

ISOLASI DAN SELEKSI JAMUR ENDOFIT ASAL TANAMAN KAKAO SEBAGAI AGENS HAYATI *Phytophthora palmivora* Butl.

ISOLATION AND SELECTION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM CACAO AS BIOCONTROL AGENTS OF *Phytophthora palmivora* Butl.

*Rita Harni, Widi Amaria, Khaerati, dan Efi Taufiq

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

*rita_harni@yahoo.co.id

(Tanggal diterima: 5 Agustus 2016, direvisi: 22 Agustus 2016, disetujui terbit: 2 November 2016)

ABSTRAK

Phytophthora palmivora Butl. merupakan patogen penyebab penyakit busuk buah kakao (BBK) yang menimbulkan kerugian cukup besar bagi petani. Pengendalian *P. palmivora* yang banyak dianjurkan adalah pengendalian ramah lingkungan dengan menggunakan agens hayati seperti jamur endofit. Tujuan penelitian adalah mendapatkan jamur endofit asal tanaman kakao yang bekerja sebagai agens hayati terhadap *P. palmivora* patogen penyebab busuk buah kakao. Penelitian dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Januari sampai Juli 2015. Eksplorasi jamur endofit dilakukan di beberapa daerah penghasil kakao, yaitu Sulawesi Tenggara, Lampung, dan Jawa Barat. Bahan tanaman kakao yang digunakan sebagai sampel adalah daun, buah, dan ranting dari beberapa varietas dan klon kakao. Isolat-isolat jamur endofit diisolasi, dimurnikan, dan diseleksi kinerjanya terhadap *P. palmivora* secara *in vitro* pada media PDA dan secara *in vivo* pada buah kakao. Hasil isolasi diperoleh 269 isolat jamur endofit dari beberapa daerah, yaitu 195 isolat dari Sulawesi Tenggara, 41 isolat dari Jawa Barat, dan 33 isolat dari Lampung. Hasil seleksi isolat jamur endofit terhadap *P. palmivora* diperoleh 4 isolat jamur dari marga *Trichoderma* yang potensial sebagai agens hayati untuk pengendalian *P. palmivora*, yaitu SWI, STII, PB5, dan SWII dengan daya hambat 70,33%; 68,89%; 67,43%; dan 66,67%.

Kata kunci: *Phytophthora palmivora* Butl., busuk buah kakao, jamur endofit

ABSTRACT

Phytophthora palmivora Butl. is a causal pathogen of black pod rot of cocoa (BPR) which leads to severe crop losses. Control of *P. palmivora* using biological agents such as endophytic fungi is most recommended for its environmentally friendly benefits. The aim of this research was to obtain endophytic fungi from cacao plant that works as biological agent against *P. palmivora*. The research was conducted at Plant Protection Laboratory, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute (IIBCRI), Sukabumi, from January to July 2015. The exploration for endophytic fungi was carried out in cacao producing regions such as Southeast Sulawesi, West Java, and Lampung. The samples taken were of leaves, pods, and branches of a number of cacao varieties and clones. Isolated endophytic fungi were then being sterilized, selected, and studied *in vitro* using PDA medium and *in vivo* using cacao pod. The exploration obtained 269 endophytic fungi, consisted of 195 isolates from Southeast Sulawesi, 41 isolates from West Java, and 33 isolates from Lampung. The evaluation of endophytic fungi isolated from *P. palmivora* showed that there were 4 species of *Trichoderma* isolates which have potentials for biological agents to control *P. palmivora*, namely SWI, STII, PB5, and SWII with inhibitory effect of 70.33%; 68.89%; 67.43%; and 66.67%, respectively.

Keywords: *Phytophthora palmivora* Butl., black pod, endophytic fungi

PENDAHULUAN

Phytophthora palmivora Bult. merupakan patogen penyebab penyakit busuk buah, kanker batang, dan hawar daun pada tanaman kakao (Guest & Keane, 2007; Evans, 2007; Deberdt *et al.*, 2008). Serangan penyakit ini pada pertanaman kakao di dunia telah menyebabkan kehilangan hasil 20%–40% (Beding, Alimuddin, & Kanro, 2002; Sukamto & Pujiastuti, 2004), dan kehilangan hasil tersebut akan meningkat terutama di daerah dengan curah hujan dan kelembapan yang tinggi (McMahon & Purwantara, 2004). Di Indonesia, kerugian akibat penyakit ini dapat mencapai 100%, terutama pada saat musim hujan (Guest & Keane, 2007; Harni, Taufiq, & Amaria, 2014).

Pengendalian penyakit tanaman yang banyak diteliti saat ini adalah pemanfaatan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman, salah satunya adalah jamur endofit. Jamur endofit adalah jamur yang berasosiasi dengan tanaman sehat dan tidak memperlihatkan gejala serangan (Petrini, 1992). Hubungan jamur endofit dengan inangnya adalah mutualisme, seperti meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen, melindungi tanaman dari serangan hama, membantu ketersediaan nutrisi, serta mendukung tanaman dalam menghadapi kondisi lingkungan ekstrim seperti kekeringan atau suhu tinggi (Yuan *et al.*, 2010).

Jamur endofit dapat diisolasi dari semua jaringan tanaman seperti daun, ranting, dan buah (Siegel & Schardl, 1992; Ginting, Sukarno, Widyastuti, Darusman, & Kanaya, 2013). Populasi jamur endofit paling tinggi terdapat dalam mahkota, daun, batang, dan sedikit yang hidup dalam akar inang (Petrini, 1992), tetapi menurut Sriwati, Muarif, Amin, & Ulim (2015), populasi jamur endofit pada tanaman kakao tertinggi diperoleh pada akar, selanjutnya daun, batang, dan buah. Populasi jamur endofit yang mengkolonisasi bagian tanaman dapat berbeda-beda tergantung varietas tanaman, umur tanaman, dan agroekosistem (Petrini, 1992; Clay, 2004; Tondoh, 2012).

Penggunaan jamur endofit untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Hanada *et al.* (2010), Melnick, Carmen, Bryan, & Paul (2011), dan Mejía *et al.* (2008) menggunakan jamur endofit untuk mengendalikan *Moniliophthora perniciosa* dan *M. roreri*, patogen penyebab penyakit busuk buah pada tanaman kakao. Hasil penelitian Tondoh, Sinaga, Widodo, & Suhartono (2012) melaporkan jamur endofit *Xylariaceae*, *Calocybe gambosa*, *Resinicium friabile*, dan *Aschersonia* mampu menekan penyakit busuk buah kakao *P. palmivora* masing-masing sebesar 38,8%; 33,8%; 17,4%; dan 12,7%, sedangkan *Pestalotiopsis* dan *Fusarium* tidak efektif. Lebih lanjut, Hakkar, Rosmana, & Rahim

(2014) melaporkan bahwa *Trichoderma asperellum* hanya mampu menekan penyakit busuk buah kakao sebesar 50%. Oleh sebab itu, perlu dilakukan eksplorasi (isolasi dan seleksi) untuk mendapatkan jamur endofit yang memiliki kemampuan lebih tinggi dalam menekan infeksi *P. palmivora* patogen penyebab penyakit busuk buah kakao. Penelitian bertujuan mendapatkan jamur endofit asal tanaman kakao yang bekerja sebagai agens hayati terhadap *P. palmivora* patogen penyebab busuk buah pada tanaman kakao.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Januari sampai Juli 2015. Pengambilan sampel daun, ranting, dan buah kakao dilakukan di daerah Sulawesi Tenggara, Lampung, dan Jawa Barat.

Isolasi *Phytophthora palmivora*

P. palmivora diisolasi dari buah kakao yang sakit (dengan gejala bercak cokelat kehitaman). Buah kakao sakit disterilisasi permukaan dengan menggunakan alkohol 70%, kemudian kulit bagian luar dari buah kakao dibuang dengan menggunakan pisau steril. Pada perbatasan antara jaringan yang sakit dan sehat diambil $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$ daging buah, kemudian ditanam ke dalam media *water agar* (WA) 2%. Biakan selanjutnya diinkubasi selama 3 hari hingga tumbuh jamur di permukaan jaringan. Jamur yang tumbuh dipindahkan ke media *potato dextrose agar* (PDA), diinkubasi pada suhu kamar, selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi.

Isolasi Jamur Endofit

Jamur endofit diisolasi dari beberapa varietas/klon kakao yang dikembangkan di daerah Sulawesi Tenggara (20 varietas/klon), Jawa Barat (7 varietas/klon), dan Lampung (6 varietas/klon) (Tabel 1). Bagian tanaman kakao yang diambil adalah daun, ranting, dan buah sehat pada tanaman-tanaman yang pertumbuhannya terbaik dalam populasi. Isolasi jamur endofit menggunakan metode Mejía *et al.* (2008) yang dimodifikasi. Bagian tanaman berupa ranting dipotong-potong sepanjang 0,5 cm, sedangkan daun dan pod (kulit buah) dipotong-potong sebesar $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$. Bahan tersebut kemudian disterilisasi permukaan menggunakan 0,525% sodium hipoklorit selama 3 menit dan ethanol 70% selama 2 menit, dibilas dengan air steril selama 1 menit, selanjutnya direndam dalam larutan antiseptik selama 1 menit. Bagian jaringan yang sudah steril ditanam dalam media WA 2%, kemudian diinkubasi pada suhu kamar. Jamur yang tumbuh dimurnikan pada media PDA dan diidentifikasi.

Tabel 1. Varietas dan klon kakao yang digunakan untuk isolasi jamur endofit

Table 1. Cacao varieties and clones used for the isolation of endophytic fungi

Varietas/klon	Provinsi	Lokasi
1. Sulawesi 01	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
2. Sulawesi 02	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
3. ICCRI 01	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
4. ICCRI 03	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
5. ICCRI 04	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
6. Sca 6	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
7. Sultra 1	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
8. Sultra 2	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
9. Sultra 3	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
10. Sultra 4	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
11. Sultra 5	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
12. Sultra 6	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
13. Sultra 7	Sultra	Stasiun Kakao (Konda)
14. Lokal sultra 1	Sultra	Konawe
15. Lokal sultra 2	Sultra	Konawe
16. Lokal sultra 3	Sultra	Konawe
17. Lokal sultra 4	Sultra	Konawe
18. Lokal sultra 5	Sultra	Konawe
19. MCC 1	Sultra	Konawe
20. MCC 2	Sultra	Konawe
21. Sulawesi 01	Lampung	Kebun Percobaan (KP) Cahaya Negeri
22. Sulawesi 02	Lampung	KP Cahaya Negeri
23. Lokal lampung 1	Lampung	Abung Selatan
24. Lokal lampung 2	Lampung	Abung Selatan
25. Lokal lampung 3	Lampung	Abung Selatan
26. Lokal lampung 4	Lampung	Abung Selatan
27. KW 561	Jawa Barat	KP Pakuwon
28. KW 403	Jawa Barat	KP Pakuwon
29. KW 572	Jawa Barat	KP Pakuwon
30. Sulawesi 01	Jawa Barat	KP Pakuwon
31. Sulawesi 02	Jawa Barat	KP Pakuwon
32. Sca 6	Jawa Barat	KP Pakuwon
33. Pakuwon	Jawa Barat	KP Pakuwon

Seleksi Jamur Endofit

Isolat jamur endofit yang sudah dimurnikan selanjutnya diuji antagonismenya terhadap *P. palmivora*. Uji antagonisme menggunakan metode oposisi langsung, yaitu menanam isolat endofit berseberangan dengan isolat patogen pada media PDA (isolat patogen pada bagian pinggir media dan isolat endofit pada bagian tepi media yang lain). Cawan petri yang mengandung isolat jamur endofit dan *P. palmivora* diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan terhadap daya hambat isolat jamur endofit terhadap pertumbuhan patogen dan mekanisme penghambatan *P. palmivora* oleh jamur endofit. Penghambatan pertumbuhan diukur dengan rumus:

$$I = 100(r_1 - r_2) / r_1$$

Keterangan:

I = persentase hambatan

r_1 = jari-jari koloni patogen yang tumbuh ke arah berlawanan dengan tempat isolat jamur endofit

r_2 = jari-jari koloni patogen yang tumbuh ke arah isolat jamur endofit

Seleksi Metabolit Sekunder Jamur Endofit

Metabolit sekunder yang diuji adalah metabolit sekunder dari 9 isolat jamur endofit terbaik dari hasil seleksi *in vitro* yang memperlihatkan mekanisme antibiosis terhadap *P. palmivora*. Metabolit sekunder dibuat dengan cara menumbuhkan jamur endofit pada media *potato dextrose broth* (PDB). Dua potong inokulum jamur endofit berukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$ diinokulasikan pada 250 ml media PDB yang sudah disterilkan dan didinginkan. Kultur dibuat dalam erlenmeyer 500 ml, selanjutnya diinkubasi menggunakan *platform shaker* (27°C ; 120 rpm) selama 7 hari. Setelah 7 hari, sel dipisahkan dari miselium (biomassa) jamur dengan cara disentrifugasi (6000 rpm; 15 menit) (Margiono, 2008). Supernatan yang terbentuk disaring menggunakan kertas saring dan dipasteurisasi. Pasteurisasi dilakukan untuk mematikan sel jamur yang terbawa dalam metabolit, tetapi tidak merusak senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Pasteurisasi dilakukan dalam *waterbath* (60°C ; 30 menit).

Pengujian aktivitas metabolit menggunakan metode peracunan media. Satu mililiter filtrat metabolit sekunder ditambahkan ke dalam cawan petri yang telah berisi 9 ml media PDA, kemudian digoyang secara perlahan hingga tercampur merata. Setelah media membeku, potongan miselium *P. palmivora* berdiameter 0,5 cm ditempatkan pada bagian tengah cawan petri. Selanjutnya, sediaan diinkubasi pada suhu kamar. Sebagai pembandingan digunakan media PDB dengan cara yang sama. Pengamatan dilakukan terhadap penghambatan pertumbuhan miselium patogen pada saat miselium pada kontrol sudah memenuhi cawan petri.

Uji Jamur Endofit pada Buah Kakao

Jamur endofit terbaik hasil seleksi *in vitro* dan metabolit sekunder terpilih (PB5, SW1, STII, dan SWII) diuji pada buah kakao yang diinokulasi dengan *P. palmivora*. Isolat jamur endofit yang telah dimurnikan kemudian diperbanyak dalam media PDA selama 7 hari. Selanjutnya, jamur endofit disuspensi dengan air steril sampai konsentrasi 10^6 spora/ml. Untuk mendapatkan suspensi yang homogen ditambahkan 2% *tween 20* (Hanada *et al.*, 2010), dan sebagai perekat ditambahkan

2% minyak kelapa (Hanada *et al.*, 2010; Chamzurni, Sriwati, Muarif, Amin & Ulim, 2014; Sriwati *et al.*, 2015). Suspensi spora kemudian dimasukkan dalam *hand sprayer* dan digunakan sebagai inokulum. Pengujian dilakukan pada buah kakao sehat berukuran panjang ± 15 cm (klon lokal yang peka terhadap *P. palmivora*). Buah disterilisasi menggunakan alkohol 70%, kemudian dibilas dengan air steril dan dikeringanginkan. Seluruh permukaan buah yang sudah steril selanjutnya disemprot suspensi spora jamur endofit. Buah kemudian dimasukkan ke dalam kotak plastik berukuran $30 \times 15 \times 10$ cm³ yang telah diberi tisu dan dibasahi dengan air steril (untuk menjaga kelembapan), selanjutnya diinkubasi (28°C; 24 jam). Setelah 24 jam, buah diinokulasi dengan potongan agar berisi kultur isolat *P. palmivora* berdiameter 0,8 cm (Sriwati *et al.*, 2015). Sebagai perlakuan kontrol adalah buah kakao yang hanya disemprot dengan air steril. Buah kakao yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu kamar (sampai salah satu dari buah telah dipenuhi bercak hitam). Perlakuan dirancang secara acak lengkap dengan 5 ulangan, masing-masing perlakuan digunakan 3 buah kakao. Pengamatan dilakukan terhadap gejala penyakit

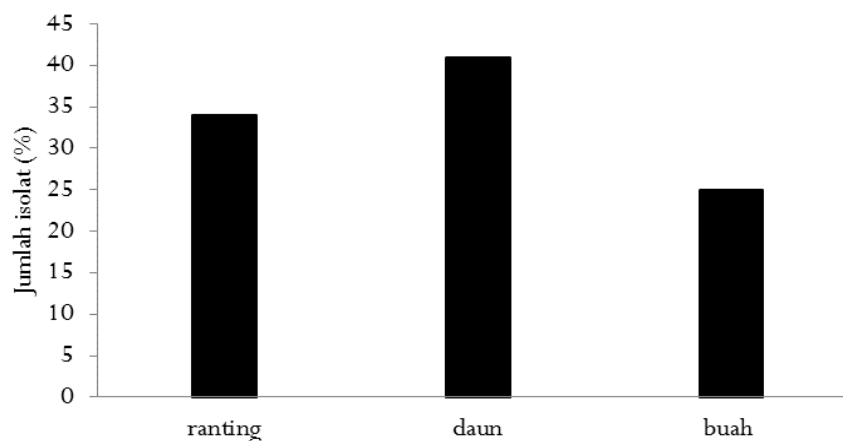
dan diameter bercak *P. palmivora* pada permukaan buah kakao.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi jamur endofit pada daun, ranting, dan buah kakao dari daerah Sulawesi Tenggara (Sultra), Lampung, dan Jawa Barat adalah berupa 269 isolat jamur endofit (Tabel 2). Sebanyak 195 isolat berasal dari Sultra (148 isolat dari daerah Konda/Stasiun Kakao, 47 isolat dari Konawe), 41 isolat dari Jawa Barat (KP Pakuwon Sukabumi) dan 33 isolat dari Lampung (14 isolat dari KP Cahaya Negeri dan 19 isolat dari Abung Selatan). Hasil pengelompokkan berdasarkan organ tanaman diperoleh 92 isolat (34%) berasal dari ranting, 110 (41%) isolat dari daun, dan 67 (25%) isolat dari buah (Gambar 1). Hal ini sama dengan yang dilaporkan Petrini (1992), yaitu populasi jamur endofit paling tinggi terdapat dalam mahkota, daun, batang, dan sedikit yang hidup dalam akar inang. Hasil pengamatan morfologi beberapa isolat pada lokasi berbeda juga didapatkan isolat yang sama, berdasarkan warna dan karakteristik koloninya.

Tabel 2. Isolat jamur endofit dari beberapa daerah pertanaman kakao
Table 2. Isolates of endophytic fungi obtained from cacao cultivation regions

Provinsi	Lokasi	Jumlah isolat jamur endofit
Sulawesi Tenggara	Konda	148
	Konawe	47
	Jumlah	195
Jawa Barat	KP Pakuwon	41
	Jumlah	41
Lampung	KP Cahaya Negeri	14
	Abung Selatan	19
	Jumlah	33
Total		269



Gambar 1. Populasi jamur endofit yang terdeteksi pada daun, ranting, dan buah
Figure 1. Endophytic fungi populations detected in leaves, twigs, and pod

Hasil isolasi menunjukkan isolat jamur endofit dari Sultra jauh lebih banyak dibandingkan dengan isolat dari Jawa Barat dan Lampung (Tabel 2). Hal ini berkaitan dengan jumlah sampel yang diambil dari masing-masing daerah tersebut. Di daerah Sultra dapat ditemukan varietas/klon kakao yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan di daerah Jawa Barat dan Lampung.

Isolat Jamur Endofit Terpilih

Hasil pengamatan daya hambat isolat jamur endofit terhadap *P. palmivora* menunjukkan 29 isolat dari

269 isolat yang diuji memiliki daya hambat $\geq 50\%$ (Tabel 3). Sebanyak 9 isolat dari Jawa Barat, 18 isolat dari Sultra, dan 2 isolat dari Lampung dengan daya hambat berturut-turut sebesar 60,41%–78,75%; 50,00%–79,00%; dan 50,00%–54,15%. Daya hambat yang tinggi diperoleh dari isolat STL7, PB5, SWI, dan STII, yaitu masing-masing sebesar 79,00%; 78,75%; 77,50%; dan 75,30%, sedangkan terendah dari isolat LD2, ST3D, STL3, yaitu masing-masing sebesar 50%. Daya hambat jamur endofit yang tinggi berpotensi digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao.

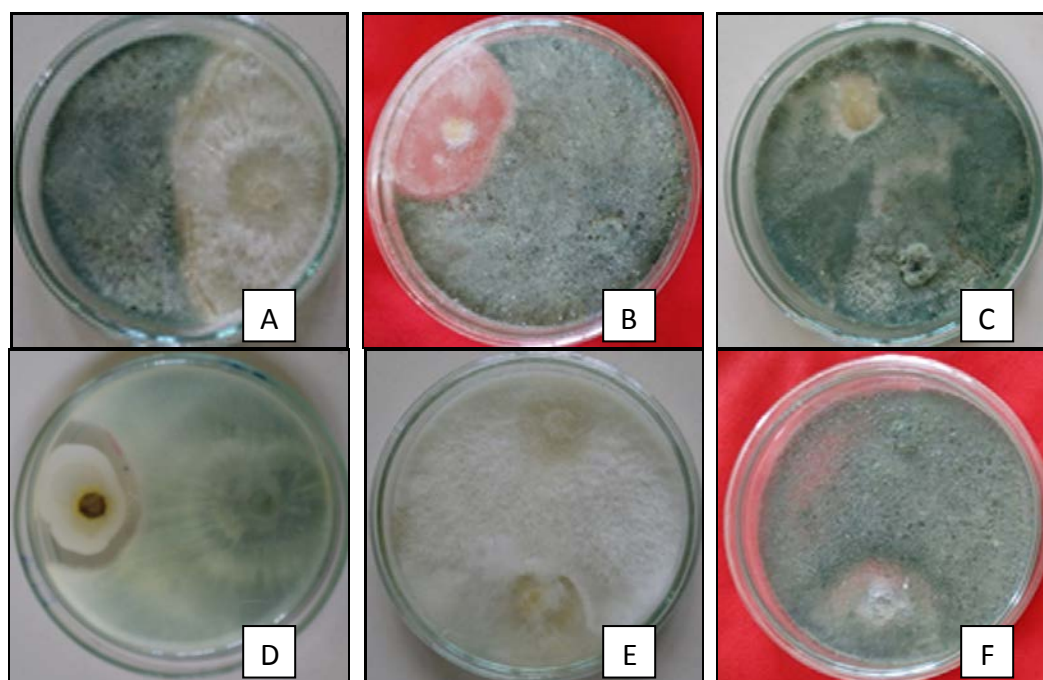
Tabel 3. Persentase daya hambat dan mekanisme isolat-isolat jamur endofit dari Jawa Barat (no. 1–9), Sulawesi Tenggara (no. 10–27), dan Lampung (no. 28 dan 29) terhadap *P. palmivora*

Table 3. The percentage of inhibitory growth and mechanisms of endophytic fungal isolates from West Java (1–9), Southeast Sulawesi (10–27), and Lampung (28 and 29) to *P. palmivora*

No.	Isolat	Daya hambat (%)	Mekanisme		
			Antibiosis	Kompetisi ^{*)}	Mikoparasit
1	PB5	78,75	+	-	-
2	PB2	62,50	-	-	+
3	PB1	78,00	-	+	-
4	PB6	60,41	-	-	+
5	PT1	75,00	+	-	-
6	PD1	76,67	-	+	-
7	PB8	66,67	+	-	-
8	KW572T	65,83	+	-	-
9	KW572D	77,41	+	-	-
10	STIID	50,00	-	-	+
11	STL3	53,70	-	-	+
12	STL1	50,00	+	-	-
13	STL4	51,85	-	-	+
14	STIV	75,00	+	-	-
15	STVII	72,08	+	-	-
16	SWII	75,00	+	-	-
17	STII	75,30	+	-	-
18	ST9.3D	56,25	+	-	-
19	ST9.2D	54,17	+	-	-
20	STL	78,66	-	+	-
21	STL2	72,91	+	-	-
22	STL7	79,00	+	-	-
23	STL5	78,61	-	+	-
24	STVI	70,83	+	-	-
25	STI	78,83	-	+	-
26	SWI	77,50	+	-	-
27	STX	56,25	-	-	+
28	LD1	54,16	-	-	+
29	LD2	50,00	-	-	+

Keterangan : ^{*)} isolat dengan mekanisme kompetisi tidak digunakan untuk penelitian selanjutnya karena endofit hidup di dalam jaringan dengan populasi yang sedikit

Notes : ^{*)} isolates with a competition mechanism are not used for further research because endophytes live in tissues with a small population



Gambar 2. Daya hambat dari beberapa isolat jamur endofit asal kakao terhadap *P. palmivora*. A, B, dan D = mekanisme dengan antibiotik, enzim, dan toksin, C dan E = kompetisi, F = mikoparasit

Figure 2 . Inhibitory growth of some endophytic fungal isolates from cacao to *P. palmivora*. A, B, and D = mechanisms with antibiotics, enzymes, and toxins, C and E = competition, F = mycoparasitic

Penghambatan jamur endofit terhadap *P. palmivora* sangat bervariasi yang disebabkan oleh perbedaan mekanisme dari masing-masing isolat. Menurut Arnold *et al.* (2003), mekanisme penghambatan pertumbuhan patogen oleh jamur endofit dapat dengan memarasit patogen secara langsung, memproduksi antibiotik, kompetisi ruang dan nutrisi, produksi enzim, dan menginduksi respons ketahanan tanaman.

Hasil pengamatan daya hambat jamur endofit terhadap *P. palmivora* secara *in vitro* memperlihatkan mekanisme yang bervariasi, yaitu kompetisi (5 isolat = 17,24%), antibiosis (16 isolat = 55,17%), dan mikoparasit (8 isolat = 27,59%) (Tabel 3, Gambar 2). Kompetisi adalah pertumbuhan jamur endofit lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan *P. palmivora* sehingga semua ruang dipenuhi oleh jamur endofit dan pertumbuhan *P. palmivora* terhambat (Gambar 2C dan 2E). Mekanisme antibiosis dapat menghambat patogen dengan cara menghasilkan antibiotik, enzim, dan toksin (Gambar 2A, 2B, dan 2D). Mekanisme lainnya, yaitu mikoparasit, adalah kemampuan jamur endofit menyebabkan dinding sel *P. palmivora* hancur atau mengalami malformasi (Gambar 2F).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan *P. palmivora* oleh jamur endofit secara antibiosis dicirikan oleh zona bening di sekitar pertemuan jamur endofit dengan patogen. Mekanisme antibiosis dapat berupa

produksi antibiotik atau sekresi enzim litik (Arnold *et al.*, 2003). Jamur endofit dapat menghasilkan satu atau beberapa jenis antibiotik yang tergolong terpenoid, alkaloid, senyawa aromatik, dan polipeptida, seperti *EtOAc* dan *n-butanol* (Liu, Zou, Lu, & Tan, 2001), *tetrohidrofur*, *2 dimetil furan*, *2 butanol*, *acipelin* (Atmosukarto, Castillo, Hess, Sears, & Strobel, 2005), dan *pyrrocidines* (You, Han, Wu, Huang, & Qin, 2009). Beberapa antibiotik yang dihasilkan jamur endofit, di antaranya *pyrrocidines A* dan *B* yang berasal dari *Acremonium zeae* (Wicklów, Roth, Deyrup, & Gloer, 2005), potensial untuk mengendalikan *Aspergillus flavus* dan *Fusarium verticilloides*. Jamur endofit *Verticillium sp.* menghasilkan *ergospirol peroxide* (You *et al.*, 2009) yang telah diuji pada *Pyricularia oryzae*. Selain itu, *Phomopsis cassiae* menghasilkan *cadinane sesquiterpenes* yang potensial untuk mengendalikan *Cladosporium cladosporioides* (Silva, Teles, & Zanardi, 2006).

Mekanisme hiperparasit dicirikan oleh kemampuan jamur endofit secara langsung menyerang propagul patogen (Tripathi, Kamal, Sheramati, Oelmüller, & Varma, 2008). Jamur endofit akan memarasit hifa patogen dengan cara seperti memutar, menembus hifa patogen, dan mensekresi enzim lipase untuk merusak dinding sel patogen. Grosch, Scherwinski, Lottmann, & Berg (2006) melaporkan bahwa jamur endofit *Trichoderma* mempunyai kemampuan memarasit hifa patogen *Rhizoctonia solani*.

Seleksi Metabolit Sekunder

Hasil penelitian pengaruh metabolit sekunder terhadap pertumbuhan *P. palmivora* dapat dilihat pada Tabel 4. Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan oleh agens antagonis yang dapat menghambat atau membunuh patogen. Metabolit yang dihasilkan dapat berupa antibiotik, enzim penglisid dinding sel, dan toksin (Walsh, 2003). Hasil penelitian menunjukkan pengaruh metabolit sekunder dari masing-masing isolat terhadap penghambatan pertumbuhan *P. palmivora* sangat beragam, yaitu 36,11%–70,33%. Metabolit sekunder dengan persentase penekanan paling tinggi terhadap pertumbuhan *P. palmivora* adalah yang dihasilkan dari isolat SWI, STII, PB5, dan SWII, dengan diameter koloni berturut-turut 2,67; 2,80; 2,93; dan 3,00 cm serta persentase penghambatan berturut-turut 70,33%; 68,89%; 67,43%; dan 66,67% (Tabel 4).

Beragamnya pengaruh metabolit sekunder jamur endofit terhadap penekanan pertumbuhan *P. palmivora* disebabkan oleh berbedanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing jamur endofit. Tarus, Lang'at-Thoruwa, Wanyonyi, & Chhabra (2003) melaporkan bahwa metabolit sekunder dari *T. harzianum* dan *T. longibrachiatum*, yaitu 2-phenylethanol, tyrosol, 6-n-pentyl- α -pyrone, sorbicillin, dan ergosterol digunakan untuk mengendalikan *A. mellea* pada teh. Selain itu, Vinale *et al.* (2014) melaporkan bahwa metabolit sekunder dari *T. viride*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, dan *T. koningii*, yaitu 6-pentyl- α pyrone telah dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur. Jantarach & Thanaboripat (2010) menggunakan metabolit sekunder dari *Trichoderma* sp. untuk mengendalikan *Aspergillus flavus* pada kacang tanah.

Tabel 4. Pengaruh metabolit sekunder jamur endofit terhadap pertumbuhan *P. palmivora*

Table 4. Effect of secondary metabolite of endophytic fungi on *P. palmivora* growth

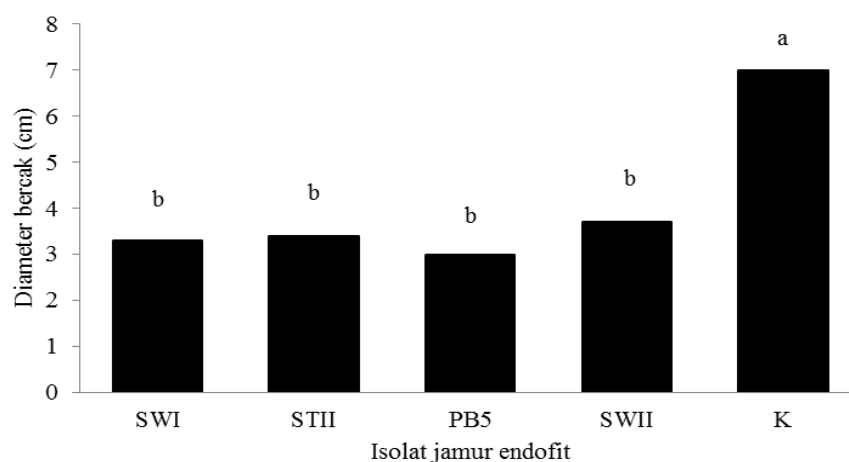
Isolat	Diameter koloni jamur patogen (cm)	Persentase penghambatan (%)
STL7	5,03 b	44,11 b
PB5	2,93 c	67,43 a
ST VII	5,37 b	40,33 b
SW I	2,67 c	70,33 a
ST IV	5,10 b	43,33 b
STII	2,80 c	68,89 a
SWII	3,00 c	66,67 ab
STL2	5,67 b	37,00 b
KW572D	5,77 b	35,89 b
Tanpa isolat (Kontrol)	9,00 a	-

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%

Notes : Numbers followed by the same letters in same column are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels

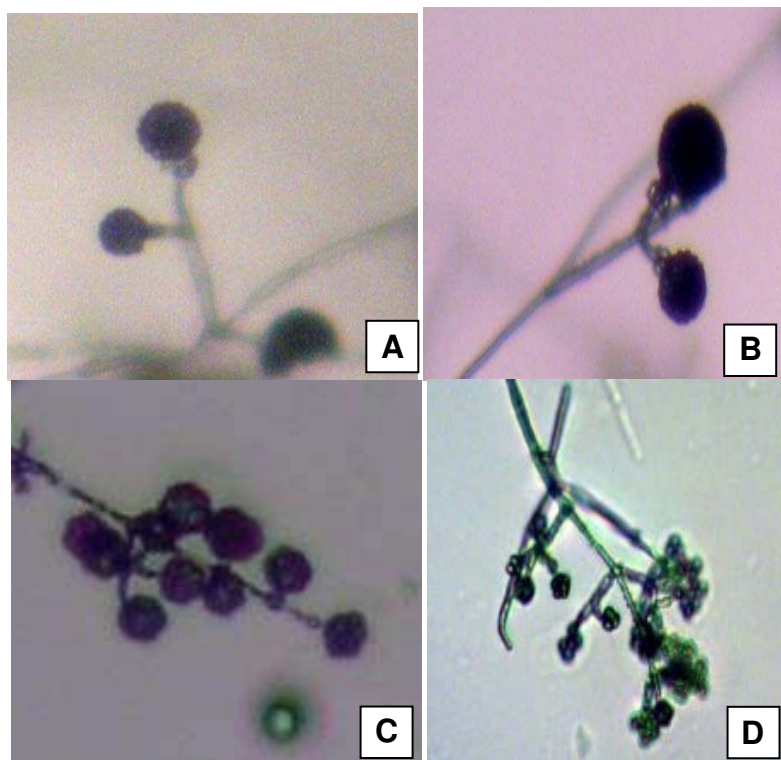
Uji Jamur Endofit pada Buah Kakao

Hasil pengamatan pengaruh jamur endofit terhadap *P. palmivora* pada buah kakao menunjukkan semua isolat yang diuji memperlihatkan pengaruh hampir sama dalam menekan infeksi *P. palmivora* pada buah kakao (Gambar 3). Diameter bercak terendah pada perlakuan isolat PB5 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan isolat lainnya, hanya berbeda dengan kontrol. Hal ini akibat kinerja metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur endofit sehingga mampu menekan infeksi *P. palmivora* (Tabel 4).



Gambar 3. Pengaruh isolat jamur endofit terhadap *P. palmivora* pada buah kakao (SWI = *Trichoderma* SWI, STII = *Trichoderma* STII, PB5 = *Trichoderma* PB5, SWII = *Trichoderma* SWII, K = kontrol)

Figure 3. The effect of endophytic fungal isolates against *P. palmivora* on cacao pod (SWI = *Trichoderma* SWI, STII = *Trichoderma* STII, PB5 = *Trichoderma* PB5, SWII = *Trichoderma* SWII, K = control)



Gambar 4. Bentuk konidia *Trichoderma* sp. (A, B) = SWII, STII, (C)= SWI, dan (D)= PB5
Figure 4. Conidia form of *Trichoderma* sp. (A, B)= SWII, STII, (C)= SWI, dan (D)= PB5

Metabolit sekunder dapat merusak dinding sel patogen sehingga patogen tumbuh lambat atau tidak berkembang. Metabolit sekunder dapat berupa antibiotik, enzim, dan toksin yang mampu melindungi tanaman dari infeksi patogen (You *et al.*, 2009; Tripathi *et al.*, 2008; Macagnan, Romeiro, Pomella, & deSouza, 2008). Di antara metabolit sekunder jamur endofit dari kelompok enzim adalah ekstraseluler *beta (1,3) glukonase* dan *kitinase* yang banyak dihasilkan oleh endofit dari kelompok *Trichoderma*. Metabolit sekunder dalam bentuk antibiotik adalah *gliotoksin*, *viridin*, *dermadin*, dan *gliotoxin* (Kubicek & Harman, 2002). Senyawa-senyawa tersebut dapat melindungi tanaman dari serangan patogen dengan cara melarutkan dinding sel patogen, sedangkan metabolit dalam bentuk toksin adalah *trichodermin* (Christopher, 2010).

Jamur endofit menghasilkan banyak senyawa antimikrob yang menghambat pertumbuhan patogen (Howell, 2006). Hasil penelitian Hanada *et al.* (2010) menunjukkan bahwa, penggunaan jamur endofit terhadap *P. palmivora* mampu menekan perkembangan patogen pada buah kakao. Selanjutnya Suardi (2013) menguji beberapa isolat jamur endofit terhadap *P. palmivora*, hasilnya menunjukkan bahwa isolat *Trichoderma* sp. dan *Fusarium* sp. dapat menekan perkembangan *P. palmivora*. Hakkar *et al.* (2014) menguji jamur endofit *T. asperellum* pada buah kakao

yang terserang *P. palmivora*, dengan penekanan sampai 50%. Sementara itu, Sriwati *et al.* (2015) menggunakan *T. virens* untuk menekan perkembangan patogen *P. palmivora* sampai 70%.

Hasil identifikasi dari keempat isolat jamur endofit yang diuji termasuk kelompok *Trichoderma* sp. dengan karakter morfologi koloni hijau tua, permukaan tebal, pertumbuhan cepat. Konidia oval/silinder, konidiofor bercabang tidak teratur, setiap cabang terdapat *phialid* 3–6 (isolat SWI). Isolat SWII dan STII, koloni hijau keputihan, tumbuh pesat, bentuk koloni bulat, permukaan halus dan tipis seperti beludru. Konidia oval/silinder, konidiofor bercabang tidak teratur, setiap cabang terdapat *phialid* 3–6. Karakter morfologi isolat PB5, koloni putih dengan bagian tengah berwarna hijau, permukaan koloni tebal, kasar dan tumbuh pesat. Konidia oval/silinder, konidiofor bercabang tidak teratur, setiap cabang terdapat *phialid* 3–6 (Gambar 4). Menurut Hanada *et al.* (2010), spesies *Trichoderma* banyak ditemukan pada agroekosistem dan jaringan kakao baik sebagai mikoparasit maupun endofit. *Trichoderma* sp. yang banyak ditemukan sebagai endofit adalah *T. asperellum*, *T. martiale*, dan *T. stromaticum* (Hanada *et al.*, 2010; Rosmana *et al.*, 2014), *T. longibrachiatum* (Krauss & Soberanis, 2002), *T. virens* (Hanada *et al.*, 2010; Sriwati *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Hasil eksplorasi jamur endofit dari tanaman kakao diperoleh 269 isolat jamur endofit (195 isolat dari Sulawesi Tenggara, 41 isolat dari Jawa Barat, dan 33 isolat dari Lampung). Hasil seleksi isolat jamur endofit terhadap *P. palmivora* diperoleh 4 isolat *Trichoderma* sp. yang potensial untuk pengendalian *P. palmivora*, yaitu SWI, STII, PB5, dan SWII dengan daya hambat 70,33%; 68,89%; 67,43%, dan 66,67%. Keempat isolat tersebut potensial digunakan sebagai agens hayati *P. palmivora*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Stasiun Kakao Sultra, KP Pakuwon, dan KP Cahaya Negeri atas sampel tanaman kakao. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Bapak Sumantri sebagai teknisi litkayasa Balittri yang telah membantu kegiatan penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kylo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E.A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *PNAS*, *100*, 15649–15654.
- Atmosukarto, I., Castillo, U., Hess, W.M., Sears, J., & Strobel, G. (2005). Isolation and characterization of *Muscodora albus* I-4.3s, a volatile antibiotic producing fungus. *Plant Sci.*, *169*, 854–861.
- Beding, P.A., Alimuddin, & Kanro, M.Z. (2002). Tanggapan petani terhadap PHT hama penggerek buah dan penyakit busuk buah kakao di Kabupaten Sorong. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*, *18*(3), 100–107.
- Bowers, J., Bailey, B.A., Hebbard, K.P., Sanogo, S., & Lumsden, R.D. (2001). The impact of plant diseases on world chocolate production. *Plant Health Progress* doi: <http://dx.doi.org/10.1094/PHP-2001-0709-1001-RV>.
- Clay, K. (2004). Fungi and the food of the gods. *Nature*, *427*, 401–402.
- Chamzurni, T., Sriwati, R., Muarif, R., Amin B., & Ulim A. (2014). Formulation of *Trichoderma virens* origin of Aceh cocoa controlling black pod disease caused by *Phytophthora palmivora*. *Proceedings of The 4th Annual International Conference Syiah Kuala University (AIC Unsyiah) 2014: In conjunction with The 9th Annual International Workshop and Expo on Sumatra Tsunami Disaster and Recovery – AIWEST-DR 2014*. October 22-24, 2014, Banda Aceh, Indonesia.
- Christopher, D. J., Suthin Raj, T., Usha Rani, S., & Udhayakumar, R. (2010). Role of defense enzymes activity in tomato as induced by *Trichoderma virens* against Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici*. *Journal of Biopesticides*, *3*(1 Special Issue), 158–162.
- Deberdt, P., Mfegue, C.V., Tondje, P.R., Bon, M.C., Ducamp, M., Hurard, C., ... Cilas, C. (2008). Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*, *44*, 149–159.
- Evans, H.C. (2007). Cacao disease. The trilogy revisited. *Phytopathology*, *97*, 1640–1643.
- Ginting, R.C.B., Sukarno, N., Widayastuti, U., Darusman, L.K., & Kanaya, S. (2013). Diversity of endophytic fungi from red ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) plant and their inhibitory effect to *Fusarium oxysporum* plant pathogenic fungi. *Hayati J. Biosci.*, *20*(3), 127–137. doi: <http://dx.doi.org/10.4308/hjb.20.3127>.
- Grosch, R., Scherwinski, K., Lottmann, J., & Berg, G. (2006). Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycol. Res.*, *110*, 1464–1474.
- Guest, D., & Keane, P. (2007). Vascular-streak dieback: a new encounter disease of cacao in Papua New Guinea and Southeast Asia caused by the obligate basidiomycete *Oncobasidium theobromae*. *Phytopathology*, *97*, 1654–1657.
- Hakkar, A.A., Rosmana, A., & Rahim, M.D. (2014). Pengendalian penyakit busuk buah *Phytophthora palmivora* pada kakao dengan jamur endofit *Trichoderma asperellum*. *J. Fitopatologi Indonesia*, *10*(5), 139–144.
- Hanada, R.E., Pomella, A.W.V., Costa, H.S., Bezerra, J.L., Loguercio, L.L., & Pereira, J.O. (2010). Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuacu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. *Fungal Biology*, *114*, 901–910.
- Harni, R., Taufiq, E., & Amaria, W. (2014). Pengaruh formula fungisida nabati minyak cengkeh dan serai wangi terhadap penyakit busuk buah kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, *1*(1), 41–48. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v1n1.2014.p41-48>.
- Howell, C.R. (2006). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology*, *96*, 178–180.
- Jantarach, J., & Thanaboripat, D. (2010). The efficacy of ethyl acetate extract of *Trichoderma* culture broth on growth inhibition and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* IMI 242684. *KMITL Sci. Tech. J.*, *10*(1), 19–29.
- Krauss, U., & Soberanis, W. (2002). Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. *Biol. Control*, *24*, 82–89.
- Kubicek, C. P., & Harman, G. E. (2002). *Trichoderma & Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics* Vol 1 (p. 278). The Taylor & Francis e-Library.
- Liu, C.H., Zou, W.X., Lu, H., & Tan, R.X. (2001). Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte cultures against phytopathogenic fungi. *J Biotechnol.*, *88*, 277–282.

- Macagnan, D., Romeiro, R.S., Pomella, A.W.V., & deSouza, J.T. (2008). Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora (ex Crinipellis) perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biol. Control*, 47, 309–314.
- Margiono, S. (2008). Produksi metabolit sekunder (antibiotik) oleh isolat jamur endofit Indonesia. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(2), 86–94.
- McMahon, P., & Purwantara, A. (2004). *Phytophthora* on cocoa. In A. Drenth & D.I. Guest (Eds.), *Diversity and management of Phytophthora in Southeast Asia*. (p. 104–115). ACIAR Monograph No. 114.
- Mejia, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Arnold, A.E., Kylo, D., Robbins, N., & Edward, A.H. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, xxx, 1–12. doi: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.
- Melnick, R.L., Carmen, S., Bryan, A.B., & Paul, A.B. (2011). Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. *Biological Control*, 57, 236–245.
- Petrini, O. (1992). Fungal endophytes of tree leaves. In J.H. Andrews & S.S. Hirano (Eds.), *Microbial Ecology of Leaves* (pp. 179–196). Berlin: Springer Verlag. CABI.
- Rosmana, A., Samuels, G.J., Ismael, A., Ibrahim, E.S., Chaverri, P., Herawati, Y., & Asman, A. (2014). *Trichoderma asperellum*, a dominant endophyte species in cacao grown in Sulawesi with potential for controlling vascular streak dieback disease. *Trop Plant Pathol.* (in press).
- Siegel, M.R., & Schardl, C.L. (1992). Fungal endophytes of tree leaves In J.H. Andrews & S.S. Hirano (Eds.), *Microbial Ecology of Leaves* (pp. 198–216). Berlin: Springer Verlag. CABI.
- Silva, G.H., Teles, H.L., & Zanardi, L.M. (2006). Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae) *Phytochemistry*, 67(17), 1964–1969.
- Sriwati, R., Melnick, R.L., Muarif, R., Strem, M. D., Samuels, G. J., & Bailey B.A. (2015). *Trichoderma* from Aceh Sumatra reduce *Phytophthora* lesions on pods and cacao seedlings. *Biological Control*, 89, 33–41.
- Suardi. (2013). Efektifitas lima isolat cendawan endofit dalam menekan pertumbuhan cendawan (*Phytophthora palmivora* Butler) pada tanaman kakao (*Theobroma cacao*). (Skripsi, Universitas Hasanuddin, Makassar).
- Sukanto, S., & Pujiastuti, D. (2004). Keefektifan beberapa bahan pengendali penyakit busuk buah kakao *Phytophthora palmivora*. *Pelita Perkebunan*, 20(3), 132–142.
- Tarus, P.K., Lang'at-Thoruwa, C.C., Wanyonyi, W.W., & Chhabra, S.C. (2003). Bioactive metabolites from *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma longibrachiatum*. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 17(2), 185–190.
- Tondoh, E.T., Sinaga, M.S., Widodo, & Suhartono, M.T. (2012). Potensi cendawan endofit sebagai agens pengendali hayati *Phytophthora palmivora* (Butl). penyebab busuk buah kakao. *J. Agron. Indonesia*, 40(2), 146–151.
- Tondoh, E.T. (2012). *Keragaman cendawan endofit pada buah kakao dan potensinya dalam pengendalian busuk buah Phytophthora*, (Disertasi, Institut Pertanian Bogor, Bogor).
- Tripathi, S., Kamal, S., Sheramati, I., Oelmuller, R., & Varma, A. (2008). Mycorrhizal fungi and other root endophytes as biocontrol agents against root pathogens. In A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza* (pp. 281–306). New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Woo, S.L., Nigro, M., Marra, R., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology J.*, 8(Suppl-1, M5), 127–139.
- Walsh, C. (2003). *Antibiotic: action origins, resistance*. Washington DC: American Society for Microbiology.
- Wicklow, D.T., Roth, S., Deyrup, S.T., Gloer, J.B. (2005). A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycological Research*, 109(5), 610–618.
- You, F., Han, T., Wu, J.Z., Huang, B.K., & Qin, L.P. (2009). Antifungal secondary metabolites from endophytic *Verticillium* sp. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(3), 162–165.
- Yuan, Z., Zhang, C., & Lin, F. (2010). Role of diverse non-systemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches. *J Plant Growth Regul.*, 29, 116–126.