani, R., & Susilawati, L. (2015). Uji Aktivitas Antagonis *Trichoderma Harzianum* 11035 terhadap *Colletotrichum capsici* TCKR2 dan *Colletotrichum acutatum* TCK1 Penyebab Antraknosa pada Tanaman Cabai. Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi. FKIP UNS. Surakarta.
- Andriani, A., Wirawan, I. G. P., & Suada, I.K. (2021). Aktivitas In Vitro Anti Jamur Ekstrak Bulung Sangu *Gracilaria* sp. Terhadap Jamur Patogen *Fusarium solani*

- (Mart) Sacc. Cabai Rawit. *Jurnal Agroetnologi Tropika* 10(2): 141-152.
- Bhardwaj, N. R., & Kumar, J. (2017). Characterization of volatile secondary metabolites from *Trichoderma asperellum*. *Journal of Applied and Natural Science* 9(2): 954-959.
- Darmayasa, I. B. G., Sentana, P., Sujaya, I. N., & Sukrama, I. D. M. (2014). The *Trichoderma asperellum* TKD Filtrate Potency in Reducing Contaminants of Aflatoxins B1 Produced by *Aspergillus flavus* FNCC 6109 on Concentrate Feed. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 2(6): 20-26.
- Gandjar, I., Samson, R. A., Oetari, A., Santoso, I., & Vermeulen, K. T. (1999). *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Hamad, H. O., Alma, M. H., Ismael, H. M., & Goceri, A. (2014). The Effect of Some Sugars on The Growth of *Aspergillus niger*. *KSU J. Nat. Sci* 17(4): 7-11.
- Hastuti, U. S., Aisarah, S., & Yusnawan, E. (2014). *Antagonisme Antara Kapang Trichoderma spp. Terhadap Fusarium solani Secara In Vitro Serta Mekanisme Antagonismenya*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Malang.
- Intana, W., Kheawlang, S., & Sunpapao, A. (2021). *Trichoderma asperellum* T76-14 Released Volatile Organic Compounds against Postharvest Fruit Rot in Muskmelons (*Cucumis melo*) Caused by *Fusarium incarnatum*. *Journal of Fungi* 7(1): 46.
- Ismaiel, A. A. & Ali, D. M.I. (2017). Antimicrobial Properties of 6-pentyl- α -pyrone Produced by Endophytic Strains of *Trichoderma koningii* and Its Effect on Aflatoxin B1 Production. *Biologia* 72(12): 1403-1415.
- Kamaruzzaman, M., Islam, M. S., Mahmud, S., Polash, S.A., Sultana, R., Hasan, M. A., Wang, C., & Jiang, C. (2021). In Vitro and In Silico Approach of Fungal Growth Inhibition by *Trichoderma asperellum* HbGT6-07 Derived Volatile Organic Compounds. *Arabian Journal of Chemistry* 14(9):1-21.
- Kifle, M. H., Yobo, K. S., & Laing, M. D. (2016). Biocontrol of *Aspergillus flavus* in Groundnut Using *Trichoderma harzianum* Stain KD. *Journal of Plant Diseases and Protection* 124(1): 51–56.
- Kurniawan, F. (2017). *Karakterisasi dan Klasifikasi Biji Kopi Java Arabika Berdasarkan Indikasi Geografis Menggunakan Metode NIR Spectroscopy dan Analisis Diskriminan [Tesis]*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lilia, D., Damiri, N., Zulkarnain, M., & Mulawarman. (2021). Short Communication: Drying Methods and Diversity of Contaminant Fungi on Coffee Beans in South Ogan Komering Ulu District, South Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas* 22(2): 1037-1042.
- Lone, M. A., Wani, M. R., Sheikh, S. A., Sahay, S., & Dar, M. S. (2012). Antagonistic Potentiality of *Trichoderma harzianum* Against *Cladosporium sphaerospermum*, *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Journal of Biology, Agriculture, and Healthcare* 2(8): 72-76.
- Maharani, J. S., Susilo, F. X., Swibawa, I. G., & Prasetyo, J. (2013). Keterjadian Penyakit Tersebab Jamur pada Hama Penggerek Buah Kopi (PBKO) di Pertanaman Kopi Agroforestri. *J. Agrotek Tropika* 1(1): 86-91.
- Mardhatillah, Z. (2018). *Keefektifan Trichoderma harzianum dan Trichoderma koningii dalam Pengendalian Penyakit Moler Pada Bawang Merah [Tesis]*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Martauli, E. D. (2018). Analisis Produksi Kopi di Indonesia. *Jurnal Agrobusiness Sciences* 1(2): 112-120.
- Microchem Laboratory. (2022). *Log and Percent Reductions in Microbiology and Antimicrobial Testing*. <https://microchemlab.com/information/log-and-percent-reductions-microbiology-and-antimicrobial-testing/>.
- Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer. Boston.
- Rahayu, W. P. (2006). *Mikotoksin dan Mikotoksis: Mikrobiologi Keamanan Pangan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmadanty, N. H. (2021). *Potensi Filtrat Trichoderma asperellum TKD dalam Menghambat Kontaminasi Aspergillus parasiticus pada Biji Kacang Tanah*

- (*Arachis hypogaea* L.) [Tesis]. Universitas Udayana. Denpasar.
- Sibero, M. T., Sabdaningsih, A., Radjasa, O. K., Sabdono, A., Trianto, A., & Subagiyo. (2019). Karakterisasi Senyawa Bioaktif Kapang Laut *Trichoderma asperellum* MT02 dengan Aktivitas Anti-Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) *E. coli*. *Jurnal Kelautan Tropis* 22(1): 9–18.
- Sudirga, S. K. (2016). Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum* spp. Isolat PCS Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Besar (*Capsicum annuum* L.) di Bali. *Jurnal Metamorfosa* 3(1): 23-30.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. E., & Benarivo, V. (2016). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *J. Ternak Tropika* 17(1): 11-21.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. E., & Sirait, G. R. B. (2015). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *J. Ternak Tropika* 16(2): 40-48.
- Titisari, P. (2016). *Alternatif Tindakan Meningkatkan Pendapatan Petani Kopi Rakyat Kabupaten Jember*. Prosiding Seminar Nasional. Jember.
- Velmourougane, K., Bhat, R., & Gopinandhan, T. N. (2010). Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*)—A Vector for Toxigenic Molds and Ochratoxin A Contamination in Coffee Beans. *Foodborne Pathogens and Disease* 7(10): 1279–1284.
- Waluyo, L. (2019). *Mikrobiologi Umum: Edisi Revisi*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Wang, H., Zhang, R., Duan, Y., Jiang, W., Chen, X., Shen, X., Yin, C., & Mao, Z. (2021). The Endophytic Strain *Trichoderma asperellum* 6S-2: An Efficient Biocontrol Agent against Apple Replant Disease in China and a Potential Plant-Growth-Promoting Fungus. *Journal of Fungi* 7(1050): 1-27.
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species, Second Edition*. CRC Press. Florida.
- Widiastuti, A., Ningtyas, O. H., & Priyatmojo, A. (2015). Identifikasi Jamur Penyebab Penyakit Pasca panen pada Beberapa Buah di Yogyakarta. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11(3): 91-96.
- Wonglom, P., Ito, S., & Sunpapao, A. (2020). Volatile Organic Compounds Emitted from Endophytic Fungus *Trichoderma asperellum* T1 Mediate Antifungal Activity, Defense Response and Promote Plant Growth in Lettuce (*Lactuca sativa*). *Fungal Ecology* 43: 1-10.
- Wu, Q., Sun R., Ni, M., Yu, J., Yu, C., Dou, K., Ren, J., & Chen, J. (2017). Identification of A Novel Fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS 1009, and Comprehensive Evaluation of Its Biocontrol Efficacy. *PLoS ONE* 12(6): 1-20.