

UJIAN IN VITRO PENGAWALAN KOLAT CYLINDROCLADIUM
SCOPARIUM

MOHD SULAIMAN BIN ABD MALEK



UNIVERSITI MALAYSIA SARAWAK

2003

QK
625
M6
M697
2003

Ujian *in vitro* pengawalan kulat *Cylindrocladium scoparium*

Mohd. Sulaiman b. Abd. Malek

Program Sains dan Pengurusan Sumber Tumbuhan
Fakulti Sains dan Teknologi Sumber
Universiti Malaysia Sarawak

ABSTRAK

Kajian secara *in vitro* dijalankan dengan menggunakan medium ubi kentang (PDA) untuk mengenalpasti jenis rawatan yang sesuai bagi mengawal pertumbuhan kulat *Cylindrocladium scoparium*. Tiga jenis rawatan digunakan dalam kajian ini. Rawatan yang digunakan ialah rawatan racun kulat, ekstrak daun tumbuhan dan kulat antagonis. Racun kulat terdiri dari ancozeb, benlate, captan and monocut. Racun kulat ditambah ke dalam PDA dengan kepekatan akhir 0.1, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 and 20.0 ppm. Pertumbuhan *C. scoparium* boleh direncatkan dengan efektif oleh benlate. Pertumbuhan kesemua pencilan *C. scoparium* menunjukkan rencatan pertumbuhan yang bererti ($P = 0.05$) pada kepekatan benlate 2 ppm. Kepekatan 15 ppm benlate boleh merencatkan sepenuhnya pertumbuhan kulat. Manakala ekstrak daun yang digunakan ialah *Alpina galanga*, *Blumea balsamifera*, *Callophyllum* sp., *Cymbopogon citratus*, *Manihot utilissima* and *Piper betle*. Ekstrak daun ditambahkan kepada PDA dengan kepekatan akhir 0.1, 1.0 and 5.0 %. Pertumbuhan pencilan *C. scoparium* boleh direncatkan dengan efektif oleh *P. betle*. Pertumbuhan kesemua pencilan miselium menunjukkan rencatan pertumbuhan yang bererti ($P = 0.05$) pada kepekatan ekstrak *P. betle* 0.1%. *Trichoderma* sp. dan *Penicillium* sp. boleh merencatkan pertumbuhan pencilan *C. scoparium* apabila diinokulat bersama pada PDA di dalam piring petri.

Kata kunci: Racun kulat, ekstrak daun tumbuhan, kulat antagonis.

ABSTRACT

In vitro study was conducted using Potato Dextrose Agar (PDA) as a media to identify the suitable treatment to control growth of *Cylindrocladium scoparium*. Three types of treatment were used. The treatments were by using fungicides, plant leaf extract and antagonist fungi. The fungicides used were ancozeb, benlate, captan and monocut. The final concentrations of the fungicides incorporated into PDA were 0.1, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 and 20.0 ppm. Benlate was the most effective to reduce the growth of *C. scoparium*. The growth of all isolates of *C. scoparium* was significantly reduce ($P = 0.05$) at 2 ppm concentration of benlate. No growth of the fungi when 15 ppm benlate was used. The leaf extracts used as treatment were of *Alpina galanga*, *Blumea balsamifera*, *Callophyllum* sp., *Cymbopogon citratus*, *Manihot utilissima* and *Piper betle*. The leaf extract of each plant species was added into PDA so that the final concentrations were 0.1, 1.0 and 5.0 %. Leaf extract of *P. betle* was the most effective to inhibit growth of *C. scoparium* isolate. The mycelial growth of all isolate were significantly reduce ($P = 0.05$) at 0.1% concentration of *P. betle* extract. *Trichoderma* sp. and *Penicillium* sp. inhibited growth of *C. scoparium* isolate when they were inoculated together on PDA in petri dishes.

Key words: fungicides, plant leaf extract, antagonist fungi.



Pengenalan

Hasil tanaman buah-buahan tropika mendapat pasaran yang baik di dalam dan di luar negeri. Kemajuan di dalam teknologi pertanian telah memajukan industri ini dan meningkatkan hasil keluaran tanaman. Namun begitu kerosakan hasil tanaman sebelum dan selepas tuai akibat serangan kulat adalah tinggi (Burn & Echeveria, 1988). Menurut Agrios (1993), dianggarkan lebih 8000 spesis kulat boleh menyebabkan penyakit pada tumbuhan.

Cylindrocladium spp. adalah di antara kulat yang telah dikenal pasti sebagai patogen kepada buah-buahan tropika dan subtropika pada famili tumbuhan Annonaceae dan Myrtaceae (Johnson & Sangchote, 1994). Ia merupakan kulat peringkat rendah dari divisi Deuteromycotina dan berada dalam order Moniliales (Alexopoulos & Mims, 1979). Johnson dan Sangchote (1994), menyatakan bahawa jangkitan pada buah-buahan yang disebabkan oleh kulat banyak berlaku pada peringkat pra-tuai tetapi akan menghasilkan simptom penyakit pada peringkat lepas tuai. Selain daripada menyebabkan penyakit kepada buah-buahan *Cylindrocladium* spp. juga telah dikenalpasti sebagai penyebab kerosakan pada daun dan sistem akar pokok. Hasil kajian daripada Watanabe, Hagiwara dan Narita (1995) mendapati *C. colhounii* telah menjangkiti dan menyebabkan kerosakan kepada daun dan akar pokok *Phellodendron amurense* di Tokyo, Jepun.

Kulat patogen yang menyebabkan kerosakan pada buah dapat dikawal dengan menggunakan pelbagai kaedah rawatan dan kebanyakannya dengan menggunakan bahan kimia seperti racun kulat (Boonraung, Farungsang & Sangchote, 1994; Sepiah, 1994). Menurut Sinha, Kishan dan Mukhopadhyay (1993), menyatakan racun kulat telah lama digunakan sebagai bahan untuk mengawal penyakit pada tumbuhan yang disebabkan oleh kulat patogen kerana ia didapati berkesan untuk mengawal penyakit dan mudah dikendalikan. Namun penggunaan racun kulat ini mempunyai risiko karsinogenik apabila meresap dan berkumpul secara berlebihan di dalam rantai makanan (Wilson, Solar & Ghaouth, 1997). Menurut Ahmad (1992), penggunaan racun kulat yang berterusan dan kerap terutamanya racun kulat jenis sistemik, merupakan punca kewujudan masalah kerintangan spesis kulat terhadap racun kulat. Penggunaan kaedah kawalan biologi untuk mengawal penyakit akibat kulat patogen seperti kulat antagonis masih kurang digunakan kerana kos yang tinggi dan pengendalian yang rumit (Evans, Greaves dan Watson, 2001). Kaedah kawalan yang sesuai terhadap kulat patogen *C. scoparium* seperti yang menyerang buah jambu batu penting untuk mengawal kulat ini secara berkesan. Kajian terhadap racun kulat semulajadi dan sintetik diperlukan untuk mencari kaedah yang sesuai untuk mengawal pertumbuhan kulat patogen.

Laporan ini menunjukkan hasil kajian kesan penggunaan racun kulat, ekstrak daun tumbuhan dan interaksi kulat antagonis yang terpilih untuk mengawal pertumbuhan kulat patogen *C. scoparium*.

Bahan dan kaedah

Sumber pencilan *C. scoparium* yang digunakan dalam kajian ini diperolehi dari koleksi kultur kulat UNIMAS. Sebanyak tiga pencilan kulat *C. scoparium* yang digunakan iaitu UNIMAS 1051, UNIMAS 967 dan UNIMAS 956. Setiap kultur kulat tersebut ditumbuhkan selama 4 hingga 7 hari di atas medium ubi kentang (PDA). Kultur kulat *C. scoparium* yang telah ditumbuhkan akan dipotong kecil dengan menggunakan penebuk gabus yang berdiameter 5 mm. Keratan miselium yang diperolehi kemudiannya dimasukkan ke dalam botol 'beojul' yang mengandungi air suling yang telah disterilkan dan disimpan dalam peti sejuk sebagai stok.

Kesan racun kulat terhadap kadar pertumbuhan pencilan *Cylindrocladium scoparium*

Kajian kesan racun kulat ke atas pertumbuhan miselium *C. scoparium* dilakukan dengan menggunakan 4 jenis racun iaitu Captan, Ancozeb, Benlate dan Moncut.

Ujian *in vitro* kesan racun kulat terhadap pertumbuhan *C. scoparium* dijalankan dengan menggunakan PDA. Larutan racun kulat disediakan dengan melarutkan serbuk racun kulat ke dalam alkohol dan kemudiannya dicairkan di dalam air suling yang telah disterilkan untuk mendapat kepekatan yang dikehendaki. Kepekatan akhir yang ditambah ke dalam PDA ialah 0.1, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 dan 20.0 ppm. Media tanpa racun kulat digunakan sebagai kawalan. Media PDA yang mengandungi racun kulat dan kawalan diinokulat dengan keratan miselium pencilan *C. scoparium* yang berdiameter 5 mm. Miselium *C. scoparium* yang digunakan diambil dari kultur tulen yang berusia 4 hingga 7 hari pada media PDA. Pemerhatian terhadap pertumbuhan *C. scoparium* dilakukan setiap 2 hari untuk mendapatkan diameter pertumbuhan miselium. Tiga replikasi untuk setiap kepekatan racun kulat pada piring petri digunakan untuk setiap miselium kulat.

Kesan perencatan pertumbuhan kulat dinyatakan dalam peratusan rencatan pertumbuhan miselium dan pengiraan berdasarkan kepada formula Pandey, Tripathi dan Dixit (1982).

$$\frac{dc-de}{dc} \times 100\%$$

dc = Purata diameter koloni kulat kawalan.

de = Purata diameter koloni kulat yang diberi rawatan.

Kesan ekstrak tumbuhan terhadap kadar pertumbuhan pencilan *Cylindrocladium scoparium*

Ekstrak tumbuhan yang digunakan untuk kajian ini adalah diperolehi daripada beberapa ekstrak daun tumbuhan yang dipilih. Daun yang dipilih adalah dari pokok sembung (*Blumea balsamifera*), sireh (*Piper betle*), lengkuas (*Alpinia galanga*), bintangor (*Callophyllum* sp.), ubi kayu (*Manihot utilissima*) dan serai (*Cymbopogon citratus*). Penyediaan ekstrak daun adalah berdasarkan kepada kaedah Sardud *et al.* (1994). Sampel daun dikeringkan pada suhu bilik dan kemudian dikisar halus. Sebanyak 20 g sampel daun yang telah dikisar dicampurkan dengan 100 ml etanol dengan kepekatan 95% meliputi paras sampel daun. Rendaman sampel daun dengan etanol dibiarkan selama 5 hari dan kemudiannya dituras dengan menggunakan kertas turas Whatman No. 1 untuk memisahkan tisu-tisu daun tumbuhan tersebut. Hasil turasan yang diperolehi dimasukkan ke dalam kelalang berbentuk pir untuk di rotor vapor sehingga hasil ekstrak menjadi 10 ml.

Ujian *in vitro* kesan ekstrak tumbuhan terhadap pertumbuhan pencilan *C. scoparium* dijalankan dengan menggunakan PDA. Ekstrak daun tumbuhan ditambah kepada kepada PDA yang telah diautoclave dengan kepekatan 0.1%, 1.0% dan 5.0%. Media yang mengandungi ekstrak daun tumbuhan diinokulat dengan keratan miselium *C. scoparium* yang berukuran 5 mm diameter. Miselium *C. scoparium* yang diinokulat ke bahagian tengah media adalah diambil dari kultur tulen yang berusia 4 hingga 7 hari. Ujian kawalan pula dilakukan dengan menambahkan etanol (95%) ke dalam media PDA dengan kepekatan 0.1%, 1.0% dan 5.0%. Pemeriksaan dilakukan selang 2 hari untuk mendapatkan pertumbuhan diameter miselium. Tiga replikasi untuk setiap kepekatan ekstrak daun tumbuhan pada piring petri digunakan untuk setiap miselium kulat.

Kesan keracunan pertumbuhan kulat dinyatakan dalam peratusan rencatan pertumbuhan miselium dan pengiraan berdasarkan kepada formula Pandey *et al.* (1982).

Kesan kulat antagonis terhadap kadar pertumbuhan pencilan *Cylindrocladium scoparium*

Kajian ke atas kesan kulat antagonis terhadap kadar pertumbuhan miselium *Cylindrocladium* spp. dilakukan dengan menggunakan beberapa spesis kulat. Jenis kulat yang digunakan untuk kajian ini ialah kulat *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Phomopsis* sp. dan *Ganoderma* sp.

Keratan miselium *C. scoparium* dan miselium kulat antagonis diinokulat di atas media PDA di dalam piring petri yang sama dengan kedudukan yang bertentangan di antara satu sama lain pada jarak 2 cm dari titik tengah piring petri. Setiap miselium kulat yang digunakan ialah yang berusia 4 hingga 7 hari. Satu keratan miselium *C. scoparium* yang diinokulat pada PDA pada piring petri yang lain digunakan sebagai kawalan. Sebarang perubahan dalam kadar pertumbuhan pencilan *C. scoparium* diperhatikan selang 2 hari.