

Kode>Nama Rumpun Ilmu:153/Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN
HIBAH RISET GURU BESAR UNIVERSITAS ANDALAS**



**DIVERSITAS GENETIK DAN KARAKTERISASI CENDAWAN
ENDOFIT TANAMAN CABAI YANG BERPOTENSI SEBAGAI
BIOPESTISIDA DAN BIOFERTILIZER**

TIM PENGUSUL

Prof.Dr.Ir. Trizelia,M.Si/NIDN.0024126411

Dr. .Haliatur Rahma,S.Si,MP/NIDN. 0025057205

Ir. Martinius,MS/NIDN. 0015055914

**Dibiayai oleh, dana BOPTN Universitas Andalas, sesuai dengan Surat
Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Klaster Riset Guru Besar Nomor:
503/XIV/A/UNAND-2016 Tanggal 2 Mei 2016**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
2016**

**HALAMAN PENGESAHAN
HIBAH RISET GURU BESAR UNIVERSITAS ANDALAS**

Judul Penelitian : Diversitas genetik dan karakterisasi cendawan endofit tanaman cabai yang berpotensi sebagai biopestisida dan biofertilizer

Ketua Peneliti :

a. Nama Lengkap : Prof.Dr.Ir. Trizelia,M.Si

b. NIDN : 0024126411

c. Jabatan Fungsional : Guru Besar

d. Program Studi : Proteksi Tanaman

e. Nomor HP : 081374289802

f. Alamat surel (e-mail) : trizelia@yahoo.com

Anggota Peneliti (1) :

a. Nama Lengkap : Dr.Haliatur Rahma,S.Si,MP

b. NIDN : 0025057205

c. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Anggota Peneliti (2) :

a. Nama Lengkap : Ir. Martinius,MS

b. NIDN : 0015055914

c. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Lama Penelitian Keseluruhan : 3 (tiga) .tahun

Biaya Penelitian Tahun ke-1 : Rp 110.000.000

Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp. 360.000.000

Menyetujui,
Ketua MGB Unand

Padang,15 November 2016
Ketua Peneliti,

(Prof.Dr.Darwin Amir,Sp.J)
NIP.194820111978072001

(Prof.Dr.Ir. Trizelia,M.Si)
NIP. 196412241989032004

Menyetujui,
Ketua LPPM Unand

(Dr.Ing. Uyung Gatot S. Dinata, MT)
NIP: 196607091992031003

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karuniaNya penelitian ini dapat dilaksanakan sampai selesainya pembuatan laporan ini. Penelitian yang berjudul “ Diversitas genetik dan karakterisasi cendawan endofit tanaman cabai yang berpotensi sebagai biopestisida dan biofertilizer “ dibiayai oleh dana BOPTN Universitas Andalas, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Klaster Riset Guru Besar Nomor: 503/XIV/A/UNAND-2016 Tanggal 2 Mei 2016

Kami mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak terutama Rektor Universitas Andalas, Dekan Fakultas Pertanian yang telah banyak membantu sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

Kami berharap apa yang tertulis dalam laporan ini dapat menambah informasi pengetahuan, khususnya masalah penggunaan *Beauveria bassiana*. untuk Pengendalian hama bawang merah. Akhirnya kami tim peneliti memohon maaf apabila yang tertulis dalam laporan ini masih jauh daripada apa yang diharapkan.

Padang, November 2016

Peneliti

RINGKASAN

Usaha peningkatan produktivitas pertanaman cabai sering menghadapi berbagai kendala. Salah satu kendala yang sering timbul pada usaha tani cabai adalah serangan hama dan penyakit. Gangguan hama dan penyakit pada tanaman cabai sangat kompleks, baik pada musim hujan maupun musim kemarau. Untuk mengatasi masalah hama dan penyakit pada cabai dapat dilakukan secara hayati menggunakan cendawan endofit. Potensi cendawan endofit sebagai agen pengendali hayati, antara lain karena endofit hidup dalam jaringan tanaman sehingga dapat berperan langsung dalam menghambat perkembangan hama dan patogen pada tanaman. Langkah awal yang sangat diperlukan dalam program pemanfaatan dan pengembangan cendawan endofit sebagai biopestisida adalah mengetahui keberadaan alami cendawan tersebut pada tanaman. Keanekaragaman dan kelimpahan cendawan endofit diharapkan dapat memberikan solusi dalam memilih cendawan yang tepat untuk tanaman dan lokasi tertentu sebagai agens hayati pengendali hama dan penyakit cabai dan pengembangannya sebagai biopestisida.

Dalam rangka pemanfaatan cendawan endofit sebagai biopestisida dan biofertilizer perlu dilakukan serangkaian penelitian. Dalam jangka panjang, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan paket teknologi baru pengendalian hama dan penyakit cabai berbasis hayati yang lebih efektif dan ramah lingkungan sebagai pengganti pestisida sintesis. Penelitian ini dirancang selama tiga tahun. Pada tahun pertama penelitian diarahkan pada keanekaragaman dan seleksi cendawan endofit yang berpotensi sebagai bioinsektisida dan biofungisida. Tahun kedua mengkaji tentang kemampuan cendawan endofit sebagai biofertilizer dan potensi senyawa metabolit cendawan endofit sebagai biopestisida. Tahun ketiga mengkaji tentang perbanyakan massal, kolonisasi dan persistensi cendawan endofit pada tanaman cabai.

Isolasi cendawan endofit dilakukan dengan mengambil semua bagian tanaman cabai (batang, cabang, daun dan akar). Uji patogenisitas awal isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dilakukan terhadap larva *Tenebrio molitor* instar V. Cendawan yang mampu mematikan larva *T. molitor* selanjutnya diuji pada larva *S.litura*. Uji antagonis cendawan endofit dilakukan terhadap cendawan patogen *Sclerotium rolfsii*. Tujuannya adalah untuk mengetahui kemampuan antagonis dari masing masing cendawan endofit terhadap cendawan patogen tanaman cabai (*Sclerotium rolfsii*) penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman cabai. Pengujian dilakukan dengan metode biakan ganda.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan : 1) Jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman cabai untuk kedua lokasi lebih banyak ditemukan pada daun (38,55%) dibandingkan dengan yang berhasil diisolasi dari cabang (25,30), batang (21,68%) dan akar cabai (14,45%), 2) Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa dari 65 isolat yang diuji, 41 isolat (63,07%) bersifat patogen pada serangga (entomopatogen). Mortalitas larva *T. molitor* berkisar antara 2,5-30% . Dari 41 isolat yang bersifat patogen pada serangga, hanya 22 isolat yang mampu mematikan larva *T. molitor* sebesar 15-30 %, sedangkan 19 isolat hanya menghasilkan mortalitas 2,5-12,5 %. Persentase larva yang bersporulasi (mikosis) berkisar antara 11,11-100%, 3) Mortalitas larva *S. litura* setelah

aplikasi cendawan endofit meningkat dengan meningkatnya konsentrasi konidia. Pada konsentrasi 10^7 konidia/ml hanya menghasilkan mortalitas larva sebesar 23.33%, dan mortalitas larva meningkat menjadi 64.99% pada konsentrasi 10^9 konidia/ml, 4) Hasil uji antagonis dari 31 isolat cendawan endofit menunjukkan bahwa hanya ada tiga isolat yang mampu menghambat perkembangan cendawan patogen *S. rolfsii*, dengan daya hambat lebih dari 50%, 5) Hasil identifikasi cendawan entomopatogen endofit dari berbagai bagian tanaman cabai yang bersifat patogen terhadap serangga tergolong kedalam genus *Aspergillus* dan yang bersifat antagonis tergolong kedalam genus *Trichoderma*

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
BAB 2. URAIAN KEGIATAN.....	6
BAB 3. METODE PENELITIAN	8
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
BAB 5. KESIMPULAN	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rencana Target Capaian Tahunan.....	5
2. Jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari daun, batang, cabang dan akar tanaman cabai dari dua lokasi.....	14
3. Mortalitas larva <i>Tenebrio molitor</i> instar lima dan persentase sporulasi 7 hari setelah aplikasi cendawan endofit.....	16
4. Mortalitas larva <i>S. litura</i> instar II tujuh hari setelah aplikasi cendawan endofit dan nilai LT_{50}	18
5. Uji daya hambat isolat cendawan endofit tanaman cabai terhadap cendawan <i>S. rolfsii</i>	20
6. Karakterisasi morfologi cendawan entomopatogen pada media PDA (14 hsi)	22

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. <i>Road map</i> (diagram alir) penelitian.....	9
2. Isolasi cendawan endofit dari tanaman cabai	10
3. Pertumbuhan koloni cendawan endofit pada media PDA.....	15
4. Larva <i>T. molitor</i> normal (A) dan yang mati terinfeksi cendawan endofit (B).....	15
5. Isolat cendawan endofit yang tidak bersifat antagonis (A) dan bersifat antagonis (B) terhadap cendawan patogen <i>S. rolfsii</i>	21
6. Bentuk mikroskopis cendawan endofit yang patogen pada serangga (A) dan antagonis terhadap cendawan patogen <i>S. rolfsii</i> (B).....	22

BAB 1. PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum* L.) merupakan salah satu jenis sayuran yang banyak dibudidayakan secara komersil, khususnya di daerah tropis (Kusandriani & Permadi, 1996). Buah cabai digunakan sebagai bumbu masak, obat-obatan, kosmetik dan bahan baku industri makanan. Buah cabai juga banyak mengandung vitamin A dan vitamin C (Samsudin, 1982). Rasanya yang khas, memiliki nilai gizi dan juga sebagai bahan baku, menyebabkan komoditi ini mempunyai nilai ekonomi tinggi, sehingga tidak mengherankan jika cabai menjadi sumber pendapatan sebagian besar petani sayuran (Duriat & Sastrosiswojo, 2001).

Produksi cabai di Indonesia pada tahun 2013 mencapai 1012,879 ton dengan luas area tanam 124,110 ha atau dengan tingkat produktivitas 8,16 ton / ha. Di tahun 2014, produksi cabai di mencapai 1074,602 ton dengan luas area tanam 128,734 ha atau dengan tingkat produktivitas 8,35 ton / ha (Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura, 2015). Jika diperhatikan tingkat produktivitas pertanaman cabai di Indonesia, maka angka-angka tersebut masih jauh dari potensi yang dapat dihasilkannya. Menurut Dinas Pertanian Tanaman Pangan (2000), produksi cabai dapat mencapai angka 10 ton / ha jika dilakukan pemeliharaan intensif. Selanjutnya Siswanto, Sudarman & Kusumo (2001) menyatakan bahwa produksi cabai dapat mencapai 12 ton / ha.

Usaha peningkatan produktivitas pertanaman cabai sering menghadapi berbagai kendala. Salah satu kendala yang sering timbul pada usaha tani cabai adalah serangan hama dan penyakit. Beberapa jenis hama dan penyakit yang menyerang tanaman cabai diantaranya adalah ulat tanah (*Agrotis ipsilon* H.), thrips (*Thrips parvispinus* K.), ulat grayak (*Spodoptera litura*), aphid (*Myzus persicae* S.), siput tanpa cangkang (*Fillicaulis bleekeri* K.), lalat buah (*Bactrocera* sp.) dan tungau kuning (*Polyphagoarsonemus latus* Banks.), penyakit bercak daun yang disebabkan oleh jamur *Cercospora capsici*., penyakit antraknos yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporioides*, penyakit kuning keriting atau mosaik yang disebabkan oleh virus (Pracaya, 1999). Gangguan hama dan penyakit pada tanaman cabai sangat kompleks, baik pada musim hujan maupun musim kemarau.

Untuk mengatasi masalah hama dan penyakit pada cabai umumnya dilakukan pengendalian secara konvensional, yaitu penggunaan pestisida sintetis secara intensif. Di daerah Brebes, penggunaan pestisida dapat mencapai 51% dari biaya produksi. Penggunaan pestisida secara terus menerus akan menimbulkan masalah yang lebih berat yaitu terbunuhnya musuh alami, terjadinya resurgensi, peledakan hama sekunder, dan pencemaran lingkungan (Rauf *et al.*, 2000). Untuk itu, perlu dicari alternatif pengendalian yang dapat mengurangi dampak negatif pestisida tersebut. Program pengendalian hama terpadu (PHT) didesain untuk menyediakan pengendalian hama yang ramah lingkungan dan berkelanjutan karena PHT bertujuan membatasi penggunaan pestisida sesedikit mungkin tetapi sasaran kualitas dan kuantitas produksi masih dapat dicapai (Sastrosiswoyo dan Oka, 1997). Dalam strategi pengendalian hama terpadu (PHT), pemanfaatan potensi musuh alami mempunyai peranan penting dalam menekan kelimpahan populasi hama. Diantara musuh alami yang dapat dimanfaatkan untuk pengendalian hama dan penyakit cabai secara hayati adalah cendawan endofit.

Cendawan endofit merupakan cendawan yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala sakit pada tanaman (Vega, 2008). Potensi cendawan endofit sebagai agen pengendali hayati, antara lain karena endofit hidup dalam jaringan tanaman sehingga dapat berperan langsung dalam menghambat perkembangan hama dan patogen pada tanaman. Kolonisasi cendawan endofit pada inang tanaman akan berpengaruh terhadap keberadaan serangga, terutama yang memakan inang dan menjadi hama pada inang tersebut. Keberadaan serangga *Phenacoccus solani* (Homoptera : Psudococcidae) pada tanaman barley dapat ditekan secara total, sama dengan *Shiphia maydis* (Homoptera : Aphididae) yang menyebabkan nekrosis pada tanaman barley. Beberapa tanaman barley yang telah diinokulasi dengan cendawan endofit tidak mengalami kerusakan yang parah oleh serangan kutu *Shiphia maydis* (Homoptera : Aphididae) (Sabzalian *et al* 2004).

Sejak ditemukannya obat anti kanker dari isolasi cendawan endofit *Pestalotiopsis microspora* yang mengkolonisasi sejenis pohon cemara di Himalaya, penelitian tentang cendawan endofit semakin berkembang. Beberapa spesies cendawan endofit diidentifikasi sebagai sumber anti kanker, anti

diabetes, insektisida dan anti kekebalan. Cendawan endofit juga mampu menghasilkan senyawa metabolit yang berperan melindungi inang tanaman dari kondisi lingkungan ekstrim, contohnya *Curvularia* sp yang ditemukan pada tanaman di daerah gunung merapi, Amerika Serikat. Selain itu, cendawan endofit juga melindungi inang dari serangan serangga, tungau, atau hewan lain yang hidup dan memakan inang tanaman (Maheswari 2006)

Langkah awal yang sangat diperlukan dalam program pemanfaatan dan pengembangan cendawan entomopatogen endofit sebagai agen pengendali hayati hama dan penyakit cabai adalah mengetahui keberadaan alami cendawan tersebut pada tanaman. Menurut Lezama-Gutierrez *et al.*, (2001) keberadaan, keanekaragaman dan distribusi cendawan entomopatogen akan bervariasi tergantung pada habitat, lokasi, geografis, kondisi lingkungan, jenis tanaman dan praktek budidaya. Hasil penelitian Vega *et al* (2008) menunjukkan bahwa ada 16 spesies dari lima genus cendawan entomopatogen endofit yang hidup pada jaringan tanaman kopi yaitu *Acremonium*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Clonostachys*, dan *Paecilomyces*. *Beauveria* dan *Clonostachys* bersifat patogenik terhadap hama penggerek buah kopi. Hasil penelitian Trizelia dan Winarto (2012) menunjukkan bahwa pada tanaman kakao ditemukan 3 genus cendawan endofit yaitu *Beauveria*, *Aspergillus* dan *Fusarium* yang bersifat patogen terhadap serangga dan berpotensi digunakan sebagai bioinsektisida. Kemampuan cendawan endofit dalam mengendalikan hama disebabkan karena adanya senyawa metabolit yang dihasilkan cendawan yang bersifat antibiosis atau repelen.

Di Indonesia secara umum dan khususnya di Sumatera Barat informasi dasar tentang keberadaan dan keanekaragaman jenis cendawan endofit yang berasosiasi dengan tanaman cabai serta potensinya sebagai biopestisida dan biofertilizer belum ada. Keanekaragaman dan kelimpahan cendawan endofit diharapkan dapat memberikan solusi dalam memilih cendawan yang tepat untuk tanaman dan lokasi tertentu sebagai agens hayati pengendali hama dan penyakit cabai dan pengembangannya sebagai biopestisida. Pemilihan jenis dan isolat cendawan yang virulensinya tinggi, dan mampu bertahan di ekosistem pertanian

juga merupakan faktor yang perlu dipertimbangkan dan sangat menentukan keberhasilan pengendalian hama dan penyakit cabai.

Dalam jangka panjang, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan paket teknologi baru pengendalian hama dan penyakit cabai berbasis hayati yang lebih efektif dan ramah lingkungan sebagai pengganti pestisida sintetis. Secara khusus tujuan penelitian adalah untuk :1) mengetahui kelimpahan dan keragaman cendawan endofit pada beberapa bagian tanaman cabai dari berbagai lokasi dan varietas, 2) mendapatkan jenis cendawan endofit yang berpotensi digunakan sebagai bioinsektisida dan biofungisida,3) Mempelajari keragaman morfologi dan genetik cendawan endofit, 4) mempelajari pengaruh cendawan endofit terhadap perkecambahan benih dan pertumbuhan tanaman cabai, 5) mengetahui kemampuan Senyawa Metabolit Cendawan Endofit sebagai biopestisida, 6) Mendapatkan substrat yang terbaik untuk perbanyak massal cendawan endofit, 7) Mengetahui kemampuan kolonisasi dan persistensi cendawan endofit pada tanaman cabai. Manfaat dari penelitian ini adalah 1) Mengurangi penggunaan pestisida sintetis sehingga pencemaran lingkungan dan dampak negatif lainnya dapat dihindari, 2) Mengurangi biaya produksi dengan memanfaatkan potensi hayati lokal,3) Meningkatkan pendapatan petani dan 4) Menghasilkan cabai yang sehat dan aman untuk dikonsumsi serta mampu bersaing di pasaran internasional.

Luaran dari penelitian ini adalah berupa informasi baru tentang keanekaragaman jenis cendawan endofit yang terdapat pada tanaman cabai yang berpotensi digunakan sebagai biopestisida dan biofertilizer. Keanekaragaman dan kelimpahan cendawan endofit diharapkan dapat memberikan solusi dalam memilih cendawan yang tepat untuk tanaman dan lokasi tertentu sebagai agens hayati pengendali hama dan penyakit cabai. Dari hasil penelitian juga diharapkan akan didapat informasi tentang adanya keragaman karakter fisiologi dan genetik dalam populasi cendawan endofit yang dapat dijadikan sebagai dasar pertimbangan dalam pemilihan isolat cendawan yang akan dikembangkan sebagai bioinsektisida dan biofungisida. Keragaman cendawan yang tinggi sangat menguntungkan dalam pengendalian hayati dan merupakan faktor yang penting dalam kesuksesan pengendalian hayati. Selain berupa informasi dibidang

pengembangan penggunaan agens hayati, luaran penelitian juga adalah berupa publikasi dan teknologi tepat guna (Tabel 1).

Tabel 1. Rencana Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			TS ¹⁾	TS+1	TS+2
1.	Publikasi ilmiah ²⁾	Internasional		√	√
2.	Pemakalah dalam pertemuan Ilmiah ³⁾	Internasional		√	
		Nasional	√		
3.	Teknologi Tepat Guna ⁷⁾		√		
4.	Buku Ajar (ISBN) ⁹⁾				√

BAB 2. URAIAN KEGIATAN

Serangan hama dan penyakit merupakan salah satu kendala dalam meningkatkan produksi cabai di Indonesia. Upaya pengendalian hama dan patogen umumnya masih menggunakan pestisida sintetik. Namun, akibat dari penggunaan pestisida sintetik secara berlebihan dan terus menerus dapat mengakibatkan dampak negative terhadap lingkungan. Untuk itu perlu dikembangkan cara pengendalian hama dan penyakit tanaman cabai yang efektif dan ramah lingkungan. Salah satu cara pengendalian tersebut adalah pemanfaatan cendawan endofit untuk menekan serangan hama dan patogen.

Hasil penelitian Vega *et al* (2008) menunjukkan bahwa ada 16 spesies dari lima genus cendawan entomopatogen endofit yang hidup pada jaringan tanaman kopi yaitu *Acremonium*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Clonostachys*, dan *Paecilomyces*. *Beauveria* dan *Clonostachys* bersifat patogenik terhadap hama penggerek buah kopi. Kemampuan cendawan entomopatogen endofit dalam mengendalikan hama disebabkan karena adanya senyawa metabolit yang dihasilkan cendawan yang bersifat antibiosis atau repelen. Hasil penelitian Trizelia dan Winarto (2012) menunjukkan bahwa pada tanaman kakao ditemukan 3 genus cendawan endofit yaitu *Beauveria*, *Aspergillus* dan *Fusarium* yang bersifat patogen terhadap serangga dan berpotensi digunakan sebagai bioinsektisida. Waruwu (2015) melaporkan bahwa sebanyak 21 isolat cendawan endofit berhasil diisolasi dari tanaman padi. diantaranya menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap cendawan patogen terbawa benih padi. Isolat cendawan endofit LA11 dan LA14 merupakan cendawan endofit potensial untuk menekan tingkat infeksi cendawan patogen terbawa benih padi. Perlakuan cendawan endofit dalam bentuk metabolit efektif menekan infeksi cendawan patogen terbawa benih padi. Hasil penelitian Irmawan (2007) menunjukkan bahwa keragaman cendawan endofit pada batang padi sangat dipengaruhi oleh varietas dari tanaman padi. Keragaman cendawan endofit pada varietas Ciherang lebih tinggi daripada IR 64, Sumedang, Cianjur, dan pandan wangi. Sama halnya dengan jumlah spesies cendawan endofit yang mengkolonisasi, varietas Ciherang lebih tinggi daripada keempat varietas

lainnya.

Mengetahui keanekaragaman cendawan endofit yang berasosiasi dengan tanaman cabai merupakan komponen penting sebagai dasar strategi pengendalian hama dan penyakit cabai. Keanekaragaman dan kelimpahan cendawan endofit diharapkan dapat memberikan solusi dalam memilih cendawan yang tepat untuk tanaman dan lokasi tertentu sebagai agens hayati pengendali hama dan pathogen dan pengembangannya sebagai biopestisida.

Langkah awal yang sangat diperlukan dalam program pemanfaatan dan pengembangan cendawan endofit sebagai biopestisida adalah mengetahui keberadaan alami cendawan tersebut pada tanaman. Menurut Lezama-Gutierrez *et al.*, (2001) keberadaan, keanekaragaman dan distribusi cendawan akan bervariasi tergantung pada habitat, lokasi, geografis, kondisi lingkungan, jenis tanaman dan praktek budidaya. Kemampuan cendawan endofit dalam menekan serangan hama dan patogen sangat ditentukan oleh jenis cendawan. Pemilihan jenis dan isolat cendawan yang virulensinya tinggi, cepat membunuh serangga hama dan mampu bertahan di ekosistem pertanian merupakan faktor yang perlu dipertimbangkan dan sangat menentukan keberhasilan pengendalian hama dan penyakit tanaman cabai.

Dalam rangka pemanfaatan cendawan endofit sebagai biopestisida dan biofertilizer perlu dilakukan serangkaian penelitian. Penelitian ini dirancang selama tiga tahun. Pada tahun pertama penelitian diarahkan pada keanekaragaman dan seleksi cendawan endofit yang berpotensi sebagai bioinsektisida dan biofungisida. Tahun kedua mengkaji tentang kemampuan cendawan endofit sebagai biofertilizer dan potensi senyawa metabolit cendawan endofit sebagai biopestisida Tahun ketiga mengkaji tentang perbanyakan massal, kolonisasi dan persistensi cendawan endofit pada tanaman cabai.

BAB 3. METODE PENELITIAN

Penelitian akan dilaksanakan selama tiga tahun. Pada tahun pertama penelitian diarahkan pada keanekaragaman dan seleksi cendawan endofit yang berpotensi sebagai bioinsektisida dan biofungisida. Tahun kedua mengkaji tentang kemampuan cendawan endofit sebagai biofertilizer dan potensi senyawa metabolit cendawan endofit sebagai biopestisida. Tahun ketiga mengkaji tentang perbanyakan massal, kolonisasi dan persistensi cendawan endofit pada tanaman cabai. *Road map* (diagram alir) penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

TAHUN I. Keanekaragaman dan Seleksi Cendawan endofit yang berpotensi sebagai bioinsektisida dan biofungisida

Tahap 1. Isolasi dan uji efektivitas cendawan endofit

Survei dan Pengambilan Sampel

Kegiatan ini dilakukan di dua tempat yang berbeda, yakni Kabupaten Agam dan Solok. Dari dua tempat tersebut ditentukan lahan yang akan diambil sampelnya, dari tiap petak lahan tanaman cabai ditentukan 5 tanaman cabai yang sehat. Agar bisa bertahan lama, maka pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil tanaman utuh beserta akar dan tanahnya.

Isolasi dan Pemurnian Cendawan Endofit

Isolasi cendawan endofit dilakukan dengan mengambil semua bagian tanaman cabai (batang, cabang, daun dan akar). Tanaman cabai dicuci terlebih dahulu pada air yang mengalir untuk membersihkan kotoran, kemudian bagian tanaman (batang, cabang, daun dan akar) dipotong-potong kecil (± 1 cm), selanjutnya isolasi dikerjakan di dalam *laminarflow*. Potongan-potongan tersebut disterilkan dengan NaOCl 2% selama 1 menit untuk mematikan mikroba permukaan. Kemudian dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi air steril dan dicuci selama 1 menit, lalu dikering-anginkan dalam suhu ruangan. Setelah kering kemudian ditumbuhkan dalam media PDA dan diinkubasikan selama 1 minggu pada suhu ruangan (Gambar 2). Setelah 1 minggu cendawan endofit yang tumbuh diamati dan dihitung. Pemurnian dilakukan dengan memindahkan

cendawan endofit yang tumbuh pada PDA di cawan petri ke cawan petri yang berisi PDA yang masih kosong. Setelah diperoleh biakan murni, cendawan endofit disimpan pada PDA yang terdapat dalam tabung reaksi.

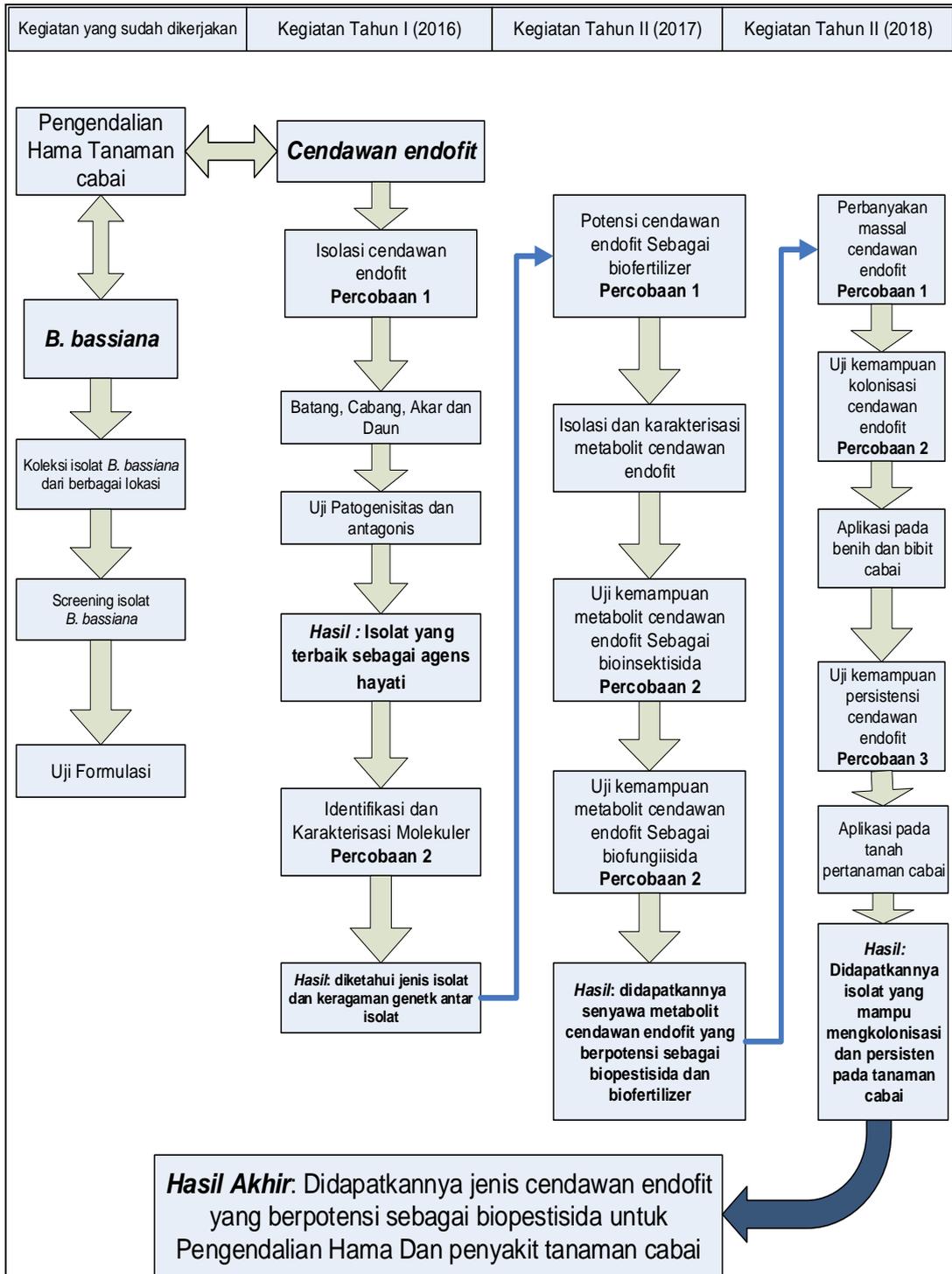


Gambar 2. Isolasi cendawan endofit dari tanaman cabai

Uji Patogenesitas Cendawan Endofit

Uji patogenesitas awal isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dilakukan terhadap larva *Tenebrio molitor* instar V. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan larva *T. molitor* sebanyak 40 ekor pada media PDA yang berisi biakan cendawan hasil isolasi. Larva dibiarkan pada media biakan selama 24 jam agar terjadi kontak antara konidia cendawan dengan serangga. Untuk kontrol larva dimasukkan pada media tanpa biakan cendawan endofit. Setelah satu hari larva dipindahkan sebanyak 10 ekor ke masing – masing cawan petri plastik dengan diameter 9 cm dan diberi pakan pellet ikan. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva yang mati dan jumlah larva yang terinfeksi dan ditumbuhi cendawan selama 7 hari pengamatan setelah aplikasi. Larva yang mati dikumpulkan dan diinkubasi untuk diamati munculnya konidia cendawan.

Cendawan yang mampu mematikan larva *T. molitor* selanjutnya diuji pada larva *S.litura*. Pengujian dilakukan terhadap larva *S.litura* instar dua dengan cara menyemprotkan suspensi konidia cendawan yang mengandung 10^8 konidia/ml. Setiap perlakuan terdiri dari 15 ekor serangga uji. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva yang mati dan jumlah larva yang terinfeksi dan ditumbuhi cendawan selama 7 hari pengamatan setelah aplikasi. Larva yang mati dikumpulkan dan diinkubasi untuk diamati munculnya konidia cendawan.



Gambar 1. Road map (diagram alir) penelitian

Uji Antagonis

Tujuannya adalah untuk mengetahui kemampuan antagonis dari masing-masing cendawan endofit terhadap cendawan patogen tanaman cabai (*Sclerotium rolfsii*) penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman cabai. Pengujian dilakukan dengan metode biakan ganda. Masing-masing koloni cendawan endofit dan patogen yang berukuran diameter 1 cm diletakkan pada cawan petri yang telah berisi media PDA. Jarak antar kedua koloni adalah 3 cm. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan koloni kedua cendawan dengan menghitung diameter koloni cendawan dan ada tidaknya zona bening diantara kedua koloni.

Identifikasi Cendawan endofit

Identifikasi cendawan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Kunci identifikasi yang digunakan adalah kunci Barnett dan Hunter (1972) dan Poinar dan Thomas (1984).

Tahap 2. Karakterisasi Molekuler Cendawan endofit

Pembiakan cendawan endofit pada Media *Potato Dextrosa Broth* (PDB)

Cendawan endofit dibiakkan pada erlenmeyer 250 ml yang telah diisi media PDB kemudian cendawan dipotong dengan ukuran 1x1 cm dimasukkan kedalam media dengan menggunakan jarum ose. Erlenmeyer yang telah berisi potongan cendawan di shaker pada suhu ruang selama kurang dari 96 jam dengan kecepatan 150 rpm.

Ekstraksi DNA cendawan endofit

Ekstraksi DNA dari miselia cendawan menggunakan metode yang dikemukakan oleh Hidayat *et al.* (2002). Miselia cendawan ditimbang sebanyak 1 g, kemudian digerus dalam nitrogen cair dengan menggunakan mortar. Serbuk miselium dipindahkan ke dalam tabung ependorf dan diberi 1500 µl bufer ekstraksi (1.4 M NaCl, 20mM EDTA pH 8.0, 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2% (w/v) CTAB, 0.2% β-merkaptotanol). Campuran dikocok sampai homogen dan dipanaskan dalam penangas air suhu 65°C selama 30 menit sambil sesekali digoyang. Kemudian ditambahkan 1 volume campuran fenol : khloroform : isoamil alkohol (25:24:1) dan divorteks. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 15 menit. Fase cair yang terpisah diambil dan dipindahkan ke

tabung ependorf baru, kemudian ditambahkan 1 volume campuran khloroform : isoamil alkohol (24:1) dan divorteks. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung ependorf yang baru dan ditambahkan ke dalamnya 1 volume isopropanol dingin dan dikocok perlahan. Larutan diinkubasi pada -20°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada 11.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang ada dibuang dan pelet yang didapatkan dicuci dengan etanol 70%, kemudian disentrifugasi pada 11.000 rpm selama 15 menit. Etanol dibuang dan pelet DNA dikeringkan dengan vakum. Pelet DNA dilarutkan dalam dH_2O pada suhu ruang lalu disimpan pada suhu -20°C .

Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi potongan daerah ITS rDNA isolat sampel dilakukan dengan mesin PCR menggunakan pasangan primer umum ITS4/ITS5. Amplifikasi dilakukan pada campuran reaksi 25 μL yang mengandung 17,5 μL air steril, 2,5 μL 10 kali bufer PCR + MgCl_2 , 1 μL dNTPs 10 mM, 1 μL dari masing-masing primer (50 ng/ μL), 0,5 μL *Taq* polymerase (1,5 U) dan 1 μL DNA (10-100 ng/ μL) cendawan endofit. Reaksi PCR menggunakan mesin PCR Personal Biometra dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 94°C selama lima menit, 35 siklus (94°C selama satu menit, 50°C selama satu menit, dan pada suhu 72°C selama satu menit 30 detik), dan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama lima menit. Khusus untuk siklus terakhir ditambah tahapan sintesis selama 10 menit, kemudian siklus berakhir dengan suhu 4°C .

Elektroforesis

Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada gel agarosa 1% dalam bufer Tris-borate EDTA (TBE)0,5 X dengan tegangan 75 volt (Maniatis *et al.* 1989) dan diamati menggunakan UV transiluminator setelah diberi pewarna dengan Etidium Bromida.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Cendawan Endofit

Hasil isolasi cendawan endofit dari daun, batang, cabang dan akar tanaman cabai dari dua lokasi didapatkan 83 isolat (Tabel 2) dengan variasi pertumbuhan morfologi (Gambar 3).

Tabel 2. Jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari daun, batang, cabang dan akar tanaman cabai dari dua lokasi

Bagian Tanaman	Jumlah isolat
Batang	18
Cabang	21
Daun	32
Akar	12
Total	83

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 terlihat bahwa jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman cabai untuk kedua lokasi lebih banyak ditemukan pada daun (38,55%) dibandingkan dengan yang berhasil diisolasi dari cabang (25,30), batang (21,68%) dan akar cabai (14,45). Jumlah isolat cendawan endofit dari akar tanaman cabai paling sedikit ditemukan pada kedua lokasi. Hasil penelitian Hazalin et al (2009) juga menunjukkan bahwa dari total cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari berbagai jenis tanaman, cendawan endofit paling banyak ditemukan pada daun (48,7%), sedangkan pada batang, akar dan bagian tanaman lain (bunga, buah, rizom, dan kulit kayu) berturut-turut 25,7%, 16,3% dan 9,3%. Faktor lingkungan, lokasi, jenis dan bagian tanaman inang diduga sangat mempengaruhi distribusi dan keanekaragaman cendawan endofit. Adanya perbedaan populasi cendawan endofit antar bagian tanaman juga dilaporkan oleh Khan (2007) yang melaporkan bahwa pada tanaman obat-obatan *Whitania somnifera* yang dikoleksi dari Karachi ditemukan 24 spesies cendawan endofit (9 jenis dari daun, 20 jenis dari batang dan 4 jenis dari akar). Empat spesies jamur tersebut termasuk kedalam klas Ascomycetes dan 20 spesies termasuk ke dalam klas Deuteromycetes.



Gambar 3. Pertumbuhan koloni cendawan endofit pada media PDA

Seleksi Cendawan Endofit

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman cabai dan telah diuji pada larva *T. molitor* sebanyak 65 isolat. Empat puluh satu isolat (63.07%) bersifat patogen pada serangga (entomopatogen). Mortalitas larva *T. molitor* berkisar antara 2,5-30% . Dari 41 isolat yang bersifat patogen pada serangga, hanya 22 isolat yang mampu mematikan larva *T. molitor* sebesar 15-30 %, sedangkan 19 isolat hanya menghasilkan mortalitas 2.5-12.5 %. Persentase larva yang bersporulasi (mikosis) berkisar antara 11.11-100% (Tabel 3). Larva *T. molitor* yang terinfeksi cendawan endofit dapat dilihat pada (Gambar 4).



Gambar 4. Larva *T. molitor* normal (A) dan yang mati terinfeksi cendawan endofit (B)

Terjadinya kematian pada larva tidak hanya disebabkan karena adanya kerusakan fisik pada tubuh larva akibat perkembangan cendawan, tetapi juga disebabkan karena adanya mekanisme enzimatik atau toksin yang dihasilkan cendawan endofit. Disamping itu terjadinya kematian pada larva diduga juga disebabkan karena adanya senyawa metabolit yang dihasilkan cendawan yang menyebabkan serangga tidak mau makan (penolak makan) atau bersifat antibiosis. Broome *et al.* 1976 melaporkan bahwa pada umumnya cendawan entomopatogen

menginfeksi serangga melalui integumen di antara ruas-ruas tubuh. Akan tetapi selain melalui integumen, dapat juga melalui saluran makanan, trakea dan luka. Zimmermann (2008) mengemukakan bahwa terjadinya kematian pada serangga akibat infeksi jamur disebabkan karena adanya kerusakan fisik pada tubuh serangga, kekurangan nutrisi dan toksin yang dihasilkan

Mortalitas larva *Tenebrio molitor* setelah aplikasi cendawan endofit bervariasi tergantung pada isolat. Hasil analisis sidik ragam ($P < 0.0001$) menunjukkan bahwa isolat berpengaruh nyata terhadap mortalitas larva *T. molitor*.

Tabel 3. Mortalitas larva *Tenebrio molitor* instar lima dan persentase sporulasi 7 hari setelah aplikasi cendawan endofit

Isolat	Mortalitas \pm SD (%)	Sporulasi (%)
C123	30.00 \pm 0.00 a	100.00
B421	27.50 \pm 9.57 ab	36.36
C111	25.00 \pm 5.77 abc	90.00
C211	25.00 \pm 5.77 abc	60.00
C212	25.00 \pm 5.77 abc	60.00
D112	25.00 \pm 5.77 abc	100.00
C222	22.50 \pm 5.00 abc	55.56
D321	22.50 \pm 5.00 abc	55.56
A224	20.00 \pm 0.00 abc	25.00
C113	20.00 \pm 0.00 abc	62.50
D121	20.00 \pm 8.16 abc	87.50
D221	20.00 \pm 8.16 abc	75.00
B413	17.50 \pm 5.00 bc	57.14
C112	17.50 \pm 5.00 bc	100.00
C221	17.50 \pm 9.57 bc	11.11
D113	17.50 \pm 9.57 bc	85.71
D114	17.50 \pm 5.00 bc	100.00
D124	17.50 \pm 5.00 bc	71.40
C121	15.00 \pm 5.77 c	100.00
C321	15.00 \pm 5.77 c	16.16
D223	15.00 \pm 5.77 c	50.00
D227	15.00 \pm 5.77 c	16.67
K	0.00 \pm d	0.00

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa isolat C123 yang diisolasi dari cabang tanaman cabai menghasilkan mortalitas larva *T. molitor* tertinggi (30%) dibandingkan dengan isolat lain. Isolat D227 yang diisolasi dari daun tanaman

cabai menghasilkan mortalitas larva terendah hanya 15. Adanya perbedaan virulensi antar isolat cendawan endofit diduga disebabkan karena adanya perbedaan karakter fisiologi antar isolat seperti daya kecambah konidia dan jumlah toksin dan enzim yang dihasilkan.

Tanada dan Kaya (1993) mengemukakan bahwa adanya perbedaan virulensi antar isolat cendawan disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan menghasilkan enzim dan mikotoksin selama berjalannya proses infeksi pada serangga seperti pada saat kontak dengan kutikula dan di dalam hemosoel. Isolat yang virulen memiliki aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat yang avirulen.

Kemampuan cendawan endofit sebagai patogen serangga dan menyebabkan kematian pada beberapa jenis serangga hama telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Hasil penelitian Vega et al (2008) menunjukkan bahwa cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman kopi bersifat patogen terhadap hama penggerek buah kopi. Ada 16 spesies dari lima genus cendawan entomopatogen endofit yang hidup pada jaringan tanaman kopi yaitu *Acremonium*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Clonostachys*, dan *Paecilomyces*. *Beauveria bassiana* dan *Clonostachys rosea* mampu mematikan imago penggerek buah kopi sebesar 80-100%. Hasil penelitian Carrion dan Bonet (2004) juga menunjukkan bahwa pada buah kopi yang terserang penggerek buah kopi ditemukan 13 spesies cendawan yaitu *Fusarium heterosporum*, *Cladosporium sp*, *Penicillium echinulatum*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Mucor luteus*, *Humicola grisea*, *Gliocladium penicilloides*, *Fusarium oxysporum* dan *Beauveria bassiana*. Dari ketiga belas spesies tersebut hanya *Beauveria bassiana* yang bersifat patogen terhadap penggerek buah kopi.

Pada Tabel 3 juga terlihat bahwa larva yang mati setelah aplikasi cendawan endofit menunjukkan gejala adanya konidia pada tubuh larva (bersporulasi). Pada penelitian ini tingkat sporulasi cendawan (mikosis) bervariasi antar isolat. Hanya lima isolate yang menghasilkan gejala mikosis sampai 100%. Menurut Santoso (1993) cendawan tidak selalu tumbuh keluar menembus integumen serangga untuk kemudian mengkolonisasi dinding luar integumen serangga. Apabila keadaan kurang menguntungkan perkembangan

saprofit hanya berlangsung di dalam tubuh serangga tanpa keluar menembus integumen. Dalam hal ini cendawan membentuk struktur khusus untuk dapat bertahan, yaitu *arthrospora*.

Mortalitas larva *S. litura*

Mortalitas larva *S. litura* setelah aplikasi berbagai konsentrasi konidia cendawan entomopatogen endofit (isolat C123) berbeda secara nyata. Mortalitas larva meningkat secara nyata apabila konsentrasi konidia juga meningkat. Mortalitas larva *S. litura* instar II berturut-turut 23.33%, 50.00%, and 64.99% pada konsentrasi 1×10^7 , 1×10^8 , and 1×10^9 konidia/ml ($F = 42.36$ $df = 3, 12$, $p < 0.0001$) (Tabel 4).

Table 4. Mortalitas larva *S. litura* instar II tujuh hari setelah aplikasi cendawan endofit dan nilai LT_{50}

Konsentrasi konidia (konidia /ml)	Mortalitas (%)	LT_{50} (hari)
1×10^9	64.99 ± 9.99 a	6.24 (5.61-7.14)
1×10^8	50.00 ± 8.61 b	8.69 (7.62-10.66)
1×10^7	23.33 ± 8.61 c	13.13 (10.21-23.84)
Kontrol	0.00 ± 0.00 d	-

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

Mortalitas larva *S. litura* meningkat dengan meningkatnya konsentrasi konidia. Pada konsentrasi 10^7 konidia/ml hanya menghasilkan mortalitas larva sebesar 23.33%, dan mortalitas larva meningkat menjadi 64.99% pada konsentrasi 10^9 konidia/ml. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi jumlah konidia, maka peluang hama sasaran terinfeksi atau mati semakin besar. Roberts dan Yendol (1971) mengemukakan bahwa salah satu faktor untuk bisa terjadinya infeksi cendawan entomopatogen pada serangga adalah jumlah inokulum. Yoon *et al.* (1999) mengemukakan bahwa peningkatan mortalitas larva *P. xylostella* akibat infeksi *B. bassiana* dengan meningkatnya konsentrasi konidia disebabkan oleh adanya peningkatan jumlah konidia yang menempel pada tubuh larva dengan

meningkatnya konsentrasi. Pada konsentrasi 10^7 konidia/ml. jumlah konidia yang menempel pada tubuh larva sekitar 1813.89 konidia sedangkan pada konsentrasi 10^8 konidia/ml jumlah konidia yang menempel pada tubuh larva adalah 9861.11 konidia.

Pengaruh konsentrasi konidia cendawan entomopatogen terhadap mortalitas serangga juga telah dilaporkan oleh banyak peneliti. Asi *et al* (2009) melaporkan bahwa mortalitas aphid setelah aplikasi cendawan entomopatogen meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi konidia dan lama waktu pemaparan. Trizelia dan Nurdin (2010) juga melaporkan bahwa mortalitas larva *Crocidolomia pavonana* instar dua sangat tergantung pada sumber isolate dan konsentrasi konidia. Meningkatnya konsentrasi konidia cendawan, mortalitas larva juga meningkat. Baidoo and Ackuaku (2011) melaporkan bahwa cendawan *Aspergillus flavus* bisa menginfeksi larva *Eldana saccharina* dan patogenisitasnya tergantung pada dosis. Nilai LT_{50} bervariasi tergantung pada konsentrasi konidia (Tabel 4). Nilai LT_{50} dari larva *S. litura* pada konsentrasi tinggi (1×10^9 konidia/ml) lebih pendek yaitu 6.24 hari dibandingkan dengan konsentrasi rendah (1×10^7 konidia/ml) yaitu 13.13 hari. Hasil penelitian Sileshi *et al* (2013) juga menunjukkan bahwa nilai LT_{50} tergantung pada konsentrasi spora, makin tinggi konsentrasi spora, maka makin sedikit waktu yang dibutuhkan untuk mematikan serangga uji. Moorehouse *et al* (1994) juga melaporkan bahwa nilai LT_{50} berkorelasi dengan dosis.

Uji Antagonis

Tujuannya adalah untuk mengetahui kemampuan antagonis dari masing-masing cendawan endofit terhadap cendawan patogen tanaman cabai (*Sclerotium rolfsii*) penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman cabai. Pengujian dilakukan dengan metode biakan ganda. Hasil uji antagonis dari 31 isolat cendawan endofit menunjukkan bahwa hanya ada tiga isolat yang mampu menghambat perkembangan cendawan patogen *S. rolfsii*, dengan daya hambat lebih dari 50% (Gambar 5). Rata-rata daya hambat masing-masing isolat cendawan endofit dapat dilihat pada Tabel 5.

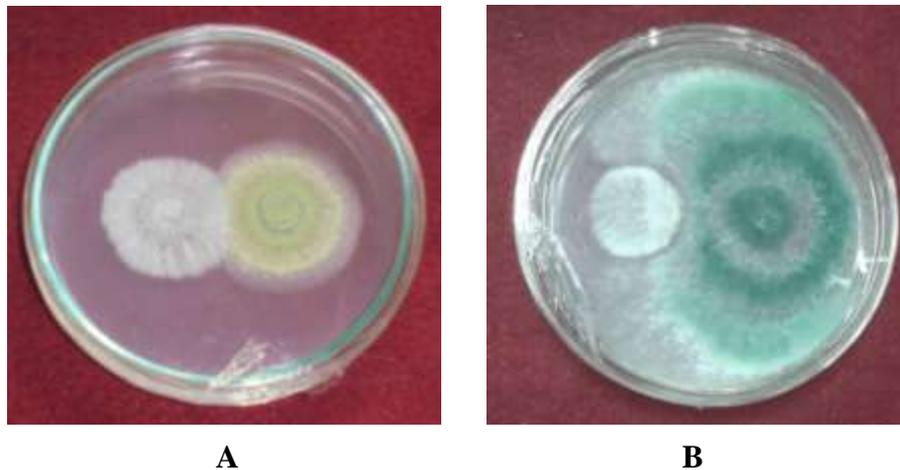
Tabel 5. Uji daya hambat isolat cendawan endofit tanaman cabai terhadap cendawan *S. rolfsii*.

Isolat	Daya hambat (%)
A116	65,40
SD324	75,92
SD327	78,27

Hasil pengamatan uji daya hambat tiga isolat cendawan endofit terhadap *S. rolfsii* yang telah dilakukan di laboratorium menunjukkan bahwa ketiga isolat mampu menghambat perkembangan cendawan patogen dengan daya hambat berkisar antara 65.40-78.27%. Adanya perbedaan daya hambat ketiga isolat yang diuji disebabkan karena adanya perbedaan kecepatan tumbuh dari masing-masing isolat dan kemampuannya berkompetisi dalam mendapatkan nutrisi dari media tumbuh. Menurut Melysa *et al.*, (2013) sifat antagonis muncul dikarenakan adanya persaingan yang terjadi antara dua jenis cendawan yang ditumbuhkan berdampingan. Persaingan ini terjadi akibat adanya kebutuhan yang sama dari masing-masing cendawan, yaitu kebutuhan tempat tumbuh dan nutrisi dari media yang digunakan untuk tumbuh. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Mpika *et al* (2009) dan Husain *et al* (2012) bahwa ada perbedaan daya hambat isolat cendawan antagonis terhadap cendawan patogen *P. palmivora*.

Mekanisme penghambatan jamur antagonis selain kompetisi, juga dapat berupa antibiosis yang ditunjukkan dengan adanya zona bening. Terbentuknya zona bening ini diduga karena adanya senyawa metabolit yang dihasilkan cendawan antagonis dan bersifat antifungal. Menurut Yoza dan Sunarwati, (2010) menunjukkan bahwa cendawan *Trichoderma* mampu memproduksi antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan hifa cendawan patogen. Misalnya *Trichoderma viride* menghasilkan antibiotik gliotoksin dan viridin dan *Trichoderma harzianum* dapat memproduksi enzim β -1, 3 glukonase dan kitinase yang dapat melisis hifa patogen. Enzim yang dihasilkan dapat merusak dinding sel cendawan patogen dan akhirnya akan menyebabkan kematian sel. Aeny *et al.* (2011) melaporkan bahwa keberadaan cendawan patogen akan merangsang *Trichoderma viride* untuk menghasilkan senyawa antibiotik viridin, yang

ditunjukkan oleh adanya pigmen berwarna kuning kecoklatan. Adanya antibiotik ini menyebabkan hifa dan sporangium *P. palmivora* yang bersentuhan dengan koloni *T. viride* mengalami lisis.



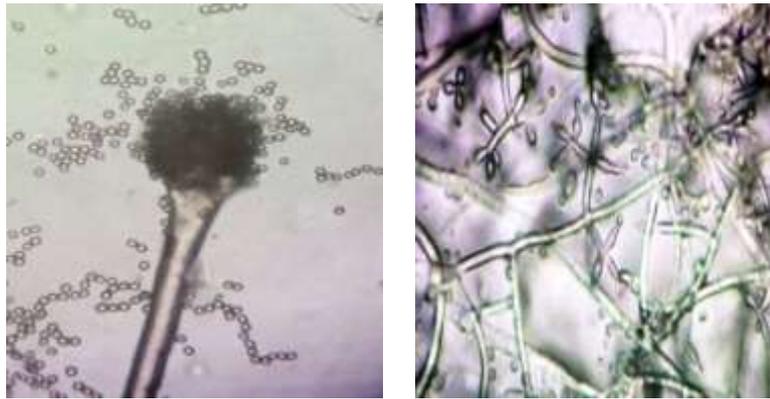
Gambar 5. Isolat cendawan endofit yang tidak bersifat antagonis (A) dan bersifat antagonis (B) terhadap cendawan patogen *S. rolfsii*

Identifikasi Cendawan endofit

Cendawan endofit yang bersifat patogen pada serangga (entomopatogen) dan antagonis terhadap cendawan patogen *S. rolfsii* selanjutnya diidentifikasi. Identifikasi cendawan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis (Gambar 5). Kunci identifikasi yang digunakan adalah kunci Barnett dan Hunter (1972) dan Poinar dan Thomas (1984). Hasil identifikasi cendawan entomopatogen endofit dari berbagai bagian tanaman cabai yang bersifat patogen terhadap serangga tergolong kedalam genus *Aspergillus* dan yang bersifat antagonis tergolong kedalam genus *Trichoderma* (Tabel 6 dan Gambar 6).

Tabel 6.. Karakterisasi morfologi cendawan entomopatogen pada media PDA (14 hsi)

Genus	Warna Koloni	Hifa	Konidia
<i>Aspergillus</i>	Hijau-keputihan	Bersepta, hialin	Bulat, hialin
<i>Trichoderma</i>	Hijau	Bersepta, hialin	bulat,hialin



A

B

Gambar 6. Bentuk mikroskopis cendawan endofit yang patogen pada serangga (A) dan antagonis terhadap cendawan patogen *S. rolfsii* (B)

Aspergillus sp merupakan cendawan yang bersifat kosmopolitan dan ditemukan dimana – mana secara alami. *Aspergillus* sp dapat diisolasi dari tanah, sisa – sisa tanaman lapuk serta di lingkungan udara (Noveriza , 2007). *Aspergillus* sp memiliki reproduksi secara aseksual dengan memproduksi spora yang disebut dengan konidia. Tanada dan Kaya (1993) menyatakan cendawan *Aspergillus* terdiri dari banyak spesies seperti *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. repens*, *A. tamari*, *A. ochraceus*, *A. fumigatus* dan *A. vesicular*. Cendawan ini umumnya saprofit akan tetapi dapat menginfeksi serangga pada rentangan jenis yang luas.

Karakteristik utama dari *Aspergillus* adalah laju pertumbuhannya yang tinggi, warna koloni dan toleransi terhadap temperatur yang tinggi. Noveriza (2007) menyatakan pertumbuhan koloni cendawan *Aspergillus* pada media PDA diinkubasi pada suhu 25⁰C selama 7 hari dapat mencapai diameter koloni 9 cm. Koloni *Aspergillus* terlihat seperti bulu – bulu halus menyerupai bedak yang ditaburkan, warnanya bervariasi tergantung spesies. Secara umum hifa berseptat dan tidak berwarna. konidia bulat dan konidiofornya dimulai dari bagian kaki yang menjadi dasar untuk mendukung hifa dan berakhir pada suatu kumpulan gelembung (*vesicle*). *Vesicle* merupakan kumpulan konidia yang mudah terlepas dan membentuk rantai konidia, dan ini merupakan ciri utama spesies *Aspergillus*.

Aspergillus flavus dan *A. parasiticus* adalah dua spesies dari golongan cendawan yang dapat memproduksi metabolik toksik yang disebut aflatoksin yang bersifat karsinogenik dan mutagenik (Neucere *et al.*, 1992). *Aspergillus flavus*

umunya hanya memproduksi aflatoksin B¹ dan B² (AFB¹ dan AFB²). Sedangkan *A. parasiticus* memproduksi AFB¹, AFB², AFG¹ dan AFG² (Bennet dan Klich, 2004 ; Noveriza, 2007). Hasil penelitian Hamdani (2009) cendawan *Aspergillus* merupakan cendawan yang memiliki patogenesis tertinggi terhadap *C. cramerella* dengan mortalitas 100%.

Trichoderma sp. merupakan jenis jamur yang tersebar luas di tanah, dari Subdivisi Deuteromycotina, Kelas Hyphomycetes, Ordo Moniliales. Secara mikroskopis konidiofor jamur tegak, bercabang banyak dan teratur, agak berbentuk kerucut, konidia berbentuk oval, dan dapat membentuk kladospora. *Trichoderma* mempunyai habitat yang tersebar luas pada berbagai jenis tanah dan substrat organik. Jamur ini terdiri dari berbagai spesies dan strain dengan kriteria yang berbeda-beda. Koloni *Trichoderma* sp dalam media biakan tumbuh dengan cepat, miselium hialin, berseptum dengan banyak percabangan hifa berdinding lembut. Warna koloni ada yang kekuningan, kuning dan hijau. Pada ujung konidiofor terbentuk fialid dengan bentuk seperti botol. Konidia berwarna hijau dan jernih, bentuk konidia sebagian besar bulat (Rifai, 1969; Watanabe, 2002).

Koloni *Trichoderma* pada awal inkubasi akan berwarna putih yang selanjutnya berubah menjadi kuning dan akhirnya berubah menjadi hijau tua pada umur inkubasi lanjut. Konidiumnya berbentuk bulat, agak bulat sampai bulat telur pendek, berukuran (2,8-3,2) x (2,5-2,8) µm dan berdinding halus (Soesanto, 2008).

Cendawan *Trichoderma* spp. merupakan salah satu cendawan saprofit tanah yang hidup bebas, dan memiliki interaksi yang tinggi dalam sistem perakaran, tanah dan di filosfir. *Trichoderma* spp. dilaporkan sebagai agens hayati yang mampu mengendalikan penyakit tanaman karena memiliki beberapa mekanisme antagonisme seperti kompetisi, mikoparasitisme, dan antibiosis. Selain itu, *Trichoderma* spp. juga dapat menghasilkan toksin, enzim, serta mampu menghambat atau mendegradasi enzim yang sangat penting bagi jamur patogen tanaman (Harman *et al.*, 2004).

BAB 5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan :

1. Jumlah isolat cendawan endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman cabai untuk kedua lokasi lebih banyak ditemukan pada daun (38,55%) dibandingkan dengan yang berhasil diisolasi dari cabang (25,30), batang (21,68%) dan akar cabai (14,45%).
2. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa dari 65 isolat yang diuji, 41 isolat (63,07%) bersifat patogen pada serangga (entomopatogen). Mortalitas larva *T. molitor* berkisar antara 2,5-30% . Dari 41 isolat yang bersifat patogen pada serangga, hanya 22 isolat yang mampu mematikan larva *T. molitor* sebesar 15-30 %, sedangkan 19 isolat hanya menghasilkan mortalitas 2,5-12,5 %. Persentase larva yang bersporulasi (mikosis) berkisar antara 11,11-100%.
3. Mortalitas larva *S. litura* setelah aplikasi cendawan endofit meningkat dengan meningkatnya konsentrasi konidia. Pada konsentrasi 10^7 konidia/ml hanya menghasilkan mortalitas larva sebesar 23,33%, dan mortalitas larva meningkat menjadi 64,99% pada konsentrasi 10^9 konidia/ml.
4. Hasil uji antagonis dari 31 isolat cendawan endofit menunjukkan bahwa hanya ada tiga isolat yang mampu menghambat perkembangan cendawan patogen *S. rolfsii*, dengan daya hambat lebih dari 50%.
5. Hasil identifikasi cendawan entomopatogen endofit dari berbagai bagian tanaman cabai yang bersifat patogen terhadap serangga tergolong kedalam genus *Aspergillus* dan yang bersifat antagonis tergolong kedalam genus *Trichoderma*

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopolus, C.J., Mims, C.W., and Black Well, M. 1996. Introductory Mycology Fourth Edition. Jhon Wiley and Sons Inc. New York.
- Ali-Shtayeh, M.S., Mara'I, A.B., Jamous, R.M. 2003. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia* 156(3):235-244.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2015. Produksi, Luas Panen dan produktivitas sayuran di Indonesia. Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. Jakarta.
- Barnett H.L., and Hunter, B.B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. Burges Publishing Company. Minneapolis.
- Barker C.W, and Barker G.M. 1998. Generalist entomopathogens as biological indicators of deforestation and agricultural land use impacts on Waikato soils. *New Zealand Journal of Ecology* 22(2):189-196.
- Bidochka M.J., Kamp A.M and de Croos J.N.A. 2000. Insect pathogenic fungi: from genes to populations. Di dalam: Kronstad JW. editor. *Fungal Pathology*. Netherlands; Kluwer Academic Publishers. Hlm 171-193.
- Bing LA, Lewis LC. 1991. Suppression of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environ Entomol* 20:1207-1211.
- Boucias D.G., and Pendland J.C. 1998. *Principles of Insect Pathology*. London:Kluwer Academic Publisher
- Budiprakoso B. 2010. Pemanfaatan Cendawan Endofit Sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman Padi Terhadap Wereng Coklat *Nilavaparta lugens*. Bogor .IPB.
- Irmawan D.E. 2007. Kelimpahan dan Keragaman Cendawan Endofit pada Beberapa Varietas Padi Kuningan, Tasik Malaya dan Subang, Jawa Barat. [Skripsi]. Bogor. Fakultas Pertanian . IPB
- Petrini O. 1992. Fungal endhophytes of tree leaves. *di dalam* : Andrews JH, Hirano SS, editor. *Microbial Ecology of Leaves*. Berlin : Springer Verlag. hlm : 179 – 196.
- Tanada, Y., dan Kaya, H.K. 1993. *Insect Pathology*. San Diego: Academic Press, INC. Harcourt Brace Jovanovich, Publisher. 666 hlm.
- Trizelia. 2005. Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes): Keragaman Genetik, Karakterisasi Fisiologi, dan Virulensinya terhadap *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae). [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Trizelia dan Winarto 2012. Keanekaragaman dan Karakterisasi Cendawan Entomopatogen Endofit Pada Tanaman Kakao Yang Berpotensi Mengendalikan Hama *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillaridae). [Laporan Penelitian Fundamental]. Universitas Andalas: Padang.
- Vega FE, Posada F, Aime MC, Pava-Ripoll M, Infante F, Rehner SA. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biol. Contr.* 46: 72-82.
- Vega FE. 2008. Insect Pathology and fungal endophytes. *J. Invert. Pathol.* 98:277-279

- Wagner BL, Lewis LC. 2000. Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl Environ Microbiol* 66(8):3468-3473.
- Waruwu, A.A.S. 2015. Senyawa Metabolit cendawan Endofit sebagai Alternatif Pengendalian Efektif Cendawan patogen Terbawa Benih Padi. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.