

EKSPLORASI JAMUR ENDOFIT DAUN KACANG TANAH *Arachis hypogaea* L. DAN UJI ANTAGONIS TERHADAP PATOGEN *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Virgin Ayu Presty Mindarsusi, Syamsuddin Djauhari, Abdul Cholil

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jln. Veteran, Malang 65145

ABSTRACT

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is plant that has many benefits of all parts of the plant. But invasive disease caused by *Sclerotium rolfsii* can reduce the production of peanuts. Therefore, a strategy and a new way to control the disease environmentally friendly control. There were 17 isolates of endophytic fungi that isolated from the peanut plant's leaves. The genus that has been identified were *Cladosporium* sp. 1, *Cladosporium* sp. 2, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp. 1, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp. 3, *Rhizoctonia* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, and 7 isolates were not identified. Isolates that not identified were EK 1, EK 2, EK 3, EK 4, EK 5, EK 6, and EK 7. The result from Duncan test, there are 14 isolates that has potential as antagonist fungus. The highest presentation of antagonist test are from EK6 isolate 63,33% and *Aspergillus* sp.2 59,09%.

Keywords: Endophytic fungi, *Sclerotium rolfsii*, antagonist test, peanut.

ABSTRAK

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) termasuk tanaman yang semua bagian tanamannya memiliki banyak manfaat. Namun serangan penyakit akibat *Sclerotium rolfsii* dapat menurunkan produksi kacang tanah. Oleh karena itu, strategi dan cara baru untuk mengendalikan penyakit yang ramah lingkungan adalah menggunakan jamur endofit. Diperoleh 17 isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun tanaman kacang tanah, yaitu terdiri dari 10 isolat teridentifikasi antara lain *Cladosporium* sp. 1, *Cladosporium* sp. 2, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp. 1, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp. 3, *Rhizoctonia* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, serta 7 isolat tidak teridentifikasi antara lain isolat EK 1, isolat EK 2, isolat EK 3, isolat EK 4, isolat EK 5, isolat EK 6, isolat EK 7. Berdasarkan uji Duncan didapatkan 14 isolat yang berpotensi sebagai antagonis dan persentase daya antagonis tertinggi pada isolat EK6 sebesar 63,33%.

Kata kunci: Jamur endofit, *Sclerotium rolfsii*, uji antagonis, kacang tanah.

PENDAHULUAN

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan salah satu komoditi tanaman pangan yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena kandungan gizinya terutama protein dan lemak yang tinggi, kacang tanah banyak digunakan sebagai bahan makanan dan bahan baku industri,

(Lumban 2013). Namun serangan penyakit dapat menurunkan produktifitas kacang tanah, salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh patogen *Sclerotium rolfsii*. *Sclerotium rolfsii* dapat menyebabkan penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah (Prasati, 2013), Buhaira, (2009) menyebutkan pada daun yang letaknya dekat dengan tanah jamur

membentuk bercak-bercak berwarna coklat muda dengan cincin sepusat berwarna gelap, garis tengah 2 cm, di tengah-tengah bercak pada sisi bawah daun biasanya terdapat sclerotia berwarna coklat muda. Dalam penelitian (Magenda, 2011) juga ditemukan sclerotium pada buah kacang tanah. Sampai saat ini masih banyak digunakan pestisida kimia untuk pengendalian hama dan penyakit pada tanaman kacang tanah. Oleh karena itu, dengan mengingat dampak dari pestisida kimia tersebut, perlu dipikirkan cara pengendalian yang aman bagi lingkungan, (Tenrirawe, 2008). Salah satu alternatif pengendalian adalah secara hayati menggunakan jamur endofit yang bersifat antagonistik (Sudantha dan Abadi, 2007). Mikroorganisme endofit adalah salah satu kelompok mikroorganisme yang hidup bersimbiosis dengan tanaman. Endofit merupakan mikroorganisme yang sebagian atau seluruh hidupnya berada di dalam jaringan hidup tanaman inang (Petrini, 1992).

METODE

Penelitian dilakukan secara *in-vitro* di Laboratorium Mikrobiologi jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sejak April sampai Desember 2014. Penelitian menggunakan dua metode yaitu eksplorasi dan eksperimental. Metode eksplorasi dilakukan dengan cara melalui titik survei diambil daun tanaman kacang tanah di lahan milik Balai Benih Induk Palawija yang berlokasi di Jalan Raya Randu Agung, Singosari, Kabupaten Malang. Sedangkan metode eksperimental dilakukan melalui percobaan uji antagonis jamur endofit yang ditemukan dengan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* pada media PDA. Setiap perlakuan diulang tiga kali.

Isolasi Patogen *Sclerotium rolfsii*

Inokulum *Sclerotium rolfsii* diperoleh dengan cara diisolasi langsung dari tanaman kacang tanah yang menunjukkan gejala. Tanaman yang sakit akan layu dan menguning perlahan – lahan pada pangkal batang dan permukaan tanah didekatnya terdapat benang – benang jamur berwarna putih seperti bulu. Benang-benang ini kemudian membentuk sclerotina, atau gumpalan benang, yang mula-mula berwarna putih, akhirnya menjadi coklat seperti biji sawi (Semangun, 1991). Patogen diisolasi dari batang bagian bawah tanaman kacang tanah yang terserang *Sclerotium rolfsii* dilapangan. Proses isolasi dilakukan dengan cara bagian tanaman yang sakit permukaannya dicuci dengan air mengalir, kemudian memotong jaringan tanaman dengan setengah bagian sakit dan setengah bagian sehat. Selanjutnya, permukaan potongan jaringan tanaman disterilisasi dengan NaOCl 2% selama 1 menit, kemudian alkohol 70% selama 1 menit dan dibilas dengan aquades sebanyak dua kali dengan masing – masing ulangan selama 1 menit. Lalu ditiriskan pada tisu steril sampai benar – benar kering. Setelah kering, potongan jaringan tanaman tersebut ditanam pada media PDA. Kemudian diinkubasikan selama 4 – 7 hari.

Isolasi Jamur Endofit

Jamur endofit daun kacang tanah diisolasi dari daun yang sehat dilakukan sterilisasi dengan cara dicuci dengan air mengalir kemudian dikering anginkan, direndam alkohol 70% selama 1 menit, rendam dengan NaOCl 4% selama 30 detik, selanjutnya dicelupkan kedalam alkohol 70% selama 30 detik, kemudian direndam aquades steril selama 3 menit dan diulang 3 kali, kering anginkan. Aquades bilasan terakhir diambil 1ml dan ditanam pada media PDA hal ini berfungsi sebagai kontrol. Kemudian potong sampel dengan ukuran 1cm², tanam pada

media PDA dan diinkubasi selama 2 minggu.

Pemurnian

Jamur yang tumbuh kemudian dipurifikasi dengan cara dipisahkan setiap bentuk koloni. Masing – masing jamur tersebut diambil dengan jarum ose dan ditumbuhkan lagi pada cawan petri berisi media PDA dan diberi tanda kemudian diinkubasikan pada suhu kamar. Prinsip dari isolasi mikroba yang dikemukakan oleh (Mulyani, 1991) adalah memisahkan suatu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari jenis mikrobia tercampur, dengan menumbuhkan pada media padat.

Pembuatan Preparat

Untuk membuat preparat jamur, menyiapkan *object glass*, *coverglass*, dan tisu basah yang steril. Kemudian memotong media PDA dan diletakkan diatas *object glass*, potongan jamur diinokulasikan pada bagian PDA menggunakan jarum ose. Tutup potongan media dengan *cover glass* kemudian di *squash*. Preparat diletakkan pada wadah yang telah diberi alas tisu basah dan diinkubasi selama 2 sampai 3 hari.

Identifikasi Jamur Endofit

Jamur yang sudah dimurnikan dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis meliputi kecepatan pertumbuhan, warna koloni, tekstur koloni, dan persebaran koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi hifa, konidiofor, fialid, dan konidia. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada pengamatan hari terakhir (5 – 7hari) menggunakan mikroskop. Hasil pengamatan tersebut digunakan untuk identifikasi berdasarkan buku identifikasi *Illustrated Genere of Imperfect Fungi*

fourth ed (Barnet dan Hunter, 1960) dan Pengenalan Kapang Tropik Umum (Gandjar *et al.*, 1999).

Uji Antagonis Isolat Jamur Endofit dengan Jamur *Sclerotium rolfsii*

Metode uji antagonis isolat jamur endofit dengan *Sclerotium rolfsii* secara *in-vitro* mengikuti metode yang dilakukan oleh Achmad dan Yulisman (2011), yaitu metode oposisi langsung. Metode oposisi langsung dilakukan dalam cawan petri berdiameter 9 cm yang berisi media PDA. Inokulum jamur endofit dan *Sclerotium rolfsii* ditanam berdampingan pada media dalam cawan petri masing – masing berjarak 3 cm dari tepi cawan, sehingga jarak antar inokulum 3 cm. Presentase daya hambat jamur antagonis dapat diketahui melalui pertumbuhan koloni yang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$I = \frac{(r_1 - r_2)}{r_1} \times 100\%$$

Keterangan:

I = Presentase penghambatan

R1 = Jari-jari koloni patogen yang arah pertumbuhannya berlawanan dengan jamur endofit.

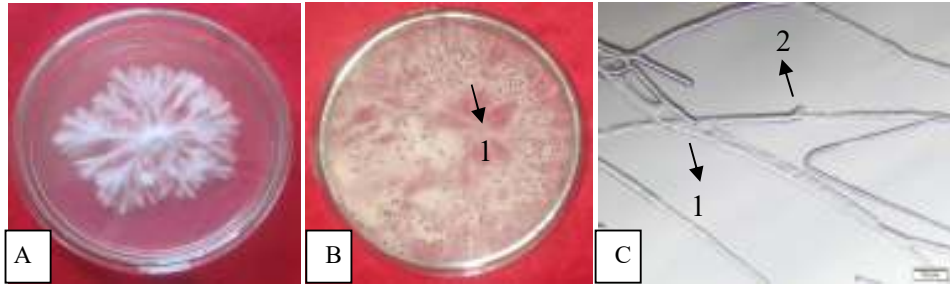
R2 = Jari-jari koloni patogen yang arah pertumbuhannya mendekati koloni jamur antagonis.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada perlakuan secara *in-vitro* adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan uji lanjutan Duncan pada taraf kesalahan 5% (0,05). Perlakuan pada uji antagonis secara *in-vitro* dilakukan sebanyak jamur endofit yang ditemukan dan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya antagonis dari jamur endofit yang ditemukan terhadap *Sclerotium rolfsii*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Jamur *Sclerotium rolfii*



Gambar 1. Biakan murni *Sclerotium rolfii*, A. Biakan umur 4 hsp, B. Sclerotia (1), C. Mikroskopis *Sclerotium rolfii*, hifa (1), klam koneksi (2)

Jamur *Sclerotium rolfii* memiliki ciri makroskopis khusus yaitu berwarna putih, bentuk koloni seperti bulu dan terdapat gumpalan padat seperti kapas, Fichtner (2006). Pada dasarnya ada dua jenis hifa yang dihasilkan *S. rolfii* yaitu kasar dan lurus, miselium yang terdiri dari benang – benang berwarna putih, tersusun seperti bulu dan kapas. Magenda (2011) juga mengungkapkan bahwa *Sclerotium rolfii* membentuk koloni dengan miselium berwarna putih seperti kapas kompak dan padat. Pada saat isolat berumur 9 hari mulai muncul sclerotia dengan bentuk bulat dan memiliki tekstur licin dan keras, sclerotia merupakan bentuk pertahanan hidup dari *Sclerotium rolfii*, mula – mula sclerotia berwarna putih kemudian menjadi coklat muda dan warnanya semakin hari semakin pekat hingga mendekati hitam. Menurut Ferreira & Boley (1992), ukuran sklerotia mempunyai banyak bentuk yang dihasilkan oleh miselium, bulat dan putih ketika muda kemudian menjadi coklat gelap sampai hitam. Sesuai dengan Hayati (2009) yang mengungkapkan bahwa *Sclerotium rolfii* mempertahankan diri dari satu musim ke musim berikutnya dengan sclerotia, dan dapat bertahan 6 – 7 tahun.

Hasil Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Daun Kacang Tanah

Hasil isolasi dan identifikasi jamur endofit dari eksplorasi pada jaringan daun kacang tanah diperoleh 17 isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun tanaman kacang tanah, yaitu terdiri dari 10 isolat teridentifikasi antara lain *Cladosporium* sp. 1, *Cladosporium* sp. 2, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp. 1, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp. 3, *Rhizoctonia* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, serta 7 isolat tidak teridentifikasi antara lain isolat EK 1, isolat EK 2, isolat EK 3, isolat EK 4, isolat EK 5, isolat EK 6, isolat EK 7.

Hasil Uji Antagonis dan Persentase Penghambatan Jamur Endofit terhadap *Sclerotium rolfii*

Uji antagonis jamur endofit terhadap *Sclerotium rolfii* dilakukan dengan metode oposisi langsung dalam media PDA yang menggunakan cawan petri 9 cm secara *In-vitro*. Pengamatan daya hambat jamur endofit dilakukan sejak 1 hari setelah inokulasi (hsi) sampai 7 hsi. Perlakuan uji antagonis sebanyak 17 perlakuan sesuai dengan jamur endofit yang ditemukan diulang 3 kali ulangan, bertujuan untuk memastikan potensi daya hambat jamur endofit terhadap *Sclerotium rolfii*.

Tabel 1. Uji lanjut persentase penghambatan jamur endofit terhadap pertumbuhan patogen *Sclerotium rolfsii* secara in-vitro pada 6 hsp

Perlakuan Endofit	Rerata Presentase Hambatan (%)*
<i>Cladosporium</i> sp. 2	-100.00 a
<i>Cladosporium</i> sp. 1	-77.78 b
EK 1	-75.56 b
Control	0.00 c
EK 3	23.33 d
EK 5	24.44 d
<i>Penicillium</i> sp	27.78 d
EK 2	30.00 de
<i>Curvularia</i> sp	30.00 de
<i>Fusarium</i> sp. 1	30.00 de
<i>Fusarium</i> sp. 2	31.11 de
EK 4	34.44 de
<i>Aspergillus</i> sp. 3	37.96 de
<i>Aspergillus</i> sp. 1	45.56 ef
EK 6	55.55 fg
<i>Rhizoctonia</i> sp	57.78 fg
<i>Aspergillus</i> sp. 2	59.08 fg
EK 7	63.33 g

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil perlakuan yang tidak berbeda nyata pada uji duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil pengamatan jamur endofit yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* dimulai dari yang memiliki presentase hambatan terbesar adalah jamur EK 7 sebesar 63,33%, *Aspergillus* sp.2 59,08%, *Rhizoctonia* sp 57,78%, jamur EK6 55,55%, *Aspergillus* sp.1 45,56%, *Aspergillus* sp.3 37,96% , EK4 34,44% , *Fusarium* sp.2 31,11%, *Fusarium* sp.1 30,00%, *Curvularia* sp. 30,00%, jamur EK 2 30,00%, *Penicillium* sp 27,78%, jamur EK 5 24, 44%, dan jamur EK 3 23,33%. Mekanisme antagonis dari ke 14 isolat jamur endofit tersebut menekan pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* dengan mekanisme kompetisi. Mekanisme kompetisi tersebut ditunjukkan dengan lambatnya pertumbuhan jari-jari patogen yang menuju jamur endofit yang diujikan. Hal tersebut sesuai dengan Octriana (2011), bahwa kompetisi antara agens hayati dengan patogen menyebabkan patogen

tidak memiliki ruang untuk tempat hidupnya, sehingga pertumbuhannya terhambat. Sedangkan jamur endofit yang tidak menghambat pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* adalah jamur jamur EK 1 dengan nilai hambatan -100%, *Cladosporium* sp.1 -77,78%, dan *Cladosporium* sp.2 -75,56%. Nilai hambatan negatif karena pertumbuhan dari masing-masing jamur endofit tersebut sangat lambat sehingga jamur *Sclerotium rolfsii* tidak terdesak tetapi tumbuh dan memparasit koloni jamur EK 1, *Cladosporium* sp1, dan *Cladosporium* sp2, sehingga jamur EK 1, *Cladosporium* sp.1, dan *Cladosporium* sp.2 pertumbuhannya tertekan dan tidak optimal.

Pengamatan daya hambat dianlakukan mulai hari pertama setelah perlakuan (hsp) sampai dengan 7 hsp, yaitu dengan menghitung persentase hambatan yang terjadi. Dan berdasarkan

perhitungan pada 6 hsp didapatkan hasil yang optimal. Hasil rerata persentase hambatan jamur endofit terhadap patogen *Sclerotium rolfsii* pada hari ke 6 hsp (Tabel 1). Hal ini dikarenakan manfaat dari jamur endofit tidak hanya sebagai antagonis tetapi juga untuk menunjang pertumbuhan tanaman, anti virus, anti bakteri, dan lain sebagainya. Berbagai senyawa fungsional dapat dihasilkan oleh jamur endofit. Senyawa yang dihasilkan jamur endofit tersebut dapat berupa senyawa anti kanker, antivirus, antibakteri, antifungi, hormon pertumbuhan tanaman, insektisida dan lain – lain (Noverita dkk, 2009). Pada supernatan kapang endofit *Cladosporium* sp. media fermentasi PDB dan PDY lebih besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* (Kusumaningtyas. 2010).

KESIMPULAN

Terdapat 17 isolat jamur endofit yang berhasil diisolasi dari daun tanaman kacang tanah, yaitu terdiri dari 10 isolat teridentifikasi yaitu *Cladosporium* sp.1, *Cladosporium* sp.2, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp. 1, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp. 3, *Rhizoctonia* sp, *Curvularia* sp, *Fusarium* sp. 1, *Fusarium* sp. 2, serta 7 isolat tidak teridentifikasi yaitu isolat EK 1, isolat EK 2, isolat EK 3, isolat EK 4, isolat EK 5, isolat EK 6, isolat EK 7. Daya antagonis jamur endofit terhadap pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* bervariasi antara -100% sampai 63,33%. Hasil pengujian antagonis 17 isolat jamur yang ditemukan terhadap patogen *Sclerotium rolfsii*, yaitu 14 isolat jamur endofit mampu menekan pertumbuhan patogen *Sclerotium rolfsii* dan ditemukan tiga isolat tidak mampu menekan pertumbuhan patogen *Sclerotium rolfsii*. Ketiga isolat jamur tersebut adalah *Cladosporium* sp.1, *Cladosporium* sp.2, dan jamur isolat EK 1.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad dan D. Yulisman. 2011. Potensi Dua Isolat Lokal *Pleurotus* sp. sebagai Antagonis terhadap *Ganoderma* sp. Jurnal Littri. 17(4): 174-178
- Buhaira, A .2009. Studi Pengaruh Aplikasi Berbagai Konsentrasi *Sclerotium Rolfsii* Terhadap Kehilangan Hasil Pada Kacang Tanah. Jurnal agronomi. 13 (2) : 1 – 4
- Ferreira, S.A. dan R.A Boley. 1992. *Sclerotium rolfsii*. Department of Plant Path: Univ of Hawaii
- Fichtner, E. J. 2006. *Sclerotium rolfsii* .Kudzu of the Fungal World.
- Haryono, semangun. 1991. Penyakit – Penyakit Tanaman Pangan Di Indonesia. Gajah Mada Press : Yogyakarta
- Hayati, I. 2009. Evaluasi Penyakit Rebah Kecambah Pada Kacang Tanah Yang Diaplikasikan Inokulum *Sclerotium rolfsii* Sacc. Pada Berbagai Konsentrasi. Jurnal agronomi. 13 (1) : 33 – 37
- Kusumaningtyas, E., M. Natasia., dan Darmono. 2010. Potensi Metabolit Kapang Endofit Rimpang Lengkuas Merah Dalam Menghambat Pertumbuhan *Eschericia colidan Staphylococcus aureus* Dengan Media Fermentasi *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan *Potato Dextrose Yeast* (PDY). Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2010 : 819 – 824.
- Lumban, B., Damanik ,B., dan Ginting J. 2013. Respons Pertumbuhan dan

- Produksi Kacang Tanah Terhadap Bahan Organik *Tithonia diversifolia* dan Pupuk SP-36. Jurnal online agroekoteknologi. 1 (3) : 725 – 731
- Electrophoresis. Mycological Research 96: 723–733
- Magenda, S., F.Kandou., dan S. Umboh. 2011. Karakteristik Isolat Jamur *Sclerotium rolfsii* dari Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* Linn.). J Bioslogos. 1(1) :1-7
- Prasati, O.H., Kristanti, I., dan Nurhatika, S. 2013 Pengaruh Mikoriza *Glomus fasciculatum* Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kacang Tanah yang Terinfeksi Patogen *Sclerotiumrolfsii*. Jurnal sains dan seni pomits. 2(2) :74 – 78
- Noverita., Dinah, F., dan Ernawati S. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun dan Rimpang *Zingiber ottensii* Val. Jurnal Farmasi Indonesia. 4 (4) :171 -176.
- Sudantha, I.M dan A.L Abadi. 2007. Identifikasi Jamur Endofit dan Mekanisme Antagonismenya terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp vanillae Pada Tanaman Vanili. Agroteksos. 17 (1).
- Octriana, L. 2011. Potensi Agen Hayati dalam Menghambat Pertumbuhan *Phytium* sp. secara In vitro. Buletin Plasma Nutfah. 17(2): 138-142.
- Tenrirawe, A dan A.H. Talanca. 2008. Bioekologi dan Pengendalian Hama dan Penyakit Utama Kacang Tanah. Prosiding : 464 – 471.
- Petrini. 1992. Taxonomy of Some *Xylaria* Species and Xylariaceous Endophytes by Isozyme