

DISERTASI

**EKSPLORASI DAN POTENSI CENDAWAN ENDOFIT
TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao*) ASAL KABUPATEN
BANGGAI SULAWESI TENGAH SEBAGAI AGEN
BIOKONTROL TERHADAP *Colletotrichum gloeosporioides*
PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA TANAMAN KAKAO**

***EXPLORATION AND POTENTIAL OF THE ENDOPHYTIC
FUNGUS OF COCOA (*Theobroma cacao*) FROM BANGGAI
REGENCY, CENTRAL SULAWESI AS A BIOCONTROL AGENT
AGAINST *Colletotrichum gloeosporioides* CAUSING
ANTHRACNOSE ON COCOA PLANTS***

**ZAEDAR A.DG.MASESE
P0100316411**



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**EKSPLORASI DAN POTENSI CENDAWAN ENDOFIT
TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao*) ASAL KABUPATEN
BANGGAI SULAWESI TENGAH SEBAGAI AGEN
BIOKONTROL TERHADAP *Colletotrichum gloeosporioides*
PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA TANAMAN KAKAO**

**ZAEDAR A.DG.MASESE
P0100316411**



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERTANIAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI

**EKSPLORASI DAN POTENSI CENDAWAN ENDOFIT
TANAMAN KAKAO (*Theobroma kakao*) ASAL
KABUPATEN BANGGAI SULAWESI TENGAH SEBAGAI
AGEN BIOKONTROL TERHADAP *Colletotrichum
gloeosporioides* PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA
TANAMAN KAKAO**

Disusun dan diajukan oleh

ZAEDAR A. DG. MASESE

P0100316411

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Pertanian
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 15 Oktober 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,
Promotor

Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc
NIP 195707061981031009

Co. Promotor

Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc
NIP 196503161989032002

Ketua Program Studi,
Ilmu Pertanian

Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.S.
NIP 196306061988031004

Co. Promotor

Prof. Dr. Ir. Nasaruddin, M.S
NIP 195501061983121001

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.
NIP 196703081990031001

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Zaedar A. Dg. Masese
Nomor Mahasiswa : P0100316411
Program Studi : Ilmu Pertanian

Menyatakan dengan sebenarnya disertasi yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Makassar, September 2021

Yang Menyatakan

Zaedar A. Dg. Masese

KATA PENGANTAR



Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Puji syukur penulis haturkan atas kebesaran dan kekuasaannya serta kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penelitian hingga proses penyusunan disertasi ini dengan judul, “Eksplorasi Dan Potensi Cendawan Endofit Tanaman Kakao (*Theobroma Kakao*) Asal Kabupaten Banggai Sulawesi Tengah Sebagai Agen Biokontrol Terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* Penyebab Antraknosa Pada Tanaman Kakao hingga menjadi suatu karya tulis.

Disertasi ini berisikan tahapan kegiatan penelitian yang penulis lakukan, dimulai dari kegiatan eksplorasi cendawan endofit tanaman kakao asal Kabupaten Banggai yang berpotensi sebagai agen biokontrol patogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab antraknosa pada tanaman kakao (*Theobroma kakao*) yang menjadi salah satu faktor pembatas produktivitas kakao sekaligus mengurangi pemanfaatan produk pengendalian berbahan aktif kimia yang memberikan dampak negatif terhadap kesehatan lingkungan dan manusia hingga tahap akhir dengan melakukan uji senyawa kimia yang terkandung dalam cendawan endofit asal kabupaten Banggai mampu menghambat perkembangan patogen *C.gloeosporioides* di atas 50 %. Pemanfaatan cendawan endofit dengan potensi antagonis yang diisolasi dari

inang yang sama dengan sumber patogen memberikan harapan yang nyata bagi penerapan sistem pertanian berkelanjutan. Cendawan endofit memiliki kemampuan memproduksi senyawa kimia yang beragam yang berpotensi untuk dieksploitasi dalam bidang pertanian khususnya budidaya tanaman kakao.

Sebagai manusia biasa penulis menyadari jika diri ini sangat jauh dari kesempurnaan, terutama selama proses penelitian, penulisan disertasi, hingga proses publikasi terdapat banyak kendala diluar kemampuan penulis dan tidak dapat diselesaikan tanpa bantuan dari pihak lain. Olehnya itu pada kesempatan ini penulis menghaturkan ucapan terimakasih yang setulus-tulusnya kepada semua pihak yang telah dengan kerelaan hati telah memudahkan penulis hingga dapat meyelesaikan setiap syarat dalam rangka penyelesaian studi S3 penulis di Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin pada bidang Ilmu Pertanian. Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada :

1. Almarhum Ayahanda Abidin Dg. Masese dan Ibunda Maemuna atas segala kasih sayang, pengorbanan dan doanya kepada penulis yang menjadi kekuatan dan motivasi bagi penulis menyelesaikan semua tahapan untuk memberikan yang terbaik.
2. Suamiku tercinta Ir. Hamzah Hasanuddin, ST., MT., yang tidak pernah menyerah untuk selalu menyemangati selama penulis menempuh studi.

3. Putriku Zaskia Ramadhani Ade Hamzah, Putraku Ahmad Yusuf Ade Hamzah dan Uwais Yusuf Ade Hamzah yang telah mewarnai hari-hari penulis selama menempuh studi, tahapan-tahapan yang menjadi syarat dalam penyelesaian studi sekaligus penyemangat penulis dalam proses penyusunan disertasi yang menjadi syarat akhir penyelesaian studi.
4. Adik semata wayangku Risa Apriana Dg. Masese yang dengan sepenuh hati senantiasa mendoakan penulis agar selalu dimudahkan setiap proses studi.
5. Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc selaku Promotor yang telah sabar meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, pemikiran, solusi setiap permasalahan dalam penelitian, penyusunan disertasi serta memberikan kebijakan dan kemudahan kepada penulis pada proses ujian pra promosi hingga promosi.
6. Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, MSc. dan Prof. Dr. Ir. Nasaruddin selaku Co-Promotor yang selalu memudahkan penulis baik dalam hal bimbingan maupun dukungan moral yang penulis jadikan sebagai motivasi dalam menyelesaikan semua tahapan-tahapan penelitian dan syarat untuk menyelesaikan studi.
7. Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.S. selaku ketua program studi yang dengan ikhlas mengingatkan penulis dan menanyakan seberapa jauh capaian studi penulis serta memberikan solusi atas kendala yang dialami penulis terkait dengan kebijakan Sekolah Pasca Sarjana UNHAS.

8. Masing-masing selaku dosen penguji Prof. Dr. Ir. Itji Diana Daud, MS, Prof. Dr. Ir. Andi Nasaruddin, M.Sc, Prof. Dr. Nur Amin, Dipl.Ing dan Dr. Ir. Untung Surapaty, M.Sc. yang telah memberikan kemudahan proses seminar hasil hingga pengurusan ijin ujian serta saran, sumbangan pemikiran dan koreksi untuk perbaikan penulisan disertasi ini.
9. Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Kemenristek DIKTI) yang telah memberikan fasilitas bantuan beasiswa BUDI-DN pada Program Ilmu Pertanian, Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin.
10. Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Sekolah Pascasarjana beserta para Wakil Dekan, ketua Program Studi Ilmu Pertanian beserta seluruh Dosen dan staf Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
11. Rektor Universitas Tompotika, para Wakil Rektor, Dekan Fakultas Pertanian, para Wakil Dekan, Ketua Jurusan Agroteknologi beserta dosen dan staf serta sivitas akademika Universitas Tompotika Luwuk yang telah memberika dukungan dan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan disekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
12. Teman-teman seangkatan Program Doktor Ilmu Pertanian 2016 dan spesial teman-teman di Prodi Ilmu Hama dan Penyakit
13. Sahabat sejatiku lin naninengseh yang senantiasa siap memberikan bantuan baik moril maupun materil, waktu dan pemikirannya demi terselesaikan semua tahapan sebagai persyaratan penyelesaian studi.

14. Adik-adik Prodi Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman (Rahma, Dina, Kichan, Afni, Iwe, Nurul) dan laboran Prodi Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman (Pak Kama, Pak Ardan dan Pak Ahmad) yang telah banyak membantu memudahkan penulis dalam proses penelitian dilaboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman.

Dan semua pihak yang tidak dapat penuliskan satu persatu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan “جَزَاكُمُ اللهُ خَيْرًا كَثِيرًا”. Kritik dan saran yang sifatnya penyempurnaan dan perbaikan disertasi ini sangat penulis harapkan, semoga disertasi ini memiliki nilai manfaat dan menjadi bagian dari khasanah keilmuan, Amin Ya Rabbal Allamin.

Makassar, September 2021

Penulis

ABSTRAK

ZAEDAR A. DG. MASESE. *Eksplorasi dan Potensi Cendawan Endofit Tanaman Kakao (Theobroma cacao) Asal Kabupaten Banggai Sulawesi Tengah sebagai Agen Biokontrol terhadap Colletotrichum gloeosporioides Penyebab Antraknosa pada Tanaman Kakao* (dibimbing oleh Ade Rosmana, Tutik Kuswinanti, dan Nasaruddin)

Penyakit antraknosa yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum gloeosporioides* merupakan salah satu penyakit yang menghambat produksi kakao. *Colletotrichum* telah lama berfungsi sebagai sistem model untuk patogen hemibiotrofik, dengan tahap biotrofik pendek, diikuti oleh peralihan ke percabangan jaringan dan perkembangan nekrotrofik. Kontrol biologis klasik, yakni musuh alami yang berevolusi bersama dianggap menawarkan potensi paling besar sebagai strategi manajemen untuk pengendalian organisme patogen berkelanjutan salah satunya dengan pemanfaatan cendawan endofit asal tanaman kakao.

Tujuan penelitian adalah mengkarakterisasi dan menganalisis potensi isolat cendawan endofit tanaman kakao sebagai agen pengendali hayati terhadap *Colletotrichum gloeosporioides*. Hasil isolasi di peroleh 6 isolat endofit yang telah diidentifikasi secara molekuler yaitu *Trichoderma asperellum*, *Talaromyces thailandensis*, *Talaromyces minioluteus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*. Uji dual kultur isolat cendawan endofit asal tanaman kakao mampu menghambat pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* 25,20 – 56,32 %, penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh *Trichoderma asperellum*.

Uji efektivitas cendawan endofit dengan potensi sebagai agen biokontrol pada pembibitan kakao menunjukkan hasil yang signifikan menekan serangan *Colletotrichum gloeosporioides* hingga 71,77 % yang ditunjukkan oleh isolat *Trichoderma asperellum*.

Keyword: *agen biokontrol; cendawan endofit; persentase penghambatan pertumbuhan*

ABSTRACT

ZAEDAR A. DG. MASESE. *Exploration and Potential of the Endophytic Fungus of Cocoa (Theobroma cacao) from Banggai Regency, Central Sulawesi as a Biocontrol Agent Against Colletotrichum Gloeosporioides Causing Anthracnose on Cocoa Plants* (supervised by Ade Rosmana, Tutik Kuswinanti, and Nasaruddin)

Anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, is one of the illnesses that restrict cocoa production. *Colletotrichum* sp. has long been used as a model organism for hemi-biotrophic diseases, as it exhibits a brief biotrophic stage followed by tissue branching and necrotrophic development. Classical biological control, in which natural enemies evolved alongside pathogenic organisms, is believed to have the greatest promise as a management method for long-term pathogen control, one of which is the use of endophytic fungi from cocoa.

The purpose of this study was to characterize and investigate the potential for endophytic fungi isolated from cocoa plants to act as biological control agents against *Colletotrichum gloeosporioides*. Six endophytic isolates were isolated and molecularly identified, namely *Trichoderma asperellum*, *Talaromyces thailandensis*, *Talaromyces minioluteus*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus niger*. In a dual culture test, endophytic fungus isolates from cocoa suppressed *Colletotrichum gloeosporioides* growth by 25,20 - 56,32 percent, with *Trichoderma asperellum* exhibiting the greatest suppression.

The efficacy tests on the endophytic fungi's potential as biocontrol agents in cocoa nurseries revealed remarkable results in lowering *Colletotrichum gloeosporioides* damage to the tune of 71,77 percent, as demonstrated by *Trichoderma asperellum* isolates.

Keyword: *biocontrol agent; endophyte fungi; growth inhibition percentage*

DAFTAR ISI

Halaman

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	4
ABSTRAK	10
ABSTRACT	11
DAFTAR ISI	12
DAFTAR TABEL	15
PENDAHULUAN	19
A. Latar Belakang.....	19
B. Rumusan masalah.....	24
C. Tujuan penelitian	25
D. Manfaat penelitian	25
E. Kebaruan penelitian.....	26
TINJAUAN PUSTAKA.....	27
A. Tanaman kakao (<i>Teobroma cacao</i> L).....	27
B. Penyakit antraknosa tanaman kakao (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)....	29
C. Cendawan endofit.....	31
D. Pengendalian hayati	34
E. Produksi enzim hidrolitik	35

F. Metabolit sekunder	38
G. Kromatografi lapis tipis (KLT)	41
H. Hipotesis.....	42
METODE PENELITIAN.....	44
A. Waktu dan Lokasi penelitian	44
B. Alat Dan Bahan.....	44
C. Pelaksanaan penelitian.....	45
1. Penelitian tahap I.....	45
2. Penelitian tahap II.....	47
3. Penelitian tahap III.....	58
D. Analisis data	61
HASIL DAN PEMBAHASAN	62
A. Hasil.....	62
1. Penelitian tahap I.....	62
2. Penelitian tahap II.....	66
3. Penelitian tahap III	78
Pengujian efektifitas cendawan endofit terhadap <i>Colletotrichum</i> <i>gloeosporioides</i> pada bibit tanaman kakao (<i>Teobroma cacao</i>)	78
B. Pembahasan.....	80
1. Penelitian Tahap I.....	80
2. Penelitian Tahap II.....	81
3. Penelitian Tahap III.....	92

Pengujian Efektifitas Cendawan Endofit Terhadap <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Pada Bibit Tanaman Kakao (<i>Teobroma cacao</i>)	92
KESIMPULAN DAN SARAN	95
A. Kesimpulan	95
B. Saran	95
DAFTAR PUSTAKA	96

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Luas Areal Tanaman Perkebunan Menurut Kabupaten/Kota dan	20
2. Luas Areal tanam Perkebunan Menurut Kecamatan dan Jenis Tanam..	62
3. Keragaman cendawan endofit berdasarkan titik pengambilan sampel jaringan tanaman.....	64
4. Daya hambat isolat endofit tanaman kakao terhadap <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	66
5. Uji enzimatik kitinase dan selulase pada 29 isolat cendawan endofit tanaman kakao	70
6. Analisa sekuensing isolat cendawan endofit dengan potensi agen biokontrol	75
7. Rata-rata presentase penghambatan isolat endofit terhadap <i>C.gloeosporioides</i>	68
8. Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao.....	78
9. Efektivitas isolat cendawan endofit terhadap <i>C.gloeosporioides</i> 6 minggu setelah aplikasi	79

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
Gambar 1. Skema penempatan cendawan antagonis dan cendawan patogen dengan metode dual culture	48
Gambar 2. Makromorfologi cendawan endofit asal cabang/batang tanaman kakao	64
Gambar 3. Makromorfologi cendawan endofit asal daun tanaman kakao	65
Gambar 4. Makromorfologi cendawan endofit asal buah/pot kakao	65
Gambar 5. Presentase penghambatan isolat endofit dengan potensi sebagai agen biokontrol terhadap <i>C. gloeosporioides</i>	67
Gambar 6. Tipe interaksi cendawan endofit terhadap <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	68
Gambar 7. Makromorfologi cendawan endofit dengan potensi sebagai agen biokontrol	73
Gambar 8. Makromorfologi cendawan endofit dengan potensi sebagai agen biokontrol	73
Gambar 9. Pola pita DNA isolat endofitik hasil elektroforesis	74

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
Lampiran 1. Persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 2 HST (Hari Setelah Tanam) ...	106
Lampiran 2. Sidik ragam persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 2 HST (Hari Setelah Tanam)	107
Lampiran 3. Persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 4 HST (Hari Setelah Tanam) .	107
Lampiran 4. Sidik ragam persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 4 HST (Hari Setelah Tanam)	108
Lampiran 5. Persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 6 HST (Hari Setelah Tanam) .	108
Lampiran 6. Sidik ragam persentase penghambatan cendawan endofit terhadap <i>C. gloeosporioides</i> secara invitro 6 HST (Hari Setelah Tanam)	109
Lampiran 7. Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao 2 MSA (Minggu Setelah Aplikasi)	109

Lampiran 8. Sidik ragam Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao 2 MSAE (Minggu setelah aplikasi endofit).....	109
Lampiran 9. Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao hari 4 MSA (Minggu setelah aplikasi).	110
Lampiran 10. Sidik ragam Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao 4 MSA (Minggu setelah aplikasi).....	110
Lampiran 11. Intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao hari 6 MSA (Minggu setelah aplikasi).	110
Lampiran 12. Sidik ragam intensitas serangan <i>C. gloeosporioides</i> pada bibit kakao 4 MSA (Minggu setelah aplikasi).....	111
Lampiran 13. Isolasi cendawan endofit dalam jaringan organ tanaman kakao (pot, batang dan daun).....	111
Lampiran 14. Uji aktivitas enzim selulose dan kitinase isolat cendawan endofit.....	112
Lampiran 15. Uji Fitokimia isolat cendawan endofit fase gerak dan fase diam	119
Lampiran 17. Uji efektivitas cendawan endofit asal tanaman kakao terhadap <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> pada bibit tanaman kakao	120

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L) adalah salah satu tanaman komersial utama bagi banyak negara tropis. Kakao (*Theobroma cacao* L) dibudidayakan di semua dataran rendah tropis di dunia, olahan biji-biji kakao menghasilkan coklat dan lemak coklat. Indonesia menjadikan kakao sebagai salah satu komoditas perkebunan yang menjadi andalan karena perannya dalam meningkatkan perekonomian Nasional. Provinsi Sulawesi Tengah menempati urutan pertama untuk provinsi dengan areal kakao terluas di Indonesia untuk Perkebunan Rakyat (PR) (Direktorat Jendral Perkebunan, 2019). Luas pertanaman kakao Sulawesi Tengah mencapai 279.297 hektar di Tahun 2019 dan 279.217 di Tahun 2020. Pertanaman kakao terbesar berdasarkan data luas areal tanaman perkebunan menurut kabupaten/kota dan jenis tanaman di Provinsi Sulawesi tengah terdapat di Kabupaten Parigi Moutong dan Kabupaten Banggai dengan masing-masing luasannya adalah 45.928 ha ditahun 2019 dan 45.938 ha ditahun 2020 untuk

Kabupaten Banggai dan 67.440 ha di Tahun 2019 dan 67.424 ha di Tahun 2020 untuk Kabupaten Parigi Moutong (BPS Sulawesi Tengah, 2021).

Tabel 1. Luas Areal Tanaman Perkebunan Menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Tanaman di Provinsi Sulawesi Tengah (ha), 2019-2020

Kabupaten/Kota	Kakao/cocoa	
	2019	2020
(1)	(2)	(3)
Kabupaten		
Banggai Kepulauan	6.530	6.530
Banggai	45.928	45.938
Morowali	5.781	5.781
Poso	38.839	38.839
Donggala	30.595	30.595
Toli-toli	21.154	21.154
Buol	7.631	7.611
Parigi Moutong	67.440	67.424
Tojo una-una	11.981	11.983
Sigi	27.885	27.885
Banggai Laut	757	760
Morowali Utara	14.549	14.489
Kota		
Palu	227	228
Sulawesi Tengah	297.297	279.217

Sumber BPS Sulawesi Tengah, 2021

Total ekspor kakao delapan tahun terakhir cenderung mengalami fluktuasi, yaitu kisaran tahun 2011 dengan total volume ekspor mencapai 410,257 ribu ton, penurunan ditahun 2012-2016 dan mulai terjadi kenaikan pada tahun 2017 dan 2018 dengan total volume ekspor masing-masing 354,752 ribu ton dan 380,829 ribu ton. Sedangkan nilai impor kakao Indonesia juga mengalami fluktuasi dari tahun 2011 hingga 2018 terjadi

penurunan yang signifikan (Direktorat Jendral Perkebunan, 2019), yang memberikan gambaran bahwa Indonesia sudah dapat memenuhi permintaan kebutuhan pasokan kakao sebagai bahan baku industri dalam negeri dan merupakan prospek usaha yang layak untuk dikembangkan.

Salah satu serangan penyakit yang juga menjadi faktor pembatas menurunnya produksi kakao adalah penyakit antraknosa yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum gloeosporioides*. *Colletotrichum* merupakan salah satu patogen tanaman penting penyebab antraknosa yang memiliki banyak inang termasuk gymnosperma, angiosperma, tanaman hias dan buah-buahan, sayuran, tanaman atau bahkan rumput (Gautam, 2015). Taksonomi spesies dalam genus ini telah berubah beberapa kali selama dekade terakhir (Cabral et al., 2020). *Colletotrichum* bersifat kosmopolit, pola penyebarannya melalui angin atau hujan sehingga penyakit antraknosa dapat menjadi kendala ekonomi yang berpengaruh secara signifikan terhadap kehilangan hasil produksi beberapa tanaman ekonomi (Sharma & Shenoy, 2016). Jumlah spesies yang diusulkan dalam genus berkisar antara 29 hingga lebih dari 700 tergantung pada interpretasi taksonomi. *Colletotrichum* menempati berbagai tipe interaksi, mulai dari nekrotrofi hingga hemibiotrofi dan endofitisme (Verkley et al., 2004). Pengujian patogenitas dengan melihat kisaran inangnya menjadi alat bantu dalam hal mengidentifikasi spesies *Colletotrichum*. Taksa spesifik inang mungkin memiliki distribusi terbatas, yang mungkin memiliki implikasi biosekuriti yang penting. Jika takson

memiliki kisaran inang yang luas, spesies tersebut cenderung kosmopolitan dan mungkin patogen oportunistik (Cai et al., 2009). *Colletotrichum* dapat menyebabkan penyakit pada berbagai tanaman berkayu dan herba yang tersebar luas pada terutama daerah dengan iklim tropis dan subtropis, meskipun ada beberapa spesies dari genus yang dapat mempengaruhi tanaman pada daerah dengan iklim sedang (Cannon et al., 2012). *Colletotrichum* menempati posisi kedelapan sebagai patogen tanaman penting. Jumlah spesies yang diusulkan dalam genus berkisar antara 29 hingga lebih dari 700 tergantung pada interpretasi taksonomi. *Colletotrichum* spp. telah lama berfungsi sebagai sistem model untuk patogen hemibiotrofik, dengan tahap biotrofik pendek, diikuti oleh peralihan ke percabangan jaringan dan perkembangan nekrotrofik (Dean et al., 2012). Awal nutrisi diperoleh dari sel-sel hidup setelah fase nektrofik dimulai dan fase kedua nutrisi diperoleh dari sel-sel mati jamur yang sama yang telah dibunuh. Spesies tertentu dari genus ini bahkan menunjukkan kedua strategi ini secara bersamaan (Dickman, 2000).

Metode mengendalikan penyakit secara kimia selain mahal, kurang efektif, dan berdampak negatif pada kesehatan lingkungan serta manusia. Strategi pengelolaan tanaman yang efektif dengan penerapan sistem pengelolaan dengan mengutamakan metode pengendalian tanaman yang aman secara ekologis, meminimalkan efek samping dari penggunaan produk perlindungan tanaman menjadi alternative pengendalian mikroorganisme

patogen yang paling tepat saat ini (Oerke, 2006). dan salah satunya dengan pemanfaatan agen biokontrol (Larran et al., 2016; Vinale et al., 2008). Kontrol biologis klasik, di mana musuh alami yang berevolusi bersama dianggap menawarkan potensi paling besar sebagai strategi manajemen untuk pengendalian berkelanjutan organisme patogen (Evans et al., 2003). Endofit adalah mikroorganisme yang berdiam tanpa gejala di dalam jaringan tanaman tingkat tinggi. Jamur endofit beragam secara taksonomi dan biologis tetapi semuanya memiliki karakter menjajah jaringan internal tanaman tanpa menyebabkan kerusakan nyata pada inangnya (Wilson, 1995). Endofit memiliki kemampuan memproduksi senyawa bioaktif dan kimia baru yang berpotensi untuk dieksploitasi dalam berbagai bidang medis dan pertanian (Strobel et al., 2005). Interaksi antara endofit dan inangnya bersifat simbiosis mutualisme dimana mikroba endofit memperoleh pasokan nutrisi, terlindungi dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan dalam upaya reproduksi dan kolonisasi (Schulz et al., 2006) serta memproduksi fitohormon berupa auxin dan giberelin untuk peningkatan akses terhadap mineral dan nutrisi, serta sintesis metabolit antagonistik (Dutta et al., 2014; Jeffrey et al., 2008). Mereka menempati berbagai habitat yang berbeda karena keragaman nutrisi yang luas sebagai heterotrof dan simbiosis. Infeksi endofit meningkatkan pertahanan tanaman inang melalui induksi respon ketahanan tanaman oleh endofit terhadap stres abiotik ini menimbulkan hipotesis bahwa tanaman mungkin telah mengakomodasi endofit untuk

meningkatkan kebugarannya (Tiwari et al., 2014). Dalam beberapa kasus kehadiran mereka bermanfaat bagi inang karena sintesis senyawa bioaktif, di antaranya beberapa alkohol, ester, keton dan lain-lain yang dapat bereaksi dengan senyawa lain dan dapat mematikan mikroorganisme patogen (Specian et al., 2012). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menguji keefektifan beberapa isolat cendawan endofit tanaman kakao terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman kakao (*Theobroma cacao* L).

B. Rumusan masalah

Cendawan endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dan berasosiasi dalam jaringan tanaman dan tidak menimbulkan gejala penyakit. Kemampuan cendawan ini menghasilkan banyak senyawa kimia baru telah banyak dilaporkan, infeksi oleh cendawan ini terjadi di hampir semua tanaman, termasuk berbagai inang di berbagai ekosistem, dan karenanya memainkan peran penting dalam lingkungan alam (Tiwari et al., 2014). Eksploitasi mikroba endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa-senyawa biologi baru yang mengandung anti mikroba perlu dikakukan sebagai alternatif pengendalian yang ramah lingkungan.

Dari uraian tersebut di atas timbul permasalahan yang dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik cendawan endofit berdasarkan analisis morfologi dan biomolekuler

2. Apakah cendawan endofit memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap *C. gloeosporioides*.
3. Bagaimana efektivitas cendawan endofit dalam menekan infeksi patogen *C. gloeosporioides* pada bibit tanaman kakao?

C. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengkarakterisasi, cendawan endofit tanaman kakao secara morfologi dan biomolekuler.
2. Mengkaji dan menganalisis potensi isolat cendawan endofit sebagai agen biokontrol terhadap *Colletotrichum gloeosporioides*
3. Menguji efektivitas kolonisasi cendawan endofit dalam menekan infeksi *Colletotrichum gloeosporioides* pada bibit tanaman kakao.

D. Manfaat penelitian

Manfaat penelitian adalah :

1. Memperoleh isolat cendawan endofit dengan potensi sebagai agen biokontrol.
2. Memperoleh informasi potensi cendawan endofit tanaman kakao sebagai agen biokontrol terhadap *Colletotrichum gloeosporioides*
3. Memperoleh informasi kemampuan kolonisasi cendawan endofit sebagai agen biokontrol *Colletotrichum gloeosporioides* pada bibit tanaman kakao

E. Kebaruan penelitian

Kebaruan dalam penelitian ini adalah :

Memperoleh isolat cendawan endofit asal perkebunan kakao di Kabupaten Banggai yang berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap penyakit antraknosa yang disebabkan *Colletotrichum gloeosporioides*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L)

Kakao (*Theobroma cacao* L.) termasuk dalam famili Sterculiaceae. Habitat alami genus *Theobroma* merupakan tumbuhan liar yang tumbuh subur di lembah Amazon terletak didataran tropis Amerika selatan dan tengah semua spesies dari genus ini ditemukan liar di hutan hujan belahan bumi barat dari 18 °N hingga 15 °S, yaitu dari Meksiko ke tepi selatan hutan Amazon (Wood and Lass, 1985). International Cocoa Genebank, Trinidad (ICG,T) berisi sekitar 2000 aksesori kakao (*Theobroma cacao* L.). Tujuan dari koleksi ini adalah untuk menyediakan sumber gen untuk perbaikan genetik kakao melalui pemuliaan dengan mengidentifikasi genotipe tahan yang menjanjikan yang dapat dieksploitasi (Iwaro et al., 2006). Kakao (*Theobroma cacao*) merupakan tanaman pohon tropis penting yang memberikan manfaat ekonomi dan lingkungan yang berkelanjutan untuk petani kecil di negara berkembang dan industri makanan di seluruh dunia khususnya bagi industri yang menggunakan bahan dasar dari biji cokelat (Guiltinan et al., 2008).

Di negara-negara konsumen, kakao memainkan peran penting dalam industri gula-gula, makanan dan minuman. Ketersediaan lemak kakao menyebabkan pembuatan coklat seperti yang kita kenal sekarang dengan berbagai bentuk yang pada dasarnya terdiri dari kotiledon kering atau biji kakao, gula, dan lemak kakao. (Wood and Lass, 1985). Limbah kakao dapat diolah untuk memperoleh beberapa produk sampingan, kulit buah kakao dapat diolah menjadi pakan ternak, kalium untuk pembuatan sabun lunak, kompos dan pupuk organik, sari buah kakao dapat diolah menjadi minuman ringan, wine, cuka, alkohol dan pektin, sedangkan biji kakao yang dibuang dapat diolah menjadi sabun cocoa butter dan kosmetik berbahan dasar cocoa butter (Adomako. & ICCO secretariat., 2006). Indonesia termasuk kedalam Negara penghasil biji kakao tertinggi setelah Gana dan pantai gading, dengan rata-rata produksi dari tahun 2015-2018 masing-masing 40%, 18 % dan 13 % dimana tingkat perdagangan biji kakao dari Pantai Gading dan Indonesia menunjukkan pertumbuhan yang relatif lebih lambat dibandingkan Ghana. Biji kakao Ghana memiliki kualitas lebih tinggi dari biji kakao Indonesia (Wijaya, 2020).

Biji kakao, merupakan bentuk elemen penting dalam menentukan cita rasa coklat yang menjadi kelezatan populer di seluruh dunia. Biji kakao berasal dari tiga varietas utama yang dibudidayakan diseluruh Negara penghasil kakao yaitu Forastero, Criollo dan Trinitario. Forastero adalah varietas kakao yang paling banyak dibudidayakan mendominasi sekitar sembilan puluh

persen produksi kakao dunia dengan ciri biji lebih besar dan memiliki ketahanan terhadap penyakit. Varietas Criollo dianggap sebagai jenis biji kakao yang memiliki kualitas tertinggi tetapi memiliki hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan Forastero dikarenakan varietas ini sangat rentan terhadap beberapa penyakit. Istilah ketiga, Trinitario berlaku untuk kultivar hibrida antara Criollo dan Forastero yang menggabungkan kualitas Criollo dengan toleransi penyakit dari Forastero (Cuatrecasas, 1964).

B. Penyakit antraknosa tanaman kakao (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Colletotrichum spp. merupakan penyebab utama penyakit antraknosa serta busuk buah sebelum dan sesudah panen, penyakit layu dan busuk serta hawar bibit (Bailey dan Jeger 1992). *Colletotrichum* adalah genus jamur anamorfik kosmopolitan yang bertanggung jawab atas penyakit antraknosa pada ratusan spesies tanaman di seluruh dunia (Crouch & Tomaso-peterson, 2012). *Colletotrichum gloeosporioides* strain diisolasi dari asimtomatik daun dan dari lesi antraknosa pada daun dan buah *Theobroma cacao* (kakao) dari Panama diperoleh dua spesies filogenetik yang terkait dengan infeksi bergejala khusus dan lima spesies filogenetik yang diisolasi sebagai infeksi tanpa gejala dari kakao (Rojas et al., 2010).

Gambar 1. Gejala penyakit Antraknosa oleh *C. gloeosporioides* pada tanaman kakao



Ket : a. gejala serangan *C. gloeosporioides* pada daun muda, b. serangan pada ranting, tanaman nampak seperti sapu, c. serangan pada buah pentil menjadi kering (Syahnen et al., 2002).

Karakter morfologi yang tersedia dari spesies *Colletotrichum* meliputi: 1) karakter pada substrat alami, yaitu ukuran dan bentuk konidiomata (acervuli), konidia, konidiofor dan setae; 2) ukuran dan bentuk konidia, konidiofor dan setae dalam kultur; dan 3) ukuran dan bentuk apresoria. Acervuli, setae dan karakter konidia (bentuk dan dimensi) pada substrat alami dapat bervariasi karena faktor lingkungan, dan konidia mungkin tidak ada pada jaringan inang yang terinfeksi alami dapat bervariasi karena faktor lingkungan (Cai et al., 2009). Misellium membentuk massa sel berdinding tebal dengan bentuk seperti badan buah atau acervuli yang berada dalam jaringan inang tepat di bawah sel epidermis, konidia menghasilkan seta mirip rambut berwarna hitam (Lucas et al., 1992). Bentuk konidia *Colletotrichum gloeosporioides* ada yang lurus, lonjong atau silindris dengan ujung bulat dengan hifa berbentuk hialin, sederhana, bersekat dan bercabang dengan konidiofor panjang bersekat, dan tidak bercabang (Gautam, 2015).

Penyakit antraknosa dicirikan dengan adanya bercak coklat kehitaman pada permukaan buah yang selanjutnya meluas menjadi busuk lunak, pada

bagian tengah bercak terdapat kumpulan titik -titik hitam yang terdiri dari sekelompok seta dan konidia jamur (Agrios, 2005). Cendawan ini mengembangkan serangkaian struktur terkait infeksi khusus termasuk tabung kuman, appressoria, hifa intra seluler primer dan hifa nekrotrofik sekunder dengan tahap infeksi dimulai dengan kolonisasi epidermis dan jaringan dibawah kulit dimana penetrasi cendawan diikuti dengan degradasi sel yang cepat membentuk hifa intraseluler dan interseluler yang menyebar melalui jaringan tanaman (Coates et al., 1993).

Kontaminasi pada buah menyebabkan nekrosis dan dalam jangka panjang menyebabkan kebusukan buah. Perkembangan pembusukan oleh *C. gloeosporioides* terjadi pada buah yang mentah maupun yang telah matang menunjukkan bahwa resistensi tidak disebabkan oleh kurangnya substrat untuk pertumbuhan jamur (Prusky, 1996). Kerugian pasca panen dapat mencapai 100 % dikarenakan menurunnya kualitas buah (COLEACP, 2008). Kerusakan yang paling signifikan umumnya dinyatakan setelah panen (Sanders & Korsten, 2003)

C. Cendawan endofit

Cendawan endofit merupakan mikroorganisme yang hidup didalam berbagai jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala pada tanaman inangnya (An et al., 2020). Cendawan endofit memiliki keragaman yang tinggi baik secara taksonomi maupun biologis yang memiliki tipe hidup yang sama

yaitu menjajah jaringan internal tanaman tanpa menyebabkan kerusakan yang nyata pada inangnya (Wilson, 1995). Cendawan endofit merupakan golongan mikroba menguntungkan (beneficial microbes) penghuni bawah tanah yang memiliki hubungan multitropik dengan anggota komunitas atas tanah (aboveground insect) dengan tanaman inang sebagai penghubung (mediator) (Pineda et al., 2010). Tanaman inang memproduksi banyak zat yang memberikan perlindungan untuk kelangsungan hidup tanaman (Yu et al., 2010). Endofit memainkan berbagai peran penting dalam pertumbuhan tanaman inang melalui mekanisme yang berbeda. Cendawan endofit memiliki eksoenzim yang diperlukan untuk menjajah inangnya dan mereka tumbuh dengan baik dalam cairan pencuci apoplastik inang, dan dapat menghasilkan metabolit sekunder serta aktivitas biologis yang identik atau mirip dengan yang dihasilkan oleh inangnya (Schulz et al., 2002). Aktivitas enzim ekstraseluler cendawan endofit ditentukan oleh asal jaringan tanaman inang. Aktivitas enzim jamur endofit yang diisolasi dari akar nyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang diisolasi dari batang dan daun (Liu et al., 2019). Konsentrasi beberapa metabolit pertahanan tanaman lebih rendah ketika inang terinfeksi patogen dibandingkan dengan endofit (Schulz et al., 2002).

Endofit memiliki kemampuan memproduksi senyawa bioaktif dan kimia baru yang berpotensi untuk dieksploitasi dalam berbagai bidang medis dan pertanian (Strobel et al., 2005). Interaksi antara endofit dan inangnya bersifat simbiosis mutualisme dimana mikroba endofit memperoleh pasokan nutrisi,

terlindungi dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan dalam upaya reproduksi dan kolonisasi (Schulz et al, 2006), sedangkan inang dapat meningkatkan pertumbuhannya dan terlindungi dari stres abiotik dan potensi endofit ini berkaitan dengan produksi berbagai fitohormon seperti giberelin dan auksin (Waqas et al., 2014) meningkatkan akses terhadap mineral dan nutrisi, sintesis metabolit antagonistik serta induksi respon ketahanan tanaman (Dutta et al., 2014; Jeffrey et al, 2008). Hormon tanaman dikenal sebagai molekul pemberi sinyal atau pembawa pesan kimia yang dapat memainkan peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dalam beberapa kasus kehadiran mereka bermanfaat bagi inang karena sintesis senyawa bioaktif, di antaranya beberapa alkohol, ester, keton dan lain-lain yang dapat bereaksi dengan senyawa lain dan dapat mematikan mikroorganisme patogen (Specian et al., 2012). Produksi senyawa bioaktif oleh endofit, tidak hanya penting dari perspektif ekologi tetapi juga dari sudut pandang biokimia dan molekuler (Kusari et al., 2012). Metabolit seperti karbohidrat, asam organik dan amino, vitamin, hormon, flavonoid, fenolat, dan glukosinolat sangat penting untuk pertumbuhan, perkembangan, adaptasi stres, dan pertahanan tanaman juga berfungsi sebagai antimikroba (Irchhaiya et al., 2015). Beberapa senyawa bioaktif dengan struktur unik dilaporkan telah diproduksi oleh mikroba endofit seperti alkaloid, benzopiranon, chinon, flavonoid, asam fenolik, kuinon, steroid, terpenoid, tetralon, xanthone, dan senyawa bioaktivitas fungsional lainnya yang

berfungsi sebagai senyawa antibiotik, imuno supresan, anti parasit, antioksidan, agen biokontrol antikanker dll (Bacon & Hinton, 2002; Petrini et al., 1993). Beberapa cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman kakao adalah *Aspergillus flavus* ,*Rhizopus stolonifer* ,*Cladosporium macrocarpum*, *Trichoderma viride*(Tambunan et al., 2018)

D. Pengendalian hayati

Pengendalian hama dan penyakit dengan penggunaan pestisida yang semakin tidak terkendali menimbulkan risiko lingkungan karena sifat dasar sebagai produk terdegradasi yang beracun yang memberikan fitotoksisitas, toksisitas mamalia, dll. Pengalihan keproduk teknologi pengendalian hama dengan pemanfaatan organisme hidup yang memiliki kemampuan sebagai agen biokontrol dan ramah lingkungan merupakan salah satu alternative pengendalian yang direkomendasikan.

Pengendalian hayati tidak lain adalah pengelolaan ekologi dan komunitas organisme. Pengendalian hayati meliputi pengelolaan ekologi dengan melibatkan organisme hidup dalam menekan penyakit dan meningkatkan kesehatan tanaman. Penekanan penyakit dapat berupa pemanfaatan agen biologis yang merupakan manifestasi pengendalian berkelanjutan dari interaksi antara tanaman (inang), patogen, agen biokontrol (antagonis), serta lingkungan fisik disekitar tanaman (Chandrashekar* &

Manivannan, 2017). Biokimia yang digunakan sebagai pestisida aman bagi lingkungan, selektif, spesifik dalam prosesnya, dan mudah terurai secara hayati. Biaya dan waktu produksi biopestisida rendah dibandingkan dengan tindakan pengendalian berbasis kimia, dan dapat dikombinasikan dengan tindakan pengendalian lain dalam program pengendalian hama terpadu. Namun definisi tersebut tidak mengakomodasi partikel virus sebagai agen biokontrol, karena virus bukanlah organisme. Keterkaitan banyak variabel lingkungan dapat menghasilkan berbagai interaksi antara organisme dan lingkungannya, beberapa di antaranya mungkin berkontribusi pada pengendalian biologis yang efektif. Selanjutnya, produk alami dan senyawa kimia ditemukan sebagai hasil penelitian dasar tentang mekanisme molekuler (Arwiyanto, 2014). Upaya penerapan langsung pengendali hayati dalam hal mengurangi inoculum atau aktivitas patogen penyebab penyakit dengan menginokulasi mikroorganisme yang berpotensi sebagai pengendali hayati kedalam tanah (Baker, 1987)

E. Produksi enzim hidrolitik

Produksi enzim oleh jamur berfungsi untuk memperoleh nutrisi dari inangnya, menghidrolisis zat makanan dan terlibat dalam memunculkan mekanisme pertahanan terhadap patogen (Desire et al., 2014) . Selulase adalah enzim dengan spesifisitas yang berbeda untuk mengkatalisis hidrolisis ikatan glikosidik dalam selulosa. Dinding sel jamur sebagian besar terdiri dari

80 hingga 90 persen polisakarida dengan sisanya terdiri dari protein dan lipid. Dinding sel adalah target yang menjanjikan untuk senyawa anti mikroba karena memberikan penghalang pelindung penting bagi mikroorganisme dan terlibat dalam banyak proses biologis penting termasuk pertumbuhan, pembelahan sel, pensinyalan, dan interaksi dengan lingkungan (Rzeszutek et al., 2019). Beberapa mikroorganisme dilaporkan sebagai potensi produksi enzim selulosa yaitu. Actinomycetes, Bacteroides succinogenes, Butyrivibrio fibrisolvens, spesies Clostridium, Ruminococcus albus, spesies Aspergillus, spesies Chaetomium, spesies Fusarium, Methanobrevibacter ruminantium, spesies Myrothecium, spesies Penicillium, spesies Trichoderma (Mohanta, 2014). Strain Trichoderma dan Aspergillus menghasilkan enzim eksoglukanase, endoglukanase, dan glukosidase. Strain Trichoderma menghasilkan kadar selulase dan endoglukanase yang lebih tinggi, sedangkan strain A. fumigatus menghasilkan kadar glukosidase yang lebih tinggi. Produksi semua komponen selulase tampaknya sangat dipengaruhi oleh efek interaktif pH awal dan suhu inkubasi pada mikroorganisme (Legodi et al., 2019). β -glukanase jamur mampu mengendalikan penyakit dengan mendegradasi dinding sel patogen tanaman (Kuhad et al., 2011). Sebanyak 21 isolat endofit yang diisolasi dari Brucea javanica memiliki kemampuan menghasilkan enzim ekstraseluler selulase dan amylase, ligninase, pektinase dan xilanase. Tes enzim menunjukkan bahwa sebagian besar endofit adalah

pengurai gula sederhana dari selulosa yang tersedia di daun dan mungkin juga juga kayu(Choi et al., 2005).

N-Acetylglucosamine (GlcNAc) adalah unit monomer dari polimer kitin, karbohidrat paling melimpah kedua setelah selulosa. Selain berfungsi sebagai komponen polisakarida homogen ini, GlcNAc juga merupakan komponen dasar asam hialuronat dan keratin sulfat pada permukaan sel (Chen et al., 2010). Kitinase merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis kitin pada ikatan β -1,4-glikosidiknya dengan menghasilkan derivat-derivat kitin seperti oligomer kitin. Kitin terdapat di semua jamur dari filum hyphochytridiomycetes, chytridiomycetes, zygomycetes, ascomycetes, basidiomycetes, dan deuteromycetes dalam bentuk jalinan mikrofibril dibagian dalam dinding sel yang berkisar antara 22-40% (Gohel et al., 2004). Kitin dan selulosa dikenal sebagai mikrofibrilar atau komponen rangka dari dinding sebagian besar jamur dan memiliki struktur dan susunan yang khas (S.Bartnicki-Garcia, 1968). Kitin di dinding jamur juga bervariasi dalam kristalinitasnya (yaitu, tingkat ikatan hidrogen internal), tingkat ikatan kovalennya dengan komponen dinding lainnya seperti glukukan (Gooday, 1990). Kemampuan kitin untuk bertindak sebagai substrat untuk hidrolisis enzimatik dapat ditingkatkan dengan perlakuan yang mengarah pada dekrystalisasi. Beberapa proses produktif telah digunakan untuk meningkatkan kemurnian dan produktivitas GlcNAc. Sebagian besar proses ini berfokus pada modifikasi struktur kristal kitin karena kitin yang

terdekristalisasi lebih rentan terhadap hidrolisis enzimatis daripada kitin alami (Chen et al., 2010). Produksi enzim jamur oleh jamur di alam memiliki peran dalam patogenisitas atau kapasitas degradatifnya

F. Metabolit sekunder

Kelangsungan hidup organisme ditentukan oleh keberadaan metabolit sekunder meski tidak mengakibatkan kematian langsung melainkan gangguan jangka panjang. Cendawan endofit merupakan sumber penting dan baru dari senyawa bioaktif alami yang memiliki aplikasi potensial di bidang pertanian, obat-obatan dan industri makanan (Kusari et al., 2012). Mengetahui kandungan bahan aktif yang terkandung dalam suatu isolat cendawan endofit akan memudahkan dalam hal eksploitasi senyawa tersebut untuk kepentingan pertanian, obat-obatan dan industri. Metabolit sekunder yang bersifat volatil atau non-volatil seringkali memiliki fungsi yang tidak jelas atau tidak diketahui yang sangat penting bagi manusia dalam aplikasi medis, industri atau pertanian. Senyawa metabolik sekunder muncul sebagai produk antara atau produk akhir dari heterogen jalur metabolisme dan milik berbagai kelas struktural seperti mono dan seskuiterpen, keton, lakton, alkohol dan senyawa ester (Korpi et al., 2009). Banyak senyawa alkaloid dari endofit telah diketahui mengandung senyawa antibiotik yang diisolasi dari rumput beriklim sedang, dimana mereka melindungi tanaman inang dari serangga dan herbivore (Kumar & Kaushik, 2012).

Hingga saat ini telah dilaporkan sekitar lebih dari 25.000 terpenoid, 12.000 alkaloid, dan 8.000 zat fenolik telah diidentifikasi yang dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi dan memiliki fungsi yang berbeda-beda. Pada tanaman, di mana mereka bertahan melawan herbivora dan patogen, membantu kompetisi antar tanaman dan menarik organisme menguntungkan seperti penyerbuk. Mereka juga dapat memiliki efek perlindungan yang berkaitan dengan tekanan abiotik seperti paparan sinar UV, dan perubahan suhu, status air dan komposisi nutrisi mineral (Sato & Kumagai, 2013).

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung unsur nitrogen (N) biasanya pada cincin heterosiklik dan bersifat basa. Senyawa alkaloid biasanya berbentuk padatan dan berwarna putih dengan berat molekul rendah yang ditemukan di sekitar 20% spesies tanaman. Banyak dari 12.000 alkaloid yang strukturnya telah dijelaskan berfungsi dalam pertahanan tanaman terhadap herbivora dan patogen (Facchini, 2001). Alkaloid benzophenanthridine dari famili tumbuhan Papaveraceae dan Fumariaceae pada spesies tertentu berfungsi sebagai respon adaptif terhadap infeksi jamur (1), anggota Apiaceae dan Leguminosae merespon serangan patogen dengan pembentukan flavonoid dan lignin yang mempunyai kemampuan biosintesis alkaloid benzofenantridin dengan akumulasi antimikroba alkaloid sanguinarine (Dittrich & Kutchan, 1991).

Saponin merupakan bentuk glikosida dengan molekul gula yang terikat dengan aglikon triterpen atau steroid. Saponin dikelompokkan menjadi

saponin steroid dan saponin triterpen. Senyawa terpenoid berasal dari senyawa isopren (C₅H₈). Kelompok terpenoid memiliki berbagai fungsi, mengingat berbagai jumlah dan rangkaian isopren yang membentuknya. Penggolongan senyawa terpen berdasarkan jumlah unit isopren yang membentuknya, antara lain monoterpen (C-10), seskuiterpen (C-15), diterpen (C-20), triterpen (C-30) (Hanani, 2015).

Jamur berfilamen adalah sumber yang penting secara historis metabolit sekunder yang relevan secara farmakologis, dan grup ini terus memberikan struktur dengan aktivitas biologis baru. Senyawa fenolik dianggap sebagai metabolit sekunder utama pada tanaman dan jamur yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidannya (Chandra & Arora, 2012).

Strain *Trichoderma asperellum* menghasilkan banyak senyawa metabolik sekunder yang penting. Sebanyak 43 senyawa volatil terdeteksi dari filtrat kultur strain *T. asperellum* yang selanjutnya dikarakterisasi setelah mencocokkan spektrum tumbukan elektron dengan pustaka NIST (Bhardwaj & Kumar, 2017). Senyawa utama yang teridentifikasi adalah 1-Methyl-2-Nitrobenzene, 2H-Pyran-2-one, Isoquinoline, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 2-butoxy-2-oxoethyl butyl ester, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 8-methylnonyl ester, Trimethylsilyl palmitate, trans-9-Octadecenoic acid, trimethylsilyl ester, p-Aminotoluene, beberapa isomer fenol (p-tertAmylphenol, 4-Nonylphenol, 4-Dodecylphenol, 4-(1, 1,3,3-Tetramethylbutyl) Phenol), n-Eicosane, 8-Propylquinoline, 5-Ethyl-

5-propylundecane, Tetradecane, Heptadecane, Cyclooctyl methyl phosphonofluoridoate etc dan senyawa metabolik sekunder volatil utama yang 2H-Pyran-2-one, yang telah dilaporkan membantu dalam detoksifikasi mikotoksin (Cooney et al., 2001), antijamur (Scarselletti dan Faull, 1994, Taruset al., 2003) dan juga ditemukan memiliki beberapa peran dalam tanaman aktivitas meningkatkan pertumbuhan seperti yang dilaporkan pada gandum dan tomat (Vinale et al., 2008).

G. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam jamur. Kandungan senyawa metabolit sekunder dari jamur dapat diidentifikasi dengan menggunakan suatu metode yang dapat memberikan informasi terkait dengan kandungan senyawa kimia didalam jamur. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode skrining fitokimia. Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan fisik. Komponen-komponen yang dipisahkan didistribusikan di antara dua fase, salah satu fase tersebut adalah suatu lapisan stasioner dengan permukaan yang luas, yang lainnya sebagai fluida yang mengalir disepanjang landasan stasioner. Fase diam dapat berupa padatan maupun cairan, sedangkan fase gerak dapat berupa cairan maupun gas (Day dan Underwood, 2002).

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan beberapa kali menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Bercak pada plat KLT dimonitor di bawah lampu UV 254 nm dan UV 365 nm (Alen et al., 2017). Komponen yang terlarut akan terbawa fase diam (penjerap) dengan kecepatan Bergeraknya komponen terlarut dalam fase gerak (pelarut) adalah dasar untuk mengidentifikasi komponen yang dipisahkan. Perbandingan kecepatan ini dinyatakan dengan *Rf* (*Retention factor*) dengan persamaan (Lipsy, 2010) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh bercak (A)}}{\text{Jarak Fase gerak (B)}}$$

H. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan karakteristik cendawan endofit tanaman kakao berdasarkan analisis makromorfologi, mikromorfologi dan biomolekuler
2. Isolat cendawan endofit asal tanaman kakao berpotensi sebagai agen biokontrol *Colletotrichum gloeosporioides*

3. Cendawan endofit tanaman kakao memiliki efektifitas dalam mengkolonisasi dan menekan perkembangan *Colletotrichum gloeosporioides*

BAB III