

**PENGHAMBATAN CENDAWAN ENDOFIT ASAL RHIZOSFER
TANAMAN KAKAO ANORGANIK TERHADAP PENYAKIT BUSUK
BUAH (*Phytophthora palmivora*)**

***INHIBITION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM THE RHIZOSPHERE OF
INORGANIC COCOA PLANTS AGAINST FRUIT ROT DISEASE
(Phytophthora palmivora)***

Nahdhatul Hayati¹, Ratnawati^{1*}, Arfan², I Ketut Suwitra³

¹Program Studi Megister Ilmu Pertanian, Program Pascasarjana, Universitas Alkhairaat

²Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Alkhairaat

³Badan Riset Inovasi Nasional

Jl. Diponegoro, No. 39, Palu 94221, Sulawesi Tengah, Indonesia

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat daya hambat cendawan endofit asal rhizosfer tanaman kakao anorganik terhadap penyakit busuk buah (*P. palmivora*). Sampel rhizosfer cendawan endofit anorganik diperoleh dari ekosistem tanaman kakao milik petani pada kedalaman 20-30 cm dengan menggunakan metode diagonal. Sampel cendawan endofit anorganik dimurnikan kemudian diseleksi. Seleksi pertama didapatkan 18 isolat, kemudian seleksi kedua didapatkan 10 isolat dan pada seleksi yang ke tiga diperoleh 4 isolat yang berpotensi. Kemudian 4 isolat diberi kode S.A.O.1, S.A.O.2, S.A.O.3, dan S.A.O.4. Setelah itu, diamati karakteristiknya dan diidentifikasi sehingga didapatkan *Gliocladium sp*, *Aspergillus niger* mf 1, *Aspergillus niger* mf 2, dan *Trichoderma sp*. Hasil seleksi 4 isolat selanjutnya diuji dual kultur dan diuji volatil dengan *P. palmivora*. Hasil uji dual kultur diperoleh tipe mekanismenya kompetisi ruang serta besar pengahambatannya dari tiap isolat yakni; S.A.O.1 = 64,24 %, S.A.O.2 = 60,91 %, S.A.O.3 = 63,00 %, dan S.A.O.4 = 70,85 %, serta besar penghambatan pada uji volatil dari 4 isolat yaitu; S.A.O.1 = 14,81 %, S.A.O.2 = 12,59 %, S.A.O.3 = 14,44 %, dan S.A.O.4 = 23,33 %.

Kata Kunci: Cendawan Endofit; Anorganik, Kakao, *Phytophthora palmivora*

ABSTRAK

This study aims to determine the inhibition of endophytic fungi from the rhizosphere of inorganic cocoa plants against fruit rot disease (*P. palmivora*). Rhizosphere samples of inorganic endophytic fungi were obtained from the ecosystem of farmer-owned cocoa plants at a depth of 20-30 cm using the diagonal method. Inorganic endophytic fungus samples were purified and then selected. The first selection obtained 18 isolates, then the second selection obtained 10 isolates and in the third selection obtained 4 potential isolates. Then the 4 isolates were coded S.A.O.1, S.A.O.2, S.A.O.3, and S.A.O.4. After that, their characteristics were observed and identified so that *Gliocladium sp*, *Aspergillus niger* mf 1, *Aspergillus niger* mf 2, and *Trichoderma sp*. The results of the selection of 4 isolates were then tested in dual culture and tested for volatiles with *P. palmivora*. The results of the dual culture test obtained the type of mechanism of space competition and the amount of inhibition from each isolate, namely; S.A.O.1 = 64.24%, S.A.O.2 = 60.91%, S.A.O.3 = 63.00%, and S.A.O.4 = 70.85%, as well as the amount of inhibition in the volatile test of 4 isolates namely; S.A.O.1 = 14.81%, S.A.O.2 = 12.59%, S.A.O.3 = 14.44%, and S.A.O.4 = 23.33%.

Kata Kunci: *Endophytic Fungi; Inorganic, Cocoa, Phytophthora palmivora*

*) Penulis Korespondensi.

E-mail: ratnawatinina1968@gmail.com

Pendahuluan

Tanaman kakao (*Theobroma cacao*, L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peran penting dalam perekonomian Indonesia, baik sebagai komoditas ekspor. Luas areal perkebunan kakao Indonesia telah mencapai 1.592.562 ha dan produksi 774.195 ton biji kering. Sebagian besar perkebunan kakao berbentuk perkebunan rakyat (99%), dengan jumlah petani mencapai 2,5 juta keluarga tani. Volume ekspor mencapai 358.481 ton dengan nilai olahan mencapai USD 1.193.734 pada tahun 2019 (Badan Pusat Statistik, 2020).

Salah satu faktor penyebab rendahnya produktivitas tanaman kakao adalah serangan penyakit busuk buah yang disebabkan oleh cendawan *P. palmivora*. Penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *P. palmivora* merupakan salah satu penyakit yang serius pada tanaman kakao. Tingkat kerugian yang disebabkan oleh penyakit ini bervariasi tergantung pada berbagai faktor seperti kondisi lingkungan, varietas tanaman kakao, praktik budidaya, dan efektivitas pengendalian yang diterapkan. Namun, dalam kondisi yang tidak terkendali, serangan penyakit ini dapat menyebabkan kerugian hasil yang signifikan

Lingkungan tumbuh yang mendukung dan keberadaan mikroba di dalam tanah dianggap sebagai habitat yang baik bagi pertumbuhan tanaman. Mikroba endofit hidup bersimbiosis dengan tanaman inangnya, baik pada jaringan batang maupun akar tanaman, memberikan jasa pertahanan dalam situasi cekaman biotik dan abiotik Ratnawati dkk. (2022).

Pada umumnya jenis agen hayati yang dikembangkan adalah mikroba alami, baik yang hidup sebagai saprofit di dalam tanah, air dan bahan organik maupun yang hidup di jaringan tanaman (endofit) yang bersifat menghambat pertumbuhan dan berkompetisi dalam ruang dan nutrisi dengan patogen sasaran, atau bersifat menginduksi ketahanan tanaman.

Pengendalian hayati menjadi alternatif yang dipilih karena lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek toksik. Pengendalian hayati dengan menggunakan berbagai jasad mikroorganisme sudah banyak digunakan seperti endofit. Endofit ini sering digunakan sebagai agen pengendali hayati karena di dasarkan atas kemampuan untuk mengendalikan mikroba.

Percobaan mengenai jenis-jenis cendawan baru yang dapat digunakan dalam pengendalian hayati yang berbasis pengendalian hama dan penyakit terpadu sangat dibutuhkan. Sehingga perlu dilakukan eksplorasi potensi antagonis dengan mengambil sampel untuk pengamatan dan mengisolasi cendawan rhizosfer tanaman Wahyuni dkk. (2022).

Penelitian lebih lanjut terus dilakukan untuk memahami peran cendawan endofit secara lebih mendalam dalam pengendalian penyakit busuk buah pada tanaman kakao menggunakan cendawan endofit sehingga nantinya dapat memberikan kontribusi yang signifikan dalam pengembangan pertanian berkelanjutan dan ramah lingkungan. Ini yang menjadi tujuan dasar yaitu meneliti peran cendawan endofit asal rhizosfer yang berbeda pada tanaman kakao sebagai pengendali penyakit busuk buah yang dilandaskan dengan praktik pertanian berkelanjutan yang memanfaatkan hubungan simbiosis antara tanaman kakao dan cendawan endofit.

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu

Sampel penelitian diambil di Desa Sidondo Kabupaten Sigi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Alkhairaat Palu, Sulawesi Tengah, kurang lebih selama 5 bulan.

Bahan dan alat yang digunakan

Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah; Media PDA Sintetik, Alkohol 70 %, Spritus, Aquades, CaCo₃, Scalpel, Pinset, Cook Borrer 0,5 cm, Botol Scot, Cawan Petri, Aluminium Foil, Mikroskop, Kertas Saring, Rak Tabung, Tabung Reaksi, Mikropipet, Bunsen, Autoklaf, Wrapping, Tisu, Photo Box, Kamera dan Alat Tulis.

Isolasi cendawan *Phytophthora palmivora*

P. palmivora diisolasi dari buah kakao yang sakit (dengan gejala bercak cokelat kehitaman). Buah kakao sakit diambil daging buah dengan cara memanjang dengan menggunakan scalpel pada bagian dalam yang berbatasan dengan bagian yang sehat lalu dipotong seperti persegi Panjang, setelah itu dicuci bersih dan kering anginkan diatas kertas saring yang telah disterilkan terlebih dahulu. Lalu disterilisasi permukaan dengan tahapan aquades, alkohol 70%, Clorox 25 %, dan

aquades. Kemudian ditanam ke dalam media jus V8. Biakan selanjutnya diinkubasi selama 3 hari hingga tumbuh jamur di permukaan jaringan. Jamur yang tumbuh dipindahkan ke media potato dextrose agar (PDA), lalu diinkubasi Kembali pada suhu kamar, selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi.

Isolasi cendawan endofit anorganik

Isolasi cendawan endofit dilakukan dengan metode pengenceran. Isolasi dilakukan di laminar air flow dengan mengambil dari masing-masing sampel tanah sebanyak 10 gram, lalu dilarutkan dalam 100 ml akuadest steril dalam gelas erlenmeyer 500 ml dan divorteks selama 10 menit dan didapatkan pengenceran 10^{-1} . Kemudian diambil 0,5 ml dari gelas erlemeyer dipindahkan ke tabung reaksi yang telah berisi akuadest 9 ml dan dihomogenkan menggunakan vortex dan didapatkan pengenceran 10^{-2} . Dari tabung pengenceran 10^{-2} diambil lagi 0,5 ml dipindahkan ke tabung ke dua yang berisi 9 ml akuades steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-3} .

Pengenceran dilakukan sampai didapatkan suspensi 10^{-6} . Suspensi hasil pengenceran 10^{-6} dipindahkan ke dalam cawan petri berisi medium PDA dan diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Setiap koloni yang tumbuh dan menunjukkan ciri jamur berbeda, diisolasi ke dalam media PDA yang selanjutnya didapatkan biakan murni.

Perbanyak cendawan endofit anorganik

Perbanyak cendawan endofit dilakukan dengan cara memindahkan biakan yang telah dimurnikan dengan menggunakan cookborrer 0,5 cm ke dalam cawan petri yang berisi media PDA dan diinkubasi selama 1-2 minggu sampai terbentuk koloni tunggal. Setelah itu, biakkan siap untuk digunakan.

Uji dual kultur

Tahapan pengujian dual kultur dilakukan dengan cara mengambil masing-masing dari biakan yang telah dimurnikan dari proses isolasi dengan cendawan patogen *P. palmivora*, kemudian diinokulasi ke dalam cawan petri yang berisikan media PDA secara berdampingan dengan diameter sampel yang diambil sebesar 0,5 cm. Untuk menghitung persentase daya hambatnya dapat digunakan rumus (Khoiri et al., 2023; Muliani et al., 2022):

$$\text{Dengan Rumus: } P = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100\%$$

Dimana: P = Presentase penghambatan pertumbuhan (%).

R1=Rata-rata diameter koloni cendawan patogen yang menjauhi koloni cendawan antagonis.

R2=Rata-rata diameter koloni cendawan patogen yang mendekati koloni cendawan antagonis.

Uji Volatil

Isolat yang telah diperoleh dari hasil biakan murni kemudian diuji dengan patogen. Masing-masing dari biakan murni cendawan antagonis dan patogen *P. palmivora* diletakkan di tengah cawan petri yang telah berisi media PDA secara terpisah. Selanjutnya kedua cawan petri tersebut ditangkupkan satu sama lain saling berhadapan.

Cendawan *P. palmivora* berada di atas dan cendawan antagonis berada di bawah, dan diinkubasi pada suhu ruang sampai cendawan patogen pada kontrol penuh. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur diameter koloni cendawan *P. palmivora* setiap 24 jam sampai biakan cendawan patogen berumur lima hari atau sudah memenuhi cawan petri. Penghambatan pada uji volatil dapat dihitung dengan menggunakan rumus Widiyanti et al (2020):

$$\text{Dengan Rumus: } P = \frac{(V_0-V_1)}{V_0} \times 100\%$$

Dimana: P = Presentase penghambatan pertumbuhan (%).

V_0 =Diameter Koloni Kontrol

V_1 =Rata-rata diameter koloni.

Identifikasi cendawan endofit

Hasil dari isolasi cendawan endofit yang telah dimurnikan kemudian diamati makroskopisnya berdasarkan dari warna, permukaan koloni, dan warna hifa. Sedangkan secara mikroskopis dilihat dengan mencocokkan pada buku dan diamati dengan menggunakan mikroskop mulai dari bentuk konidia, hifa, dan struktur reproduksi menggunakan mikroskop (Ratnawati & Jaya K, 2021).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi cendawan endofit anorganik

Hasil isolasi cendawan endofit anorganik yang diperoleh dari prose seleksi pertama sebanyak 18 isolat, seleksi kedua menjadi 10 isolat dan kemudian seleksi yang ketiga didapatkan 4 isolat yang berpotensi.

Karakteristik cendawan endofit anorganik

Isolat yang berpotensi kemudian diuji karakteristik dengan melihat makroskopisnya (warna, permukaan koloni, dan warna hifa). Dari ke 4 isolat terdapat 2 isolat yang memiliki makroskopis berbeda tetapi mikroskopisnya sama yaitu isolat S.A.O.2 dan S.A.O.3, dengan tampak atas berwarna hitam dan tampak bawah berwarna putih. Untuk Isolat S.A.O.1 memiliki warna pada bagian atas hijau agak keabu abuan dan pada bagian bawah berwarna kuning serta isolat yang terakhir yaitu S.A.O.4 memiliki warna pada bagian atas berwarna hijau dan bagian bawah berwarna hijau pula

Isolat yang telah diperoleh dan berpotensi dari 3 kali hasil seleksi diuji karakteristiknya tidak hanya dengan melihat pertumbuhan dan makroskopisnya tetapi juga dengan melihat morfologinya.

Uji dual kultur

Hasil uji antagonis dari 4 isolat cendawan endofit anorganik yang berpotensi menunjukkan bahwa isolat S.A.O.4 mampu menghambat perkembangan cendawan patogen *P. palmivora* dengan daya hambat sebesar 70,85 %. Hal ini dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Persentasi Penghambatan Uji Dual Kultur *P. palmivora* Terhadap Isolat Cendawan Endofit Asal Rizosfer Tanaman Kakao Anorganik

No.	Kode Isolat	Pengham batan (%)	Tipe
1.	S.A.O.1	64,24	KR
2.	S.A.O.2	60,91	KR
3.	S.A.O.3	63,00	KR
4.	S.A.O.4	70,85	KR

Adanya perbedaan daya hambat ke 4 isolat yang di uji disebabkan karena adanya perbedaan kecepatan tumbuh dari masing-masing isolat dan kemampuannya berkompetisi dalam

mendapatkan nutrisi dari media tumbuh. Menurut Madani (2019) melaporkan bahwa Cendawan *Trichoderma sp.* dapat bekerja secara efektif untuk menekan patogen penyebab busuk buah kakao dikarenakan reaksi antibiosis yang ditandai dengan adanya zona bening atau clear zone pada pertemuan hifa keduanya serta senyawa viridiol yang merupakan antibiotik *phytotoxin* kuat yang diproduksi oleh *T. virens* untuk menghambat pertumbuhan cendawan, sedangkan senyawa gliotoksin merupakan antibiotik yang berperan dengan enzim kitinase, sehingga mampu menekan cendawan dan bakteri.

Mekanisme penghambatan cendawan antagonis yang terdapat pada ke 4 isolat cendawan endofit anorganik adalah kompetisi ruang dikarenakan terjadi perebutan tempat tumbuh dan nutrisi. Menurut Widiyatmoko et al., (2019) menunjukkan bahwa cendawan *T. virens* mampu memproduksi senyawa viridiol yang mampu menghambat pertumbuhan cendawa dan senyawa gliotoksin yang merupakan antibiotik yang berperan dengan enzim kitinase, sehingga mampu menekan cendawan dan bakteri.

Uji senyawa volatil

Hasil uji pengaruh senyawa volatil terhadap pertumbuhan cendawan patogen *P. palmivora* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Persentasi Penghambatan Hasil Uji Senyawa Volatil *P. palmivora* Terhadap Isolat Cendawan Endofit Asal Rizosfer Tanaman Kakao Anorganik

No	Kode Isolat	Diameter Koloni (cm) Hari ke-2	Penghambatan (%)
1.	S.A.O.1	7,67	14,81
2.	S.A.O.2	7,87	12,59
3.	S.A.O.3	7,70	14,44
4.	S.A.O.4	6,90	23,33
5.	Kontrol	9,00	

Hasil penelitian menunjukkan semua perlakuan memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan diameter koloni cendawan patogen *P. palmivora* pada uji volatil. Terhambatnya pertumbuhan koloni cendawan patogen *P. palmivora* tersebut

membuktikan bahwa terdapat beberapa senyawa menguap yang dihasilkan oleh cendawan endofit yang digunakan. Cendawan endofit dapat mengeluarkan senyawa antibiotik atau alkaloid yang mudah menguap.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengujian secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa terdapat sebanyak 4 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan patogen (*P. palmivora*). Uji dual kultur diperoleh penghambatan rata-rata diatas 60 % dengan mekanisme penghambatan kompetisi ruang (KR). Isolat S.A.O.4 merupakan isolat yang daya hambatnya paling tinggi baik pengujian secara dual kultur (70,85 %) maupun secara uji volatil (23,33%) terhadap *P. palmivora*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami ucapkan kepada Pihak Program Studi Megister Ilmu Pertanian, Program Pascasarjana, Universitas Alkhairaat Palu, Badan Riset Inovasi Nasional, Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat dengan nomor kontrak induk (118/E5/PG.02.00.PL/2024) yang telah mendukung penuh atas kegiatan penelitian ini sehingga berjalan sesuai dengan rencana. Selain itu ucapan terima kasih kami haturkan kepada pihak LPPM UNISA yang telah memfasilitasi selama melaksanakan penelitian.

Daftar Pustaka

Badan Pusat Statistik. 2020. Statistik Kakao Indonesia 2019. Indonesia.

Daulay SA, Harahap N, Wahyuni S. 2022. Pengujian potensi cendawan endofit pada tanaman kakao dalam mengendalikan hama penyakit. Hal. 286-291.

Direktorat Jendral Perkebunan. 2021. Statistik Perkebunan Indonesia 2019-2021 Kakao. Kementerian Pertanian, Jakarta. Hal. 341

Khoiri, S., Larasati, S. R., Megasari, D. (2023). Efektifitas Tricoderma harzianum OC12 dalam Menekan Phytophthora Palmivora Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao.

Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture. Hal. 189-195.

- Madani, MM. 2019. Pengendalian Penyakit Busuk Buah *Phytophthora palmivora* pada Kakao dengan Cendawan Endofit *Trichoderma sp.* di Desa Sidomulyo, Kecamatan Lebakbarang Kabupaten Pekalongan. Jurnal Pusat Inovasi Masyarakat. Vol 1 (1): 118-122.
- Muliani, Y., Irmawatie, L., Sukma, S.M., Srimurni, R. R., Adviany, I., Ustari, D., & Milani, M. N. (2022). Antagonism *Trichoderma harzianum* Rifai in Suppressing the Intensity of Antraknosa (*Colletotricum capcisi* Sydow.) Disease. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 5(1), 75-88.
- Ratnawati & Jaya, K. 2021. Seleksi dan Identifikasi Cendawan Endofit Di Pertanaman Organik Bawang Merah Lokal Palu. *Jurnal Agrotech*, 11(1), 13-19.
- Ratnawati, Sudewi S, Jaya K, Saleh RA. 2022. Microbial exploration from two different ecosystems in Central Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*, Volume 23, Number 12, Pages: 6089-6096.
- Wahyuni S, Harahap N, Daulay AS. 2022. Pengujian Potensi Cendawan Endofit Pada Tanaman Kakao Dalam Mengendalikan Hama Penyakit. Hal. 286-291.
- Widiantini, F., Yulia, E., Kurniawan, A. 2020. Penghambatan Pertumbuhan *Rhizoctonia oryzae* dan *Cercospora oryzae* oleh Senyawa Volatil yang Dihasilkan Bakteri Endofit Padi. *Jurnal Agrikultura*, 31 (1): 61-67.
- Widiyatmoko, E. W., Yasmine, C., Indrabayu., Handoko A. Y. (2019). Efektivitas Antagonis *Trichoderma virens* terhadap Fitopatogen *Phytophthora palmivora* Pada Tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Pertanian Tropik*. Vol.6. No.1, (12): 101-107.