

Uji Daya Hambat Jamur Endofit Terhadap *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao Secara *in Vitro*

GEDE DANGU INDRAWANGSA
I MADE SUDARMA*)
I DEWA PUTU SINGARSA

PS. Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80321 Bali
)Email: sudarma_made@ymail.com

ABSTRACT

***In Vitro* Inhibition Test of Endophytic Fungi Againsts *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler the cause of Black Pod Disease on Cocoa**

Cocoa plant is an important industrial crops in Indonesia. Cocoa is the industrial raw materials manufacture of chocolate. Indonesia is one of the biggest cocoa producer in the world. The land area and the climate in Indonesia is really good for supporting its cultivation so that it has a good potential as an important commodity. The utilization of biological agents to control the black pod disease caused by *Phytophthora palmivora* is one of the solutions which is safe for the environment. This study was aimed to determine the type and the effectivity of endophytic fungi as biological agents to control the black pod disease of cocoa caused by *P. palmivora*. This study included several steps which are: Pathogen isolation, endophytic fungi isolation, endophytic fungi identification, and antagonistic test. The result showed that *P. palmivora* was found as the main pathogen which caused the black pod disease of cocoa. *Neurospora* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus* spp. were types of endophytic fungi which had the best inhibition among the other endophytic fungus. Endophytic fungi was able to control pathogen by antibiosis. *Trichoderma* sp. was the fungi which is able to control the pathogen by antibiosis by excreting antibiotal compound that is dangerous for pathogen.

Keywords: *Cocoa*, *Endophytic fungi*, *Black Pod Disease*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah komoditi perkebunan unggulan di Indonesia. Indonesia sendiri merupakan salah satu negara penghasil kakao terbesar di dunia. Provinsi Bali merupakan salah satu penghasil kakao nasional yang saat ini juga dikembangkan produktifitasnya. Luas areal dan produksi perkebunan kakao di

Bali pada tahun 2015 mencapai luas 14.940 ha dengan total produksi 4.784 ton, meningkatnya luas areal tanaman kakao tidak diikuti dengan peningkatan produksi kakao. Produksi kakao menurun dari tahun sebelumnya karena pengaruh dari anomaly iklim, hama penyakit, dan konversi lahan (Ditjenbun, 2014). Salah satu penyakit penting pada tanaman kakao adalah penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* (USDA, 2012). Pemanfaatan agensia hayati untuk mengendalikan busuk buah kakao yang disebabkan oleh *P. palmivora* merupakan salah satu solusi pengendalian yang ramah lingkungan. Salah satu agensia hayati yang berpotensi untuk mengendalikan busuk buah kakao adalah jamur endofit pada tanaman kakao. Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang tumbuh dalam jaringan tumbuhan. Jamur endofit dapat diisolasi dari jaringan akar, batang dan daun, dan yang paling umum ditemukan adalah dari jenis jamur. Jamur endofit selain memiliki peranan penting dalam dunia pengobatan, jamur endofit juga memiliki peranan penting dalam dunia pertanian (Strobel, 2003). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dan efektifitas jamur endofit sebagai agensia hayati untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao yang di sebabkan oleh *P. palmivora*.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian uji *in vitro* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Penelitian dilakukan mulai dari bulan Juni 2016 sampai dengan Agustus 2016.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kamera digital, mikroskop, erlenmayer, autoclave, gelasukur cawan Petri, shaker, apibunsen, laminar air flow, pinset, jarum oase, spuit, panci, kompor elektrik, aluminium foil, plastic 2kg, penggaris, kertas label,dan tissue.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel tanaman kakao sehat seperti daun, buah dan batang kakao,sampel buah kakao yang sakit, PDA, aquadest, antibiotik *levofloxacin* 500mg, spritus,dan alkohol 70%.

2.3 Alur Penelitian

2.3.1 Isolasi Patogen

Sampel yang digunakan adalah buah kakao yang terserang busuk buah. Sampel yang telah diambil dipotong kecil-kecil sebanyak 5 spesimen dengan ukuran 1cm², kemudian dibersihkan dengan cara direndam dengan alkohol 70% selama satu menit, kemudian dibilas dengan aquadest steril. Potongan sampel tersebut diletakkan pada media PDA. Setelah 3 hari jamur sudah tumbuh miselium, sampel dimurnikan lagi pada cawan petri baru. Kemudian diamati perkembangan koloni, warna jamur,dan pengamatan dengan mikroskop.

2.3.2 Isolasi Jamur Endofit dan Identifikasi Jamur Endofit

Jamur endofit yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tanaman kakao sehat. Daun, batang dan buah yang sudah diambil disterilkan dengan alkohol 70% selama 1 menit, dan dibilas dengan aquadest. Selanjutnya dipotong menjadi kotak-kotak berukuran 1cm², Masing-masing sampel dibagi menjadi 5 bagian dan ditempatkan pada cawan petri yang berisi media PDA. Jamur yang muncul pada potongan isolat sampel masing-masing dimurnikan ke cawan Petri baru. Setelah beberapa hari jamur sudah tumbuh memenuhi cawan petri selanjutnya di lakukan identifikasi. Isolat Jamur Endofit diidentifikasi secara makroskopis untuk mengetahui warna koloni, serta identifikasi secara mikroskopis untuk mengetahui septa pada hifa, bentuk spora/konidia dan sporangiofor. Hasil identifikasi dicocokkan dengan buku panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000).

2.3.3 Uji Antagonis

Semua isolat jamur endofit yang ditemukan diuji daya hambatnya terhadap patogen dengan metode *dual culture* yang ditumbuhkan di dalam satu cawan Petri. (Dolar, 2001 ; Mojica-Morin *et al.*, 2008).

Persentase daya hambat jamur antagonis terhadap jamur patogen ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

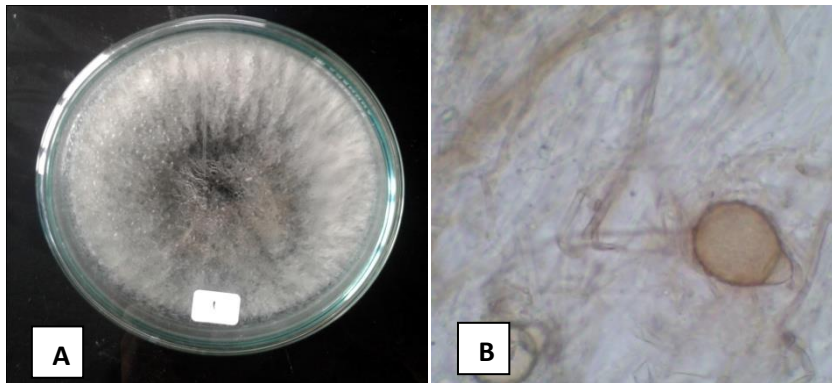
$$\text{Rumus Daya Hambat} = \frac{\text{Diameter Koloni Kontrol} - \text{Diameter Koloni Perlakuan}}{\text{Diameter Koloni Kontrol}} \dots\dots\dots (1)$$

Pengamatan daya hambat jamur antagonis terhadap patogen dihitung sampai kontrol (patogen biakan tunggal) memenuhi cawan Petri.

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Isolasi Patogen Penyebab Busuk Buah Kakao

Hasil dari isolasi patogen pada buah kakao sakit yang diambil di desa Peraan, Kabupaten Tabanan (Gambar 1.), koloni *P. palmivora* yang ditemukan pada penelitian ini memiliki warna putih cerah, sporangium berbentuk bulat dan warna yang terlihat adalah warna cokelat, sporangium dari *P. palmivora* dilapisi oleh lapisan tipis di bagian sporangium, hifa tidak bersekat. Menurut buku *Descriptions of Pathogenic fungi and bacteria* (CMI), 1981) dijelaskan bahwa hampir semua spesies dari genus *Phytophthora* memiliki hifa bercabang tak beraturan. Sporangiumnya dilapisi oleh dinding tipis dan tanpa warna. Seringkali bentuk dari sporangiumnya tidak beraturan, berbentuk oval, kadang-kadang panjang dan langsing, membulat seperti bola dan melebar. Berdasarkan hasil identifikasi dan verifikasi uji patogenisitas dapat disimpulkan jamur tersebut merupakan *P. palmivora* penyebab busuk buah kakao.



Gambar 1. Jamur *P. palmivora*. (A) Koloni *P. palmivora* (B) Sporangium *P. palmivora* (pembesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

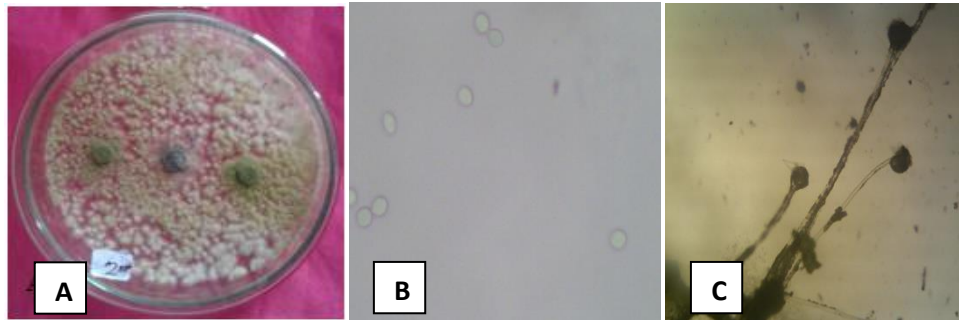
3.2 Isolasi Jamur Endofit dan Identifikasi Jamur Endofit

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, ditemukan keanekaragaman jamur endofit yang ditemukan pada cawan Petri. Jenis jamur tersebut berasal dari isolat daun, kulit buah dan batang kakao sehat. Dari isolat Endofit asal kulit buah ditemukan antara lain *Neurospora* spp. 5 isolat, *Cylindrocarpon* sp.1 isolat, *Fusarium* spp. 2 isolat, *Mortierella* sp. 4 isolat, *Trichoderma* spp. 5 isolat, *Septocylindrium* sp. 3 isolat dan *Micelia sterilia* 4 isolat. Isolat endofit asal daun sehat yang ditemukan jamur seperti *Aspergillus* spp. 3 isolat, *Trichoderma* spp. 5 isolat, *Aspergillus niger* 3 isolat, *Aspergillus flavus* 1 isolat, *Micelia sterilia* sebanyak 5 isolat, *Fusarium* sp. 2 isolat, dan *Verticillium* sp. 1 isolat. Sedangkan jamur endofit batang sehat ditemukan *Dactylium* sp. 2 isolat, *Trichoderma* spp. 5 isolat, *Fusarium* spp. *Micelia sterilia* 5 isolat, sebanyak 1 isolat, *Neurospora* spp. sebanyak 5 isolat. Hasil penelitian Nur Amin *et al.* (2014) menemukan jamur endofit pada tanaman kakao tahan VSD M.05 adalah 6 genus yaitu *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Gliocladium* sp., dan *Colletotrichum* sp., dan empat yang tidak teridentifikasi.

3.2.1 Sifat dan Morfologi Jamur Endofit Yang Ditemukan

A. *Aspergillus* sp.

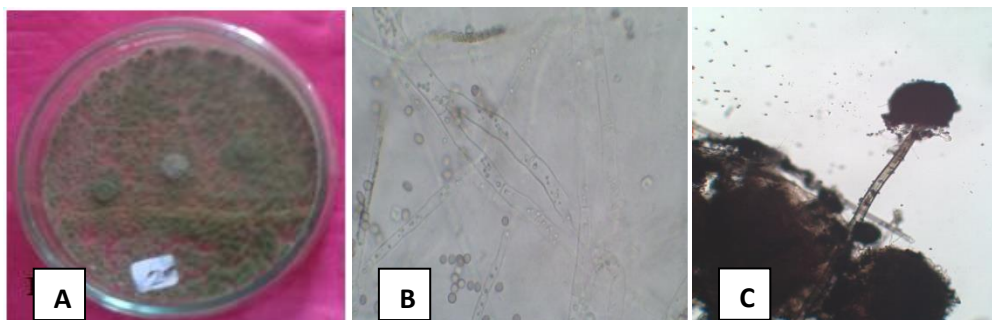
Koloni *Aspergillus* sp. pada penelitian ini secara makroskopis berwarna putih hijau berkabut. Dilihat secara mikroskopis jamur *Aspergillus* sp. mempunyai spora bulat/ semi bulat, konidiofor tegak dan membentuk kepala konidia berbentuk bulat/ semibulat pada ujungnya. Menurut buku panduan panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000) jamur ini tergolong jenis *Aspergillus* sp. (Gambar 2.).



Gambar 2. Jamur *Aspergillus* sp. (A) Koloni *Aspergillus* sp. (B) Spora *Aspergillus* sp., (C) Kepala Konidia *Aspergillus* sp. (Perbesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

B. *Aspergillus niger*

Warna dari koloni *A. niger* yang nampak pada cawan petridalam penelitian ini berwarna coklat kehitaman, konidia bulat/ semi bulat bewarna coklat kehitaman, memiliki hifa yang bersekat, konidiofor tegak dan membentuk kepala konidia bulat yang berwarna coklat kehitaman. Menurut buku panduan panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000) jamur ini tergolong jenis *A. niger* (Gambar 3.).



Gambar 3. Jamur *Aspergillus niger*. (A) Koloni *Aspergillus niger*, (B) Hifa *Aspergillus niger*, dan (C) Kepala Konidia *Aspergillus niger* (Perbesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

C. *Aspergillus flavus*

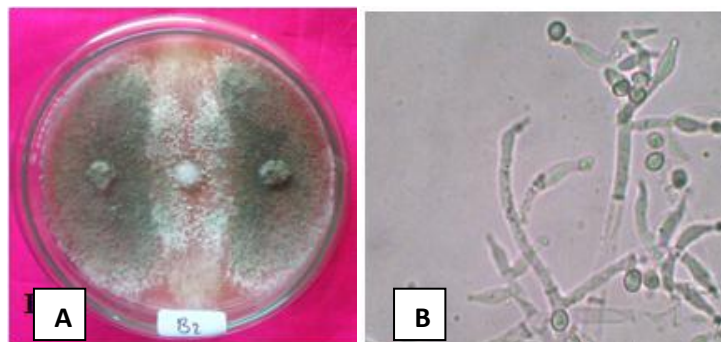
A. flavus yang ditemukan dilihat secara makroskopis yang tampak pada cawan petri koloni berwarna hijau, konidiofornya tidak berwarna, kasar, bagian atas agak bulat serta konidia kasar, hifa tidak bersekat. Menurut buku panduan panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000) jamur ini tergolong jenis *A. niger* (Gambar 4.).



Gambar 4. Jamur *Aspergillus flavus*. (A) koloni *A. flavus*, (B) kepala konidia *A. flavus*, (C) Hifa *A. flavus* (Perbesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

D. *Trichoderma* sp.

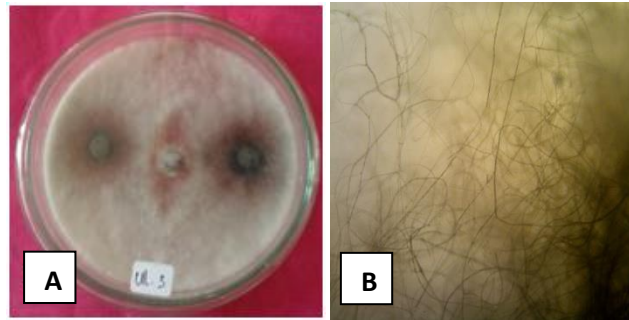
Koloni *Trichoderma* sp. pada penelitian ini memiliki koloni warna hijau dan pertumbuhan sangat cepat. Dilihat secara mikroskopis jamur ini memiliki konidia berbentuk bulat, memiliki konidiofor yang ujungnya terdapat fialide berjumlah 3-6. Menurut buku panduan panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000) jamur ini tergolong jenis *Trichoderma* sp. (Gambar 5.).



Gambar 5. Jamur *Trichoderma* sp. (A) Koloni *Trichoderma* sp., dan (B) jamur *Trichoderma* sp. dilihat secara mikroskopis (Perbesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

E. *Neurospora* spp.

Warna koloni dari *Neurospora* sp. yang ditemukan berwarna putih yang lama kelamaan akan berubah menjadi sedikit kuning. Apabila dilihat dari mikroskop bagian tubuh *Neurospora* sp. yang terlihat adalah miselianya. *Neurospora* sp. memiliki hifa yang memanjang dan bergerombol. Menurut buku panduan panduan Domsch *et al.* (1980) dan Gandjar *et al.* (2000) jamur ini tergolong jenis *Neurospora* sp. (Gambar 6.).



Gambar 6. Jamur *Neurospora* sp. (A) Koloni *Neurospora* sp., dan (B) Hifa *Neurospora* sp. (Perbesaran 400x) (Sumber: Dokumen Pribadi).

3.3 Prevalansi Jamur Endofit

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan selama tiga bulan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana, menunjukkan bahwa prevalensi jamur pada endofit asal batang kakao sehat yang ditemukan adalah *Neurospora* spp. 25%, *Fusarium* sp. 10%, *Trichoderma* spp. 25%, *Oidium* sp. 5%, *Dactylium* sp. 10%, mycelia sterilia 25%. Sedangkan endofit asal kulit buah sehat ditemukan adalah *Trichoderma* spp. 25%, *Micelia sterilia* 20%, *Cylindrocarpum* sp. 5%, *Fusarium* sp 10%, *Mortierella* sp. 20%, *Septocylindrium* 15%, *Neurospora* spp. 25% dan endofit pada daun sehat ditemukan adalah *Aspergillus flavus* 5%, *Trichoderma* spp. 25%, *mecelia sterilia* sebanyak 25%, *Aspergillus* sp. 15%, *Fusarium* 10%, *Aspergillus niger* 15%. Hasil penelitian Amin *et al.* (2014) menemukan jamur endofit pada tanaman kakao tahan VSD M.05 adalah 6 genus yaitu *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Gliocladium* sp., dan *Colletotrichum* sp., dan empat yang tidak mampu diidentifikasi.

3.4 Hasil Uji Antagonistik Jamur Endofit terhadap *P. palmivora*

Diantara jenis jamur Endofit yang ditemukan dalam penelitian ini, diketahui bahwa tidak semua jenis jamur Endofit memiliki daya hambat yang cukup baik bahkan tidak memiliki daya hambat sama sekali. Ada pula jenis jamur endofit yang mampu mengendalikan *P. palmivora* dengan mekanisme penghambatan antibiosis. Sedangkan yang di ditampilkan adalah jenis jamur Endofit yang memiliki daya hambat dengan katagori yang sangat baik yaitu dengan daya hambat 80% keatas. Jenis jamur Endofit yang ditemukan memiliki daya hambat sangat baik atau yang memiliki daya hambat 80% keatas pada Endofit asal daun diperoleh *Aspergillus* spp. sebesar $80\pm 2\%$, *A. niger* sebesar $85\pm 2\%$, *Aspergillus flavus* sebesar 95%, dan *Trichoderma* spp. sebesar $90\pm 2\%$. Endofit asal batang diperoleh hanya *Neurospora* spp. sebesar $90\pm 1,5\%$, dan *Trichoderma* spp. sebesar $90\pm 1,5\%$. Sedangkan endofit asal kulit buah diperoleh *Neurospora* spp. sebesar $92\pm 1\%$ dan *Trichoderma* spp. sebesar $80\pm 2\%$. Sedangkan diantara jamur endofit yang memiliki daya hambat diatas 80% yang mencapai angka tertinggi adalah *Aspergillus flavus*. *A. Flavus* mampu menekan *P. palmivora* hingga mencapai angka 95%. *Aspergillus flavus* dan *A. terreus* yang

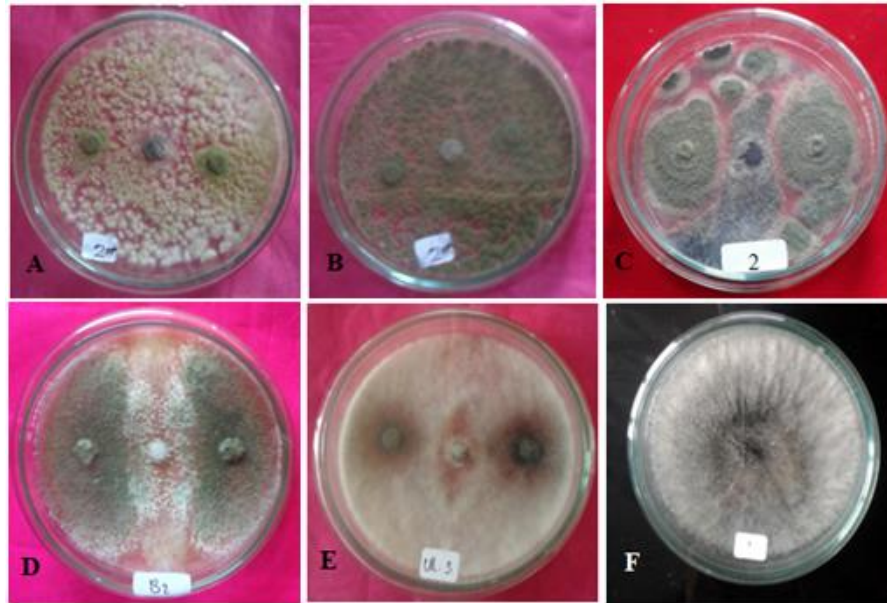
tumbuh secara internal merupakan jamur tular benih dapat menghambat pertumbuhan patogen *Rhizoctonia solani* Khun, dan selanjutnya informasi ini berguna digunakan untuk pengendalian penyakit tular benih yang terjadi pada tanaman penting lainnya (Sharma *et al.*, 2012). Endofit yang ditemukan pada batang tanaman kakao cenderung genus yang biasanya dikenal sebagai jamur tanah (contoh *Clonostachys* dan *Trichoderma*) (Mejia *et al.*, 2008).

Tabel 1. Uji daya hambat jamur endofit terhadap *P. palmivora* (3HSI).

Nama jamur	Endofit asal batang	Endofit asal kulit buah	Endofit asal Daun
<i>Botryoderma</i> sp.	-	-	-
<i>Aspergillus</i> spp.	-	-	80±2%
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	85±2%
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	95%
<i>Micelia sterilia</i>	-	-	-
<i>Cylindrocarpon</i> sp.	-	-	-
<i>Dactylium</i> sp.	-	-	-
<i>Fusarium</i> sp.	-	-	-
<i>Oidium</i> sp.	-	-	-
<i>Mortierella</i> sp.	-	-	-
<i>Mucor</i> sp.	-	-	-
<i>Neurospora</i> spp.	90±1,5%	92±1%	-
<i>Septocylindrium</i>	-	-	-
<i>Trichoderma</i> spp.	90±1,5%	80±2%	90±2%
<i>Verticillium</i> sp	-	-	-

*Yang ditampilkan pada tabel hanya yang memiliki daya hambat diatas angka 80%.

Proses penghambatan uji antagonistik secara keseluruhan jamur endofit terbaik terhadap *P. palmivora* dapat dilihat pada (Gambar 7.). Jamur endofit *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma* sp., dan *Neurospora* sp. dapat diketahui melakukan mekanisme penghambatan dengan cara kompetisi terhadap patogen *P. palmivora*. Hal ini ditunjukkan pada masing-masing perlakuan yang mampu menghambat pertumbuhan patogen dengan nilai persentase yang tinggi. Jamur endofit tersebut memiliki pertumbuhan yang cepat pada media PDA, sehingga lebih unggul dalam penguasaan ruang dan nutrisi yang terdapat pada media tumbuh PDA. Menurut Melysa *et al.* (2013), sifat antagonis muncul dikarenakan adanya persaingan yang terjadi antara dua jenis jamur yang ditumbuhkan berdampingan, Persaingan ini terjadi akibat adanya kebutuhan yang sama dari masing-masing jamur, yaitu kebutuhan tempat tumbuh dan nutrisi dari media yang digunakan untuk tumbuh.



Gambar 7. Jamur *P. palmivora* yang diberi perlakuan jamur endofit. (A) *Aspergillus* sp., (B) *Aspergillus niger*, (C) *Aspergillus flavus*, (D) *Trichoderma* sp., (E) *Neurospora* sp. dan (F) Kontrol *P. palmivora* (5HSI) (Sumber: Dokumen Pribadi).

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

1. *Neurospora* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus flavus*., *Aspergillus niger*. dan *Aspergillus* spp. merupakan jenis jamur endofit yang mempunyai daya hambat lebih dari 80% terhadap *P. palmivora*.
2. *Aspergillus flavus* adalah jenis jamur yang mampu mengendalikan patogen *P. palmivora* dengan persentase daya hambat hingga mencapai angka 95% .

4.2 Saran

Dilihat dari penelitian sebelumnya, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui cara dan efektifitas jamur endofit untuk diterapkan di lapangan.

Daftar Pustaka

- CMI. 1981. "Description of Pathogenic Fungi and Bakteria". Commonwealth Micological Institute England. 1616p.
- Ditjenbun. 2014. Kakao, Statistik Perkebunan Indonesia, Direktorat Jendral Perkebunan Indonesia. Jakarta.
<http://ditjenbun.pertanian.go.id/tinymcpuk/gambarfile/file/statistik/2016/KAKAO%202014-2016.pdf>.
- Dolar, F.S. 2001. Antagonistic effect of *Aspergillus melleus* Yukuwa on soilborne pathogen of Chickpea. Tarim Bilimleri Dergisi, 8(2) : 167-170.

- Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. Compendium of soil fungi. Academic press, A subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich Publisher. London.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. Tweel- Vermeulen, van den, A. Oetari, I. Santoso. 2000. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Mejia, L.C., Rojas E.I., Maynard Z., Van Bael S.A., Arnold E.A., Hebbar P. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biol. Control* 46; 4–14.
- Melysa, N. Fajrin, Suharjono, M.E.D. Astuti. 2013. Potensi *Trichoderma* sp. Sebagai Agen Pengendali *Fusarium* sp. Patogen Tanaman Strawberry (*Fragaria* Sp.) Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Tlekung, Kota Batu 2013.
- Nur Amin, M. Salam, M. Junaid1, Asman, and M. Said Baco. 2008. Isolation and identification of endophytic fungi from cocoa plant resistente VSD M.05 and cocoa plant Susceptible VSD M.01 in South Sulawesi, Indonesia. Volume 3 Number 2 (2014) pp. 459-467.
- Sharma, D., Gupta, C., Aggarwal, S., and Nagpal, N., 2012, Pigmen extraction from fungus for textile dyeing, *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, 37 : 68-73.
- Strobel, G.A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. pp.1.
- USDA, 2012. *Phytophthora palmivora* Pests and Diseases of American Samoa. American Samoa Community College Community & Natural Resources Cooperative Research & Extension. 12:1-2.