

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
 DAN PENYEGAR**
 Journal of Industrial and Beverage Crops
 Volume 5, Nomor 3, November 2018

**SELEKSI MIKROB FILOPLAN DAN ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI
 PENYAKIT GUGUR DAUN KARET (*Corynespora cassiicola*)**

**SELECTION OF PHYLLOPLANE AND ENDOPHYTE MICROBES AS BIOCONTROL
 FOR RUBBER LEAF FALL DISEASE (*Corynespora cassiicola*)**

* Khaerati, Yulius Fery, dan Rusli

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
 Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
khaeratirahim@gmail.com

(Tanggal diterima: 4 Juli 2018, direvisi: 20 September 2018, disetujui terbit: 30 November 2018)

ABSTRAK

Penyakit gugur daun pada karet disebabkan oleh jamur *Corynespora cassiicola* dapat menurunkan produktivitas secara signifikan. Infeksi *C. cassiicola* menyebabkan daun gugur sepanjang tahun, keterlambatan matang sadap, penurunan produksi, dan kematian pada klon yang rentan. Tujuan penelitian adalah memperoleh mikroba filoplan dan endofit potensial yang dapat menekan *C. cassiicola* patogen penyakit gugur daun karet. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi, mulai bulan Januari hingga Desember 2016. Isolat yang digunakan merupakan mikroba filoplan dan endofit hasil eksplorasi dari daerah Jawa Barat dan Kalimantan Barat. Mikroba yang diperoleh diseleksi dengan metode oposisi langsung dengan *C. cassiicola*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk menguji antagonisme jamur dan bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola*. Hasil identifikasi jamur *Corynespora* sp., konidia tunggal, berwarna cokelat muda, berbentuk seperti tongkat, pada bagian pangkal membengkak, dan bersepta 2–14. Hasil uji daya hambat diperoleh 42 isolat jamur dan 19 isolat bakteri yang berpotensi menghambat *C. cassiicola*. Enam isolat jamur diantaranya memiliki daya hambat $\geq 90\%$ yang terdiri atas dua isolat jamur filoplan (DTJF11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9), dengan mekanisme penghambatan lisis, mikoparasitisme, kompetisi dan antibiosis. Hasil identifikasi menunjukkan DTJF11 sebagai *Trichoderma asperellum*, CPSR7 sebagai *Talaromyces pinophilus*, dan CEBPM15 sebagai *Amanita tenuifolia*. Sedangkan isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agens hayati adalah isolat BP7, L3, BP3, BP4, BP5, dan BP6, yang memiliki daya hambat antara 28,54%–40,94%, dengan mekanisme antibiosis.

Kata kunci: Agens hayati, *Corynespora cassiicola*, filoplan, endofit, karet

ABSTRACT

Leaf fall disease in rubber caused by *Corynespora cassiicola* fungi significantly decreases rubber productivity. *C. cassiicola* causes leaves to fall all year round, a delay in the tapping of immature rubber plants, yield decrease of producing plants, and even death of susceptible clones. The study aimed to obtain phylloplane and endophytic microbes potentially to inhibit the disease, was conducted from January to December 2016. The study used randomized complete design to assess antagonistic fungi and phylloplane and endophytic bacterias toward *C. cassiicola* in isolates obtained through exploration in West Java and West Kalimantan. Pathogen isolation showed *Corynespora* sp with pale brown color, single conidia which slightly bended, shaped like a stick that is swollen at the base, with 2–14 septa. Inhibitory analysis found 42 fungi isolates and 19 bacteria isolates potentially inhibiting *C. cassiicola*. Six fungi isolates have an inhibitory ability of $\geq 90\%$, consisting of two phylloplane fungi isolates (DTJF11 and CPSR7) and four endophytic fungi (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, and CEPR9) with lysis, mycoparasitism, competition, and antibiosis inhibitory mechanism. The identification showed fungi isolate of DTJF11 is classified as *Trichoderma asperellum*, CPSR7 as *Talaromyces pinophilus*, and CEBPM15 as *Amanita tenuifolia*. Potential bacterial isolates as biological agents are BP7, L3, BP3, BP4, BP5 and BP6 isolates, which have inhibitory power of 28.54%–40.94%, with antibiosis inhibition mechanism.

Keywords: Biological agents, *Corynespora cassiicola*, endophytic, phylloplane, rubber

PENDAHULUAN

Penyakit gugur daun yang disebabkan jamur *Corynespora cassiicola* merupakan penyakit penting yang secara signifikan menurunkan produktivitas tanaman karet. *C. cassiicola* menyebabkan daun gugur terus menerus sepanjang tahun sehingga tanaman menjadi gundul. Hal ini dapat menyebabkan keterlambatan matang sadap pada tanaman karet belum menghasilkan, penurunan hasil pada karet yang sudah menghasilkan, dan bahkan tanaman mati pada klon yang rentan (Jinji *et al.*, 2007). Serangan penyakit tersebut telah mengakibatkan kerugian pada beberapa negara penghasil karet alam, diantaranya Malaysia, Thailand, Sri Lanka, India, Afrika, dan Indonesia (Daslin, 2013). Pada tahun 1985 terjadi epidemi di Sri Lanka, menyerang klon RRIC 103 yang mengakibatkan kurang lebih 4.500 ha tanaman karet rusak berat (Fernando, Jayasinghe, Wijesundera, & Siriwardena, 2011).

Penyakit gugur daun *C. cassiicola* menyerang beberapa klon anjuran di Indonesia pada tahun 1980-an (Situmorang & Budiman, 1984 dalam Situmorang, 2002). Pada tahun 1999–2000 terjadi serangan pada klon RRIM 600 di daerah Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, dan Lampung, GT1 di Sumatera Utara, PR 261 di Riau, serta BPM 24 di sentra perkebunan karet (Situmorang, 2002). Saat ini, serangan gugur daun telah menyerang di 7 provinsi, yaitu: Aceh, Jambi, Lampung, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan. Serangan tertinggi di daerah Kalimantan Barat dengan luas serangan 15.476 ha, diikuti daerah Lampung 3.832 ha, dan Jawa Barat 1.099,75 ha (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2015).

Penyakit gugur daun *C. cassiicola* menyerang tanaman karet pada semua tingkatan umur, baik pada tanaman di pembibitan maupun tanaman menghasilkan. Pengendalian yang banyak dilakukan adalah menggunakan fungisida sintetik. Penggunaan fungisida sintetik tidak bersifat ramah lingkungan. Salah satu teknik pengendalian yang ramah lingkungan adalah dengan memanfaatkan agens hayati mikroba filoplan dan endofit yang bersifat antagonistik.

Mikroba filoplan merupakan mikroorganisme yang tumbuh/hidup pada permukaan daun tanaman. Permukaan daun merupakan habitat yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme antagonis sehingga dapat menghambat perkembangan patogen dengan cara mengeluarkan antibiotik melalui proses sekresi, serta menjadi pesaing dalam memperoleh nutrisi (Thakur & Harsh, 2014). Jamur filoplan *Trichocladium* dan *Aspergillus niger* efektif mengendalikan *C. cassiicola* dalam skala laboratorium (Evueh, Okhuoya, Osemwegie, Attitalla, & Ogebor, 2011) dan bakteri filoplan *Ochrobactrum*

anthropi untuk penyakit cacar daun teh (Sowndhararajan, Marimuthu, & Manian, 2013).

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman. Hubungan antara endofit dan tanaman inangnya adalah hubungan saling menguntungkan (Yuan *et al.*, 2017). Vurukonda, Giovanardi, & Stefani (2018) menyatakan bahwa endofit dapat berperan meningkatkan pertumbuhan dan sebagai agens pengendali hama dan penyakit. Mikroba endofit menekan penyakit dengan cara menginduksi tanaman untuk memproduksi senyawa metabolit. Senyawa metabolit tersebut berperan untuk mengaktifkan ketahanan tanaman melalui peningkatan aktivitas peroksidase dan polifenol oksidase (Marwan, 2011), asam salisilat (Tondok, 2012), dan antibiotik (Harni, Amaria, Khaerati, & Taufiq, 2016). Aplikasi mikroba endofit dalam menekan perkembangan penyakit telah banyak dilaporkan oleh para peneliti diantaranya jamur endofit *Xylariaceae* dan *C. gambosa* dalam menekan penyakit busuk buah pada kakao (Tondok, 2012), jamur endofit CMS8, CMI16, bakteri endofit BMS21, dan BLI11 dalam menekan serangan patogen penyakit kuning pada lada (Ropalia, 2015). Penelitian bertujuan memperoleh mikroba filoplan dan endofit potensial yang dapat menekan *C. cassiicola* patogen penyakit gugur daun karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi Jawa Barat, mulai bulan Januari sampai Desember 2016. Sampel daun karet diperoleh dari hasil eksplorasi di daerah Kebun Percobaan (KP) Pakuwon Parungkuda, Jawa Barat dan Kabupaten Landak, Kalimantan Barat.

Isolasi Jamur dan Bakteri Filoplan dan Endofit *Isolasi jamur dan bakteri filoplan*

Jamur dan bakteri filoplan diisolasi dari daun tanaman karet yang sehat, dengan menggunakan metode Batool, Rehman, & Hasnain (2016) dan Sowndhararajan *et al.* (2013). Sampel daun karet dicuci bersih, kemudian 10 gr sampel daun dimasukkan ke dalam 100 ml air steril, digoyang menggunakan *rotary shaker* (80 rpm; 30 menit), selanjutnya dibuat pengenceran berseri sampai pengenceran 10^{-3} . Pada isolasi jamur, suspensi dengan konsentrasi 10^{-1} dan 10^{-2} masing-masing diambil sebanyak 100 μ l, lalu ditumbuhkan pada media *water agar* (WA) dan *potato dextrose agar* (PDA), sedangkan untuk isolasi bakteri suspensi dengan konsentrasi 10^{-2} dan 10^{-3} ditumbuhkan pada media *trypticase soy agar* (TSA). Inkubasi dilakukan selama 24–36 jam. Jamur dan bakteri

yang ditemukan kemudian dimurnikan menggunakan medium PDA dan TSA.

Isolasi jamur dan bakteri endofit

Jamur endofit diisolasi dari daun karet yang sehat (bebas serangan patogen) menggunakan metode Kalyanasundaram, Nagamuthu, & Muthukumaraswamy (2015) yang telah dimodifikasi. Sampel daun dicuci bersih dengan air mengalir dan dipotong kecil 1–2 cm. Kemudian permukaan daun disterilkan dengan alkohol 70% selama 1 menit, NaOCl (natrium hipoklorit) 2% selama 2 menit, dan dibilas dengan akuades steril 3 kali, kemudian daun dikeringanginkan di atas tisu steril. Bagian sisi daun yang mengalami perubahan warna menjadi coklat dipotong dalam kondisi aseptik. Potongan daun ditumbuhkan pada media PDA dan WA sebanyak 5–6 potongan dan diinkubasi pada suhu ruang. Sebelum potongan daun ditumbuhkan perlu terlebih dahulu dilakukan deteksi sterilisasi permukaan, caranya potongan daun dioleskan pada petri berisi media PDA. Keberhasilan sterilisasi permukaan daun ditandai dengan media tidak ditumbuhi jamur atau bakteri kontaminan.

Isolasi bakteri endofit sama dengan proses isolasi jamur endofit yaitu menggunakan metode Hye, Anand, & Chun (2014) yang dimodifikasi. Daun ditimbang sebanyak 5 g dan digerus sampai hancur menggunakan mortar steril. Ekstrak daun ditambah 9 ml akuades steril kemudian dilakukan pengenceran secara berseri sampai 10^{-3} . Sebanyak 100 μ L suspensi dari pengenceran 10^{-3} ditumbuhkan pada media 20% TSA dengan metode sebar dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Koloni tunggal pada media TSA dimurnikan dan diseleksi secara morfologi.

Isolasi Jamur Patogen *Corynespora cassiicola*

C. cassiicola diisolasi dari daun karet yang terserang penyakit gugur daun (bercak hitam pada tulang daun, kemudian berkembang seperti tulang ikan, daun berubah warna menjadi kuning atau coklat kemerahan) yang diperoleh dari Pakuwon, Jawa Barat. Isolasi dilakukan berdasarkan metode Jayasuriya & Thennakoon (2007) yang dimodifikasi. Daun bergejala terserang *C. cassiicola* dibersihkan dengan air mengalir, disterilisasi permukaannya menggunakan ethanol 70% selama 1 menit, larutan hipoklorit 1% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali, selanjutnya dikering anginkan. Bagian yang menunjukkan gejala khas (di perbatasan sehat dan sakit) dipotong dan diletakkan pada media WA dan PDA 20%. Patogen *C. cassiicola* yang tumbuh di media selanjutnya dimurnikan pada media PDA. Jamur yang sudah murni diidentifikasi dengan melihat bentuk konidia menggunakan mikroskop, hasil yang didapat dicocokkan dengan buku identifikasi Barnett & Hunter (2006) dan Seifert *et al.* (2011).

Selanjutnya dilakukan uji *Postulat Koch* pada daun karet muda yang berwarna hijau.

Uji Antagonisme Jamur Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Uji antagonis jamur filoplan dan endofit hasil isolasi dari daun karet terhadap *C. cassiicola* dilakukan secara makroskopis menggunakan metode *dual culture* pada media PDA (Campanile *et al.*, 2007 dalam Rabha, Naglot, Sharma, Gogoi, & Veer, 2014). Sebanyak 294 isolat jamur yang terdiri dari 184 isolat filoplan dan 110 isolat endofit diuji terhadap *C. cassiicola*. Jamur *C. cassiicola* dan jamur filoplan atau endofit berumur 7 hari dipotong dengan pelubang berdiameter 9 mm, selanjutnya ditumbuhkan bersama pada media PDA dengan jarak 3 cm dari pinggir cawan petri yang berdiameter 9 cm. Sebagai kontrol, isolat *C. cassiicola* ditumbuhkan pada cawan petri tanpa agens hayati.

Pengamatan dilakukan terhadap daya hambat dan mekanisme kerja jamur filoplan dan endofit terhadap miselium *C. cassiicola*. Daya hambat diukur berdasarkan persentase penghambatan (P), menurut rumus (Ghildiyal & Pandey, 2008):

$$P = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = persentase penghambatan jamur terhadap *C. cassiicola*

r1 = jari-jari koloni jamur patogen *C. cassiicola* yang tumbuh berlawanan arah terhadap jamur antagonis

r2 = jari-jari koloni jamur patogen yang tumbuh ke arah jamur antagonis

Mekanisme daya hambat diamati pada saat uji antagonis. Pengamatan terdiri dari antibiosis, lisis, mikoparasit, dan kompetisi yang dilakukan saat terjadi kontak miselium antar kedua koloni jamur filoplan atau endofit dan patogen *C. cassiicola*. Pengamatan dilakukan pada hari keempat sampai ketujuh setelah inokulasi. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara mengambil potongan hifa 1 cm x 1 cm di daerah kontak antar miselium jamur filoplan atau endofit dan patogen. Potongan media tersebut kemudian diletakkan pada kaca objek yang sudah disterilkan, lalu diamati di bawah mikroskop (Dwiastuti, Fajri, & Yunimar, 2015)

Uji Antagonisme Bakteri Filoplan dan Endofit terhadap *C. cassiicola*

Pengujian antagonis bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* menggunakan metode *dual culture* (Wulandari, Zakiatulyaqin, & Supriyanto, 2012). Sebanyak 662 isolat bakteri diuji dengan cara

menggoreskan koloni bakteri berumur 48 jam pada bagian tengah cawan petri berisi media PDA, kemudian potongan *C. cassiicola* ditumbuhkan dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri. Sebagai kontrol, isolat *C. cassiicola* ditumbuhkan tanpa goresan bakteri endofit. Pengukuran jari-jari koloni *C. cassiicola* dilakukan setelah miselium *C. cassiicola* tumbuh mencapai tepi cawan petri. Penghitungan daya hambat bakteri filoplan dan endofit terhadap miselium *C. cassiicola* menggunakan rumus:

$$P = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

- P = persentase penghambatan bakteri terhadap *C. cassiicola*
 r1 = jari-jari koloni *C. cassiicola* ke arah tepi cawan/petri
 r2 = jari-jari koloni *C. cassiicola* ke arah goresan bakteri endofit

Identifikasi Isolat Agens Hayati

Isolat jamur filoplan dan endofit yang potensial hasil uji antagonis, yaitu DTJF11, CPSR7, CEBPM15, dan CEBPM23 diidentifikasi secara molekuler. Identifikasi dilakukan di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Identifikasi isolat jamur dilakukan berdasarkan analisis genetik secara parsial pada lokus *internal transcribed spacer* (ITS) *ribosomal DNA fungi*. Isolasi DNA diawali dengan menumbuhkan isolat jamur dalam media cair *potato dextrose broth* (PDB) dan diinkubasi selama 72 jam. Biomassa berupa miselia jamur selanjutnya dipanen untuk ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA jamur dilakukan dengan menggunakan *reagen nucleoa PHYTOpure* (Amershan LIFE SCIENCE). Amplikasi PCR dan ITS menggunakan primer ITS 4:5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAGC-3' dan primer ITS. Purifikasi *PCR product* dilakukan dengan *PEG precipitation method* (Hiraishi, Kamagata, & Nakamura, 1995) dan dilanjutkan dengan siklus sekuensing. Hasil siklus sekuensing dipurifikasi kembali dengan *ethanol purification method*. Analisis

pembacaan urutan basa nitrogen menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer) (Applied Biosystems). Data mentah hasil sekuensing selanjutnya dilakukan *trimming* dan *assembling* menggunakan program BioEdit. Data sekuens yang telah dilakukan *assembling* selanjutnya dilakukan BLAST dengan genom yang telah didaftarkan di DNA Data Bank of Japan (DDBJ) National Center For Biotechnology Infomation (NCBI) guna menentukan takson/spesies yang memiliki *homology/similarity* terbesar dan terdekat secara molekuler.

Analisis Data

Pengujian daya hambat dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan menguji jamur dan bakteri endofit terhadap *C. cassiicola* sebagai perlakuan. Persentase daya hambat jamur endofit dan filoplan terhadap *C. cassiicola* dianalisis dengan sidik ragam dan uji lanjut *Duncan* menggunakan program *software* SPSS versi 19. Sedangkan persentase daya hambat bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* dianalisis dengan sidik ragam dan uji lanjut LSD dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan program statistik 9.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur dan Bakteri Filoplan dan Endofit

Hasil isolasi mikroba filoplan dan endofit dari daun karet menunjukkan adanya keragaman dari jamur dan bakteri yang ditemukan. Hasil isolasi diperoleh 184 isolat jamur dan 496 isolat bakteri filoplan, serta 110 isolat jamur dan 166 isolat bakteri endofit (Tabel 1). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah jamur agens hayati yang ditemukan dari Jawa Barat baik filoplan maupun endofit lebih banyak dibandingkan yang berasal dari Kalimantan Barat. Sedangkan isolat bakteri hasil isolasi dari Kalimantan Barat lebih banyak dari pada yang berasal dari Jawa Barat. Hasil karakteristik jamur filoplan dan endofit yang diperoleh sangat beragam baik dari segi bentuk dan warna koloni serta kecepatan pertumbuhan koloninya.

Tabel 1. Isolat mikroba filoplan dan endofit yang berasal dari Jawa Barat dan Kalimantan Barat
 Table 1. Isolates of microbial phylloplanes and endophyte from West Java and West Kalimantan

Asal Sampel	Filoplan		Endofit	
	Jamur	Bakteri	Jamur	Bakteri
Jawa Barat	155	228	95	72
Kalimantan Barat	29	268	15	94
Jumlah	184	496	110	166

Isolasi Patogen *Corynespora cassiicola*

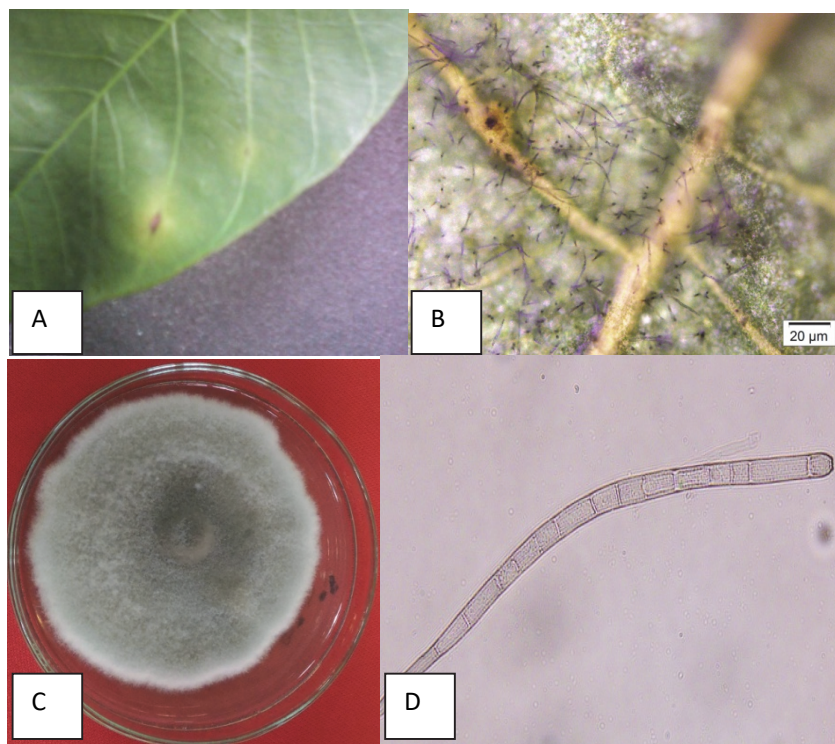
Hasil pengamatan terhadap gejala infeksi *C. cassiicola* pada daun karet ditemukan bercak warna hitam dikelilingi warna kuning. Bercak berkembang seiring bertambahnya umur daun. Pengamatan terhadap morfologi *C. cassiicola*, koloni berwarna abu-abu selanjutnya menjadi coklat sampai coklat kehitaman, terkadang tampak seperti berbulu atau beludru (Gambar 1). Perubahan warna koloni *C. cassiicola* ini sejalan dengan penelitian Ahmed, Alam, & Khair (2014).

Hasil uji *Postulat Koch* pada daun karet, gejala mulai terlihat 2–3 hari setelah inokulasi. Tampak miselium tumbuh dalam jaringan dan permukaan daun (Gambar 1). Pada miselium ditemukan konidiospora yang muncul di atas permukaan daun (Barnet & Hunter, 1998). Hasil identifikasi konidia *C. cassiicola*

memperlihatkan bentuk konidia tunggal, sedikit melengkung, berwarna coklat muda, berbentuk tongkat, membengkak pada bagian pangkalnya, bersepta 2–14 dengan ukuran $40\text{--}120\ \mu\text{m} \times 8\text{--}18\ \mu\text{m}$ (Gambar 1). Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian Tangonan *et al.* (2009).

Uji Antagonisme Jamur Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Hasil pengujian *dual culture* atau daya hambat dari 294 isolat mikrob filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* diperoleh isolat yang bersifat antagonis dengan kemampuan daya hambat 6,67%–93,67% dan diperoleh 42 isolat jamur yang mempunyai kemampuan daya hambat hingga 50% (Tabel 2).



Gambar 1. Gejala serangan penyakit gugur daun karet dan morfologi *C. cassiicola*: A = gejala serang *C. cassiicola* pada daun karet; B = infeksi *C. cassiicola* pada jaringan daun; C = koloni *C. cassiicola*. D = spora *C. cassiicola* perbesaran 1000x;

Figure 1. Symptoms of attack on rubber leaf and *C. cassiicola* morphology: A = symptomatic attack of *C. cassiicola* on rubber leaf; B = infection of *C. cassiicola* on leaf tissue; C = colonies of *C. cassiicola*; D = spores germinated at magnification 1000x.

Tabel 2. Daya hambat jamur filoplan dan endofit $\geq 50\%$ terhadap pertumbuhan koloni patogen *C. cassiicola*
Table 2. Inhibitory percentage of endophytic fungi and phylloplane $\geq 50\%$ on growth of pathogen colonies of *C. cassiicola*

No	Kode isolat	Jenis jamur	Asal	Daya hambat (%)	Mekanisme daya hambat
1	CEBPM6	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Lisis
2	CEBPM21	Endofit	JawaBarat	53,33 a	Kompetisi
3	CEBPM23	Endofit	JawaBarat	93,33 c	Lisis
4	CEBPM25	Endofit	JawaBarat	80,00 cd	Lisis
5	CEBPM27	Endofit	JawaBarat	93,33 d	Lisis
6	CPBPM 15	Endofit	JawaBarat	51,67 a	Antibiosis
7	CEBPM16	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
8	CEBPM17	Endofit	JawaBarat	56,67 ab	Antibiosis
9	CEBPM12	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
10	CEBPM15	Endofit	JawaBarat	90,00 d	Lisis
11	CEBPM1	Endofit	JawaBarat	70,00 bc	Antibiosis
12	CEPR9	Endofit	JawaBarat	90,00 d	Mikoparasit
13	CEGT1	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Kompetisi
14	CPBPM2	Filoplan	JawaBarat	57,14 ab	Antibiosis
15	CFBPM4	Filoplan	JawaBarat	58,33 ab	Lisis
16	CPBPM5	Filoplan	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
17	CPBPM6	Filoplan	JawaBarat	51,67 a	Kompetisi
18	CPBPM16	Filoplan	JawaBarat	65,00 abc	Antibiosis
19	CPBPM17	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Lisis
20	CPBPM18	Filoplan	JawaBarat	56,67 ab	Antibiosis
21	CPBPM 15	Filoplan	JawaBarat	51,67 a	Lisis
22	CPSR7	Filoplan	JawaBarat	90,00 d	Antibiosis
23	CPGT 6	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Antibiosis
24	CPGT2	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Kompetisi
25	DTJE6	Endofit	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
26	DTJE13	Endofit	Kalimantan Barat	71,67 bc	Kompetisi
27	DTJE14	Endofit	Kalimantan Barat	50,00 a	Antibiosis
28	DTJE1	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Antibiosis
29	DTJE5	Endofit	Kalimantan Barat	63,33 ab	Kompetisi
30	DTJE7	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Antibiosis
31	DTJE9	Endofit	Kalimantan Barat	56,67 ab	Kompetisi
32	DMJE20	Endofit	Kalimantan Barat	55,00 ab	Antibiosis
33	DMJE22	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Lisis
34	DMJE24	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Lisis
35	DMJE26	Endofit	Kalimantan Barat	58,33 ab	Kompetisi
36	DTJF1	Filoplan	Kalimantan Barat	50,00 a	Lisis
37	DTJF2	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
38	DTJF3	Filoplan	Kalimantan Barat	50,00 a	Lisis
39	DTJF8	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
40	DTJF11	Filoplan	Kalimantan Barat	93,67 d	Mikoparasit
41	DTJF12	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Kompetisi
42	DMJF17	Filoplan	Kalimantan Barat	58,33 ab	Antibiosis

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Angka yang dicetak tebal adalah isolat dengan daya hambat $\geq 90\%$

Notes : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different in Duncan test 5% level

Numbers in bold type indicates isolates with inhibition $\geq 90\%$

Hasil uji daya hambat diperoleh 6 isolat jamur yang dapat menghambat pertumbuhan *C. cassiicola* $\geq 90\%$, yaitu DTJF11, CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, CPSR7, dan CEPR9. Keenam isolat tersebut terdiri dari dua isolat jamur filoplan (DTJF 11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15,

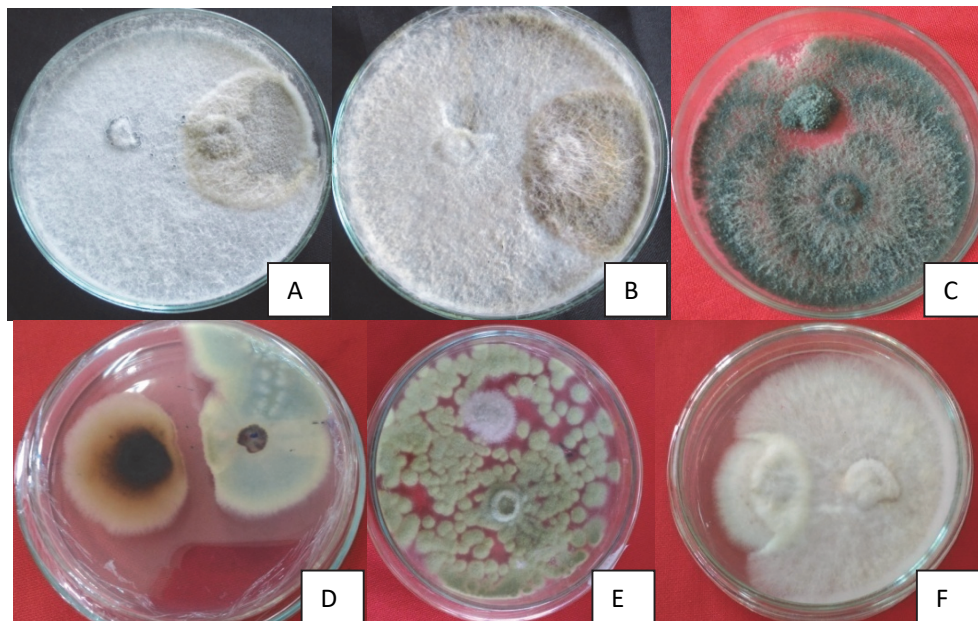
CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9). Isolat jamur yang paling tinggi daya hambatnya adalah isolat DTJF11, yaitu 93,67% dengan mekanisme mikoparasit (Tabel 2). Berdasarkan hasil identifikasi, isolat DTJF11 merupakan *Trichoderma asperellum*. Potensi *Trichoderma* sebagai agens hayati potensial sudah banyak dilaporkan. Jamur ini

merupakan jamur filoplan yang diisolasi dari daun karet hasil eksplorasi di wilayah Kalimantan Barat dan memiliki kemampuan sebagai mikoparasit. Kemampuan mikoparasit ditunjukkan dengan adanya kemampuan menutupi jamur patogen, dan pada bagian pertemuan kedua jamur tersebut tampak hifa jamur isolat DTJF11 yang melilit hifa jamur patogen. Menurut Omann & Zeilinger (2010), mekanisme mikoparasit *Trichoderma* diawali dengan mengenali inang, lalu terjadi perubahan morfologi dengan melingkari hifa inang, terbentuk struktur mirip appressorium, selanjutnya terjadi penetrasi, kemudian mematikan inang. Mekanisme mikoparasit dapat terjadi jika terdapat sinyal dari inang berupa lektin yang menginduksi perubahan morfologi hifa *Trichoderma* untuk melingkari hifa inang dan juga merangsang pembentukan appressorium. Dalam proses penetrasi dinding sel inang, *Trichoderma* menghasilkan enzim hidrolitik seperti *chitinases*, *glucanases*, dan protease.

Isolat CPSR7 koloninya cepat tumbuh menyebar ke segala arah petri sehingga mampu menekan pertumbuhan *C. cassiicola* hingga 90% (Tabel 2). Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, isolat ini merupakan jamur *Talaromyces pinophilus*. Mekanisme antagonisnya adalah antibiosis dan kompetisi nutrisi. Antibiosis terlihat dari zona bening pada media, yaitu pada pertemuan antara patogen dengan agens hayati. Selain itu, jamur ini mudah tersebar sehingga dalam waktu 3 hari sudah memenuhi petri, yang menyebabkan jamur patogen terhambat pertumbuhannya dan lama kelamaan tertutupi (Gambar 2). *Talaromyces pinophilus* sebelumnya bernama *Penicillium pinophilum* (Li *et al.*, 2017). Kemampuan jamur *Penicillium* dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen sudah banyak dilaporkan. Menurut (Wafaa & Abdel-Latif, 2007), *Penicillium* sp. memiliki kemampuan dalam kompetisi dan pengeluaran beberapa senyawa alkaloid seperti agroklavine dan ergometrine yang memiliki sifat antifungi.

Tabel 3. Hasil identifikasi jamur filoplan dan endofit potensial
Table 3. Identification result of potential phylloplane and endophytic fungi

Kode isolat	Hasil identifikasi	Query coverage (%)	E value	Kemiripan(%)
DTJF 11	<i>Trichoderma asperellum</i>	100	0,0	99
CPSR 7	<i>Talaromyces pinophilus</i>	99	0,0	100
CEBPM 15	<i>Amanita tenuifolia</i>	100	0,0	99
CEPR 9	Belum terdeteksi	-	-	-
CEBPM 23	Belum terdeteksi	-	-	-
CEBPM 27	Belum terdeteksi	-	-	-



Gambar 2. Daya hambat isolat jamur filoplan dan endofit asal karet terhadap *C. cassiicola*: A = isolat DTJF11; B = CEBPM23; C = CEBPM 27; D = CPSR7; E = CPSR7; F = CEBPM15.

Figure 2. Inhibitory growth of some phylloplane and endophytic fungal isolates from rubber to *C. cassiicola*: A = DTJF11; B = CEBPM23; C = CEBPM27; D = CPSR7; E = CPSR7, F = CEBPM15 isolate.

Mekanisme penghambatan dari isolat jamur endofit CEBPM23, CEBPM27, dan CEBPM15 selain dapat tumbuh cepat, diduga terjadi lisis yang ditandai dengan adanya perubahan warna media pada area pertemuan antara miselium isolat jamur endofit dan patogen *C. cassiicola*. Jamur endofit mengeluarkan enzim lisis seperti kitinase, glukonase, protease, dan xilanase. Enzim-enzim ini akan mendegradasi senyawa-senyawa penyusun dinding sel patogen yang bekerja secara spesifik. Ada beberapa mekanisme antagonis jamur endofit yang telah dilaporkan, yaitu antibiosis, lisis, hiperparasit/mikoparasit, dan kompetisi (Bailey *et al.*, 2008).

Pengujian Antagonisme Bakteri Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Hasil isolasi bakteri filoplan dan endofit dari sampel daun karet yang berasal dari Jawa Barat dan Kalimantan Barat menunjukkan kemampuan daya hambat terhadap *C. cassiicola* antara 7,39%–40,95% (Table 4). Isolat bakteri dari Jawa Barat umumnya memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan

yang berasal dari Kalimantan Barat. Karakteristik koloni isolat juga berbeda berdasarkan warna, tepi, dan bentuk permukaan koloni (Tabel 4). Lodewyckx *et al.* (2002) menyatakan bahwa isolasi mikroba dari tanaman yang berbeda habitat akan diperoleh berbagai bakteri. Bakteri filoplan yang diuji sebanyak 662 isolat, akan tetapi hanya 19 isolat yang menunjukkan daya hambat yang baik terhadap patogen *C. cassiicola*.

Bakteri endofit dapat berfungsi sebagai agens hayati dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dalam hubungannya sebagai agens hayati, bakteri endofit mampu meningkatkan sistem pertahanan tanaman dengan adanya kemampuan menginduksi ketahanan tanaman berupa produksi senyawa sekunder diantaranya antibiotik, enzim, asam salisilat, dan sekunder lainnya (Backman & Sikora, 2008). Bakteri endofit tumbuh di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan. Sedangkan bakteri filoplan tumbuh dan hidup di atas permukaan jaringan tanaman. Perpaduan bakteri endofit dan filoplan diharapkan dapat menghasilkan mikroba potensial yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit dari dalam dan luar jaringan tanaman.

Tabel 4. Karakteristik dan daya hambat isolat bakteri filoplan terhadap pertumbuhan koloni patogen *C. cassiicola* pada metode *dual culture*
Table 4. Characteristics and inhibition of phylloplane bacteria on growth of pathogens colonies of *C. cassiicola* in dual culture method

Kode Isolat	Sumber isolat	Karakteristik bakteri			Daya hambat (%)	
		Warna	Tepi	Bentuk permukaan koloni		
BP1	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	22,50	bcde
BP2	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	22,50	bcde
BP3	Jawa Barat	Kuning	Rata	Rata	32,39	abc
BP4	Jawa Barat	Putih	Berlekuk	Rata	31,27	abc
BP5	Jawa Barat	Putih	Berombak	Rata	31,12	abc
BP6	Jawa Barat	Putih	Berlekuk	Rata	28,54	abcd
BP7	Jawa Barat	Putih	Rata	Cembung	40,95	a
BP9	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cekung	13,88	de
BP10	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	14,06	de
L1	Kalimantan Barat	Krem	Rata	Cekung	10,88	e
L3	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Cekung	37,38	ab
L7	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Rata	17,32	abcd
L11	Kalimantan Barat	Kuning	Berombak	Cekung	7,39	e
L14	Kalimantan Barat	Putih	Berlekuk	Rata	16,14	cde
L15	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Cekung	21,66	bcde
L16	Kalimantan Barat	Kuning	Rata	Rata	9,60	e
L17	Kalimantan Barat	Krem	Rata	Cembung	18,92	cde
L18	Kalimantan Barat	Putih	Berlekuk	Cembung	18,37	cde
L20	Kalimantan Barat	Putih	Berombak	Cembung	11,67	e

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf 5%
Notes : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at Tukey *n* test 5% level

KESIMPULAN

Isolasi mikrob dari daun karet hasil eksplorasi di Kalimantan Barat dan Jawa Barat diperoleh 184 isolat jamur dan 496 isolat bakteri filoplan, serta 110 isolat jamur dan 166 isolat bakteri endofit. Sebanyak 42 isolat jamur dan 19 isolat bakteri diantaranya berpotensi menghambat *C. cassiicola*. Enam isolat jamur memiliki daya hambat $\geq 90\%$, yaitu 2 isolat jamur filoplan (DTJF11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9) dengan mekanisme penghambatan yang bervariasi meliputi lisis, mikoparasit, kompetisi, dan antibiosis. DTJF11 teridentifikasi sebagai *Trichoderma asperellum*, CPSR7 adalah *Talaromyces pinophilus*, dan CEBPM15 adalah *Amanita tenuifolia*, sedangkan 3 isolat jamur lainnya belum teridentifikasi. Adapun isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agens hayati adalah isolat BP7, L3, BP3, BP4, BP5, dan BP6 yang memiliki daya hambat 28,54%–40,94%, dengan mekanisme penghambatan antibiosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sumantri, Euis, dan Rapiudin sebagai teknisi yang telah membantu selama penelitian dan tim reviewer yang telah membantu dalam proses menyelesaikan penulisan KTI. Penelitian ini didanai oleh DIPA Balittri, Badan Litbang Pertanian, TA 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Backman, P. A., & Sikora, R. A. (2008). Endophytes : An emerging tool for biological control. *Biological Control*, 46, 1–3. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.03.009>
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., ... Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46(1), 24–35. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.003>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (2006). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Fourth Ed). St. Paul, Minnesota: APS Press.
- Batool, F., Rehman, Y., & Hasnain, S. (2016). Phylloplane associated plant bacteria of commercially superior wheat varieties exhibit superior plant growth promoting abilities. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 313–322. <http://doi.org/10.1080/21553769.2016.1256842>
- Daslin, A. (2013). Ketahanan genetik berbagai klon karet introduksi terhadap penyakit gugur daun. *Jurnal Penelitian Karet*, 31(2), 79–87.
- Dwiastuti, M., Fajri, M., & Yunimar. (2015). Potensi *Trichoderma* spp . sebagai agens pengendali *Fusarium* spp . penyebab penyakit layu pada tanaman stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.). *J.Hort*, 25(4), 331–339.
- Evueh, A. G., Okhuoya, J. A., Osemwegie, O. O., Attitalla, I. H., & Ogebor, O. N. (2011). Evaluation of phylloplane fungi as biocontrol agent of *Corynespora* leaf fall disease of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.). *World Journal of Fungal and Plant Biology*, 2(1), 01–05.
- Fernando, T. H. P. S., Jayasinghe, C. K., Wijesundera, R. L. C., & Siriwardena, D. (2011). Susceptibility of different leaf stages of *Hevea* to *Corynespora cassiicola*. *Journal of the Rubber Research Institute of Sri Lanka*, 90(2010), 58–63.
- Ghildiyal, A., & Pandey, A. (2008). Isolation of cold tolerant antifungal strains of *Trichoderma* sp. from glacial sites of Indian Himalayan Region. *Research Journal of Microbiology*, 3(8), 559–564. <http://doi.org/10.3923/jm.2008.559.564>
- Harni, R., Amaria, W., Khaerati, & Taufiq, E. (2016). Isolasi dan seleksi jamur endofit asal tanaman kakao sebagai agens hayati *Phytophthora palmivora* Bult. *J.TIDP*, 3(3), 141–150.
- Hiraishi, A., Kamagata, Y., & Nakamura, N. (1995). Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes from methanogens. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 79, 523–529.
- Hye, S., Anand, M., & Chun, S. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169(1), 83–98. <http://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003>
- Jayasuriya, K. E., & Thennakoon, B. I. (2007). Short communication first report of *Corynespora Cassiicola* on *Codiaeum Variegatum* (Croton) in Sri Lanka. *Plant Pathology*, 36(2), 138–141.

- Jinji, P., Zhang, X., Yangxian, Q., Yixian, X., Huiqiang, Z., & He, Z. (2007). First record of *Corynespora* leaf fall disease of *Hevea* rubber tree in China. *Australasian Plant Disease Notes*, 2, 35–36.
- Kalyanasundaram, I., Nagamuthu, J., & Muthukumaraswamy, S. (2015). Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated and identified from salt marsh plant in Vellar Estuary. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 7(2), 13–20. <http://doi.org/10.5897/JMA2014.0334>
- Li, C., Zhao, S., Zhang, T., Xian, L., Liao, L.-S., & Liu, J. (2017). Genome sequencing and analysis of *Talaromyces pinophilus* provide insights into biotechnological applications. *Scientific Reports*, (October 2016), 1–10. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-00567-0>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Edward, R. B., Taghavi, S., Mezgeay, M., & Lelie, D. Van Der. (2002). Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 6(21), 583–606. <http://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Marwan, H. (2011). *Potensi Bakteri Endofit sebagai Agens Pengendalian Hayati terhadap Penyakit Darah pada Tanaman Pisang*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Omann, M., & Zeilinger, S. (2010). How a mycoparasite employs G-protein signaling: Using the example of *Trichoderma*. *Journal of Signal Transduction*, 1–8. <http://doi.org/10.1155/2010/123126>
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. (2015). *Statistik Iklim, Organisme Pengganggu Tanaman dan Dampak Perubahan Iklim 2012-2015*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Rabha, A. J., Naglot, A., Sharma, G. D., Gogoi, H. K., & Veer, V. (2014). In vitro evaluation of antagonism of endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* against potent fungal pathogens of *Camellia sinensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 54(3), 302–309. <http://doi.org/10.1007/s12088-014-0458-8>
- Ropalia. (2015). *Potensi Mikrob Endofit dan Aplikasinya dengan Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Pengendalian Penyakit Kuning pada Lada*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Seifert, K. A., Gareth, M.-J., Walter, G., & Bryce, K. (2011). *The Genera of Hyphomycetes*. Utrecht, The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Situmorang, A. (2002). *Sebaran Penyakit Gugur Daun Virulensi dan Genetika Corynespora cassiicola Asal Sentra Perkebunan Karet Indonesia*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Sowndhararajan, K., Marimuthu, S., & Manian, S. (2013). Biocontrol potential of phylloplane bacterium *Ochrobactrum anthropi* BMO-111 against blister blight disease of tea. *Journal of Applied Microbiology*, 114(1), 209–218. <http://doi.org/10.1111/jam.12026>
- Tanganon, N. G., Pecho, J. A., & Butardo, E. G. G. (2009). Leafspot of *Hevea brasiliensis* caused by *Corynespora cassiicola* in the Philippines: 1st reportin. *USM Agricultural Research Center*, 17(1), 45–48.
- Thakur, S., & Harsh, N. S. K. (2014). Phylloplane fungi as biocontrol agent against *Alternaria* leaf spot disease of Akarkara (*Spilanthes oleracea*). *Bioscience Discovery* 5(2), 139–144.
- Tondok, E. T. (2012). *Keragaman Cendawan Endofit pada Buah Kakao dan Potensinya dalam Pengendalian Busuk Buah Phytophthora*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1–26. <http://doi.org/10.3390/ijms19040952>
- Wafaa, M. H., & Abdel-Latif, A. M. (2007). Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 1(1), 7–12.
- Wulandari, H., Beludru, H., Wulandari, H., & Supriyanto, Z. (2012). Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar beludru (*Septobasidium* sp.) *Perkebunan dan Lahan Tropika* 2 (2), 23-31
- Yuan, Y., Feng, H., Wang, L., Li, Z., Shi, Y., Zhao, L., ... Zhu, H. (2017). Potential of endophytic fungi isolated from cotton roots for biological control against *Verticillium Wilt* disease. *PLOS ONE*, (201503109), 1–12. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0170557>