

## PENGARUH FAKTOR LINGKUNGAN DAN NUTRISI MEDIA TUMBUH *IN VITRO* TERHADAP PERTUMBUHAN *Botryodiplodia theobromae* PENYEBAB BUSUK PANGKAL BATANG JERUK KEPROK

### *EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS AND NUTRITIONAL MEDIA IN VITRO ON THE GROWTH OF Botryodiplodia theobromae CAUSES OF CITRUS STEM BASE ROT*

Ummu Afifah<sup>1</sup>, Suskandini Ratih Dirmawati<sup>1</sup>, Yuyun Fitriana<sup>1</sup>, Cipta Ginting<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

\*Corresponding Author. E-mail address : [suskandini.ratih@fp.unila.ac.id](mailto:suskandini.ratih@fp.unila.ac.id)

#### ABSTRACT

##### KEYWORDS:

Light, carbon, nitrogen, pH, temperature

##### KATA KUNCI:

Cahaya, karbon, nitrogen, pH, suhu

Stem base rot is one of the diseases that occurs in citrus plants. This disease is caused by the fungus *Botryodiplodia theobromae*. The research aims to determine the effect of environmental factors (light, pH, and temperature) on the *in vitro* growth of *B. theobromae* colonies, and to determine the effect of nitrogen sources (urea, ammonium nitrate, and peptone) and carbon sources (lactose and sucrose) on the *in vitro* growth of *B. theobromae* colonies. *B. theobromae* isolates were grown under conditions of light (light and dark), pH (5, 7, and 9), temperature (16° C, and 27° C), nitrogen nutrient sources (peptone, ammonium nitrate, and urea), carbon nutrient sources (sucrose and lactose). The results showed that the growth of *B. theobromae* colonies in the light treatment was suppressed in bright light conditions, and grew well in dark light conditions. In the pH treatment, the growth of *B. theobromae* colonies was suppressed at pH 9, and grew well at pH 5. In the temperature treatment, the growth of *B. theobromae* colonies was suppressed at 16° C, and grew well at 27 ° C. In the nitrogen nutrient source treatment, *B. theobromae* colony growth is stressed on a nitrogen nutrient source of urea, and grows well on a nitrogen source of peptone. In the carbon nutrient source treatment, the growth of *B. theobromae* colonies was suppressed on the carbon nutrient source of lactose.

#### ABSTRAK

Busuk pangkal batang merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman jeruk keprok, yang diakibatkan oleh jamur *Botryodiplodia theobromae*. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh faktor lingkungan (cahaya, pH, dan suhu) terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae* secara *in vitro*, dan mengetahui pengaruh sumber nutrisi dari nitrogen (urea, amonium nitrat, dan pepton) dan karbon (laktosa dan sukrosa) terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae* secara *in vitro*. Isolat *B. theobromae* ditumbuhkan pada kondisi cahaya (terang dan gelap), pH (5, 7, dan 9), suhu (16° C, dan 27° C), sumber nutrisi nitrogen (pepton, amonium nitrat, dan urea), sumber nutrisi karbon (sukrosa dan laktosa). Hasil penelitian menunjukkan bahwa koloni *B. theobromae* mengalami tekanan pertumbuhan di bawah cahaya terang, tetapi tumbuh dengan baik dalam kondisi gelap. Sementara itu, pada perlakuan pH koloni *B. theobromae* terhambat pertumbuhannya pada pH 9, namun tumbuh optimal pada kondisi pH 5. Pada perlakuan suhu, pertumbuhan koloni *B. theobromae* tertekan pada suhu 16° C, dan tumbuh baik pada suhu 27 ° C. Pada perlakuan sumber nutrisi nitrogen, pertumbuhan koloni *B. theobromae* tertekan pada sumber nutrisi nitrogen dari urea, dan tumbuh baik pada sumber nutrisi nitrogen dari pepton. Pada perlakuan sumber nutrisi karbon, pertumbuhan koloni *B. theobromae* tertekan pada sumber nutrisi karbon dari laktosa.

## 1. PENDAHULUAN

Busuk pangkal batang merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman jeruk keprok, yang diakibatkan oleh jamur *Botryodiplodia theobromae*. Penyakit ini sering disebut blendok karena bereaksi mengeluarkan blendok (gumosis) berwarna kuning pada batang. Gumosis merupakan reaksi tanaman terhadap serangan patogen. Jika gumosis muncul pada permukaan kulit jaringan tanaman, ini menandakan adanya infeksi lanjut (Gusnawaty dan Mariadi, 2013).

Penyakit muncul sebagai hasil interaksi antara patogen, inang, dan lingkungan, yang dikenal sebagai segitiga penyakit. Untuk suatu penyakit dapat berkembang, diperlukan adanya patogen yang virulen, inang yang rentan, dan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan penyakit pada tanaman (Ginting, 2013). Oleh karena itu perlu mengetahui faktor dari lingkungan dan nutrisi tumbuh suatu patogen. Faktor lingkungan dan nutrisi tersebut meliputi cahaya, pH, suhu, nitrogen, dan karbon.

Suhu berpengaruh pada jamur patogen, termasuk dalam hal perkecambahan spora, penetrasi ke tanaman inang, serta pertumbuhan dan reproduksi patogen (Ginting, 2013). Selain itu, cahaya juga memengaruhi proses infeksi, sporulasi, pelepasan spora, dan penyebaran spora. Beberapa jenis jamur patogen memerlukan cahaya dengan panjang gelombang tertentu untuk proses sporulasi. Cahaya juga dapat menghambat perkembangan jamur dalam periode tertentu dan merangsang pembentukan spora (Nurhayati, 2011). pH lingkungan merupakan faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan, perkembangan, metabolisme sekunder, dan infeksi inang oleh jamur (Drori *et al.*, 2003). Spora cenderung memiliki tingkat perkecambahan yang tinggi dalam kisaran pH yang optimal, sedangkan di luar rentang tersebut, perkecambahan akan sangat terganggu (Li *et al.*, 2010).

Faktor nutrisi juga memiliki peranan penting dalam pertumbuhan jamur patogen. Huber dan Haneklau (2007) menyebutkan bahwa nutrisi memengaruhi semua elemen yang berkontribusi pada tingkat keparahan penyakit. Dordas (2008) menambahkan bahwa nutrisi dapat memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan patogen, serta berimplikasi pada tingkat keparahan infeksi, yang berbeda-beda tergantung pada jenis patogen.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, dan berlangsung dari Januari hingga Mei 2024.

### 2.2 Isolat *Botryodiplodia theobromae*

Isolat jamur penyebab penyakit blendok pada tanaman jeruk keprok merupakan koleksi dari Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Isolat diambil dari kebun jeruk Sentiko Farm, Desa Sungai Langka, Kecamatan Gedong Tataan, Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung.

### 2.3 Uji Pengaruh Cahaya

Pada pengujian cahaya, isolat diinokulasikan pada media PSA dan diinkubasi dalam kondisi terang serta gelap. Inkubasi dilakukan hingga koloni memenuhi cawan, kemudian diukur diameter koloni jamur *B. theobromae*. Uji ini dilakukan dengan delapan ulangan.

## 2.4 Uji Pengaruh pH

Pada pengujian pH, isolat diinokulasikan pada media PSA dengan pH 5, 7, dan 9. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan larutan HCl atau NaOH. Inkubasi dilakukan hingga koloni memenuhi cawan, kemudian diukur diameter koloni jamur *B. theobromae*. Uji ini dilakukan dengan enam ulangan.

## 2.5 Uji pengaruh Suhu

Pada pengujian suhu, isolat diinokulasikan pada media PSA dengan suhu 16°C dan 27°C dalam inkubator. Inkubasi dilakukan hingga koloni memenuhi cawan, kemudian diukur diameter koloni jamur *B. theobromae*. Uji ini dilakukan dengan delapan ulangan.

## 2.6 Uji Pengaruh Karbon

Pada pengujian, isolat diinokulasikan pada media PSA dengan nutrisi karbon sukrosa dan laktosa. Inkubasi dilakukan sampai koloni memenuhi cawan, kemudian diukur diameter koloni jamur *B. theobromae*. Uji ini dilakukan dengan delapan ulangan.

## 2.7 Uji Pengaruh Nitrogen

Pada pengujian nitrogen, isolat diinokulasikan pada media PSA dengan nutrisi nitrogen pepton, amonium nitrat, dan urea. Inkubasi dilakukan sampai koloni memenuhi cawan, kemudian diukur diameter koloni jamur *B. theobromae*. Pengujian dilakukan dengan enam ulangan.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji Pengaruh Cahaya

Uji pengaruh cahaya pada *Botryodiplodia theobromae* tumbuh sangat baik pada perlakuan gelap dan terhambat pada perlakuan terang (tabel 1). Fuller *et al.* (2013) mengatakan, jamur *Aspergillus fumigatus* tumbuh optimal dalam gelap, tetapi laju pertumbuhannya menurun dalam cahaya terang yang berkelanjutan. Canessa *et al.* (2013) juga menemukan bahwa dalam kondisi gelap, mendukung pertumbuhan jamur *Botryis cinerea*, sementara kondisi terang menghambat pertumbuhannya. Kondisi gelap memberikan kelembapan untuk pertumbuhan jamur. Kelembapan yang konstan dapat optimal untuk pertumbuhan koloni jamur, sedangkan perubahan suhu dan kelembapan yang ekstrem di lingkungan yang terang dapat mengganggu pertumbuhan jamur.

Tabel 1. Pengaruh kondisi cahaya terang dan gelap terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*

| Pengamatan ke | Diameter koloni (cm) |        |
|---------------|----------------------|--------|
|               | Gelap                | Terang |
| 1             | 3,0 a                | 1,3 b  |
| 2             | 8,4 a                | 4,7 b  |

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95% pada uji BNT

### 3.2 Uji Pengaruh pH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. theobromae* tumbuh optimal pada pH 5, sedangkan pada pH 9 *B. theobromae* tumbuh terhambat (tabel 2). Hal ini sesuai dengan Ritchie *et al.* (2009), yang melaporkan bahwa jamur *Rhizoctonia solani* tumbuh pada kisaran pH 4-9, dengan pH optimum 5,6. Pada pH asam, nutrisi yang dibutuhkan jamur seperti nitrogen, fosfor, dan mineral lebih mudah larut untuk pertumbuhan jamur. Sebaliknya, pada pH basa nutrisi-nutrisi tersebut cenderung terfiksasi dan sulit diserap oleh jamur (Jayasinghe *et al.*, 2008).

Kemasaman media memengaruhi ketersediaan mineral dan nutrisi yang dapat diserap oleh jamur, serta aktivitas enzim yang dihasilkan oleh jamur untuk membantu penguraian substrat yang diperlukan untuk pertumbuhannya (Drori *et al.*, 2003). Pada umumnya, sebagian besar jamur tumbuh optimal pada pH 3-7, meskipun beberapa di antaranya dapat bertahan pada pH 2 atau bahkan di bawah pH 2 (Smith and Onions, 1994).

### 3.3 Uji Pengaruh Suhu

Pada penelitian ini, pertumbuhan *B. theobromae* tumbuh optimal pada kondisi suhu 27°C dibandingkan dengan suhu 16°C (tabel 3). Avitia *et al.* (2013) mengemukakan, pertumbuhan *Rhizoctonia solani* optimal pada suhu 20-30°C dan secara umum, suhu di atas 30°C menurunkan efisiensi metabolisme. Hasil penelitian Kotba *et al.* (2020) yaitu pertumbuhan maksimum koloni *R. solani* ada pada suhu 30°C, sementara pada suhu di atas 30°C, pertumbuhan koloni sangat rendah. Selain itu, penelitian Peng *et al.* (2019) menemukan bahwa miselium *Ganoderma boninense* tumbuh dengan baik pada suhu antara 25 dan 32°C. Pada suhu 16°C laju reaksi enzimatik yang penting untuk proses metabolisme jamur menjadi terhambat. Enzim-enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan, pembelahan sel, dan sintesis bahan struktural tidak bekerja dengan efisien pada suhu rendah 16°C, sehingga dapat menghambat pertumbuhan perkembangan koloni jamur. Suhu yang terlalu tinggi atau rendah dapat memengaruhi kemampuan jamur untuk berkembang. Suhu ekstrem terlalu panas atau terlalu dingin dapat menimbulkan stres termal pada jamur, yang dapat menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel.

Tabel 2. Pengaruh variasi pH terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*

| Pengamatan ke | Diameter koloni (cm) |       |       |
|---------------|----------------------|-------|-------|
|               | pH 5                 | pH 7  | pH 9  |
| 1             | 3,3 a                | 2,7 b | 1,9 c |
| 2             | 5,7 a                | 5,0 b | 2,8 c |
| 3             | 8,5 a                | 8,0 a | 3,0 b |

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95% pada uji BNT

Tabel 3. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*

| Pengamatan ke | Diameter koloni (cm) |           |
|---------------|----------------------|-----------|
|               | Suhu 27°C            | Suhu 16°C |
| 1             | 1,3 a                | 0,4 b     |
| 2             | 4,3 a                | 1,8 b     |
| 3             | 8,0 a                | 5,3 b     |
| 4             | 8,5 a                | 5,9 b     |

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95% pada uji BNT

### 3.4 Uji Pengaruh Sumber Karbon

Selain pengaruh kondisi lingkungan terhadap pertumbuhan jamur patogen, Reddy and Ulaganathan (2015) menyatakan bahwa nutrisi pada media tumbuh juga memengaruhi pertumbuhan jamur. Semua jamur mempunyai kebutuhan nutrisi tertentu. Pertumbuhan koloni jamur di alam dipengaruhi oleh banyak faktor, termasuk ketersediaan nutrisi seperti sumber karbon (Peng *et al.*, 2019). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *B. theobromae* tumbuh optimal pada sumber nutrisi nitrogen berupa pepton, dan terhambat pada nutrisi nitrogen berupa amonium nitrat, serta tertekan pada sumber nutrisi nitrogen berupa urea (tabel 4). Hasil penelitian Yan *et al.* (2012), melaporkan bahwa jamur *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* dan *A. nomius* tumbuh baik pada media mengandung pepton. Konsentrasi pepton dapat mendorong pertumbuhan koloni dengan baik, karena pepton adalah sumber nutrisi yang kaya, terutama mengandung protein dan asam amino (Yan *et al.*, 2012). Pepton dapat dengan cepat menumbuhkan jamur karena kandungan nutrisinya yang lengkap, ketersediaan nutrisi yang langsung dapat digunakan, dan kemudahan penyerapan oleh sel jamur. Namun perlu diperhatikan bahwa konsentrasi pepton maupun sumber protein lainnya seperti amonium nitrat dan urea yang digunakan harus tepat. Konsentrasi yang terlalu pekat justru akan menjadi penghambat pertumbuhan jamur (Yan *et al.*, 2012).

Urea pada konsentrasi yang sesuai bermanfaat untuk pertumbuhan jamur setelah melalui beberapa proses penguraian. Urea mudah terurai menjadi  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{CO}_2^-$ , dan dalam media pertumbuhan yang mengandung air,  $\text{NH}_3^+$  akan membentuk basa  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Semakin tinggi penambahan urea, semakin rendah nisbah C/N. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan nitrogen (N) akibat penambahan urea, sehingga rasio C/N cenderung menurun. Dengan mengetahui suatu nilai rasio C/N, kita dapat memahami ketersediaan unsur karbon dan nitrogen yang mendukung pertumbuhan jamur (Noferdiman *et al.*, 2008).

Namun apabila ammonia bebas berlebihan seperti terjadi pada konsentrasi penggunaan urea 5 g/100 mL maka akan diperoleh sifat toksik yang justru menjadi hambatan bagi pertumbuhan jamur. Konsentrasi urea yang pekat dapat mendorong pembentukan ammonia bebas dalam jumlah yang lebih banyak.

Tabel 4. Pengaruh variasi sumber nutrisi karbon terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*

| Pengamatan ke | Diameter koloni (cm) |                 |                  |                  |
|---------------|----------------------|-----------------|------------------|------------------|
|               | Kentang sukrosa      | Kentang laktosa | Singkong sukrosa | Singkong laktosa |
| 1             | 2,6 a                | 1,8 b           | 1,7 b            | 1,4 c            |
| 2             | 7,0 a                | 4,7 b           | 3,8 c            | 3,2 d            |
| 3             | 8,5 a                | 8,2 b           | 6,9 c            | 5,7 d            |

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95% pada uji BNT

Tabel 5. Pengaruh variasi sumber nutrisi nitrogen terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*

| Pengamatan ke | Diameter koloni (cm) |                |      |
|---------------|----------------------|----------------|------|
|               | Pepton               | Amonium nitrat | Urea |
| 1             | 2,0 a                | 0,9 b          | 0    |
| 2             | 5,5 a                | 3,1 b          | 0    |
| 3             | 8,5 a                | 4,4 b          | 0    |

Keterangan : Huruf yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf kepercayaan 95% pada uji BNT

### 3.5 Uji Pengaruh Sumber Karbon

Dua sumber karbon berbeda yang diuji pada *B. theobromae* menunjukkan bahwa *B. theobromae* tumbuh baik pada sumber karbon berupa sukrosa (tabel 5). Sukrosa dan laktosa merupakan dua jenis gula yang bisa digunakan untuk sumber karbon dalam pertumbuhan jamur. Namun, jamur cenderung tumbuh lebih cepat pada media yang mengandung sukrosa dibandingkan laktosa, karena struktur molekul sukrosa lebih sederhana dan lebih mudah dipecah oleh enzim jamur dibandingkan laktosa (Sitompul *et al.*, 2017).

## 4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *Botryodiplodia theobromae* terhambat pada kondisi cahaya terang, pH 9, dan bersuhu 16 °C, dan terhambat pada nutrisi karbon laktosa, nutrisi nitrogen amonium nitrat, serta tidak tumbuh pada nutrisi nitrogen urea, serta tumbuh optimal pada kondisi cahaya gelap, pH 5, bersuhu 27 °C, dan pada nutrisi karbon sukrosa dan nutrisi nitrogen pepton.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Canessa, P., Schumacher, J., Hevia, M.A., Tudzynski, P. and Larrondo, L.F. 2013. Assessing the effects of light on differentiation and virulence of the plant pathogen *Botrytis cinerea*: characterization of the white collar complex. *Plos ONE*. 8(12) : 1-17.
- Drori, N., Kramer-Haimovich, H., Rollins, J., Dinoor, A., Okon, Y., Pines, O. and Prusky, D. 2003. External pH and nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(6) : 3258-3262.
- Fuller, K.K., Ringelberg, C.S., Loros, J.J. and Dunlap, J.C. 2013. The fungal pathogen *Aspergillus fumigatus* regulates growth, metabolism, and stress resistance in response to light. *mBio*. 4(2) :1-11.
- Jayasinghe, C., Imtiaj, A., Hur, H., Lee, G.W., Lee, T.S. and Lee, U.Y., 2008. Favorable culture conditions for mycelial growth of Korean wild strains in *Ganoderma lucidum*. *Mycobiology*, 36(1): 28-33.
- Kotba, I., Bouaichi, A., Lougraimzi, H., Habbadi, K., Errifi, A., Touhami, A.O., Douira, A. and Achbani, E.H. 2020. Effect of temperature, pH and essential oils on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* Kuhn (Cantharellales : Ceratobasidiaceae) isolates. *Journal Microbiol Biotech and Food Sciences*. 10 (3) : 461-466.
- Noferdian, N., Rizal, Y., Mirzah, M., Heryandi, Y. and Marlida, Y. 2008. Penggunaan urea sebagai sumber nitrogen pada proses biodegradasi substrat lumpur sawit oleh jamur *Phanerochaete chrysosporium*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*. 11 (4). 75-82.
- Orozco-Avitia, A., Esqueda, M., Meza, A., Tiznado, M., Gutierrez, A., and Gardea, A. 2013. Temperature effect on *Rhizoctonia solani* analyzed by microcalorimetry. *Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 8 (2) : 162-166.
- Peng, S.H.T., Yap, C.K., Ren, P.F. and Chai, E.W. 2019. Effects environment and nutritional conditions on mycelial growth of *Ganoderma boninense*. *International Journal Oil Palm*. 2 (3) : 95-107.
- Reddy, M.M. and Ulaganathan, K. 2015. Nitrogen nutrition, its regulation and biotechnological approaches to improve crop productivity. *American Journal of Plant Sciences*. 6: 2745-2798.
- Ritchie, F., Bain, R.A. and McQuilken, M.P. 2009. Effects of nutrient status, temperature and pH on mycelial growth, sclerotial production and germination of *Rhizoctonia solani* from potato. *Journal of Plant Pathology*. 91 (3) : 589-596.

- Sitompul, F.T., Zuhry, E. and Armaini, A. 2017. Pengaruh berbagai media tumbuh dan penambahan gula (sukrosa) terhadap pertumbuhan jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*). *JOM Faperta*. 4 (2): 1-15.
- Smith, D. and Onions, A.H. 1994. *The Preservation and Maintenance of Living Fungi*. 2<sup>nd</sup> ed. London (GB): Commonwealth Agricultural Bureaux International.
- USDA. 2019. Potatoes, fresh and skin, raw. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-search?query=&type=Foundation>. Diakses 17 Juli 2024 pukul 10.49.
- Yan, S., Liang, Y., Zhang, J. and Liu, C.M. 2012. *Aspergillus flavus* grown in peptone as the carbon source exhibits spore density and peptone concentration dependent aflatoxin biosynthesis. *Journal BMC Microbiology*. 12 (106): 1-14.