

Efektivitas Antifungi Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan Fungi Patogen Indegenous *Phytophthora palmivora* dengan Metode Dilusi Padat

*Dwi Nur Rikhma Sari, Hasni Ummul Hasanah, M.P., Masroatun
Mahasiswa Pascasarjana Prodi Pendidikan Biologi, FPMIPA, IKIP PGRI JEMBER
Email: *dnrs129_dinnurrisa@yahoo.com

Abstrak

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen indegenous *Phytophthora palmivora* dengan menggunakan metode dilusi padat. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan secara invitro dengan 4 taraf perlakuan konsentrasi 0%, 50%, 75% dan 100% dan pengulangan sebanyak 5 kali. Berdasarkan analisa statistik menggunakan uji Kruskall Wallis diperoleh hasil bahwa pemberian ekstrak daun kakao berpengaruh terhadap besar rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (sig 0,01 dengan α adalah 0,05) dan menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan konsentrasi 0% ($0,00 \pm 0,000^a$); 50% ($3,00 \pm 1,581^b$); 75% ($4,20 \pm 2,950^b$) dan 100% ($8,20 \pm 1,483^c$) dengan konsentrasi optimal sebesar 100% ($8,20 \pm 1,483^c$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) efektif menghambat pertumbuhan fungi patogen indegenous *Phytophthora Palmivora* pada tanaman kakako.

Kata kunci : *Theobroma cacao L.*, Metode Dilusi Padat, *Phytophthora palmivora*

PENDAHULUAN

Jember adalah salah satu perkebunan penghasil kakao yang berlimpah, dengan luas 160 hektar [1]. Budidaya tanaman kakao kini mengalami banyak kegagalan, salah satu penyebab kegagalan tersebut adalah infeksi fungi patogen yang mengakibatkan kerugian yang sangat besar. Beberapa negara seperti Asia, Afrika menjadi negara yang terkena dampak dari infeksi fungi patogen ini Menurut Littri, bentuk dari fungi *P. palmivora* adalah berbentuk bulat dengan pinggiran yang tidak rata berwarna putih, pada umumnya koloni berbentuk *stalate* sedangkan pada kakao berbentuk *rosaceous* [2]. *Pythophthora palmivora* adalah fungi yang bersifat parasit bagi tanaman, khususnya sangat merugikan untuk tanaman Kakao (*T. cacao L.*). Infeksi yang disebabkan oleh *P. palmivora* antara lain buah busuk, kanker batang, hawar bibit atau tunas air pada *T. cacao L.* Selama ini, berbagai upaya telah dilakukan oleh petani untuk mengatasi permasalahan tersebut salah satunya dengan mengubur buah kakao didalam tanah. Sedangkan untuk buah yang belum terinfeksi oleh fungi, para petani pada umumnya menggunakan pestisida setiap 2 minggu sekali. Strategi untuk menghindari masalah tersebut adalah dengan menemukan inovasi baru, salah satunya memanfaatkan ekstrak senyawa pada tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antimikroba [3] dan memproduksi antibiotik alami yang berasal dari tanaman [4].

ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi, FP. MIPA IKIP PGRI Jember pada bulan Juni-Juli 2016. Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Satu set Alat Maserasi, Pendingin, Blender, Kain Saring, Baskom, Spatula, Autoklaf, Oven, Timbangan Analitik, Bunsen, Korek Api, Alat Pemanas Air, Gelas Ekstraksi, Mikropipet, Pipet Volume dan

Pumproll, Jarum *Ose*, Cawan Petri, Gelas Beaker, Erlenmeyer, Pinset, Spatula, Sendok dan LAF (*Laminar Air Flow*). Sedangkan bahan yang digunakan yaitu Ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan fungi patogen *Phytophthora palmivora*, medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), Etanol 96%, Alkohol 70% dan 90%, Aquades, *Aluminium foil*, *Tissue Steril*, Kapas, Kertas Saring, Spidol, Kertas Label, Kertas Kayu, dan Karet Gelang.

METODE PENELITIAN

Preparasi sampel

Daun kakao (*Theobroma cacao L.*) sebanyak 1,5 kg dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dicuci dengan alkohol 70%, yang kemudian dikering-anginkan. Untuk persiapan ekstrak daun kakao yang telah kering di potong kecil kecil (2cm). Kemudian potongan daun kakao dihaluskan dengan mortal hingga halus. Daun kakao yang telah halus disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun kakao. Ekstrak murni daun kakao siap untuk digunakan. Untuk membuat ekstrak daun kakao dengan konsentrasi 100% diperlukan 1000 mg ekstrak daun kakao 10 mL (tanpa aquades) [5].

Pembuatan Media Pertumbuhan Fungi

Pembuatan media pertumbuhan fungi dilakukan dengan cara memasukkan media PDA sebanyak 17,55 gr ke dalam gelas beaker dan menambahkan aquadest sebanyak 450 mL. Kemudian bahan tersebut dipanaskan di atas kompor hingga semua bahan terlarut sempurna. Setelah itu media PDA dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas serta dilapisi dengan aluminium foil. Kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* 1 atm, dengan suhu 121°C selama 120 menit, masing-masing *petri dish* diisi 15 mL dan ditunggu sampai memadat.

Peremajaan mikroba Uji *Phytophthora palmivora*

Dalam melakukan peremajaan mikroba uji *Phytophthora palmivora*, dilakukan dengan cara biakan fungi *Phytophthora palmivora* masing-masing sebanyak 1 ose diinokulasikan kedalam medium agar PDA cawan petri yang telah padat secara aseptik. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C dengan waktu 2x24 jam.

Pembuatan Stater Uji

Pembuatan larutan bakteri *Phytophthora palmivora* dilakukan sebelum melakukan uji antimikroba *Phytophthora palmivora*. Pembuatan larutan mikroba ini dilakukan dengan cara mengambil fungi sebanyak 1 ose dari hasil peremajaan *Phytophthora palmivora* yang telah dibuat selanjutnya dilarutkan ke dalam 20 mL garam fisiologis steril. Kemudian diinkubasi selama 2 x24 jam pada suhu 37⁰ C.

Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktifitas antifungi pada penelitian ini dengan cara menggunakan metode difusi kertas cakram sebagai berikut : starter fungi *P. palmivora* sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam media PDA sebanyak 5 mL. Menunggu hingga media menjadi pekat, kertas cakram direndam dalam ekstrak selama 15 menit dengan variasi 0%, 50%, 75%, 100%. Kertas cakram yang sudah direndam diletakkan diatas permukaan media menggunakan pinset steril dan di tekan sedikit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 2 x 24 jam [6].

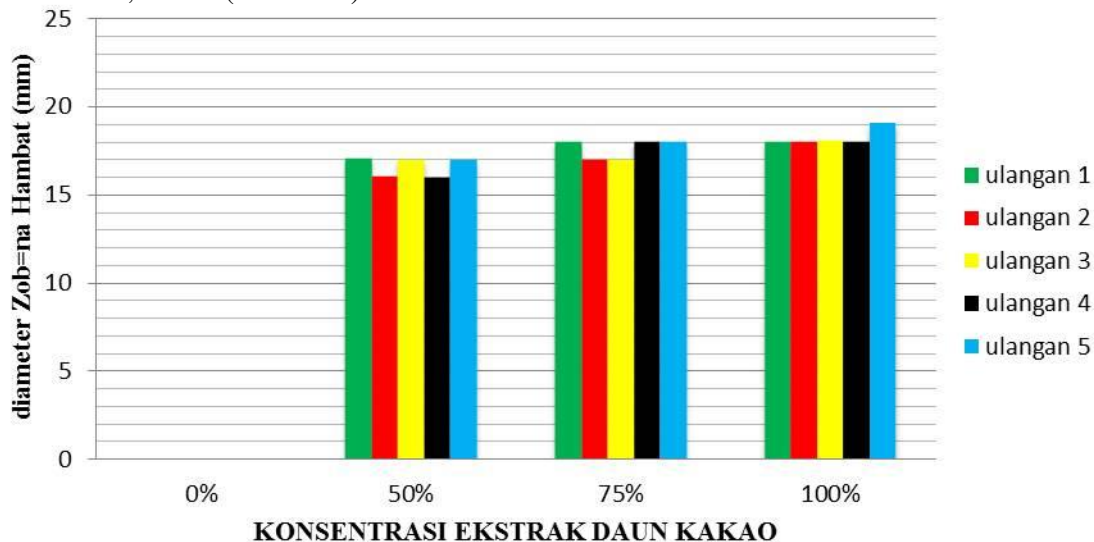
Analisis Data

Teknik pengumpulan data menggunakan metode observasi langsung. Pengamatan menggunakan metode Difusi yaitu pengukuran zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram (Daerah hambat pertumbuhan) menggunakan jangka sorong. Data berupa diameter zona pertumbuhan dianalisis secara kuantitatif dan untuk data untuk uji fitokimia dianalisis secara kualitatif. Analisa data menggunakan Uji statistik dengan menggunakan Analisis inferensial

melalui statistik non-parametris (Kruskall- Wallis). Analisis inferensial, karena tidak homogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian uji aktifitas ekstrak daun kakao hasil dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini, dan untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 5. Diameter kertas cakram yang digunakan adalah 14,02 mm (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik Diameter Hambat Pertumbuhan (DHP) ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan fungi *Phytophthora palmivora*

Hasil yang telah didapat kemudian dilakukan analisis data statistik. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Kolmogorov Smirnov Test* untuk uji normalitas, *Levene Statistik* untuk uji homogenitas menggunakan program SPSS 23. Selanjutnya menggunakan statistik non parametrik diujikan dengan menggunakan *Kruskall Wallis*. Hasil uji ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil uji Kruskall Wallis zona hambat pertumbuhan *Phytophthora P.*
Test Statistics^{a,b}

Diameter Zona hambat	
Chi-Square	15.825
Df	3
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi daun kakao

Untuk menguji apakah setiap perlakuan memiliki perbedaan dalam menghambat pertumbuhan fungi, maka hasil dapat dilihat melalui tabel 2 berikut ini.

Efektivitas Antifungi Ekstrak Daun Kakao (Theobroma cacao L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Fungi Patogen Indegenous Phytophthora Palmivora dengan Metode Dilusi Padat (Dwi Nur Rikhmana Sari, dkk)

Tabel 2: Rata-rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan (DHP) *Phytophthora P.*

Konsentrasi (mg/mL)	Rata-rata (mm)
0%	0,00 ± 0,000 ^a
50%	3,00 ± 1,581 ^b
75%	4,20 ± 2,950 ^b
100%	8,20 ± 1,483 ^c

Daun kakao digunakan karena mudah didapat dan berlimpah [1]. Pada perlakuan konsentrasi 0% sebagai kontrol tidak terdapat zona bening, namun pada perlakuan 50%, 75% dan 100% terdapat zona bening dalam menghambat pertumbuhan fungi *Phytophthora palmivora*. Hal ini berarti ekstrak daun kakao mulai konsentrasi 50% memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *Phytophthora palmivora*. Dari hasil diagram rata-rata diameter zona hambatan (Gambar 1) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar.

Hasil pengujian statistik dengan uji *Kruskall Wallis* (tabel 1) menunjukkan terdapat perbedaan antar jenis konsentrasi perlakuan terhadap diameter hambat pertumbuhan yang terbentuk. Perbandingan rata-rata konsentrasi ekstrak daun kakao dinilai memiliki daerah hambat pertumbuhan yang beragam. DHP yang terbentuk pada pemberian ekstrak daun kakao pada konsentrasi 0% : 0,000±0,000 mm sebagai kontrol positif tidak terdapat zona hambat. Pada konsentrasi 50%: 3,00±1,581 mm dan 75%: 4,20±2,950 mm tampak bahwa hasil pengujian setiap replikasi pada konsentrasi ini memiliki daerah zona hambat, tetapi tidak terdapat perbedaan yang berarti, namun rerata diameternya lebih besar dan tampak jelas. Pada konsentrasi 50% dan 75% justru memiliki perbedaan dengan konsentrasi 0% dan 100% sedangkan pada konsentrasi 100% : 8,20±1,483 mm terdapat perbedaan dengan konsentrasi 0%, 50% dan 75%. (Tabel 2). Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin luas zona hambat yang terbentuk terhadap fungi *Phytophthora Palmivora* sehingga menunjukkan efektifitas yang semakin tinggi untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan fungi [7]. Menurut Alfiah, ada beberapa Golongan zona hambat, Golongan tersebut dapat dilihat pada tabel berikut ini [8].

Tabel 3. Aktifitas Antifungi berdasarkan DHP

Aktifitas Antifungi	Diameter Zona Hambat
Lemah	< 10 mm
Sedang	10-15 mm
Kuat	16-20 mm
Sangat Kuat	>20 mm

Pada masing-masing perlakuan zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa DHP zona Hambat ekstrak daun kakao memang tergolong lemah. Data dapat dilihat pada tabel 2. Terdapat beberapa alasan lemahnya zona hambat yang terbentuk. Diantaranya adalah karena semakin kecil konsentrasi, maka kandungan senyawa yang ada semakin kecil pula. Selain itu, ukuran bahan penyaring yang digunakan dalam ekstraksi, pestisida yang ada pada tanaman juga berpengaruh [9]. Walaupun hasil uji ini tergolong lemah, tetapi hasil uji ini masih tergolong dapat menghambat pertumbuhan fungi *Phytophthora palmivora* hal ini dikarenakan adanya kandungan flavonoid, alkaloid serta triterpenoid yang sudah diujikan melalui uji fitokimia.

Cara kerja flavonoid adalah dengan cara menghambat pertumbuhan jamur pada membrane selnya. Dimana gugus hidroksil menyebabkan komponen organik dan transport nutrisi yang akan menimbulkan efek toksik terhadap jamur. Senyawa ini akan masuk melalui lubang membrane sel yang telah mengalami denaturasi lipid. Senyawa protein akan terdenaturasi melalui ikatan hidrogennya. Kemampuan flavonoid dalam mengikat protein akan menyebabkan pertumbuhan dinding sel terhambat, sehingga pertumbuhan hifa juga terhambat. Selanjutnya adalah cara kerja alkaloid, alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol yang

akan membentuk lubang sehingga menyebabkan kebocoran membrane sel yang nantinya akan mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel pada jamur [10].

Terpenoid bersifat larut dalam lemak sehingga mampu menembus dinding sel, salah satu golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antimikroba adalah triterpenoid. Dari beberapa alasan diatas dapat diketahui bahwa daun kakao mampu menghambat pertumbuhan *phytophthora palmivora* karena kandungan-kandungan yang dimilikinya, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Witri M.Y [11] dan Matsumoto *et all.*, [12] yang melaporkan bahwa senyawa saponin, alkaloid, kumarin, xanton, flavonoid, asam lemak, senyawa fenol, terpen, minyak atsiri, lektin dan pepiloptida dapat digunakan sebagai antifungi.

SIMPULAN

Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki aktifitas senyawa antifungi terhadap pertumbuhan fungi *Phytophthora palmivora*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kakao maka semakin, besar diameter zona bening yang terbentuk sehingga daun kakao mempunyai potensi sebagai antifungi alami.

SARAN

Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat dilakukan penelitian skala ex-vivo dalam rangka pemanfaatannya sebagai pupuk hayati dalam menanggulangi patogen indegenous baik untuk fungi *Phytophthora palmivora* maupun fungi patogen yang lainnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada IKIP PGRI Jember khususnya Prodi Pendidikan Biologi FP.MIPA atas Fasilitas untuk pelaksanaan penelitian serta Tim Peneliti sebagai partner atas kerjasama yang baik dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aziz, 2010 Source : berita jatim. Com Kompas <http://www.bumn.go.id/ptpn12/berita/1057/Makan.Cokelat.dan.Berwisata.Ilmiah.di.Puslit.Kakao.29July2010> diakses 21 Maret 2016
2. Littri, 2007. *Karakter Morfologi Dan Molekuler Isolat Phytophthora palmivora Asal Kelapa Dan Kakao*. Faperta Institut Pertanian dan Departemen Biologi, FMIPA Kampus Darmaga Bogor
3. Devendra, B.N., N.Srinivas, V.S.S.L. Talluri, Prasad, and P.S.Latha. 2011. *Antimicrobial Activity Of Moringa Oleifera Lam., Leaf Extract, Against Selected Bacterial And Fungal Strains*. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2(3), Jul-Sept 2011.
4. Monica, W.S., H. Mahatmi, K. Besung. 2013. "Pola Resistensi Salmonella typhi yang Diisolasi dari Ikan Serigala (Hoplias malabaricus) terhadap Antibiotik". Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan. 1 (2), 64-69.
5. Khunaifi, M. 2010. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas aeruginosa". Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim Malang. [diakses 14 april 2015]
6. Widiyanti, Y. 2015. *Uji Aktifitas Ekstrak Daun Salam (Eugenia pilyanthum) Terhadap Antifungi Trichoderma vilide Pada Media Tanam (BAGLOG) Jamur Tiram Grey Oster (Pleorus sp.) Sebagai Sumber Belajar Mata Kuliyah Mikrobiologi*. Fakultas MIPA prodi biologi IKIP PGRI Jember.
7. Sulistiawati, D. & Mulyati, S. 2009. *Uji Aktifitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale) terhadap Candida albicans*. Biomedica. 2(1):337-339. Tan, R.X., and W.X. Zou. 2001. Endophytes : arich source of functional metabolites. *Nat.Prod.*

Efektivitas Antifungi Ekstrak Daun Kakao (Theobroma cacao L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Fungi Patogen Indegenous Phytophthora Palmivora dengan Metode Dilusi Padat (Dwi Nur Rikhmana Sari, dkk)

- Rep.* 18: 448-459.
8. Alfiah, R., Khotimah, 2015 *Efektifitas Ekstrak Methanol Daun Sembung Rambut Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicand.* Jurnal protobionnt vol 4.
 9. Mishra, S.K., Sangwan, N.S., Sangwan, R.S. 2007. *Andrographis paniculata* (kalmegh): areview. *Pharmacognosy Reviews*; 1: 283-97.
 10. Setiabudy, R. dan Bahry, 2007. *Farmakologi dan terapi: Obat Jamur.* Edisi. Jakarta: fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pp.571-84
 11. Witri M. Y., 2013. *Daya Hambat Perasan Daun Sambiloto Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli.* Labolatorium Mikrobiologi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. Bali. 2(2) : 142 - 150 ISSN : 2301-7848142
 12. Matsumoto M, M Tsuji, J Okuda, H Sasaki, K Nakano, K Osawa, S Shimura, dan T Ooshima (2004) *Inhibytory effects of cacao bean husk extract on plaque formation in vitro and in vivo.* *Eur J Oral Sci* 112 (3), 249-52