

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Identifikasi Jamur Endofit pada Tanaman Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. *Var Alphonso lavallo*) serta Potensi Antagonisnya terhadap *Botrytis cinerea* Pers. Penyebab Penyakit Busuk Kelabu

Identification of Endophyte Fungi in Bali Grape Vine (*Vitis vinifera* L. *Var Alphonso lavallo*) and its Potential Antagonists Against *Botrytis cinerea* Pers. cause of Grey Rot Disease

Putu Anggan Pradipta Utama^{1*}, Meitini Wahyuni Proborini^{2,3}, Ni Made Susun Parwanayoni^{2,3}

¹⁾Mahasiswa Program Magister Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

²⁾ Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Pendidikan Ganesha

³⁾Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

*Email: angganutama@gmail.com

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji kemampuan jamur endofit dari tanaman anggur Bali (*Vitis vinifera* L. *var Alphonso lavallo*) terhadap jamur *Botrytis cinerea* Pers. penyebab penyakit busuk kelabu pada buah anggur Bali. Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi yang kemudian dilanjutkan dengan eksperimental. Sampel penelitian ini diisolasi dari tanaman anggur Bali yaitu akar, batang, dan daun sehat serta bagian buah yang terindikasi sakit dari perkebunan anggur Bali di Desa Banyupoh, Kecamatan Gerokgak, Buleleng, Bali. Isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi kemudian diuji dengan menggunakan metode *dual culture* terhadap jamur patogen. Hasil uji dari lima isolat jamur endofit didapatkan tiga jenis jamur yang memiliki daya hambat yaitu dua jenis jamur *Trichoderma* spp. (1)(2) dan *Mucor* spp. dengan daya hambat berturut-turut $90,67 \pm 16,17\%$, $75,67 \pm 31,13\%$, dan $82,67 \pm 39,02$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jamur endofit memiliki potensi sebagai agen biokontrol.

Kata Kunci : Jamur endofit, *Botrytis cinerea* Pers., Biokontrol.

ABSTRACT

This research aims to isolate and test the ability of endophytic fungi from the Bali Grape plant (*Vitis vinifera* L. *var Alphonso lavallo*) against *botrytis cinerea* pers. cause of gray rot in Grapes Bali. This research is an exploration study that is then continued with experimental. This research sample was isolated from Balinese grapes, namely healthy roots, stems, and leaves as well as diseased fruit parts from Balinese vineyards in Banyupoh Village, Gerokgak, Buleleng, Bali. Isolates of endophyte fungi that are successfully isolated are then tested using dual culture methods against pathogenic fungi. The test results of five isolates of endophytic fungi obtained three types of fungi that have the tasteless power of two types of fungi *Trichoderma* spp. (1) (2) and *Mucor* spp. with consecutive bonding power of $90.67 \pm 16.17\%$, $75.67 \pm 31.13\%$, and 82.67 ± 39.02 . These results show that endophyte fungi have potential as biocontrol agents.

Keywords : Mushroom endophyte, *Botrytis cinerea* Pers., Biocontrol

PENDAHULUAN

Tanaman anggur Bali (*Vitis vinifera* L. var *Aplhonso Lavalle*) merupakan tanaman budidaya yang cocok di daerah kering (Rai *et al.* 2016). Daerah yang menjadi sentra budidaya tanaman anggur Bali adalah Kabupaten Buleleng tepatnya di Desa Banyupoh, Kecamatan Gerokgak, hal ini dikarenakan desa ini memiliki iklim yang sesuai untuk jenis tanaman ini. Masalah yang kini dihadapi petani adalah infeksi patogen terutama penyakit busuk kelabu. Agrios (2005) menyatakan bahwa penyakit ini disebabkan oleh jamur *Botrytis cinerea*, menyebabkan bagian buah anggur Bali yang terinfeksi akan mengkerut akibat rusaknya sel.

Upaya yang dilakukan petani dalam menangani infeksi penyakit busuk kelabu pada buah anggur Bali adalah dengan menggunakan fungisida kimia, namun hal itu lama-kelamaan tidak efektif akibat pemberian fungisida yang tidak sesuai aturan, menyebabkan jamur patogen resisten terhadap fungisida (Rupp *et al.* 2017).

Salah satu solusi yang dapat disarankan dalam masalah ini adalah dengan menggunakan jamur endofit sebagai agen biokontrol terhadap jamur patogen tersebut. Jamur endofit merupakan mikroorganisme endosimbiotik yang hidup di dalam jaringan tumbuhan (Sudha *et al.* 2013). Metode ini memanfaatkan jamur yang bersifat antagonis terhadap patogen yang menyerang inangnya. Keunggulan penggunaan agen biokontrol ini dapat bekerja dengan efektif dan tidak menimbulkan resisten terhadap patogen tanaman (Kumar 2014).

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari lahan perkebunan anggur Bali di Desa Banyupoh. Sampel pertama yaitu buah anggur Bali yang memiliki gejala terserang penyakit busuk kelabu untuk mengisolasi jamur *B. cinerea*. Sampel kedua berasal dari bagian tanaman anggur Bali yaitu akar, batang, dan daun yang tidak menunjukkan gejala terinfeksi busuk kelabu untuk mengisolasi jamur endofit.

Isolasi Jamur Patogen

Buah anggur Bali yang memiliki gejala terserang busuk kelabu diberishkan dengan menggunakan air mengalir selama 2 menit bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat pada bagian permukaan kulit buah.

Dilakukan sterilisasi permukaan buah dengan menggunakan larutan alkohol 70% selama 2 menit, selanjutnya dibersihkan dengan menggunakan aquades steril selama 2 menit. Buah anggur Bali yang sudah disterilkan kemudian di letakkan pada media PDA pada cawan petri (Suryanti *et al.*, 2008).

Isolasi Jamur Endofit

Bagian akar, batang, dan daun tanaman anggur Bali yang masih segar dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melakat pada bagian permukaan sampel. Bagian akar dipotong sepanjang 1 cm, bagian batang dipotong sepanjang 1 cm serta bagian daun dipotong berbentuk persegi dengan ukuran 1 cm x 1 cm. Sterilisasi dilakukan dengan merendam sampel ke dalam larutan NaOCl 2 % selama 1 menit, larutan alkohol 70% selama 1 menit, diulang dua kali. Kemudian dibersihkan dengan menggunakan aquades steril selama 2 menit kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu steril. Sampel yang sudah disterilkan kemudian diinokulasikan pada media PDA yang diletakkan pada suhu ruang selama 6 hari (Juybari *et al.* 2019).

Identifikasi Jamur

Pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis yang meliputi bentuk, pigmentasi, permukaan koloni, hifa, konidiofor, dan spora. Data yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan menggunakan sumber pustaka yaitu *Description of Medical Fungi Third Edition* (Kidd *et al.*, 2016), *Pengenalan Kapang Tropik Umum* (Ganjar *et al.*, 1999), dan *Plant Pathology Fifth Edition* (Agrios 2005).

Uji Dual Culture

Isolat murni jamur endofit masing-masing diujikan dengan jamur *B. cinerea* menggunakan metode *dual culture*. Pengamatan dilakukan dengan mengukur rerata diameter pertumbuhan jamur *B. cinerea* (Kusari *et al.* 2013). kemudian hasil yang di dapatkan diproses dengan menggunakan rumus berikut:

$$\%Antagonism = 1 - \frac{RG}{Kontrol} \times 100$$

Keterangan:

RG : Diameter patogen dengan jamur endofit.

Kontrol : Diameter patogen tanpa jamur endofit.

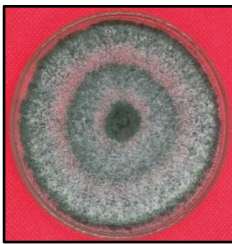
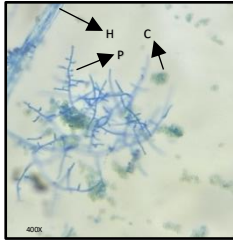
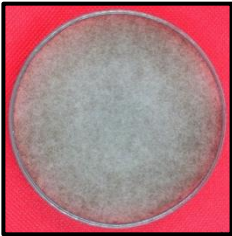
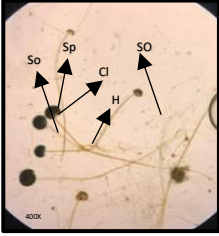
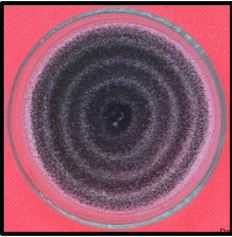

Analisis Data

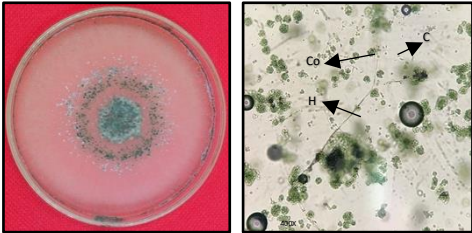
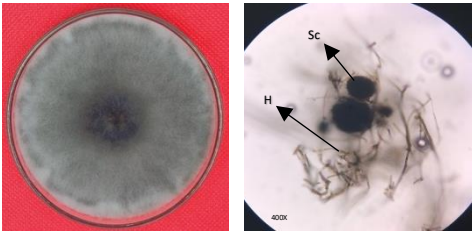

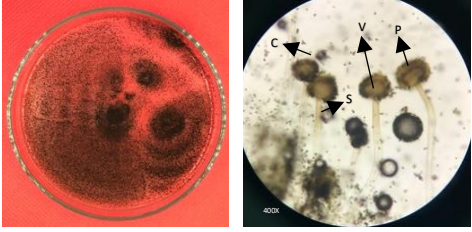
Data hasil *dual culture* kemudian dianalisis dengan ANOVA taraf 5%, Hasil analisis memiliki nilai $P < 0,05$ maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan antar perlakuan (Sari *et al.*, 2021).

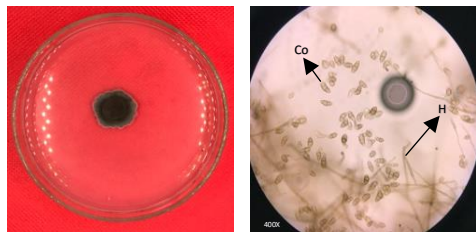
HASIL

Hasil isolasi dan identifikasi dari tiga bagian akar, batang, dan daun tanaman anggur Bali menemukan 8 jenis jamur endofit dimana pada bagian batang ditemukan jamur *B. cinerea* yang diketahui merupakan jamur patogen pada buah anggur Bali. Jenis lain yang berhasil diidentifikasi adalah *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *Aspergillus* spp., *Phoma* spp., dan *Alternaria* spp. Jenis jamur endofit yang teridentifikasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis Jamur Endofit Pada Tanaman Anggur Bali

Jenis	Makroskopis	Mikroskopis	Deskripsi	Lokasi
<i>Trichoderma</i> spp. (1)			Koloni memiliki warna permukaan hijau tua dengan sedikit warna putih yang dihasilkan oleh hifa, pigmentasi yang dihasilkan jamur ini berwarna hijau tua sedikit pucat. (H) Hifa transparan bersekat, memiliki (P) phialides tempat konidia melekat, (C) konidia berbentuk oval berwarna hijau muda hingga tua dengan ukuran 1,5 s.d 3,2 μm .	Akar
<i>Mucor</i> spp.			Koloni berbentuk seperti kapas, warna koloni putih hingga abu-abu tua dengan spora yang dapat diamati dibagian permukaan koloni, pigmentasi berwarna abu gelap hingga hitam. Struktur (H) hifa tidak bersekat, (So) sporangiofor berwarna hialin, (Cl) diujungnya terdapat kolumela, tempat melekat (Sp) Sporangium, dengan (S) spora yang berwarna gelap dan berbentuk oval dengan ukuran 1,5 s.d 3 μm .	Akar
<i>Aspergillus</i> spp. (1)			Struktur makroskopis koloni berwarna hitam, pigmentasi putih, dan permukaan koloni seperti beludru. Struktur mikroskopis memiliki (C) Konidiofor berwarna hialin, diujungnya terbentuk (V) vesikel tempat melekatnya (P) pialides tunggal dan pada setiap ujung terdapat (S) spora berwarna hitam berbentuk oval dengan ukuran 3,5 s.d 5,0 μm .	Akar

<i>Trichoderma</i> spp. (2)		<p>Permukaan koloni berwarna hijau muda. Pertumbuhan koloni membentuk lingkaran konsentris dengan konidia yang muncul keatas permukaan koloni, bentuk permukaan koloni seperti beludru dengan hifa yang merambat pada permukaan media, pigmentasi yang dihasilkan berwarna hijau muda hingga hijau tua. (H) hifa bersekat, dengan (Co) konidofor hijau tua dan (C) konidia berbentuk oval dengan warna hijau tua dengan ukuran 1 s.d 3,5 μm.</p>	Batang
<i>Botrytis cinerea</i>		<p>Warna koloni abu kehitaman dengan bentuk permukaan seperti kapan, hifa bersekat yang mampu tumbuh ke atas permukaan media, koloni membentuk garis konsentris dengan pigmentasi nya berwarna abu hingga hitam. Struktur mikroskopis (H) hifa bersekat dengan (Sc) Sclerotia berwarna gelap.</p>	Batang
<i>Phoma</i> spp.		<p>Koloni awal berwarna abu-abu gelap kemudian menjadi abu terang dengan bentuk permukaan seperti beludru, memiliki hifa bersekat yang tumbuh ke permukaan dan memiliki pigmentasi berwarna abu pucat hingga abu gelap. Struktur mikroskopis memiliki (H) hifa tanpa sekat dan (C) konidia berbentuk oval berwarna hitam dengan ukuran 2-5 μm.</p>	Daun
<i>Aspergillus</i> spp. (2)		<p>Koloni memiliki warna putih pucat kemudian berubah menjadi hitam dikarenakan konidia yang sudah mulai terbentuk pada bagian permukaan koloninya. Membentuk lingkaran konsentris dengan pigmentasi abu pucat hingga hitam pucat. Struktur mikroskopis (S) stipe berwarna hialin dan pada ujungnya terbentuk (V) Vesikel, pada tepinya terdapat (P) Phialides tempat (C) konidia melekat dengan ukuran 3,5 s.d 5,0 μm.</p>	Daun

Alternaria
spp.

Koloni berwarna hitam dengan Daun permukaan menyerupai kapas, tidak memiliki garis kosentris dengan pigmentasi hitam, hifa tumbuh sedikit diatas media. Struktur mikroskopis memiliki (H) hifa bersekat serta (Co) konidiofor yang berantai dengan warna hialin dengan ukuran 7-18 μm .

Isolat jamur endofit kemudian di uji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur *B. cinerea*. Pengamatan dilakukan setiap 5 hari selama 15 hari. Hasil

yang didapatkan kemudian dilakukan uji analisis untuk mengetahui perbedaan hasil pada tiap perlakuan. hasil uji analisis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Presentase Daya Hambat Jamur Endofit terhadap Jamur *B. cinerea*.

Agen Biokontrol	Rerata Daya Hambat (%)**
Kontrol	0,00 \pm 0,00 ^a
<i>Trichoderma</i> spp. (1)	90,67 \pm 16,17 ^c
<i>Mucor</i> spp.	82,67 \pm 39,02 ^c
<i>Aspergillus</i> spp. (1)	28,67 \pm 2,08 ^b
<i>Trichoderma</i> spp. (2)	75,67 \pm 31,13 ^a
<i>Phoma</i> spp.	29,00 \pm 1,73 ^b
<i>Aspergillus</i> spp. (2)	27,67 \pm 1,53 ^b
<i>Alternaria</i> spp	0,00 \pm 0,00 ^a

Keterangan: **) Nilai-nilai pada tabel \pm standar deviasi merupakan rerata dari 3 kali pengulangan.

Huruf yang berbeda pada rerata daya hambat pada tabel menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$), berdasarkan hal itu uji dilanjutkan ke uji *Duncan* setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi jenis jamur endofit pada tanaman anggur Bali, dapat diketahui bahwa ada beberapa jenis jamur endofit yang serupa ditemukan pada lokasi yang berbeda, hal ini mungkin terjadi karena jenis jamur ini yang tumbuh dan berkembang pada jaringan dari tumbuhan inangnya. Berdasarkan hasil identifikasi ditemukan 8 jenis jamur endofit dari 3 bagian tanaman yang berbeda, pada bagian akar ditemukan 3 jenis jamur yaitu *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., dan *Aspergillus* spp. Pada bagian batang ditemukan dua jenis jamur yaitu *Trichoderma* spp. dan *B. cinerea* yang diketahui merupakan salah satu jenis jamur yang bersifat endoparasit pada tanaman anggur Bali. Pada bagian daun ditemukan 3 jenis jamur yaitu *Phoma* spp., *Alternaria* spp., dan *Aspergillus* spp.

Isolat yang berhasil ditemukan kemudian dilanjutkan ke tahap uji *dual culture* untuk mengetahui potensi yang dimiliki dalam menghambat pertumbuhan jamur *B. cinerea*. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama 15 hari didapatkan hasil terdapat 3 jenis jamur endofit yang memiliki potensi daya hambat yaitu *Trichoderma* spp (1) dan (2) serta *Mucor* spp dengan kemampuan daya hambat yaitu $90,67 \pm 16,17\%$, $75,67 \pm 31,13\%$, dan $82,67 \pm 39,02$. Ketiga jamur endofit tersebut menunjukkan kemampuan daya hambat yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan jamur *B. cinerea*.

Isolat jamur *Trichoderma* spp. yang ditemukan pada bagian akar dan batang tanaman anggur Bali merupakan jenis jamur hiperparasit (Elad 2015), sehingga jenis jamur ini memiliki potensi sebagai agen biokontrol. *Trichoderma* juga diketahui menghasilkan metabolisme sekunder berupa b-1,3-glukonase, b-1,6-glukonase, kitinase, protease, dan xylanase yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi dinding sel terutama yang tersusun dari kitin (Yang *et al.* 2009);(Loc *et al.* 2020). Berdasarkan hal tersebut jenis jamur *Trichoderma* memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan dari hifa patogen lain seperti *B. cinerea*.

Isolat jamur kedua adalah *Mucor* spp. jenis jamur yang memiliki kemampuan pertumbuhan hifa yang cepat sehingga mampu menutup pertumbuhan hifa lain pada media atau inang yang sama. Uji *dual culture* yang dilakukan antara *Mucor* spp. dan *B. cinerea* mendapatkan hasil yaitu isolat jamur *Mucor* spp. mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen secara signifikan karena hifa dari jamur ini yang tumbuh ke atas permukaan dan menutupi koloni jamur lain.

Jamur *Mucor* spp. menghasilkan metabolisme sekunder berupa kretenoid yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menekan pencemaran dan juga menghasilkan terpenoid yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan jamur lain (Morin-Sardin *et al.* 2017). Potensi lain yang dimiliki jamur *Mucor* spp. ini yaitu dalam menangani pencemaran dan meningkatkan konsentrasi Zn yang berdampak positif pada masa tumbuhan (Wazny *et al.* 2018). Berdasarkan hal tersebut menjadikan jamur *Mucor* spp. memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap jamur *B. cinerea*.

KESIMPULAN

Isolat jamur endofit yang diisolasi dari tiga bagian tanaman anggur Bali yaitu *Trichoderma* spp. (1), *Mucor* spp., *Aspergillus* spp. (1), *Trichoderma* spp. (2), *B. cinerea*, *Phoma* spp., *Aspergillus* spp. (2), dan *Alternaria* spp. Hasil uji *dual culture* yang dilakukan diadaptkan hasil terdapat 3 jenis isolat yang memiliki kemampuan daya hambat yaitu *Trichoderma* spp. (1)(2) dan *Mucor* spp.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, George N. 2005. *Plant Pathology*. Vol. 42. Fifth. edited by D. Dreibelbis. London: Dana Dreibelbis.
- Elad, Yigal. 2015. "Biological Control of Botrytis Cinerea." *Agricultural Research Organization* 26(9):7–8.
- Juybari, Hakimeh Ziaie, Mohammad Ali Tajick Ghanbary, Heshmatollah Rahimian, Kaivan Karimi, and Mahdi Arzanlou. 2019. "Seasonal, Tissue and Age Influences on Frequency and Biodiversity of Endophytic Fungi of Citrus Sinensis in Iran." *Forest Pathology* 49(6):1–11.
- Kumar, Suresh. 2014. "Biopesticides : A Need for Food and Environmental Safety Biofertilizers & Biopesticides Biopesticides : A Need for Food and Environmental Safety." *Biofertilizers and Biopesticides* 3(4):2–5.
- Kusari, Parijat, Souvik Kusari, Michael Spiteller, and Oliver Kayser. 2013. "Endophytic Fungi Harbored in Cannabis Sativa L.: Diversity and Potential as Biocontrol Agents against Host Plant-Specific Phytopathogens." *Fungal Diversity* 60(1):137–51.

- Loc, Nguyen Hoang, Nguyen Duc Huy, Hoang Tan Quang, Tran Thuy Lan, and Tran Thi Thu Ha. 2020. "Characterisation and Antifungal Activity of Extracellular Chitinase from a Biocontrol Fungus, *Trichoderma Asperellum* PQ34." *Mycology* 11(1):38–48.
- Morin-Sardin, Stéphanie, Patrice Nodet, Emmanuel Coton, and Jean Luc Jany. 2017. "Mucor: A Janus-Faced Fungal Genus with Human Health Impact and Industrial Applications." *Fungal Biology Reviews* 31(1):12–32.
- Rai, I. N., Gede Wijana, I. Putu Sudana, I. W. Wiraatmaja, and Cok G. A. Semarajaya. 2016. *Buah-Buahan Lokal Bali : Jenis, Pemanfaatan Dan Potensi Pengembangannya*. Vol. 2025.
- Rupp, Sabrina, Roland W. S. Weber, Daniel Rieger, Peter Detzel, and Matthias Hahn. 2017. "Spread of *Botrytis Cinerea* Strains with Multiple Fungicide Resistance in German Horticulture." *Frontiers in Microbiology* 7(JAN):1–12.
- Sari, Ni Kadek Yunita, and Ni Luh Utari Sumadewi. 2021. "Aktivitas Antifungi Saponin Bunga Kamboja Putih (*Plumeria Acuminata*) Pada *Candida Albicans* ATCC 10231." *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* 8(1):74.
- Sudha, Venkatesan, Ramar Govindaraj, Kathirvelu Baskar, and Naif Abdullah Al-dhabi. 2013. "Marcella Batista Pavanello Coelho." 59(December):1–7.
- Suryanti, Ida Ayu Putu, Yan Ramona, and Meitini W. Proborini. 2008. "Isolasi Dan Identifikasi Jamur Penyebab Penyakit Layu Dan Antagonisnya Pada Tanaman Kentang Yang Dibudidayakan Di Bedugul , Bali Isolation and Identification of the Causative Agents of Wilting and Their Antagonistics in Potato Plants Cultivated in Bedugul." *Jurnal Biologi* 17(2):37–41.
- Ważny, Rafał, Piotr Rozpądek, Roman J. Jędrzejczyk, Marta Śliwa, Anna Stojakowska, Teresa Anielska, and Katarzyna Turnau. 2018. "Does Co-Inoculation of *Lactuca Serriola* with Endophytic and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Improve Plant Growth in a Polluted Environment?" *Mycorrhiza* 28(3):235–46.
- Yang, Hsueh Hui, Siwy Ling Yang, Kou Cheng Peng, Chaur Tsuen Lo, and Shu Ying Liu. 2009. "Induced Proteome of *Trichoderma Harzianum* by *Botrytis Cinerea*." *Mycological Research* 113(9):924–32.