

Uji Daya Hambat Jamur Endofit dan Eksofit dalam Menekan Pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* Penyebab Busuk Batang Panili Secara *In Vitro*

NI WAYAN SUNITI DAN I MADE SUDARMA*)

Staf Dosen Prodi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar.

*) E-mail: sudarma_made@ymail.com

ABSTRACT

Study on In Vitro Inhibitory Ability of Endophytic and Exophytic Fungus in Suppressing the Growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* that Causes Stem Rot of Vanilla. Vanilla stem rot disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*, is still a very dangerous disease and feared by vanilla farmers. Disease until the present time there does not yet appear adequate control strategies for the disease. On the basis of these problems interested studied the use of endophytic fungi and exophytic existing on the leaves and stems of healthy plants, which have potential as a biological agent to control pathogens. The study was conducted in three stages: (1) isolation of the pathogen and fungal endophyte and exophytic, (2) identification of pathogenic microscopic morphology, fungal endophyte and exophytic, and (3) test the inhibition of fungal endophyte and exophytic against pathogens. Fungi are found as the leaves are *Aspergillus niger* and *Rhizopus* spp., On exophytic on the trunk is *Trichoderma* sp. and *Fusarium* spp., as a leaf endophytic found *A. niger* and *Neurospora* spp. and as endophytic rod is *Neurospora* spp. The highest prevalence achieved by *Neurospora* spp. which is equal to 100% on endophyte stem, while *Rhizopus* spp., and *Fusarium* spp. by 90% respectively, exophytic on the leaves and stems. The test results found that the inhibition of leaf eksofit *Rhisopus* spp. give up inhibition ranged from 70.37±3.2% - 100%, while *A. niger* amounted to 72.22%. In exophytic on rod found only *Trichoderma* sp. inhibit pathogens by 73.70±3.57%. In endophytic on leaf found *A. niger* at 70.37±3.2%, while *Neorospora* spp. ranging from 79.11±3.21% - 88.50±2.10%. In the endophytic on trunk was found *Neurosporas* spp. amounting to 70.74±3.57% - 79.26±1.28%.

Keywords: Endophytic and exophytic fungi, F. oxysporum f.sp. vanillae, inhibition test and vanilla.

PENDAHULUAN

Tanaman panili (*Vanilla planifolia* Andrews) hanya tanaman sejenis anggrek yang secara ekonomi penting sebagai penyedap bumbu yang bisa dimakan. Pada

tahun 1992 negara penghasil utama panili adalah Madagaskar (700 ton), Indonesia (400 ton), Kepulauan Comoro (150 ton), Reunion (12 ton), Mayotte (1 ton), Mauritius, Tonga, Tahiti, dan Meksiko serta China masing-

masing menghasilkan kurang dari 50 ton per tahun. Total produksi setahun adalah 2000 ton diestimasi 120 juta dolar Amerika Serikat. Amerika Serikat menjadi consumer pertama (1000 ton), diikuti oleh Eropa (250 ton) dan Jepang (32 ton) (Fouche dan Jouve, 1999).

Tanaman panili mempunyai nilai tinggi karena produksi vanillin (4-hydroxy3-methoxy benzaldehyde) (Walton *et al.*, 2003), salah satu dari kebanyakan komoditi aroma yang sangat berharga dalam makanan dan industry di dunia (Besse *et al.*, 2004; Divakaran *et al.*, 2006). Bididaya tanaman panili rentan terhadap kebanyakan penyakit jamur seperti busuk kaki dan layu yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* dan *Phytophthora* spp., busuk *Sclerotium*, hawar dan bercak cokelat akibat antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum gloeosporioides* (Thomas *et al.*, 2002, Divakaran *et al.*, 2008).

Salah satu penyakit yang sangat berbahaya dan telah menghancurkan budidaya tanaman panili di Bali adalah penyakit busuk batang (*stem rot*) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* (Fov) (Tombe, 2010). Penyakit ini mampu merusak seluruh bagian tanaman pada semua fase pertumbuhan dan memproduksi klamidospora yang dapat bertahan dalam tanah selama 7-10 tahun. Patogen ini terutama menular melalui stek yang digunakan sebagai sumber bahan tanaman. Stek panili yang digunakan petani saat berisiko terinfeksi patogen penyakit busuk batang panili antara 7-32% (Sukamto dan Tombe, 1998).

Mengingat beberapa hal permasalahan tersebut di atas dipandang perlu dilakukan penelitian, untuk menentukan cara pengendalian alternatif yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan jamur endofit dan eksofit pada tanaman panili.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian berupa survey penyakit dilaksanakan di sentra penanaman panili di Jembrana, dan selanjutnya pengamatan penyakit dilaksanakan di labotaorium Ilmu Penyakit Tumbuhan dan Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Udayana, yang dilaksanakan mulai bulan April sampai dengan Nopember 2016.

Isolasi Jamur Endofit dan Eksofit

Jamur endofit yang digunakan dalam penelitian ini dari kelekki kelompok tanaman panili yang ditanam di daerah Jembrana. Survei daun dan batang panili dari tiga lokasi yang berbeda di sentra penanaman panili Kabupaten Jembrana. Daun dan batang sehat yang dipetik dicuci dengan air mengalir dengan proses sebagai berikut: 32 lembar dengan luas 1 cm² daun, dan batang dipotong dari bagian pusat, masing-masing daun dan batang permukaannya disterilisasi dalam 0,525% sodium hypochlorite selama 3 menit, dan 70% alkohol selama 2 menit; dibilas dengan air steril selama 1 menit, dan selanjutnya ditempatkan pada media PDA (yang terlebih dahulu diberi antibiotik anti bakteri yaitu livoploxasin dengan konsentrasi 0,1% (w/v). jamur yang muncul dari potongan daun dipindahkan ke tabung reaksi yang berisi PDA untuk disimpan dan

diklasifikasikan melalui morfospesies. Untuk mengisolasi endofit dari batang dan buah panili, dicuci dengan air mengalir dan selanjutnya dibagi menjadi 5 bagian. Untuk daun dan batang lima potongan (1 cm²). Permukaannya disterilisasi, dan disimpan dengan prosedur sama seperti mengisolasi pada daun. Sedangkan untuk jamur eksofit daun dan batang (sebanyak 5 potongan dengan luas masing 1 cm²) langsung dicuci dengan air steril, airnya ditampung sebanyak 250 ml. Sebanyak 1 ml dipipet ditempatkan pada cawan Petri yang sudah diisi dengan media PDA dan antibiotik. Setelah 2 sampai 3 hari jamur endofit dan eksofit dapat dilihat dan tumbuh, kemudian direisolasi kembali sebanyak jamur yang tumbuh pada media PDA tersebut.

Identifikasi Jamur Endofit dan Eksofit

Jamur endofit dan eksofit yang disimpan selanjutnya ditumbuhkan pada cawan Petri yang berisi PDA dan diulang sebanyak 3 kali. Biakan diinkubasi pada ruang gelap pada suhu kamar ($\pm 27^{\circ}\text{C}$). Isolat diidentifikasi secara makroskopis setelah berumur 3 hari untuk mengetahui warna koloni dan laju pertumbuhan, dan identifikasi secara mikroskopis untuk mengetahui septa

pada hifa, bentuk spora/konidia dan sporangiofor. Identifikasi jamur menggunakan buku referensi Samson *et al.*, 1981; Pitt dan Hocking, 1997; Barnett dan Hunter, 1998; dan Indrawati *et al.*, 1999.

Prevalensi Jamur Endofit dan Eksofit

Menentukan prevalensi jamur endofit dan eksofit didasarkan atas frekuensi isolate jamur endofit dan eksofit yang ditemukan (lima potongan daun dan batang seluas 1 cm²) per cawan Petri, dibagi dengan seluruh isolate yang ditemukan kali 100%. Besarnya prevalensi isolate akan menentukan dominasi jamur endofit dan eksofit yang ada pada bagian tanaman panili.

Uji daya Hambat Jamur Endofit dan Eksofit

Jamur endofit dan eksofit yang ditemukan masing-masing diuji daya hambatnya terhadap pertumbuhan jamur patogen (*F. oxysporum* f.sp. *vanillae*) dengan teknik *dual culture* (dalam satu cawan Petri ditumbuhkan masing-masing satu jamur patogen diapit dengan dua jamur endofit). Daya hambatnya dapat dihitung sebagai berikut (Dolar, 2001; Mojica-Marin *et al.*, 2008):

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Keterangan :

A = Diameter koloni *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* dalam biakan tunggal (mm)

B = Diameter koloni *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* dalam *dual culture* (mm).

Isolasi Patogen

Isolasi patogen dapat dilakukan dengan jalan memotong bagian antara batang sakit dengan sehat, kemudian diletakkan pada media PDA (yang sebelumnya telah diisi dengan antibiotic lipoploxasin 0,1% w/v). Potongan batang tersebut dibersihkan terlebih dahulu dengan alcohol 70%, kemudian dibilas dengan air steril yang mengalir. Setelah 3 hari baru diamati di bawah mikroskop.

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dapat dilakukan dengan jalan patogen yang didapat dari isolasi disuntikkan ke dalam tanaman sehat, kemudian gejala ditunggu untuk beberapa hari, prosedur ini menyerupai dengan postulat Koch.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Jamur Eksofit dan Endofit pada Daun dan Batang Tanaman Panili

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak sembilan jamur eksofit yaitu *Rhizopus* spp. yang ditemukan pada daun panili, yang lain hanya satu *Aspergillus*

niger. Sedangkan pada batang ditemukan sembilan jamur *Fusarium* spp. dan hanya satu jamur *Trichoderma* sp. Jamur endofit yang ditemukan pada daun panili meliputi sembilan *Neurospora* spp. dan hanya satu *Aspergillus niger*. Sedangkan pada batang jamur endofit yang ditemukan meliputi semuanya adalah *Neurospora* spp. Semua ditemukan dalam luasan 5 cm² daun maupun batang tanaman panili (Gambar 1)

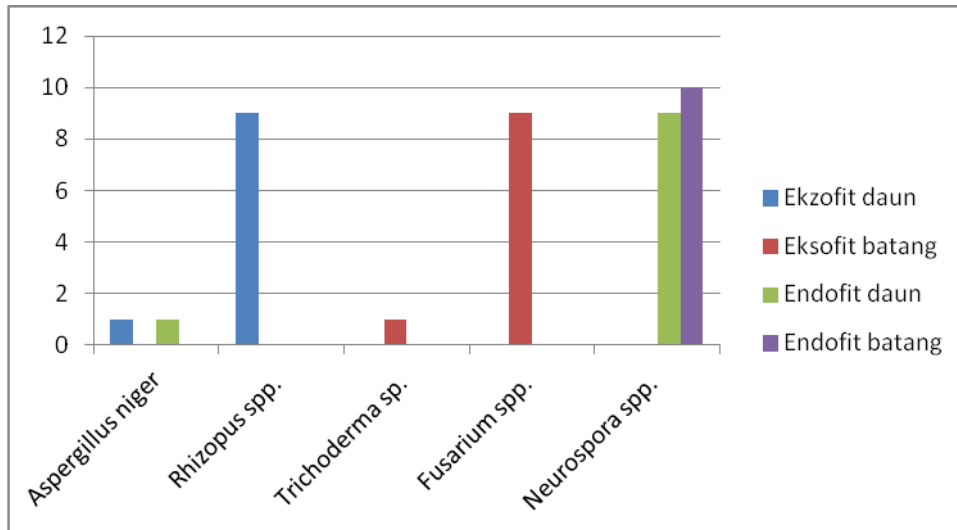
Prevalensi Jamur Endofit dan Eksofit pada Tanaman Panili

Pada eksofit daun *Rhizopus* spp. memiliki prevalensi sebesar 90%, disusul *Fusarium* spp. pada eksofit batang sebesar 90%, kemudian *Neurospora* spp. pada endofit daun sebesar 90% dan prevalensi 100% *Neurospora* spp. ditemukan pada endofit batang. Secara keseluruhan nampak bahwa *Neurospora* spp. mendominasi, disusul oleh *Rhizopus* spp., dan *Fusarium* spp., selanjutnya *Aspergillus niger* dan *Trichoderma* sp. masing-masing hanya satu (Tabel 1; Gambar 1).

Tabel 1. Rerata jamur eksofit dan endofit pada daun dan batang tanaman panili

	Ekzofit daun	Eksofit batang	Endofit daun	Endofit batang
<i>Aspergillus niger</i>	1 (10%)	-	1 (10%)	-
<i>Rhizopus</i> spp.	9 (90%)	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	-	1 (10%)	-	-
<i>Fusarium</i> spp.	-	9 (90%)	-	-
<i>Neurospora</i> spp.	-	-	9 (90%)	10 (100%)
Jumlah	10	10	10	10

Catatan: angka dalam kurung menunjukkan prevalensi jamur



Gambar 1. Jamur eksofit dan endofit pada daun dan batang tanaman panili

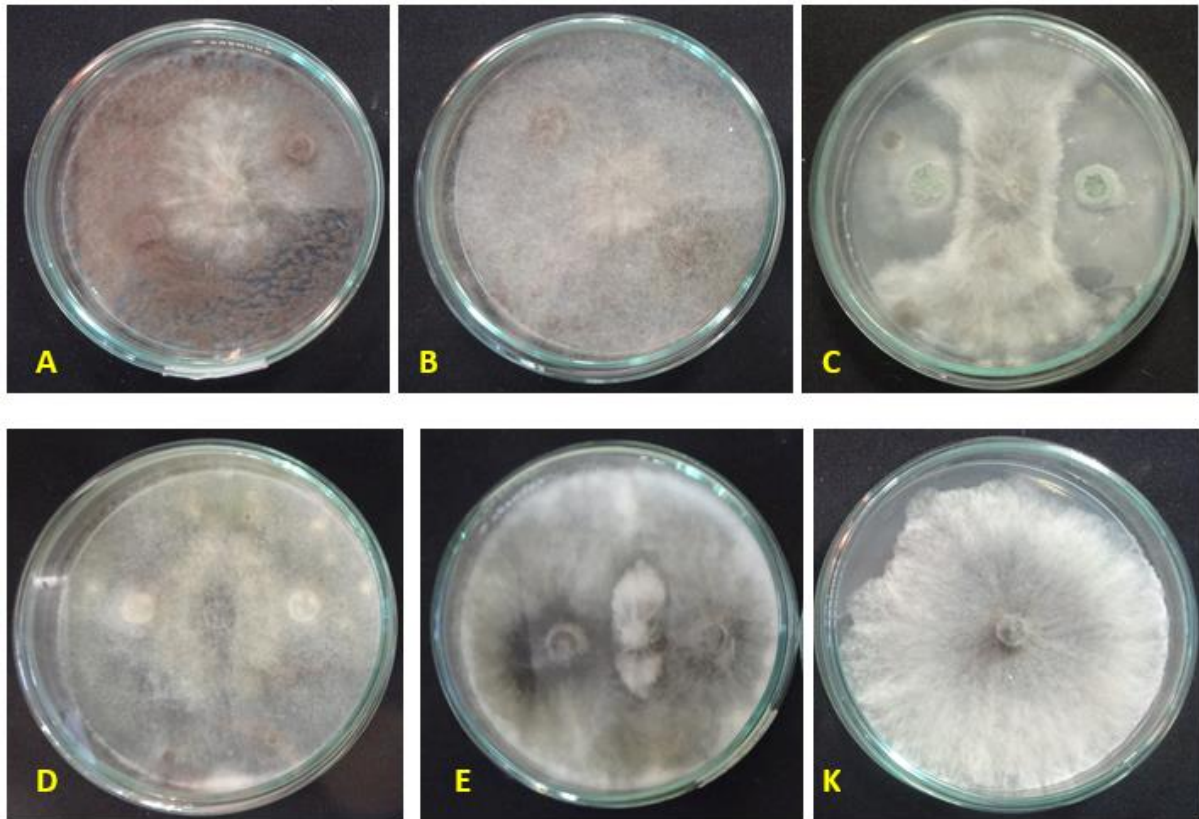
Jamur yang tumbuh pada permukaan daun (filoplan) diantaranya adalah *Trichoderma viride* dan *Aspergillus flavus* dapat menghambat pertumbuhan *Alternaria brassicae* (penyebab bercak daun kubis) (Yadav *et al.*, 2011). *Aspergillus fumigates* dan *Fusarium sp.* juga sama-sama ditemukan sebagai jamur filoplan pada tanaman castor (*Ricinus communis* L.) (Borgohain *et al.*, 2014). Hasil penelitian pada tanaman obat-obatan ditemukan jamur filoplan seperti *Aspergillus flavus*, *Fusarium semitectum* dan *Fusarium oxysporum* dari tanaman *Ocimum sanctum* (Prabakaran *et al.*, 2011).

Endofit adalah jamur yang hidup dan kebanyakan siklus hidupnya dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kenampakan tanda dari penyakit. Jamur endofitik daun adalah beragam dan tersebar luas, walaupun sering berhubungan erat dengan patogen, pengaruh endofit daun pada inang umumnya netral atau menguntungkan. Keuntungan potensial endofitik terhadap inangnya

meliputi kenaikan toleransi terhadap logam berat, menaikkan ketahanan terhadap kekeringan, menurunkan herbivory, pertahanan terhadap patogen atau meningkatkan pertumbuhan dan kemampuan kompetitif (Sunhine *et al.*, 2009).

Uji Daya Hambat Jamur Endofit dan Eksofit Terhadap Patogen Busuk Batang Panili

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada eksofit daun *Rhisopus spp.* memberikan penghambatan sampai berkisar dari $70,37 \pm 3,2\%$ - 100%, sedangkan *A. niger* sebesar 72,22%. Pada eksofit batang hanya ditemukan *Trichoderma sp.* menghambat patogen sebesar $73,70 \pm 3,57\%$. Pada endofit daun ditemukan *A. niger* sebesar $70,37 \pm 3,2\%$, sedangkan *Neorospora spp.* berkisar $79,11 \pm 3,21\%$ - $88,50 \pm 2,10\%$. Pada endofit batang ditemukan *Neurosporas spp.* sebesar $70,74 \pm 3,57\%$ - $79,26 \pm 1,28\%$ (Gambar 2).



Gambar 2. Uji daya hambat: (A) *Aspergillus niger*, (B) *Neurospora* sp., (C) *Trichoderma* sp., (D) *Rhizopus* sp., (E) *Fusarium* sp. terhadap (K) kontrol (*Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*)

Jamur eksofit (filoplan) ada pada permukaan daun, diantaranya ada jamur *Trichoderma* sp. dan *A. niger*. Jamur ini setelah diuji senyawa metabolit volatile dan non-volatile, ditemukan bahwa *T. viride* maksimum menghambat pertumbuhan patogen (*Alternaria brassicae*). Meningkatkan periode inkubasi, penghambatan patogen menurun sementara stimulasi meningkat. Pengaruh penyemprotan daun dengan metabolit dari uji jamur filoplan pada perkembangan lesio juga dipelajari. Penggunaan mikopflora menunjukkan persentase penghambatan maksimum dari perkembangan lesio pada permukaan daun tanaman inang (Yadav *et al.*, 2011).

Jamur endofitik biasanya hidup secara otomomatis dalam jaringan tanaman inangnya dan melekat hidup untuk dua hal utama, pertama tumbuhnya mengindikasikan bawa endofit ditemukan dalam semua tanaman, secara ektrim berlimpah dan sering sangat beragam. Sangat banyak endofit ini dari infeksi lokal internal dalam daun, akar, batang dan kulit kayu yang secara horizontal dipindahkan lewat spora, dari sistemik infeksi yang berada pada jaringan di atas tanah. Beberapa dari jamur ini secara vertikal dipindahkan lewat hifa yang tumbuh dalam biji. Kedua, endofit dapat menghasilkan mikotoksin atau yang lain perubahan fisiologi dan morfologi inang. Mikotoksin

endofit menguntungkan bagi tanaman berkayu sebagai “*inducible defences*” menghadapi serangan serangga herbivora dan inang rerumputan sebagai “*acquired plant defences*” menghadapi baik vertebrata maupun herbivora invertebrata (Faeth, 2002).

Berdasarkan daya hambat seperti tersebut di atas, diduga jamur eksofit yang ditemukan seperti *A. niger*, *Rhizopus* spp. dan *Trichoderma* sp. mampu melindungi tanaman panili dari serangan patogen (*F. oxysporum* f.sp. *vanillae*). Begitu juga jamur endofit baik pada daun (*A. niger* dan *Neurospora* spp.) dan endofit batang (*Neurospora* spp.) mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen.

Jamur endofit dilaporkan mampu memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat, meningkatkan pengambilan fosfor, produksi siderofor, menyetujui deaminase, dan hormon tanaman seperti auksin, abscisin, ethylene, gibberellins dan *indole acetic acid* (IAA), yang sangat penting untuk pertumbuhan tanaman dan pengaturan perkembangan (Selim *et al.*, 2012).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan tersebut di atas dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jamur yang ditemukan sebagai pada daun yaitu *Aspergillus niger* dan *Rhizopus* spp., pada eksofit batang adalah *Trichoderma* sp. dan *Fusarium* spp., sebagai endofit daun ditemukan *A. niger* dan *Neurospora* spp. dan sebagai endofit batang adalah *Neurospora* spp.

2. Prevalensi tertinggi dicapai oleh *Neurospora* spp. yakni sebesar 100% pada endofit batang, sedangkan *Rhizopus* spp., dan *Fusarium* spp. masing-masing sebesar 90%, pada eksofit daun dan batang.
3. Hasil pengujian daya hambat ditemukan bahwa pada eksofit daun *Rhisopus* spp. memberikan penghambatan sampai berkisar dari $70,37 \pm 3,2\%$ - 100%, sedangkan *A. niger* sebesar 72,22%. Pada eksofit batang hanya ditemukan *Trichoderma* sp. menghambat patogen sebesar $73,70 \pm 3,57\%$. Pada endofit daun ditemukan *A. niger* sebesar $70,37 \pm 3,2\%$, sedangkan *Neorospora* spp. berkisar $79,11 \pm 3,21\%$ - $88,50 \pm 2,10\%$. Pada endofit batang ditemukan *Neurosporas* spp. sebesar $70,74 \pm 3,57\%$ - $79,26 \pm 1,28\%$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Bapak Rektor Universitas Udayana, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Bapak Dekan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, atas kesempatan yang diberikan sebagai peneliti, sehingga penelitian ini dapat terwujud.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota.
- Besse P., D.D. Silva, S. Bory, M. Grisoni, F.L. Bellec and M.F. Duval. 2004.

- RAPD genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *C. tahitensis* and *V. pompon*. *Plant Science* 167: 379-385.
- Borgohain, A., R. Das, and M. Chutia. 2014. Fungal diversity in phylloplane of castor plant (*Ricinus communis* L.): the primary food plant of Eri Silk worm. *Scholarly Journal of Agricultural Science* 4(2): 82-86.
- Divakaran M., K.N. Babu and K.V. Peter, 2006. Conservation of Vanilla species, in vitro. *Scientia horticultrae*, 110: 175-180.
- Dolar, F.S. 2001. Antagonistic effect of *Aspergillus melleus* Yukawa on soilborne pathogens of Chickpea. *Tarim Bilimleri Dergisi*, 8(2) : 167-170.
- Faeth, S.H. 2002. Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *Oikos* 98: 25-36.
- Fouche, J.G. and L. Jouve. 1999. Vanilla planifolia: history, botany and culture in Reunion island. *Agronomie* 19: 689-703.
- Indrawati. G., R.A. Samson, K. Van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Universitas Indonesia (University of Indonsia Culture Collection) Depok, Indonsia dan Centraalbureau voor Schirmmelcultures, Baarn, The Netherlands.
- Mojica-Marin, V., H. A. Luna-Olvera, C. Fco, Sandoval-Coronado, B.Pereyra-Alférez, H. Lilia, Morales-Ramos, E. Carlos, Hernández-Luna and G. O. Alvarado-Gomez. 2008. Antagonistic activity of selected strains of *Bacillus thuringiensis* against *Rhizoctonia solani* of chili pepper. *African Journal of Biotechnology*, 7 (9) : 1271-1276.
- Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. Blackie Avademic and Professional. Second Edition. London-Weinhein-New York-Tokyo-Melboune-Madras.
- Prabakaran, M., S. Marinal, and A. Panneerselvam. 2011. Investigation of phylloplane mycoflora from some medical plants. *European Journal of Experimental Biology* 1(2): 219-225.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, and C. A.N. Van Oorschot. 1981. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Centraalbureau Voor-Schimmelcultures. Institute of The Royal Netherlands. Academic of Arts and Sciences.
- Selim KA, AA. El-Beih, TM. AbdEl-Rahman, and AI. El-Diwany. 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 2(1), 31 –82.
- Sukanto dan M. Tombe. 1994. Penggunaan produk cengkeh untuk penanggulangan penyakit BBV. Bahan Seminar 21-23 November 1994.
- Sunshine, A., V. Bael, M.C. Valencia, E.L. Rojas, N. Gomez, D.M. Windsor, and E.A. Herre. 2009. Effects of foliar endophytic fungi on the preference and performance of the leaf beetle *Chelymorpha alternans* in Panama. *Biotropica* 41(2): 221-225.
- Thomas, J., A.K. Vijayan, and R. Suseela Bhai. 2002. Vanilla diseases in India and their management. *Indian Journal of Arecanut, Spices and Medicinal Plants* 4: 143-149.
- Tombe, M. 2010. Teknologi Ramah Lingkungan dalam Penedalihan Penyakit Busuk Batang Vanili. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 3(2): 138-153.
- Walton N.J., M.J. Mayer, and A. Narbad, Vanillin. *Phytochemistry* 63: 505-515.

Yadav, S.L., A.K. Mishra, P.N. Dongre, and R. Singh. 2011. Assessment of fungixicity of phylloplane fungi against *Alternaria brassicae* causing leaf spot of mustard. *Journal of Agricultural Technology* 7(6): 1923-1831.

Yadav, S.L., A.K. Mishra, P.N. Dongre, and R. Singh. 2011. Assessment of fungixicity of phylloplane fungi against *Alternaria brassicae* causing leaf spot of mustard. *Journal of Agricultural Technology* 7(6): 1923-1831.