

PATOGENISITAS BEBERAPA ISOLAT CENDAWAN TERBAWA BENIH KAKAO HIBRIDA

Pathogenicity of Several Seed-borne Fungi Isolates on Hybrid Cocoa Seeds

BAHARUDIN¹⁾, A. PURWANTARA²⁾, S. ILYAS³⁾, dan M.R. SUHARTANTO²⁾

¹⁾ Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Tenggara
Jalan Prof. Muh. Yamin No. 89, Kendari 93114

²⁾ Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia
Jalan Taman Kencana No. 1, Bogor 16151

³⁾ Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB
Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

e-mail : bptp-sultra@litbang.deptan.go.id

(Diterima Tgl. 3-10-2011 - Disetujui Tgl. 9-12-2012)

ABSTRAK

Benih kakao hibrida diketahui dapat membawa beberapa mikroba yang bersifat patogenik dan menurunkan mutu benih. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa isolat cendawan terbawa benih terhadap penurunan viabilitas benih dan vigor bibit kakao hibrida. Penelitian dilakukan di Kebun Benih Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember, Laboratorium Mikrobiologi dan rumah kaca Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor, pada bulan Juli sampai November 2008. Penelitian menggunakan 13 cendawan terbawa benih kakao hibrida. Benih diperoleh dari persilangan buatan antara kakao TSH 858 dengan Sca 6. Penelitian menggunakan model Rancangan Acak Lengkap dengan 4 ulangan. Inokulasi patogen pada benih kakao dilakukan dengan cara merendam benih di dalam suspensi patogen dengan kerapatan 10^6 spora/ml selama 30 menit. Selanjutnya benih ditanam pada media pasir steril dalam boks plastik ukuran 30 x 30 cm, menurut rancangannya. Setiap perlakuan diulang 4 kali. Parameter yang diamati adalah daya berkecambah, indeks vigor, kecepatan tumbuh relatif, kecepatan berkecambah T_{50} , laju pertumbuhan kecambah, jumlah daun, tinggi bibit, panjang akar, jumlah akar dan kematian benih. Data dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ke-13 spesies cendawan bersifat patogenik pada benih kakao hibrida. Cendawan patogen terbawa benih yang bersifat patogenik adalah *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata* dan *Macrophoma* sp. Cendawan patogen tersebut dapat menurunkan daya berkecambah 20-40%, indeks vigor 30-47%, kecepatan tumbuh relatif 13-45%, dan meningkatkan kecepatan perkecambahan (T_{50} menurun) dari 0,62-7,36 hari. Ke-13 isolat patogen dapat menyebabkan kematian benih 29-52% dibanding kontrol. Ke-13 isolat patogen juga menginfeksi bagian tanaman seperti kotiledon, daun, batang dan akar bibit kakao, namun hanya *Phoma glomerata* dan *Macrophoma* sp. yang menurunkan tinggi bibit, jumlah daun, jumlah dan panjang akar secara nyata. Tujuh dari 13 isolat cendawan patogen terbawa benih tidak hanya menurunkan viabilitas dan vigor benih kakao hibrida tetapi juga dapat berkembang pada bibit sehingga perlu penanganan benih secara dini.

Kata kunci: benih hibrida, patogen terbawa benih, viabilitas, vigor benih, *Theobroma cacao*

ABSTRACT

In 2009 revitalization of cacao plantations in Indonesia required 168 million seeds. Distribution of low quality and infected seeds leads to huge losses and in a long term will destruct cultivation of cacao. Seed-borne pathogens of infected cacao hybrid seeds are dangerous because they may reduce physiological qualities of the seeds. The study aimed at determining the effect of several isolates of seed borne fungi on the viability and vigor of hybrid cacao seeds as well as growth of the seedlings. The study was conducted at the Seed Garden Indonesian Coffee and Cacao Research Center in Jember, Microbiology Laboratory and glass house of Biotechnology Research Institute for Estate Crops of Indonesia, Bogor, from July to November 2008. The study used 13 seed-borne fungi in hybrid cacao. The cacao seeds were obtained from hand pollinated crossing between TSH 858 with Sca 6. The experiment was arranged using Completely Randomized Design with four replicates. Cacao seeds were inoculated by immersing them for 30 minutes in the spore suspension of 13 isolates of seed-borne fungi CTB at a density of 10^6 spores/ml. After inoculation, the seeds were planted on sterile sand in a plastic box (30 x 30 cm). Parameters observed were germination rate, vigor index, KCT-R T 50 rate of seedling growth, leaf number, seedling height, root length, root number, and level of pathogenicity. Data were analyzed by ANOVA followed with Duncan's Multiple Test. The results showed that the 13 species of seed-borne pathogens were in hybrid cacao seeds with varying pathogenicity. The most pathogenic fungi were *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata*, and *Macrophoma* sp. Seed borne pathogenic fungi had the ability to reduce seed germination of 20-40%, vigor index of 30-47%, relative growth rate of 13-45%, and delayed germination speed (T_{50} decreases) from 0.62 to 7.36 days. Seed borne pathogens caused (29-52%) death seed compared to control. All that 13 isolates of seed-borne pathogens infected plant tissues such as cotyledons, leaves, stems, and roots of cacao seedlings, but only isolates of *Phoma glomerata* and *Macrophoma* sp. which lowered the height of seedlings, leaf number, root number and length. The study indicated that infection of seed-borne pathogens on cacao seed hybrid can cause seed death. Therefore, seeds should be handled properly.

Key words: hybrid seeds, seed borne pathogens, viability, seed vigor, *Theobroma cacao*

PENDAHULUAN

Beberapa spesies cendawan *Colletotrichum* spp. merupakan masalah utama pada buah blueberry, karena dapat merusak buah dan menginfeksi biji (POLASHOCK *et al.*, 2005; DeMARASAY dan OUDEMANS, 2003; VERMA *et al.*, 2006). Menurut SUKAMTO (2008) *Colletotrichum acutatum* dan *C. gloeosporioides* dapat menyerang setiap bagian tanaman kakao seperti akar, batang, daun, buah dan biji. Cendawan patogen dapat merusak jaringan tanaman hingga ke biji sehingga dapat menurunkan mutu benih (CAPPELLINI *et al.*, 1972; BRISTOW dan WINDOM, 2000).

Salah satu patogen yang sangat mengganggu tanaman perkebunan adalah *Colletotrichum gloeosporioides* Penz yang menyebabkan gugur daun dan menginfeksi bagian tanaman kakao mulai dari batang, daun, bunga, buah, dan benih (SOEPADMO, 1976).

Patogen terbawa benih sudah berkembang luas pada perkebunan benih dan pertanaman kakao rakyat. Menurut BAHARUDIN *et al.* (2011) benih kakao hibrida yang sehat dan vigor harus dipanen pada saat masak fisiologis, karena benih yang dipanen pada fase sebelum masak fisiologis selain mudah terkontaminasi patogen juga dapat membawa cendawan patogen. Distribusi benih bervigor rendah dan terinfeksi penyakit dapat mengakibatkan kerugian sangat besar dan dalam jangka panjang akan merusak sistem budidaya tanaman kakao. Beberapa patogen ditemukan telah menginfeksi benih kakao sehingga dapat terbawa benih kakao hibrida (BAHARUDIN *et al.*, 2011). Patogen terbawa benih kakao hibrida memiliki tingkat patogenisitas dan kemampuan berbeda dalam menurunkan mutu fisiologis benih.

Menurut AZIZ dan MAHROUS (2004) infeksi cendawan dapat terjadi pada saat proses pemanenan, transportasi, penyimpanan, dan pendistribusian benih. Patogen terbawa benih pada kakao hibrida dapat terjadi pada saat pembentukan bunga, persilangan, perkembangan buah, proses pemanenan dan pengolahan benih, serta pada saat transportasi dan penyimpanan (BAHARUDIN *et al.*, 2010). Patogen terbawa benih pada benih kakao hibrida juga dapat mengkontaminasi benih yang sedang berkecambah, sehingga menyebabkan bibit terkontaminasi dan tersebar ke lapangan.

Mekanisme serangan *Fusarium oxysporum* pada benih terjadi saat membentuk senyawa fenol, perubahan asam amino bebas, klorofil, laju fotosintesis dan perubahan laju respirasi, serta ada kerusakan pada jaringan sel (MORKUNAS *et al.*, 2005). Menurut STOUT *et al.* (1998), tanaman yang berasal dari benih yang terinfeksi patogen menunjukkan tingkat kerusakan yang berbeda-beda. Pada benih kakao hibrida dengan kadar air yang tinggi, maka infeksi patogen dapat menyebabkan benih tidak dapat disimpan lama dan mutu fisiologisnya cepat menurun. Patogen saat menginfeksi dan menginduksi benih maka benih dapat meningkatkan ketahanannya karena mengandung senyawa fenol.

Hipotesisnya: Inokulasi ke-13 isolat cendawan patogen terbawa benih dapat menurunkan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao hibrida. Uji patogenisitas ke-13 isolat cendawan patogen terbawa benih sangat perlu diteliti untuk mengetahui kemampuan dalam menginfeksi benih maupun bibit kakao hibrida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh inokulasi patogen terbawa benih terhadap penurunan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao hibrida.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Kebun Benih Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember dan Laboratorium Benih IPB serta Laboratorium Mikrobiologi dan rumah kaca Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor pada bulan Juli sampai November 2008.

Penelitian menggunakan 13 isolat cendawan terbawa benih kakao, yaitu 1). *Aspergillus flavus*, 2). *Aspergillus versicolor*, 3). *Aspergillus ochraceus*, 4). *Penicillium chrysogenum*, 5). *Cladosporium herbanum*, 6). *Colletotrichum acutatum*, 7). *Curvularia geniculata*, 8). *Fusarium semitectum*, 9). *Fusarium culmorum*, 10). *Fusarium oxysporum*, 11). *Moniliella acetoabutens*, 12). *Phoma glomerata*, dan 13). *Macrophoma* sp.

Isolat cendawan dibiakkan pada medium *potato dextrose agar* (PDA) 2% di dalam cawan Petri (diameter 9 cm) di ruang laboratorium pada suhu kamar. Setelah dibiakkan selama 7 hari, spora dipanen dengan menambahkan air steril kemudian disapu dengan kuas steril untuk mengumpulkan sporanya. Suspensi spora diencerkan sampai 7 kali tingkat pengenceran. Jumlah spora dihitung dengan menggunakan hemasitometer dan ditetapkan sebanyak 10^6 spora/ml untuk pengujian patogenisitas. Pada media PDA ditambahkan antibiotik streptomycin sulphate 0,5 g/100 ml air (dalam media PDA) untuk mencegah kontaminasi bakteri.

Benih kakao, yang digunakan untuk pengujian patogenisitas cendawan, berasal dari hasil persilangan buatan (*hand pollination*) antara jenis kakao TSH 858 vs Sca 6. Benih kakao dipanen pada saat masak fisiologis 150 hari setelah antesis (HSA). Buah kakao tersebut dibelah melintang kemudian benih dibersihkan dari kulit arinya menggunakan arang sekam padi. Sebanyak 1.300 butir benih direndam dalam larutan natrium hipoklorit (NaOCl 2%) selama 5 menit untuk mencegah kontaminasi, sisa NaOCl pada benih dicuci dengan air steril dan dikeringkan dengan tisu steril. Selanjutnya benih dikeringanginkan di laminar *air flow cabinet* selama 3 jam.

Ke-13 cendawan patogen ditanam pada media PDA. Pengamatan jumlah spora menggunakan mikroskop Nikon Biophot seri AFX-IIA dengan pembesaran 450 kali. Untuk mempermudah mengetahui jumlah spora pada media perparat ditambahkan pewarna *methylene blue* dan diamati dengan menggunakan hemasitometer. Mikroskop yang digunakan dilengkapi dengan mikrometer okuler, objektif, dan kamera Canon tipe *Ixus 60* dan lensa *close up*. Jumlah

spora masing-masing cendawan patogen terbawa benih kakao hibrida dapat dilihat pada Tabel 1. Masing-masing cendawan patogen terbawa benih pada media PDA diencerkan hingga mencapai kerapatan 10^6 spora/ml untuk diinokulasikan pada benih kakao hibrida.

Uji patogenistas isolat cendawan terbawa benih dilakukan dengan cara merendam benih kakao ke dalam suspensi spora (mikroba 10^6 spora/ml) masing-masing cendawan selama 30 menit. Benih ditiriskan dan dibiarkan dalam kotak plastik tertutup rapat tidak tembus udara selama beberapa menit. Selanjutnya, benih yang sudah diinokulasikan dengan cendawan, ditanam pada medium pasir steril dalam kotak plastik ukuran 30 x 30 cm. Medium pasir disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120°C dan tekanan 1,2 atm selama 30 menit. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dan diulang sebanyak empat kali. Setiap unit percobaan menggunakan 25 benih yang ditanam pada kotak plastik. Parameter fisiologis yang diamati adalah daya berkecambah, indeks vigor, kecepatan tumbuh relatif, T_{50} , laju pertumbuhan kecambah, jumlah daun, tinggi bibit, panjang akar, jumlah akar, dan persentase kematian.

Perhitungan persentase kematian cendawan terbawa benih berdasarkan pada perbandingan jumlah benih yang tidak tumbuh normal atau tidak tumbuh pada masing-masing unit percobaan dibagi dengan jumlah benih kakao yang ditanam dengan rumus:

$$Ps = \frac{\sum \text{benih yang tidak tumbuh}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Keterangan: Ps = persentase kematian

Pengamatan perkembangan infeksi pada bibit yang diinokulasikan dengan cendawan terbawa benih kakao hibrida dilakukan pada umur kecambah 21 hari. Bibit diambil dari kotak semaian, kemudian diambil bagian sampel kotiledon, daun, batang, dan akarnya. Sampel dicuci dengan air steril, dikeringkan dengan tisu steril, dan dimasukkan ke dalam kantong plastik steril. Masing-masing kotiledon, daun, batang, dan akar dipotong-potong pada ukuran 0,5-1 mm dan ditanam pada media PDA pada laminar *air flow cabinet* untuk selanjutnya diinkubasikan selama 3-6 hari. Karakteristik morfologi dari isolat cendawan yang tumbuh diamati dari warna koloni dan bentuk konidiofor, hifa, vesikel dan metulanya.

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan ANOVA sesuai rancangan yang digunakan dalam program SAS. Apabila hasil sidik ragam menunjukkan pengaruh faktor perlakuan nyata pada taraf 0,05 maka dilanjutkan dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Inokulasi Cendawan Terbawa Benih

Benih kakao yang diinokulasikan dengan beberapa isolat cendawan terbawa benih secara fisik mengalami

perubahan warna dari warna coklat mengkilat menjadi coklat pucat keputihan, sehingga menurunkan viabilitas dan vigor benih. Beberapa isolat cendawan yang sama memperlihatkan pertumbuhan dan kerapatan spora yang sama dan pada isolat cendawan yang berbeda kerapatannya diseragamkan menjadi 10^6 spora/ml. Inokulasi beberapa isolat cendawan terbawa benih kakao hibrida berpengaruh nyata terhadap penurunan daya berkecambah, indeks vigor, K_{CT-R} , T_{50} , laju pertumbuhan kecambah, dan tingkat infeksi (Tabel 1). Pada Tabel 1 terlihat bahwa dengan inokulasi cendawan terbawa benih pada benih kakao nyata dapat menurunkan daya berkecambah, indeks vigor, dan K_{CT-R} , sedangkan T_{50} mengalami peningkatan. Kematian benih kakao pada kontrol atau tanpa perlakuan disebabkan oleh pertumbuhan benih yang abnormal dan tidak tumbuh, sedangkan dengan inokulasi cendawan terbawa benih pada benih kakao menunjukkan tingkat infeksi yang cukup tinggi. Dibanding dengan tanpa inokulasi cendawan terbawa benih, viabilitas dan vigor benih sangat rendah.

Semua cendawan terbawa benih yang diuji bersifat patogenik pada benih kakao dengan patogenisitas yang bervariasi. Dalam penelitian ini penurunan daya berkecambah, indeks vigor, dan K_{CT-R} paling besar terjadi pada perlakuan inokulasi dengan *Cladosporium herbanum*, *Aspergillus* spp., *C. geniculata*, *F. oxysporum*, *Macrophoma* sp dan *P. chrysogenum* sedangkan peningkatan T_{50} terjadi pada perlakuan *P. glomerata* dan *Macrophoma* sp. Beberapa cendawan diduga dapat menginfeksi dan merusak bagian dari benih dan tanaman seperti endosperma, embrio axis, radikula, akar, daun, batang, dan ranting. Menurut KARBAN *et al.* (1987) bahwa inokulasi patogen *Tetranychus urticae* dapat menginfeksi dan merusak bagian benih seperti kotiledon, sehingga dapat mengurangi pertumbuhan atau kemungkinan mematikan. Selanjutnya EMBABY dan ABDEL-GALIL (2006) menyatakan bahwa inokulasi isolat patogen *A. flavus* dan *F. oxysporum* pada benih legum dan cowpea dapat menurunkan perkecambahan 43,2-62,2%, protein 8,9%, karbohidrat 12,65%, lemak 3,18%, dan serabut 1,75%. Infeksi patogen dapat terjadi secara langsung pada permukaan benih atau melalui luka dan lenti sel (PATHAK 1980). Infeksi patogen melalui lenti sel (stomata) dan luka mudah terjadi, tetapi infeksi langsung patogen masih sulit terjadi. Menurut SOESANTO (2006), kemampuan patogen dalam menginfeksi secara langsung terjadi apabila patogen memiliki enzim yang dapat masuk ke dalam benih seperti patogen antraknosa. Patogen ini mampu menguraikan dinding sel inang, sehingga memudahkan patogen masuk ke dalam jaringan dan menginfeksi inang. Oleh karena itu inokulasi beberapa isolat cendawan terbawa benih sangat bermanfaat guna mengetahui kemampuannya dalam menginfeksi benih dan potensinya dalam menurunkan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao. Hasil ini dapat menginformasikan bahwa cendawan terbawa benih pada kakao perlu dikendalikan sejak awal, sehingga secara berkelanjutan viabilitas dan vigor benih maupun bibit dan pertumbuhan tanaman sampai dengan produksi menjadi tidak terganggu.

Tabel 1. Pengaruh inokulasi beberapa isolat cendawan terbawa benih terhadap daya berkecambah, indeks vigor, kecepatan tumbuh relatif (K_{CT-R}), kecepatan perkecambahan (T_{50} menurun), laju pertumbuhan kecambah (LPK), dan patogenisitas pada benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6
 Table 1. Effect of inoculation of several isolates of seed borne fungi on the seed germination, vigor index, relative growth rate (K_{CT-R}), germination rate (T_{50} decreases), rate of sprout growth, and pathogenicity of the hybrid cocoa seeds TSH 858 x Sca 6

Cendawan terbawa benih Seed-borne fungi	Peubah Variable					
	Daya berkecambah Seed germination (%)	Indeks vigor Vigor index (%)	K_{CT-R} Relative growth rate (%)	T_{50} Germination rate (hari)	LPK Rate of sprout growth (g)	Kematian benih Seed death (%)
Kontrol (tanpa inokulasi) Control (without inoculation)	90 a	55 a	93 a	11,93 a	0,32 bc	11 a
<i>Aspergillus flavus</i>	55 cde	12 c	51 cde	18,00 b	0,27 bc	45 cde
<i>Aspergillus versicolor</i>	70 b	13 c	66 bcde	18,13 b	0,26 bc	30 b
<i>Aspergillus ochraceus</i>	52 cd	9 c	55 cde	18,38 b	0,27 bc	50 e
<i>Penicillium chrysogenum</i>	50 e	14 c	48 e	17,63 b	0,28 bc	52 e
<i>Cladosporium herbanum</i>	48 e	8 c	49 de	12,55 a	0,40 ab	41 bcde
<i>Colletotrichum acutatum</i>	60 cde	20 bc	71 bc	13,10 a	0,20 c	49 de
<i>Curvularia geniculata</i>	51 ed	10 c	51 cde	18,88 b	0,52 a	29 b
<i>Fusarium semitectum</i>	71 b	15 bc	73 bc	18,88 b	0,30 bc	34 bc
<i>Fusarium culmorum</i>	66 bc	25 bc	70 bcd	17,63 b	0,32 bc	49 de
<i>Fusarium oxysporum</i>	51 ed	11 c	51 cde	18,50 b	0,36 b	35 cde
<i>Moniliella acetoabutens</i>	65 bcd	5 bc	69 bcde	18,92 b	0,24 bc	49 de
<i>Phoma glomerata</i>	54 cde	9 bc	80 ab	19,29 b	0,31 bc	35 cde
<i>Macrophoma sp</i>	52 cde	10 c	54 cde	19,29 b	0,29 bc	40 bcde

Keterangan : Angka pada kolom yang sama, yang diikuti oleh huruf yang sama, berbeda tidak nyata menurut Uji Duncan 5%

Note : Numbers followed by the same letter for each factor are not significantly different at 0.05 DMRT

Pengamatan pertumbuhan bibit kakao yang benihnya diinokulasi dengan isolat cendawan terbawa benih menunjukkan tidak berbeda nyata dibanding dengan kontrol dan hanya *P. glomerata* dan *Macrophoma sp.* pada tinggi bibit, jumlah, daun dan jumlah akar (Tabel 2). Isolat cendawan terbawa benih, *P. glomerata* dan *Macrophoma sp.* mampu menghambat pertumbuhan bibit kakao dan berbeda nyata dibanding dengan beberapa isolat cendawan terbawa benih lainnya. Pengaruh *P. glomerata* dan *Macrophoma sp.* tidak berbeda nyata dengan *C. acutatum*,

M. acetoabutens, *C. herbanum*, *F. semitectum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. ochraceus* dan *P. chrysogenum* pada tinggi bibit, jumlah daun, panjang akar dan jumlah akar.

Hasil reisolasi cendawan dari berbagai bagian bibit kakao ditemukan pada kotiledon, daun, batang dan akar namun tidak ditemukan pada kontrol (Tabel 3). Beberapa isolat cendawan ditemukan pada semua bagian bibit kakao kecuali *A. flavus*, *A. ochraceus*, *F. semitectum*, dan *F. culmorum*. Isolat cendawan terbawa benih ini memiliki

Tabel 2. Pengaruh inokulasi beberapa isolat cendawan terbawa benih terhadap tinggi bibit, jumlah daun, panjang akar, dan jumlah akar bibit kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 pada umur 21 hari

Table 2. Effect of inoculation of some isolates of seed-borne fungus on seedling height, leaf number, root length, and root number of hybrid cocoa seedlings TSH 858 x Sca 6 at 21 days of age

Perlakuan Treatment	Peubah Variables			
	Tinggi bibit Height of seedling (cm)	Jumlah daun Number of leaf	Panjang akar Root length (cm)	Jumlah akar Numbers of root
Kontrol (tanpa inokulasi) Control (without inoculation)				
<i>Aspergillus flavus</i>	16,52 a	4,05 a	6,49 ab	35,65 a
<i>Aspergillus versicolor</i>	14,05 a	3,61 a	7,11 a	33,50 ab
<i>Aspergillus ochraceus</i>	13,85 a	3,75 a	7,15 a	34,30 ab
<i>Penicillium chrysogenum</i>	15,45 a	3,55 a	7,85 a	29,75 abc
<i>Cladosporium herbanum</i>	13,66 a	3,75 a	7,30 a	31,75 abc
<i>Colletotrichum acutatum</i>	15,48 a	3,75 a	6,55 ab	33,05 ab
<i>Curvularia geniculata</i>	13,32 ab	3,40 ab	6,27 ab	33,60 ab
<i>Fusarium semitectum</i>	15,47 a	3,90 a	7,29 a	33,25 ab
<i>Fusarium culmorum</i>	14,70 a	3,70 a	6,44 ab	32,05 abc
<i>Fusarium oxysporum</i>	14,58 a	3,75 a	6,81 ab	31,90 abc
<i>Moniliella acetoabutens</i>	15,34 a	4,00 a	6,92 ab	34,90 a
<i>Phoma glomerata</i>	13,13 ab	3,70 a	7,49 a	36,25 a
<i>Macrophoma sp</i>	9,32 b	2,60 bc	4,95 b	23,80 bc
	9,13 b	2,50 c	5,07 b	22,45 c

Keterangan : Angka pada kolom yang sama, yang diikuti oleh huruf yang sama, berbeda tidak nyata menurut Uji Duncan 5%

Note : Numbers followed by the same letter for each factor are not significantly different at 0.05DMRT

kemampuan untuk menginfeksi dan menurunkan vigor bibit kakao. Menurut GOSZCZYNSKA *et al.* (2006), bahwa inokulasi cendawan *Pantoea ananatis* terbawa benih bawang teridentifikasi sebagai patogen yang menyerang bagian akar bawang. Selanjutnya infeksi patogen mempunyai potensi untuk menurunkan viabilitas benih dan pertumbuhan bibit kopi dan kakao menjadi abnormal atau tumbuh kerdil (RAHARDJO, 1997).

Beberapa cendawan yang termasuk ke dalam golongan genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, dan *Alternaria* dilaporkan memproduksi metabolit sekunder (NOVERIZA, 2008). *A. flavus* dan *A. parasiticus* merupakan spesies cendawan yang dapat memproduksi metabolit toksik atau disebut aflatoxin yang sangat karsinogenik dan mutagenik. Jumlah aflatoxin B1 yang dapat menyebabkan racun antara 0,86-5,24 µg/ml kultur filtrat ekstrak tanaman (ROY *et al.*, 1988). Selanjutnya cendawan patogen jenis *Alternaria*, *Ascochyta*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cercospora* dan *Phyllosticta* mampu memproduksi senyawa fitotoksin

Tabel 3. Bagian tanaman yang terinfeksi beberapa isolat cendawan patogen terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 pada umur 21 hari

Table 3. Plant tissue infected by some isolates of fungal pathogens of hybrid cocoa seeds of TSH 858 x SCA 6 at 21 days of age

Nama cendawan Name of fungus	Bagian tanaman yang terinfeksi cendawan pathogen Plant tissues infected by fungus			
	Kotiledon	Daun	Batang	Akar
	Cotyledons	Leaf	Stem	Root
Kontrol Control	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	+	-	+	+
<i>Aspergillus versicolor</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	+	-	+
<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	+	+
<i>Cladosporium herbanum</i>	+	+	+	+
<i>Colletotrichum acutatum</i>	+	+	+	+
<i>Curvularia geniculata</i>	+	+	+	+
<i>Fusarium semitectum</i>	+	-	+	-
<i>Fusarium culmorum</i>	+	-	+	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+	+
<i>Moniliella acetoabutens</i>	+	+	+	+
<i>Phoma glomerata</i>	+	+	+	+
<i>Macrophoma</i> sp	+	+	+	+

Keterangan : + = terinfeksi patogen

Note : + = infected by pathog

- = tidak terinfeksi cendawan patogen

- = Not infected by pathogens

brefeldin dan α,β -dehydrocurvularin. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar aflatoxin tidak hilang atau berkurang dengan pemasakan atau pemanasan dan bahkan tidak terurai pada suhu didih air (FEUELL, 1996). Menurut NOVERIZA (2008), efek toksik yang ditimbulkan dari masing-masing patogen berbeda-beda, karena adanya perbedaan sifat-sifat kimia, biologik, dan toksikologiknya. Tingkat infeksi patogen dipengaruhi oleh faktor internal seperti jumlah mikotoksin, tingkat toksisitas, sifat fisiologis dan efek sinergis dari berbagai mikotoksin pada tanaman (BAHRI *et al.*, 2002) dan faktor eksternal adalah lingkungan. Efek toksisitas dari masing-masing cendawan patogen tersebut di atas dapat mempengaruhi

mutu fisik dan fisiologis benih. Mutu fisik benih menjadi tidak normal dan mutu fisiologis dapat menurunkan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao.

Berdasarkan beberapa hasil penelitian di atas bahwa cendawan seperti *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Curvularia* sp., dan *Fusarium* spp. juga ditemukan terbawa benih kakao hibrida dan berpengaruh menurunkan kualitas benih. Potensi cendawan ini terbawa biji (bukan benih) sangat besar dan potensinya sebagai penghasil toksin yang membahayakan manusia perlu diteliti lebih lanjut, mengingat makanan coklat dari hasil produksi kakao merupakan produk yang paling banyak dikonsumsi orang.

Cendawan terbawa benih juga dapat dikendalikan secara biologis dengan menggunakan agens hayati atau pestisida nabati dan kimiawi. Hasil penelitian KAVITA dan REDDY (2000), menunjukkan bahwa sodium klorida (2,5; 5,0; dan 10,0%), asam propionat (1,0; 2,5; dan 5%), asam asetat (1; 2,5; dan 5%) yang diinokulasikan pada kacang tanah dan jagung dapat menghambat *Aspergillus flavus* pada saat disimpan di dalam karung goni. Pengendalian secara biologis saat ini telah banyak dilakukan guna menekan infeksi patogen dengan cara mengintroduksi strain patogen pada tanah tempat tumbuh tanaman dengan *Trichoderma* sp., serta jenis patogen antagonis lainnya. Hasil penelitian DORNER *et al.* (1998) melaporkan bahwa infeksi oleh aplikasi *Trichoderma* sp. pada beberapa kombinasi perlakuan *A. flavus* dan *A. parasiticus* yang atoksigenik pada tanah pertanaman kacang tanah di Amerika Serikat dapat ditekan sebesar 74,3-99,9% dan pada tanaman kapas 68-87% (COTTY, 1994). Aplikasi perlakuan minyak atsiri *Ocimum basilicum*, *Cinnamomum cassia*, *Coriandrum sativum*, dan *Laurus nobilis* konsentrasi 1-10% dapat mengendalikan *Aspergillus parasiticus* pada benih sorgum, jagung, melon, dan kacang tanah (ATANDA *et al.*, 2007). Radiasi merupakan salah satu strategi untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Metode di atas juga dapat dilakukan pada benih kakao yang dikombinasikan dengan *Trichoderma* sp. pada medium pasir, tanah, dan kompos dengan cara mencelupkan benih ke dalam minyak atsiri sebelum disimpan atau ditanam.

KESIMPULAN

Ke-13 isolat cendawan patogen terbawa benih bersifat patogenik pada benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 mempunyai tingkat patogenisitas yang berbeda-beda. Cendawan patogen terbawa benih yang bersifat patogenik pada benih kakao hibrida adalah *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp. Cendawan patogen terbawa benih tersebut memiliki kemampuan untuk menurunkan daya berkecambah sebesar 20-40%, indeks vigor 30-47%, kecepatan tumbuh relatif 13-45% dan meningkatkan kecepatan perkecambahan (T_{50} menurun) 0,62-7,36 hari. Tingkat patogenisitas cendawan terbawa benih dapat

menyebabkan kematian benih atau pertumbuhan menjadi tidak normal sebesar 29-52% dibanding kontrol.

Ke-13 isolat cendawan patogen yang diinokulasikan pada benih kakao hibrida dapat menginfeksi bagian jaringan tanaman seperti kotiledon, daun, batang, dan akar bibit kakao hibrida. Spesies *Phoma glomerata* dan *Macrophoma* sp. mampu menurunkan tinggi bibit, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar bibit kakao hibrida. Hasil penelitian ke-13 isolat cendawan terbawa benih yang diinokulasikan pada benih, sebanyak tujuh isolat bersifat patogenik dan mampu menurunkan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao hibrida. Ke-13 isolat juga mampu menginfeksi bagian jaringan tanaman bibit kakao hibrida.

DAFTAR PUSTAKA

- ATANDA, O.O., I. AKPAN, and F. OLUWAFEMI. 2007. The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin production. *Food Control*. 18: 601-607.
- AZIZ, N.H. and S.R. MAHROUS. 2004. Effect of gamma irradiation on aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus* and chemical composition of three crop seeds. *Nahrung*. Weinheim, Germany. 48: 234-238.
- BAHARUDIN, M.R. SUHARTANTO, S. ILYAS, dan A. PURWANTARA. 2011. Perubahan biologis dan fisiologis sebagai indikator masak benih kakao hibrida. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 17(2): 41-50.
- BAHARUDIN, S. ILYAS, M.R. SUHARTANTO, dan A. PURWANTARA. 2010. Pengaruh lama penyimpanan dan perlakuan benih terhadap peningkatan vigor benih kakao hibrida. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. 13(1):73-84.
- BAHARUDIN, A. PURWANTARA, S. ILYAS, dan M.R. SUHARTANTO. 2011. Isolasi dan identifikasi cendawan terbawa benih kakao hibrida. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 18(1): 40-46.
- BRISTOW, P.R. and G.E. WINDOM. 2000. Anthracnose fruit rot of highbush blueberry: production of inoculum and time of infection. *Phytopathology*. 90: 1- 9.
- CAPPELLINI, R.A., A.W. STRETCH, and J.M. MAIELLO. 1972. Fungi associated with blueberries held at various storage times and temperatures. *Phytopathology*. 62: 9-68.
- COTTY, P.J. 1994. Influence of field application of an atoxigenic strain of *Aspergillus flavus* on the populations of *A. flavus* infecting cotton bolls and on the aflatoxin content of cotton seed. *Phytopathology*. 84: 1270-1277.
- DeMARASAY, A. and P.V. OUDEMANS. 2003. *Colletotrichum acutatum* infections in dormant highbush blueberry buds. *Phytopathology*. 93: 1-20.
- DORNER, J.W., R.J. COLE, and P.D. BLANKENSHIP. 1998. Effect of inoculum rate of biological control agents on preharvest aflatoxin contamination of peanuts. *Biol. Control*. 12: 171-176.
- EMBABY, E.M. and M.M. ABDEL-GALIL. 2006. Seed borne fungi and mycotoxins associated with some legume seeds in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*. 2(11): 1064-1071.
- FEUELL, A.J. 1996. Aflatoxin in groundnuts. Part 9: Problems of detoxification. *Tropical Science*. 8: 61-70.
- GOSZCZYNSKA, T., V.M. MOLOTO, S.N. VENTER, and T.A. COUTINHO. 2006. Isolation and identification of *Pantoea ananatis* from onion seed in South Africa. *Seed Sci. and Techno*. 34: 655-668.
- KARBAN, R., R. ADAMACHAK, and W.C. SCHNATHORST. 1987. Induced resistance and interspecific competition between spider mites and a vascular wilt fungus. *Science*. 235: 678-680.
- KAVITA, W. and M.U. REDDY. 2000. Effect of chemicals on aflatoxin B1 production, germination, and viability in maize and groundnuts. *Journal of Res. Angrau*. 28: 57-64.
- MORKUNAS, I., MARZAK, J. STACHOWIAK, and M. STABIECKI. 2005. Sucrose-induced lupine defense against *Fusarium oxysporum*: Sucrose-stimulated accumulation of isoflavonoids as a defense response of lupine to *Fusarium oxysporum*. *Plant physiology and Biochemistry*. Elsevier SAS, France. 43(4):363-373.
- NOVERIZA, R. 2008. Kontaminasi cendawan dan mikotoksin pada tumbuhan obat. *Perspektif*. 7(1): 35-46.
- PATHAK, V.N. 1980. *Disease of Fruit Crops*. Oxford and IBH Publishing Company. New Delhi 309p.
- POLASHOCK J.J., M.K. EHLENFELDT, A.W. STRETCH, and M. KRAMER. 2005. Anthracnose fruit rot resistance in blueberry cultivars. *Plant Disease*. 89: 33-38.
- RAHARDJO, P. 1997. Evaluasi daya tumbuh benih kopi dan kakao asal Pusat Penelitian Kopi dan Kakao di beberapa lokasi pembibitan. *Warta Puslitkoka*. (13): 59-64.
- ROY, A.K., K.K. SINHA, and H.K. CHOURASIA. 1988. Aflatoxin Contamination of Some Common Drug Plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 54(3): 842-843.
- SOEPADMO, B. 1976. *Colletotrichum gloeosporioides* sebagai penyebab gugur daun karet. Makalah No. 46. Kongres Nasional ke IV Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Gambung Bandung 20-21 Desember 1976.
- SOESANTO, L. 2006. *Penyakit Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta. 268 hlm.
- STOUT, M.J., A.L. FIDANTSEF, S.S. DUFFEY, and R.M. BOSTOCK. 1998. Signal interactions in pathogen and insect attack: systemic plant-mediated interaction between pathogens and herbivores of the tomato,

- Lycopersicon esculentum*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 54: 115-130.
- SUKAMTO, S. 2008. Pengendalian Penyakit. Panduan Lengkap Kakao. Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir. Penebar Swadaya. Informasi Dunia Pertanian Bogor. 154-169.
- VERMA N., L. McDONALD, and Z.K. PUNJA. 2006. Inoculum prevalence, host infection, and biological control of *Colletotrichum acutatum* : causal agent of lueberry anthracnose in British Columbia. Plant Pathology. 55: 442-450.