

Identifikasi Jamur Penyebab Penyakit Kudis pada Buah Jeruk Siam Kintamani (*Citrus nobilis* L.) dan Pengendaliannya Secara Hayati

ATPENIA BR SEMBIRING¹

I MADE SUDANA^{2*)}

NI WAYAN SUNITI²

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana

²Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Udayana

^{*)}Email: imadesudana74@yahoo.com

ABSTRACT

Identification of Fungi Causing Scabies Disease on Kintamani Siam Orange Fruit (*Citrus nobilis* L.) and Biological Control

Siam orange is one of the leading fruit commodities in the Province of Bali, Kintamani District is one of the areas that produce siam orange in Bali. Orange fruits in Kintamani District show many symptoms of attacks on the skin of orange fruits such as scabies. Symptoms of the attack include brownish to gray spots, slightly protruding like a cork, forming a pattern on the skin of the fruit like a splash of water and rough to the touch like scabies, the cause of this disease is unknown. Orange scab disease get less attention by farmers because it is considered to have no effect on the quantity or taste of orange fruits, but orange scab disease has seriously damaged the appearance of orange fruits. The purpose of this study was to determine the pathogens that causing scurvy in orange fruits and to determine which fungi are antagonistic and able to suppress the growth of pathogens that cause scurvy in Kintamani District. The results of the isolation and molecular identification of the scurvy pathogenic fungi showed that the fungi was *Diaporthe phaseolorum* and the antagonistic fungi that could control the pathogenic fungi in vitro were *Aspergillus niger* isolated from healthy citrus fruits in the same location and the *Trichoderma* fungi group, namely *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*.

Keywords: *Scabies on Kintamani Siam Orange Fruit, Diaporthe phaseolorum, Biological Control*

1. Pendahuluan

Jeruk siam merupakan salah satu komoditas buah unggulan nasional selain pisang dan mangga yang keberadaannya menyebar hampir di seluruh wilayah Indonesia dan termasuk buah yang sangat populer karena disukai oleh berbagai lapisan konsumen dari anak kecil sampai orang tua. Jeruk siam termasuk salah satu komoditas buah unggulan Provinsi Bali. Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli merupakan

sentra produksi jeruk tertinggi di Bali. Sekitar 71,76% produksi jeruk di Bali berasal dari Kabupaten Bangli (BPS Provinsi Bali, 2010). Buah jeruk yang berada di Kecamatan Kintamani banyak menunjukkan serangan pada kulit buah jeruk seperti penyakit kudis. Penyakit ini dinamai kudis karena menghasilkan lesi seperti kudis atau keropeng yang berkembang terutama pada kulit buah, gejalanya ditandai dengan bercak berwarna kecoklatan sampai kelabu, agak menonjol seperti gabus membentuk pola pada kulit buah seperti percikan air dan kasar bila disentuh mirip seperti kudis. Serangan penyakit kudis tidak berpengaruh terhadap segi kuantitas atau rasa jeruk, namun penyakit ini mengakibatkan menurunnya kualitas dan nilai jual jeruk segar komersial dan juga berpengaruh terhadap pemasaran buah jeruk.

Penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani perlu dikendalikan agar produksi jeruk siam Kintamani memiliki kualitas yang bagus sehingga tidak kalah dengan buah jeruk impor yang masuk ke Indonesia dan petani jeruk siam di Kintamani ini tidak mengalami kerugian dan tidak mengalami kesulitan dalam pemasaran buah jeruk tersebut. Pengendalian penyakit untuk mencapai produksi yang mantap dan kondisi lingkungan lestari yaitu pengendalian menggunakan agen hayati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebab penyakit kudis pada buah jeruk siam tersebut dan mencari jamur antagonis yang mampu mengendalikan patogen penyebab penyakit kudis pada buah jeruk siam ini secara *in vitro*.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari sampai dengan bulan Juli 2020. Pengambilan sampel dilakukan di pertanaman jeruk siam di Desa Mengani, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali. Identifikasi jamur penyebab penyakit kudis dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan 1st Base (Malaysia).

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan Petri, tabung reaksi, pipet mikro, *cover glass*, *deck glass*, *microscope slides*, *autoclave*, sendok, kompor gas, timbangan digital, *laminar air flow*, *cork borer*, vorteks, gelas ukur, erlenmeyer, *Bakker glass*, api bunsen, jarum Ose, optilab, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), eppendorf, vorteks, sentrifugasi, elektroforesis, transilluminator ultraviolet, pinset, saringan, kain kasa, tisu, gunting, pisau, kapas, plastik *wrap*, masker, alat tulis, penggaris, kamera, laptop, mikroskop, kantong plastik, kertas label, wadah dengan tutup, panci, pipet tetes. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jeruk siam yang bergejala penyakit kudis, buah jeruk siam kecil dan belum matang (berusia 3-8 minggu) dan sehat, isolat agen hayati koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, kentang, sukrosa, agar, media NA (*nutrient agar*) alkohol 70%, NaClO, levofloxacin, aquades, air steril, spiritus, nitrogen cair,

buffer CTAB, buffer TE, primer ITS1, primer ITS4, merapethanol, kloroks 0.5%, mercapethanol, sodium asetat, kloroform isoamilalkohol, etanol (70 %), sampel jamur.

2.3 Tahapan Pelaksanaan Penelitian

1. Survei lapangan dan pengambilan sampel

Penelusuran ke lapangan dilaksanakan untuk meninjau lokasi usaha tani jeruk siam yang terserang penyakit kudis. Penyakit kudis pada buah jeruk siam ditemukan di Desa Mengani, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengamati secara visual untuk mencari buah jeruk yang bergejala penyakit kudis. Sampel buah jeruk siam yang bergejala dimasukkan kedalam kantong plastik yang steril.

2. Isolasi patogen

Proses isolasi mengikuti metode Darsini (2018) dengan beberapa modifikasi. Sampel buah jeruk siam yang bergejala penyakit kudis dicuci menggunakan air mengalir. Kulit jeruk dilepas dari buahnya kemudian dipotong kotak-kotak pada bagian setengah sehat dan setengah terserang penyakit dengan ukuran 1x1 cm², selanjutnya disterilkan kedalam larutan aquades lalu kedalam alkohol 70% dan terakhir dicelupkan kedalam aquades, masing-masing selama 1 menit kemudian ditiriskan di tissue. Potongan kulit jeruk yang sudah disterilkan diletakkan dalam cawan Petri yang berisikan media PDA dan diinkubasi pada tempat yang gelap dalam suhu ruang (26-28°C) sampai patogen tumbuh dari pinggir potongan kulit jeruk. Jamur patogen sudah tumbuh kemudian dimurnikan pada media PDA baru.

3. Uji patogenisitas

Proses uji patogenisitas menggunakan metode Darsini (2018) dengan beberapa modifikasi. Jamur yang didapat dari hasil isolasi dibuat menjadi suspensi jamur yang akan diinokulasikan pada buah jeruk siam Kintamani yang muda dan sehat. Buah yang akan diinokulasi dicuci dibawah air mengalir, selanjutnya direndam di dalam larutan NaClO selama 2 menit kemudian dicelupkan kedalam air steril lalu direndam di dalam alkohol selama 2 menit dan terakhir dicelupkan ke dalam air steril kemudian dikering anginkan.

Inokulasi dilakukan dengan cara menyiram suspensi jamur patogen pada kulit buah jeruk siam yang sudah dilukai dengan jarum steril dan diletakkan di dalam wadah steril yang telah dilapisi dengan tisu yang dibasahi kemudian di tutup dengan *wrap* lalu diletakkan dalam ruangan yang gelap dalam suhu ruang. Disiapkan buah kontrol dengan metode yang sama seperti proses inokulasi jamur patogen, hanya saja tanpa diberi perlakuan jamur patogen. Kedua perlakuan diamati sampai gejala penyakit kudis muncul pada kulit jeruk siam yang diberi perlakuan jamur patogen. Jika muncul gejala yang sama dengan gejala penyakit kudis pada kulit jeruk seperti di lapangan, maka jamur hasil isolasi tersebut memang benar patogen kudis pada kulit buah jeruk siam Kintamani.

4. *Identifikasi patogen secara morfologi dan molekuler*

Identifikasi jamur patogen dilakukan secara morfologi berdasarkan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilaksanakan dengan melihat warna dan bentuk koloni jamur patogen pada cawan Petri. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan di bawah mikroskop cahaya untuk mengamati bentuk spora dan hifa jamur patogen. Hasil pengamatan secara morfologi kemudian dicocokkan dengan jurnal-jurnal yang tersedia dan sumber internet.

Langkah awal dalam identifikasi secara molekuler adalah dengan Ekstraksi DNA mengikuti prosedur dari Doyle *and* Doyle, 1987, pellet yang sudah didapat dari proses ekstraksi DNA selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer universal ITS1 dan ITS4, produk hasil amplifikasi selanjutnya disekuensing untuk mengetahui urutan DNANYA. Produk amplifikasi dikirim ke 1st Base (Malaysia) untuk perunutan nukleotida, hasil perunutan selanjutnya dianalisis menggunakan program *basic local alignment search tool* (BLAST) untuk memperoleh urutan basa DNA yang memiliki homologi dengan sekuen DNA yang terdapat dalam situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Runutan nukleotida yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan penyejajaran berganda *ClustalW* pada perangkat lunak Bioedit sequence alignment editor versi 7.0.5. Dicari homolog dan kekerabatan dari DNA mendekati kesamaan 100% dikategorikan spesies yang sama dengan spesies sampel pada data base di GenBank untuk memastikan spesies jamur hasil homologi.

5. *Isolasi dan identifikasi secara morfologi jamur antagonis*

Isolasi jamur yang berpotensi antagonis menggunakan metode Darsini (2018) dengan beberapa modifikasi dilakukan dengan mengambil buah yang sehat di sekitar areal pertanaman jeruk siam di Kintamani yang terjangkit penyakit kudis. Proses isolasi mikroorganisme antagonis dilakukan dengan cara mencuci buah jeruk yang sehat tersebut di dalam suatu wadah, air cucian tersebut kemudian diaduk dan diteteskan 3 tetes kedalam media PDA lalu dibiakkan sampai tumbuh jamur yang diduga sebagai jamur antagonis terhadap jamur patogen penyebab penyakit kudis, jamur yang telah tumbuh kemudian dimurnikan lalu diidentifikasi secara morfologi secara makroskopis dan mikroskopis dan dicocokkan dengan buku CMI (1978) untuk mengetahui jenis jamur. Jamur antagonis selanjutnya dipakai sebagai uji antagonis.

6. *Uji antagonis secara in vitro*

Jamur antagonis dipakai untuk uji antagonis adalah jamur antagonis hasil isolasi dari lapangan dan jamur antagonis koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana yaitu 4 isolat jamur *Trichoderma* sp. Keempat isolat kelompok *Trichoderma* sp. tersebut adalah *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma asperellum*. Semua jamur antagonis diuji secara *in vitro* dengan metode *dual culture* kepada jamur patogen untuk melihat daya hambat dari masing-masing jamur terhadap jamur patogen. Koloni jamur

antagonis diletakkan pada sisi yang berlawanan dengan jamur patogen pada media PDA dalam cawan Petri dengan jarak 4 cm selanjutnya diinkubasi di ruang gelap pada suhu ruang. Evaluasi dilakukan dengan menghitung persentase penghambatan pertumbuhan jamur patogen oleh jamur antagonis. Pengukuran luas pertumbuhan jamur patogen menggunakan kertas millimeter blok dan mulai dilakukan 2-10 HSI (Hari Setelah Inokulasi). Rumus yang digunakan dalam menghitung presentase daya hambat adalah sebagai berikut:

$$P = \frac{K-A}{K} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

P = Presentase daya hambat mikroorganisme antagonis (%)

K= Luas pertumbuhan koloni jamur kontrol (patogen tanpa mikroorganisme antagonis)

A = Luas pertumbuhan jamur patogen dengan mikroorganisme berpotensi antagonis

7. *Rancangan penelitian dan analisis data*

Pengujian daya hambat jamur antagonis terhadap pertumbuhan jamur patogen dengan metode *dual culture* secara *in vitro* dan kontrol sebagai pembanding menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri lima taraf jamur antagonis yaitu empat isolat jamur genus *Trichoderma* dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan satu isolat hasil isolasi dari buah jeruk siam yang sehat. Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali, parameter yang diamati ialah persentase penghambatan isolat uji terhadap patogen. Analisis ini dilaksanakan dengan menghitung rata-rata luas pertumbuhan patogen kontrol dan rata-rata luas pertumbuhan patogen dengan perlakuan isolat uji.

Data kemudian dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Varians*), apabila pada analisis keragaman nilai F hitung \leq F tabel atau peluang (p) $F > 0,05$; maka $H_0 : T_i = 0$ diterima yang berarti bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang tidak nyata antar perlakuan yang dicoba; dan sebaliknya apabila F hitung $>$ F tabel atau peluang (p) $F < 0,05\%$, maka $H_0 : T_i = 0$ ditolak yang berarti bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang nyata diantara perlakuan yang dicoba. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji beda rata-rata *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 *Kondisi Tanaman Jeruk di Lapangan*

Lebih dari setengah areal pertanaman buah jeruk siam di Desa Mengani, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli terserang penyakit kudis. Dengan ciri-ciri serangan bercak menonjol seperti gabus pada permukaan kulit buah jeruk seperti penyakit kudis dan kasar bila disentuh, berwarna kecoklatan sampai kelabu pada kulit buah dan biasanya membentuk pola seperti percikan air (dapat dilihat pada Gambar 1.).

Buah yang sangat rentan terserang penyakit adalah buah yang masih muda. Petani menganggap serangan dari penyakit kudis tersebut tidak terlalu merugikan karena tidak berpengaruh terhadap rasa dan kuantitas jeruk, namun kualitas atau *grade* jeruk tersebut menjadi rendah sehingga buah jeruk yang sudah terkena kudis akan susah dipasarkan di swalayan sehingga akan berpengaruh terhadap harga jual buah jeruk tersebut dan juga buah jeruk akan kalah bersaing dengan buah jeruk impor.



Gambar 1. Sampel Buah Jeruk Siam Kintamani yang Bergejala Penyakit Kudis

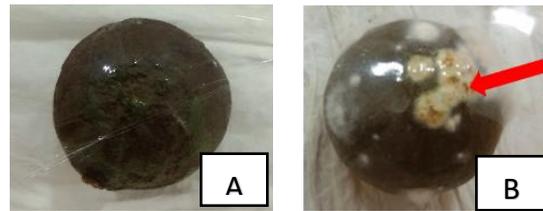
Kondisi serangan kudis di lokasi penelitian sangat parah, cepatnya penyebaran penyakit ke semua buah pada lokasi pertanaman dapat disebabkan karena kondisi lingkungan sekitar pertanaman mendukung perkembangan dan penyebaran patogen. Berdasarkan letak geografis dan demografis, Kabupaten Bangli memiliki suhu udara relatif rendah berkisar 15-30°C, memiliki curah hujan tinggi yaitu berkisar antara 900-3500 mm/tahun. Melihat dari kondisi iklim di daerah Kintamani sangat sesuai untuk syarat perkembangan patogen dan jarak tanam pohon jeruk di lokasi pengamatan yang tergolong rapat sehingga kelembabannya semakin tinggi.

3.2 Hasil Isolasi Patogen

Buah yang ditentukan sebagai sampel dipilih berdasarkan hasil pengamatan secara visual dengan ciri-ciri sesuai dengan gejala penyakit kudis pada kulit buah jeruk dari beberapa pohon. Isolasi patogen diambil dari kulit buah jeruk yang bergejala serangan kudis yang dipotong-potong dan dibiakkan pada Petri yang berisi PDA. Setelah 3 hari, jamur patogen mulai tumbuh dari pinggir potongan buah jeruk. Jamur yang telah tumbuh dimurnikan ke dalam cawan Petri yang baru.

3.3 Hasil Uji Patogenisitas

Hasil uji inokulasi jamur patogen pada buah jeruk siam Kintamani dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji patogenisitas pada buah jeruk siam Kintamani 8 HSI.
(A) Buah kontrol. (B) Buah diinokulasi patogen

Gambar 2. Bagian A adalah gambar buah jeruk siam Kintamani yang digunakan sebagai kontrol, buah jeruk tidak diinokulasi jamur patogen tetapi hanya dilukai menggunakan jarum steril. Pengamatan sampai hari ke 8 buah hanya mengering dan tidak menunjukkan gejala penyakit kudis pada kulit buah. Gambar 2. Bagian B adalah buah jeruk yang diinokulasi jamur patogen 8 HSI, pada kulit buah terdapat gejala berupa tonjolan-tonjolan sangat jelas dan tak beraturan berwarna coklat kekuningan menyerupai kudis (pada panah merah) sama seperti gejala penyakit kudis di lokasi penelitian.

3.4 Hasil Identifikasi Secara Morfologi dan Molekuler Jamur Patogen

1. Identifikasi secara morfologi

Identifikasi jamur patogen secara morfologi dilakukan dengan mengamati secara makroskopis dan mikroskopis jamur patogen. Hasil pengamatan jamur secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3. bagian A memperlihatkan koloni jamur patogen berwarna putih, namun semakin tua umur jamur berubah menjadi kuning kecoklatan sampai abu-abu dan muncul cairan berwarna kuning pada permukaan koloni, bentuk koloni jamur seperti bunga dan berlapis-lapis, bagian dasar koloni coklat muda sampai coklat gelap.



Gambar 3. Morfologi Jamur Patogen. (A) Tampilan Makroskopis Jamur Patogen (B)1. Hifa Jamur Patogen. 2. Spora Jamur Patogen. (C) Spora Jamur Patogen pembesaran 1000 kali

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan di bawah mikroskop cahaya, dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3. bagian B memperlihatkan hifa jamur hasil pengamatan secara mikroskop dengan pembesaran 400 kali, terlihat hifa bercabang dan pada ujung hifa terdapat sekat. Gambar 3. bagian C merupakan hasil pengamatan

spora jamur secara mikroskop dengan pembesaran 1000 kali, terlihat spora berbentuk lonjong atau silindris dengan ujung membulat. Ciri-ciri morfologi jamur secara makroskopis dan mikroskopis sangat sesuai dengan ciri-ciri jamur *Diaporthe phaseolorum* pada jurnal Zhong-shan Cheng *et al.*, (2008) dan R.R. Gomes *et al.*, (2013).

2. Identifikasi secara molekuler

Identifikasi jamur patogen penyebab penyakit kudis juga dilakukan secara molekuler agar identifikasi lebih akurat. Penggunaan primer universal ITS1 dan ITS4 umumnya untuk membedakan spesies genus yang tidak dapat dibedakan berdasarkan karakter morfologi dan juga penggunaan teknik PCR pada daerah ITS disebabkan sekuen tersebut memiliki spektrum yang luas dalam mengidentifikasi berbagai jamur patogen. Fragmen DNA berukuran 650 pb berhasil diamplifikasi dari sampel jamur menggunakan primer universal ITS1/ITS4. Analisis sekuensing mengonfirmasi bahwa sampel jamur penyebab penyakit kudis yang diuji adalah jamur *Diaporthe phaseolorum* dengan homologi 100% terhadap isolat di genebank. Hasil pensejajaran sekuen menggunakan *Clustal Omega* dengan sekuen homolog *Database Gen Bank*. Jamur patogen penyebab penyakit kudis pada jeruk siam Kintamani memiliki kemiripan 100% dengan dengan jamur KM979859.1 *Diaporthe phaseolorum* dan juga jamur KM979794.1 *Diaporthe phaseolorum*.

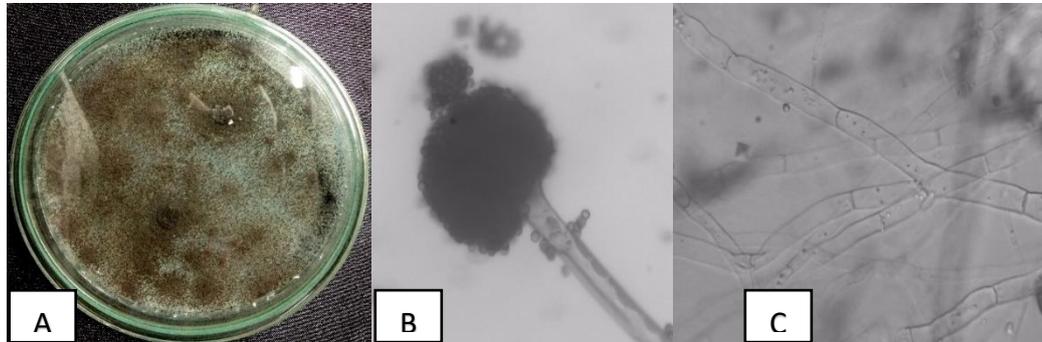
Dari konstruksi pohon filogeni kesejajaran *D. phaseolorum* penyebab penyakit kudis yang ditemukan pada buah jeruk siam Kintamani di Bali dengan dengan jamur KM979859.1 *Diaporthe phaseolorum* dan juga jamur KM979794.1 *Diaporthe phaseolorum* memiliki kekerabatan paling dekat yang membentuk sub kelompok dan memisahkan diri dengan kemiripan 100%. Sub kelompok tersebut didukung dengan nilai bootstrap 76%.

Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler dapat diketahui bahwa jamur penyebab penyakit kudis pada kulit buah jeruk siam Kintamani di lokasi penelitian adalah spesies *D. phaseolorum*. Banyak laporan mengenai jamur *Diaporthe* spp. menyebabkan berbagai penyakit pada tanaman di antaranya menyebabkan pembusukan akar dan buah, dieback, kanker, bercak daun, hawar, dan layu. *D. phaseolorum* adalah patogen terhadap kedelai (Santos *et al.*, 2011), tetapi endofit pada bakau (*Laguncularia racemosa*). Di Thailand, Sontirat *et al.*, (1994) melaporkan bahwa *Diaporthe phaseolorum* ditemukan dalam buah lada busuk, dalam penelitian ini *D. phaseolorum* ditemukan sebagai endofit pada daun *Antirhea lucida* dan *Colubrina asiatica* dan sebagai patogen tanaman dari buah longkong.

3.5 Hasil Identifikasi Secara Morfologi Jamur Antagonis

Gambar 4. bagian A memperlihatkan karakteristik morfologi koloni jamur antagonis, hifa berwarna putih kekuningan dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Gambar 4 bagian B adalah gambar mikroskopis spora jamur antagonis, kepala konidia dan konidia berwarna hitam dan bulat, konidia

cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. Gambar 4 bagian C adalah gambar mikroskopis hifa jamur antagonis tampak bersekat dan bercabang.



Gambar 4. Morfologi jamur antagonis. (A) Tampilan makroskopis jamur antagonis. (B) Spora jamur antagonis. (C) Hifa jamur antagonis

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis morfologi jamur dan pencocokan dengan ciri-ciri jamur *Aspergillus niger* yang ada di buku CMI (1978), jamur antagonis yang didapat dari hasil isolasi sangat sesuai dengan jamur *Aspergillus niger*. Maka hasil identifikasi menunjukkan bahwa jamur antagonis tersebut merupakan jamur *Aspergillus niger*.

3.6 Pengaruh Jamur Antagonis terhadap Pertumbuhan Luas Koloni Jamur *Diaporthe phaseolorum*

Pengukuran dan penghitungan dilakukan 2 HSI sampai 10 HSI (Tabel 1.). Pada pengamatan 2 HSI pertumbuhan koloni jamur *D. phaseolorum* masing-masing perlakuan jamur antagonis menunjukkan pengaruh yang tidak nyata dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1.).

Luas koloni jamur *D. phaseolorum* dengan perlakuan jamur antagonis pada pengamatan 3 HSI mengalami penurunan jika dibandingkan kontrol (Tabel 1.). Perlakuan *A. niger* menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii* dan perlakuan kontrol. Namun, perlakuan *A. niger* berbeda tidak nyata terhadap *T. viride* (Tabel 1.). Pada pengamatan 4 HSI sampai dengan 10 HSI perlakuan *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol (Tabel 1.).

Tabel 1. Pertumbuhan luas koloni jamur *D. phaseolorum*

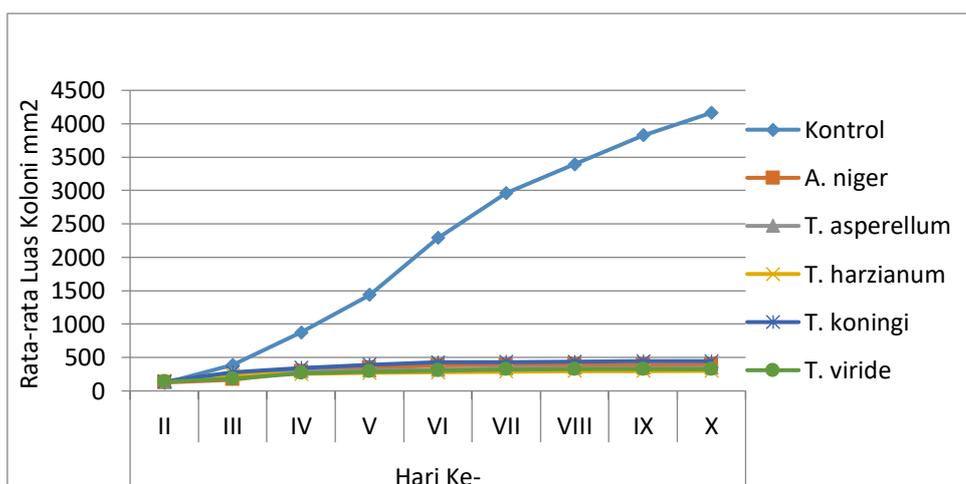
Perlakuan	Luas				
	Koloni Jamur 2 HSI	Luas Koloni Jamur 3 HSI	Luas Koloni Jamur 4 HSI	Luas Koloni Jamur 5 HSI	Luas Koloni Jamur 6 HSI
Kontrol	117,25 a	389,00 a	875,25 a	1436,25 a	2290,00 a
<i>A. niger</i>	126,00 a	168,75 c	289,25 b	346,25 b	381,50 b
<i>T. asperellum</i>	131,25 a	270,00 b	297,00 b	304,75 b	318,25 b
<i>T. harzianum</i>	148,00 a	237,00 b	252,00 b	270,00 b	277,00 b
<i>T. koningii</i>	140,50 a	277,00 b	346,25 b	391,00 b	427,50 b
<i>T. viride</i>	137,00 a	181,00 c	264,00 b	287,25 b	304,25 b

Lanjutan Tabel 1.

Perlakuan	Luas Koloni Jamur 7 HSI	Luas Koloni Jamur 8 HSI	Luas Koloni Jamur 9 HSI	Luas Koloni Jamur 10 HSI
	Kontrol	2962,25 a	3393,50 a	3825,75 a
<i>A. niger</i>	389,25 b	391,75 b	393,25 b	393,50 b
<i>T. asperellum</i>	340,50 b	344,75 b	345,75 b	347,00 b
<i>T. harzianum</i>	290,25 b	297,00 b	298,75 b	299,25 b
<i>T. koningii</i>	430,50 b	438,00 b	444,75 b	446,00 b
<i>T. viride</i>	321,50 b	323,25 b	323,75 b	324,50 b

Keterangan : Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Perbedaan pertumbuhan luas koloni jamur *D. phaseolorum* dengan perlakuan masing-masing jamur antagonis dan tanpa perlakuan jamur antagonis dapat dilihat dengan jelas pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik rata-rata pertumbuhan luas koloni jamur *D. phaseolorum* kontrol dan dengan perlakuan 2 HSI sampai 10 HSI

Berdasarkan grafik pada Gambar 5. dapat dilihat bahwa pertumbuhan luas koloni jamur kontrol dari pengamatan 2 HSI hingga 10 HSI terus-menerus mengalami peningkatan dikarenakan luas koloni jamur *D. phaseolorum* kontrol tumbuh dengan baik. Sedangkan pertumbuhan luas koloni jamur *D. phaseolorum* dengan perlakuan kelima jamur antagonis dari pengamatan 3 HSI hingga 10 HSI tidak tampak peningkatan pertumbuhan dan berada sangat jauh dibawah garis kontrol. Hal ini disebabkan karena koloni jamur *D. phaseolorum* kontrol tumbuh dengan baik, sementara pertumbuhan koloni jamur *D. phaseolorum* yang diujikan bersebelahan dengan masing-masing jamur antagonis terlihat pertumbuhannya terhambat.

3.7 Uji Daya Hambat Jamur Antagonis terhadap Jamur *Diaporthe phaseolorum* secara *In Vitro*

Pengukuran daya hambat jamur antagonis terhadap jamur patogen dilakukan pada 10 HSI. Berdasarkan hasil uji daya hambat jamur antagonis terhadap jamur *D. phaseolorum*, perlakuan masing-masing jamur antagonis *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii* dan *T. viride* menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap kontrol, sedangkan masing-masing jamur antagonis satu sama lain menunjukkan hasil berbeda tidak nyata (Tabel 4.).

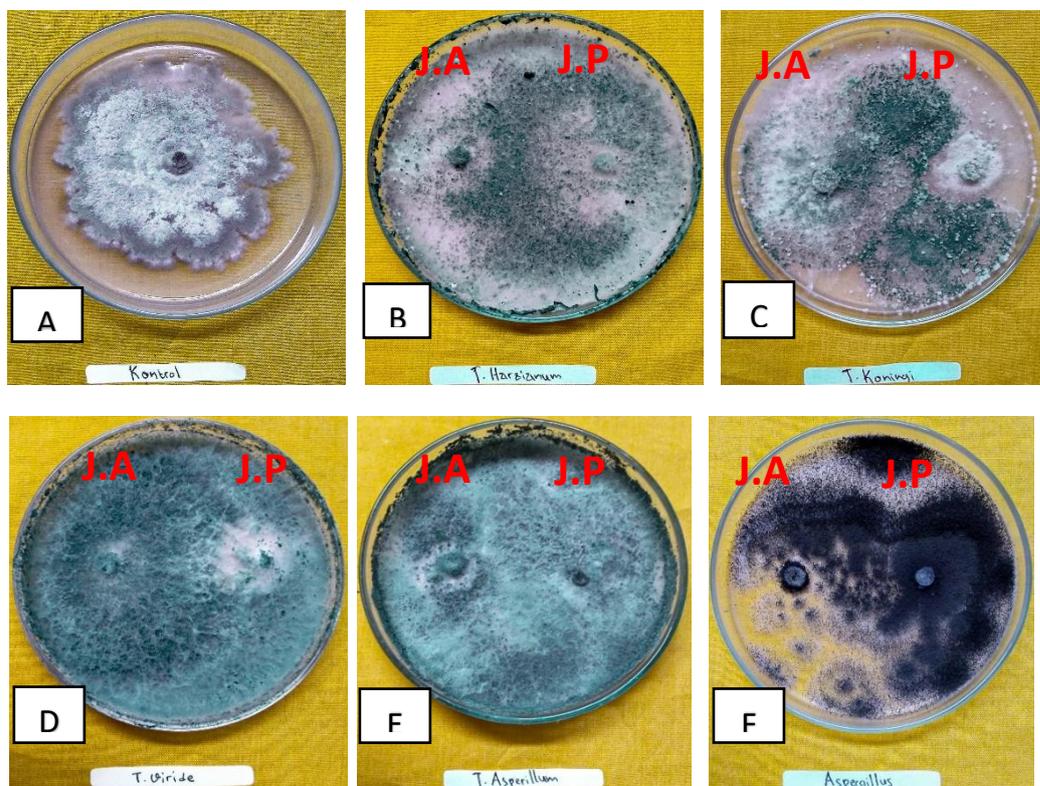
Tabel 4. Persentase daya hambat jamur antagonis terhadap jamur *D. phaseolorum* 10 HSI

Perlakuan	Rata-rata luas koloni jamur 10 HSI \pm SD (mm ²)	Persentase daya hambat jamur (%)
Kontrol	4163,5 a \pm 133,90	0,00 b
<i>A. niger</i>	343,50 b \pm 74,52	91,75 a
<i>T. asperellum</i>	347,00 b \pm 83,86	91,67 a
<i>T. harzianum</i>	299,25 b \pm 87,31	92,81 a
<i>T. koningii</i>	446,00 b \pm 154,17	89,29 a
<i>T. viride</i>	324,50 b \pm 109,21	92,21 a

Keterangan : Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Menurut Prastya *et al.*, (2014) kategori presentase daya hambat yang kuat yaitu >40%; sedang 40% <x> 30%; lemah <30%; dan tidak memiliki kemampuan 0%. Berdasarkan hal tersebut, kemampuan *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* termasuk kedalam kategori kuat dikarenakan memiliki persentase daya hambat lebih dari 80%, yang paling rendah adalah *T. koningii* sebesar 89,29% sampai yang paling tinggi *T. harzianum* sebesar 92,81%. Wibisono *et al.*, (2014) menambahkan bahwa standar kualitas uji daya hambat agen hayati yang baik yaitu memiliki kemampuan penghambatan \geq 70% secara *in vitro*, sehingga *A. niger*, *T.*

asperellum, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* memiliki potensi sebagai agen antagonis yang dapat dimanfaatkan.



Gambar 6. Hasil daya hambat masing-masing perlakuan jamur antagonis terhadap jamur *D. phaseolorum* pada pengamatan 10 HSI. (A) Kontrol *D. phaseolorum*; (B) *T. harzianum* dan *D. phaseolorum*; (C) *T. koningii* dan *D. phaseolorum*; (D) *T. viride* dan *D. phaseolorum*; (E) *T. asperillum* dan *D. phaseolorum*; (F) *A. niger* dan *D. phaseolorum*

Keterangan: J.A = Jamur Antagonis; J.P = Jamur Patogen

Berdasarkan Gambar 6. dapat dilihat bahwa koloni jamur *D. phaseolorum* kontrol tumbuh dengan baik, karena kebutuhan nutrisi dan ruang terpenuhi sedangkan pertumbuhan koloni jamur *D. phaseolorum* dengan perlakuan jamur antagonis *A. niger*, *T. asperillum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* pertumbuhannya terhambat. Besarnya hambatan jamur antagonis *A. niger*, *T. asperillum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* terhadap jamur *D. phaseolorum* mengakibatkan kecilnya luas koloni jamur pada perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa, jamur antagonis *A. niger*, *T. asperillum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* memiliki kemampuan antagonis terhadap jamur *D. phaseolorum*. Masing-masing jamur antagonis menguasai dan mendominasi media tumbuh, hal ini dilihat pada pesatnya pertumbuhan hifa dan spora jamur antagonis sementara jamur patogen pada beberapa perlakuan jamur antagonis hampir tidak terlihat. Mekanisme penghambatan pertumbuhan jamur patogen yang dilakukan oleh

jamur antagonis *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* pada hasil penelitian ini adalah mikoparasitik, kompetisi ruang dan nutrisi.

Kemampuan penghambatan mikoparasitik oleh jamur antagonis *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* dapat disebabkan karena masing-masing jamur antagonis mempunyai mampu menghasilkan senyawa antibiotik dari hasil metabolit sekunder. Senyawa antibiotik tersebut akan masuk ke dalam sel jamur *D. phaseolorum* dan menyebabkan mikolisis yang dapat menghancurkan dan meleburkan sel jamur melalui pengerusakan terhadap permeabilitas membran sel yang menyebabkan kematian *D. phaseolorum* selain itu gejala lainnya adalah pemendekan dinding sel serta pertumbuhan abnormal pada hifa *D. phaseolorum*. Menurut Papavizas (1985) salah satu mikroorganisme yang berpotensi sebagai antagonis adalah *Trichoderma sp.* dan *Aspergillus niger*. Jamur ini telah diketahui efektif untuk mengendalikan patogen tanah dan beberapa patogen udara karena mempunyai kemampuan untuk memproduksi antibiotik, sebagai kompetitor nutrisi serta dapat bertindak sebagai mikoparasit.

Jamur *Trichoderma spp.* dan *A. niger* dapat digunakan rujukan sebagai bahan dasar pembuatan biofungisida sebagai alternatif pengendalian penyakit kudis pada buah jeruk siam di lapangan. Pengendalian secara hayati yang berasal dari ekosistem yang sama dengan patogen yang akan dikendalikan sangat penting, dalam penelitian ini jamur antagonis yang memiliki ekosistem yang sama dengan jamur patogen adalah *A. niger* perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai jamur antagonis *A. niger* dan kelompok *Trichoderma* ini dalam mengendalikan jamur *D. phaseolorum* penyebab penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani sehingga diharapkan jamur antagonis tersebut mampu mengendalikan penyakit kudis di lapangan yang selama ini kurang dihiraukan atau kurang mendapat perhatian bagi petani.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jamur patogen penyebab penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani merupakan jamur *Diaporthe phaseolorum*.
2. Jamur antagonis yang didapat dari buah jeruk siam sehat yang berada di lokasi yang sama dengan buah jeruk siam yang terjangkit penyakit kudis merupakan jamur *Aspergillus niger*.
3. Jamur *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii* dan *T. viride* efektif menghambat pertumbuhan jamur patogen penyebab penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani secara *in vitro* dengan presentase daya hambat tinggi yaitu lebih dari 80% berkisar 89,29 – 92,81%.

4.2 Saran

1. Jamur *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii* dan *T. viride* dapat direkomendasikan sebagai jamur antagonis utama untuk membuat formulasi agen hayati pengendali penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji secara *in vivo* jamur antagonis *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii* dan *T. viride* pada buah jeruk siam Kintamani untuk mengendalikan jamur *D. phaseolorum* sehingga diharapkan jamur antagonis *A. niger*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* mampu mengendalikan penyakit kudis pada buah jeruk siam Kintamani di lapangan.

Daftar Pustaka

- Badan Pusat Statistik Kabupaten Bangli. 2010. Rencana Pembangunan Jangka Menengah Daerah Kabupaten Bangli 2010-2015. Kabupaten Bangli: Badan Pusat Statistik.
- Doyle, J.J. and Doyle. J. J. 1987. A rapid DNA isolation of procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19:11-19.
- Papavizas, G.C.1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Biology, Ecology and Potential For Biological Control. *Ann. Rev. Phytopathol.*241 hlm.
- Prastya, M. Eka., Agung Supriyadi, Endang Kusdiyantini, 2014. Eksplorasi Rhizobakteria Indigenus Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* Linn.) dari Pertanian Semi Organik Desa Batur Kabupaten Semarang Sebagai Agens Hayati Pengendalian Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*. *Jurnal Biologi, Volume 3 No 3*.
- Rensburg JCJ van, Lamprecht SC, Groenewald JZ, Castlebury LA, Crous PW. 2006. Characterization of *Phomopsis* spp. associated with dieback of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. *Studies in Mycology*55: 65–74.
- R.R. Gomes. C. Glienke, S.I.R. Videira, L. Lombard, J.Z. Groenewald, P.W. Crous. 2013. *Diaporthe*: A Genus of Endophytic, Saprobic and Plant Pathogenic Fungi. *Persoonia* 31, 2013: 1–41.
- Santos JM, VrandečićK, Čosić J, Duvnjak T, Phillips AJL. 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. *Persoonia*.
- Sontirat, P., P. Pitakpai, T. Khamhangridthirong, W. Choobamroong and U. Kueprakone. 1994. Host Index of Plant Diseases in Thailand. Mycology Section, Plant Pathology & Microbiology Division, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand.
- Whiteside JO. Pathogenicity of two biotypes of *Elsinoë fawcettii* pertaining to sweet orange and some other cultivars. *Phytopathol.* 1978; 68: 1128-1131.
- Zhong-shan Cheng, Wencheng Tang, Shu-lan Xu, Shi-feng Sun, Bo-You Huang, X. Yan, Qi-jin Chen, Y. Lin. 2008. First Report of an Endophyte (*Diaporthe phaseolorum* var. *sojiae*) from *Kandelia Candel*. *Journal of Forestry Research*:10.1007/s11676-008-0049-9.