

POTENSI CENDAWAN ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO (*Phytophthora palmivora* Butl.)

*Potential of Endophytic Fungi As Biological Control Against Black Pod Disease
(Phytophthora palmivora Butl.)*

Rita Harni dan Khaerati

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jl. Raya Pakuwon – Parungkuda km. 2 Sukabumi, 43357
Telp. (0266) 6542181, Faks. (0266) 6542087
rita_harni@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penyakit busuk buah kakao (BBK) yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* merupakan penyakit penting pada tanaman kakao. Akibat serangan penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil 20-40% diseluruh dunia dan kerugian akan meningkat terutama di daerah dengan curah hujan dan kelembaban yang tinggi. Di Indonesia kerugian akibat penyakit ini dapat mencapai 100% terutama pada saat musim hujan. Pengendalian penyakit busuk buah kakao yang dilakukan petani adalah menggunakan pestisida kimia. Penggunaan pestisida kimia terus menerus dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan, merusak kesehatan, dan terjadi resistensi pada patogen. Untuk itu pengendalian penyakit busuk buah diarahkan kepada pengendalian yang ramah lingkungan yaitu menggunakan agens hayati cendawan endofit. Cendawan endofit mempunyai prospek yang baik sebagai agensia hayati untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao karena mereka tidak harus bersaing dalam ekosistem yang baru dan kompleks. Kelebihan lainnya, endofit juga mampu sebagai perangsang tumbuh, pemicu inang untuk memproduksi senyawa untuk pertahanan tanaman seperti fitoaleksin, bertahan dalam kondisi stres. Mekanisme endofit dalam mengendalikan cendawan adalah menginduksi ketahanan tanaman, menghasilkan senyawa metabolit yang beracun bagi patogen, atau terjadinya kompetisi ruang dan nutrisi, mereduksi produksi toksin yang dihasilkan oleh patogen sehingga tidak patogenik terhadap tanaman. Indonesia sebagai negara yang memiliki keragaman hayati tinggi, eksplorasi, dan pemanfaatan endofit sebagai agensia hayati sudah saatnya ditingkatkan untuk mendukung program pengendalian hama/penyakit terpadu. Penggunaan endofit untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dan memberikan hasil yang efektif untuk mengendalikan penyakit tersebut.

Kata kunci: Cendawa endofit, kakao, *Phytophthora palmivora*, Penyakit busuk buah

ABSTRACT

Black pod disease caused by Phytophthora palmivora is a major disease in cocoa plants. The infection may cause a yield loss of 20-40% worldwide and even worse in areas with high rainfall and humidity. In Indonesia, the loss due to this disease can reach up to 100%, especially during the rainy season. The control of black pod disease is usually done using chemical pesticides which causes in environmental pollution, damage to health and resistance to pathogens. Therefore, a more environmentally-friendly control of black pod diseases is developed, such as endophytic fungal as biological agents. Endophytic fungal is a prospective biological agents to control cocoa pod rot because they do not compete in new and complex ecosystems. Another benefit, endophytes also function as growth stimulants, trigger the host to produce compounds for plant defense such as phytoalexin and survive under stressful conditions. The mechanism of endophytes fungal is by inducing plant resistance, producing metabolites that are toxic to pathogens, or competing for space and nutrition, as well as reducing the toxins produced by pathogens so that they are not pathogenic to plants. Indonesia has a rich diversity thus exploration and utilization of endophytes as bioagents should be increased to support pest/disease control programs. The use of endophytes to control cocoa pod rot has been reported before and proven effective to control the disease.

Key words: Endophytic fungal, cocoa, *Phytophthora palmivora*, black pod disease

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peran penting dalam perekonomian Indonesia, baik sebagai pendapatan petani maupun sebagai komoditas ekspor. Luas areal pertanaman kakao Indonesia tahun 2012 adalah

1.475.344 ha, 1.372.705 ha (93%) merupakan kakao rakyat (Ditjenbun, 2012). Hal ini mengindikasikan peran penting kakao baik sebagai lapangan kerja maupun sebagai pendapatan petani. Disamping itu kakao juga merupakan komoditas ekspor, tahun 2014 ekspor kakao Indonesia 240.000 ton biji kering, di bawah Pantai Gading, Ghana, dan

Ekuador dengan produksi 1.964.000 ton, 905.000 ton, dan 270.000 ton (ICCO, 2019). Dengan volume tersebut Indonesia merupakan pengekspor biji kakao terbesar keempat dunia.

Permasalahan yang dihadapi perkakaoan nasional adalah rendahnya produktifitas dan mutu. Produksi tanaman kakao 803 kg/ha/th, jauh dari tingkat yang diharapkan sebesar 2.000 kg/ha/tahun. Standar produksi ini dapat dilampaui bila dalam usahatani kakao diterapkan berbagai teknologi yang mendukung. Rendahnya tingkat produktivitas kakao disebabkan karena kurangnya perhatian petani terhadap faktor-faktor yang memengaruhi produksi seperti pemupukan, pemangkasan dan pengendalian hama penyakit, seperti hama penggerek buah kakao (PBK), penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora*) (Harni,) dan *vascular streak dieback* (VSD) (Samuel *et al.*, 2011; Harni 2013).

Penyakit busuk buah kakao (BBK) yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* merupakan penyakit yang sangat penting pada tanaman kakao. Akibat serangan penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil 20-40% diseluruh dunia (Guest, 2007; Evans, 2007; Deberdt *et al.*, 2008), dan kerugian akan meningkat terutama di daerah dengan curah hujan dan kelembaban yang tinggi (Bower *et al.*, 2001; McMahan & Purwantara, 2004). Di Indonesia kerugian akibat penyakit ini dapat mencapai 100% terutama pada saat musim hujan (Guest, 2007; Harni *et al.*, 2014).

Pengendalian penyakit busuk buah yang banyak dilakukan petani adalah menggunakan pestisida sintetik. Penggunaan pestisida sintetik yang terus menerus dapat berakibat buruk terhadap lingkungan, kesehatan manusia (Nasahi, 2009) dan memberikan efek residu pada produk kakao yang dihasilkan sehingga menjadi kendala bagi para produsen kakao, terutama untuk tujuan ekspor. Di samping itu penggunaan pestisida sintetik membutuhkan biaya yang tinggi.

Pengendalian yang banyak diteliti saat ini adalah pemanfaatan hubungan antara mikroorganisme dengan tanaman, salah satunya menggunakan cendawan endofit. Cendawan endofit adalah cendawan yang berasosiasi

dengan tanaman sehat dan tidak memperlihatkan gejala serangan (Petrini, 1992). Hubungan cendawan endofit dengan inangnya adalah mutualisme, seperti meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen, melindungi tanaman dari serangan hama, membantu ketersediaan nutrisi, membantu tanaman dalam menghadapi kondisi lingkungan yang ekstrim seperti kekeringan atau suhu yang tinggi (Yuan *et al.*, 2010).

Penggunaan cendawan endofit untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Hanada *et al.*(2010); Melnik *et al.*(2011) dan Meija *et al.*(2008) menggunakan cendawan dan bakteri endofit untuk mengendalikan *P. palmivora*, *Moniliophthora perniciosa*, dan *M.roreri*patogen penyebab penyakit busuk buah pada tanaman kakao. Rubini *et al.* (2005) telah menemukan beberapa isolat endofit dari tanaman kakao yaitu *Acremonium*, *Blastomyces*, *Botryosphaeria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Cordyceps*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gibberella*, *Gliocladium*, *Lasiodiplodia*, *Monilochoetes*, *Nectria*, *Pestalotiopsis*, *Phomopsis*, *Pleurotus*, *Pseudofusarium*, *Rhizopycnis*, *Syncephalastrum*, *Trichoderma*, *Verticillium* and *Xylaria*, dan Amin *et al.* (2014) menemukan *Curvularia* , *Fusarium*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Colletotrichum* dari tanaman kakao.

Tulisan ini membahas tentang potensi cendawan endofit untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao *Phytophthora palmivora*.

BIOEKOLOGI PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO

P. palmivora penyebab busuk buah kakao dapat menginfeksi semua bagian tanaman diantaranya daun, pucuk, akar, buah kecil, bunga dan batang (kanker batang) (Guest 2007). Meskipun demikian buah-buah yang belum matang adalah paling peka terhadap serangan pathogen (Deberdt *et al.* 2008).



Gambar 1. Gejala busuk buah kakao
Figure 1. The symptoms of black pod disease

Gejala penyakit serangan *P. palmivora* terlihat buah kakao tampak busuk dan berwarna hitam (Gambar 1). Bercak awalnya berukuran kecil biasanya dibagian ujung, pangkal atau tengah buah. Bercak berkembang dengan cepat seluruh permukaan buah dan biji (Guest 2007). Buah yang terinfeksi akan menjadi busuk total dalam waktu 2 minggu (Jackson & Wright 2001). Serangan *P. palmivora* menyebabkan biji kakao berkerut dan berubah warna, buah-buah yang sakit akhirnya menjadi hitam (mumi) (Bowers *et al.*, 2001; Guest, 2007).

Phytophthora termasuk family *Pythiaceae*, ordo *Peronosporales*, kelas *Oomycetes*. *P. palmivora* merupakan cendawan heterotalik, tidak menghasilkan stadium seksual dalam medium buatan. Miselium tidak bersepta dan mengandung banyak inti diploid. Hifa tidak berwarna, mempunyai cabang yang banyak, agak keras, sinosis, kadang-kadang bersepta, berdiameter 5–8 μ pada jaringan tanaman, pertumbuhan hifa biasanya interseluler dan membentuk haustorium di dalam sel inang (Alexopoulos & Mims, 1996).

Patogen *P. palmivora* tumbuh baik pada suhu udara 25-30°C dengan kelembaban relatif 78-80% dan pembentukan sporangia

pada suhu >20°C (Erwin & Ribeiro, 1996; Dreth & Sendall, 2004). *P. palmivora* memiliki empat jenis spora yang dapat secara langsung atau tidak langsung menyebabkan infeksi, yaitu sporangia, zoospora, oospora, dan klamidospora. Sporangia diproduksi pada buah, daun, batang, atau akar yang terinfeksi. Spora dapat berkecambah langsung di permukaan tanaman atau di tanah dan mampu menghasilkan zoospora. Zoospora dapat berenang di air tanah atau air di permukaan tanaman sampai mereka menemukan tanaman yang dapat diinfeksi (Vanegter, *et al.* 2015). Menurut Motulo *et al.* (2007), koloni *P. palmivora* berbentuk bulat dengan pinggiran rata berwarna putih. Terdapat empat bentuk sporangia ovoid, limoniform, obturbinate, dan obpyriform, panjang sporangium 40-62 μ m dan lebar 28-43 μ m, mempunyai papila, pedicel pendek, caducous, dan model percabangan simpel simpodia (Stamps *et al.*, 1990).

Siklus hidup patogen dapat berlangsung secara seksual (kawin) dan aseksual (tidak melalui perkawinan). Siklus hidup aseksual dimulai dari perkecambahan sporangium secara langsung maupun zoosporangium pada permukaan buah kakao yang lembab dan basah, kemudian membentuk miselia yang mampu mendegradasi dinding sel permukaan buah. Patogen *P. palmivora* terus mengkolonisasi permukaan buah, sehingga terlihat gejala busuk basah. Patogen akan membentuk sporangium kembali pada permukaan buah yang terlihat seperti kapas, demikian terjadi berulang kali, pada kondisi lingkungan optimum untuk perkembangan patogen.

POTENSI CENDAWAN ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI

Evolusi, Biologi, dan Taksonomi Cendawan Endofit

Cendawan endofit sebagai cendawan yang berasosiasi dengan tanaman sehat tanpa memperlihatkan gejala sakit (Sinclair & Cerkauskas 1996). Cendawan endofit dapat berasosiasi yang saling menguntungkan (symbiosis mutualisme) dengan tanaman inang.

Simbiosis mutualisme yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Cendawan endofit memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan inangnya, sebaliknya tumbuhan inang memperoleh proteksi terhadap patogen tumbuhan dari senyawa yang dihasilkan cendawan endofit (Prihatiningtias, 2006).

Cendawan endofit awalnya mulai diteliti dari beberapa jenis rumput-rumputan di daerah subtropis-temperate. Menurut Clay & Schardl (2002), terjadinya asosiasi antara rumput dan endofit terutama didasarkan untuk melindungi inang terhadap stress abiotik dan biotik, tidak sama seperti simbiosis tumbuhan dan mikroba lainnya yang umumnya didasarkan untuk membantu memperoleh sumber daya mineral (nutrisi). Kelimpahan cendawan endofit di alam sangat tinggi, dapat ditemukan pada berbagai lokasi baik di daerah tropis maupun sub tropis serta berbagai jenis tanaman, seperti tanaman sayur-sayuran, buah-buahan, pangan, maupun tanaman hutan. Cendawan endofit yang masuk secara transmisi vertical, masuk dari generasi ke generasi tanaman melalui benih, biasanya umum pada tanaman yang tergolong ke dalam rumput-rumputan. Rumput yang menjadi inang cendawan endofit tersebut terlindungi dari hewan herbivore karena rumput tersebut menghasilkan toksin alkaloid yang diproduksi oleh cendawan endofit (Clay, 2004). Sebagian besar cendawan endofit ditransmisikan secara horizontal seperti pada kakao (Arnold 2003), sebagian lagi secara vertikal atau melalui biji seperti pada rumput-rumputan (Ernst *et al.* 2003). Dongyi *et al.* (2004) melakukan penelitian terhadap *Acremonium implicatum* yang merupakan cendawan endofit pada rumput *Brachiaria*. Benih dari tanaman yang terinfeksi dan yang tidak terinfeksi cendawan endofit ditanam. Hasilnya adalah benih dari tanaman terinfeksi akan tetap terinfeksi, sedangkan benih dari induk tidak terinfeksi juga menghasilkan tanaman yang tidak terinfeksi. Oleh karena itu mereka menyimpulkan bahwa *A. implicatum* dapat diwariskan ke keturunan berikutnya lewat biji. Selain lewat biji, cendawan endofit juga dapat diwariskan ke keturunan berikutnya lewat

sel telur atau alat perbanyak vegetatif, tetapi jarang melalui sperma (Ernst *et al.* 2003).

Asosiasi cendawan endofit dengan tumbuhan inangnya, oleh Carrol (1988) dalam (Worang, 2003) digolongkan dalam dua kelompok, yaitu *mutualisme konstitutif* dan *induktif*. *Mutualisme konstitutif* merupakan asosiasi yang erat antara fungi dengan tumbuhan terutama rumput-rumputan. Pada kelompok ini cendawan endofit menginfeksi ovula (benih) inang, dan penyebarannya melalui benih serta organ penyerbukan inang. *Mutualisme induktif* adalah asosiasi antara fungi dengan tumbuhan inang, yang penyebarannya terjadi secara bebas melalui air dan udara. Jenis ini hanya menginfeksi bagian vegetatif inang. Organisme endofit mempunyai fase epifit yang cukup panjang dan dalam perkembangan siklus hidupnya (Petrini, 1992).

Secara keseluruhan siklus hidup cendawan endofit pada rumput-rumputan tumbuh sebagai endofit non patogen atau epifit tanpa merusak sel inang. Namun demikian ada spesies yang berpotensi menjadi patogen, dengan gejala umum menyebabkan organ reproduksi menjadi mandul. Pada rumput, cendawan endofit kadang-kadang memberi keuntungan seperti menghasilkan alkaloid dan meningkatkan pertumbuhan vegetatif. Jadi, secara umum hubungan yang terjadi antara cendawan endofit dan tanaman adalah menguntungkan (Siegel & Schardl, 1992).

Ekologi dan Sebaran Endofit

Cendawan endofit telah menggolongkan dalam kelompok Ascomycotina dan Deuteromycotina diantaranya adalah genus *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Monochaetia*, dan lain-lain (Strobell *et al.*, 1996). Sedangkan (Clay, 1988) melaporkan bahwa cendawan endofit dimasukkan dalam famili *Balansiae* yang terdiri dari lima genus, yaitu *Atkinsonella*, *Balansiae*, *Balansiopsis*, *Epichloe* dan *Myriogenospora*.

Cendawan endofit hidup dalam sistem jaringan tumbuhan sehat seperti daun, bunga, ranting ataupun akar tumbuhan (Torres & White, 2012). Cendawan endofit ini di dalam tanaman berada di ruang antar sel. Diduga

endofit awalnya di luar tubuh tanaman yang kemudian masuk, yaitu jika terjadi luka pada tanaman. Jika sudah berada pada tanaman, endofit akan menetap. Endofit ini berkembang biak di dalam tanaman tanpa menyebabkan penyakit bagi tanaman inangnya (Atmosukarto, 2005). Mikroba endofit terdiri atas bakteri, cendawan, dan aktinomicetes, namun yang paling banyak ditemukan adalah golongan cendawan dan aktinomicetes.

Penelitian keragaman cendawan endofit pada beberapa inang tanaman telah diketahui bahwa umumnya sebagian besar cendawan dapat hidup dalam jaringan inang. Populasi mikrob endofit sangat berhubungan dengan lokasi tempat tumbuh tanaman (Petrini, 1992). Keragaman spesies cendawan endofit, berbeda dari tiap lokasi meskipun hanya satu atau dua jenis cendawan yang mendominasi suatu spesies tanaman inang. Petrini (1992) menjelaskan bahwa tingkat kolonisasi cendawan dipengaruhi oleh kondisi ekologi.

Hubungan antara tanaman inang dan mikrob endofit adalah simbiosis mutualisme dimana endofit mendapat nutrisi dan hidup, sedangkan inang tanaman mendapatkan nutrisi dalam sistem pertahanan, pertumbuhan, dan reproduksi (Irmawan, 2007). Mikrob endofit hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya.

Penularan endofit menurut Petrini (1992) menyatakan bahwa ada tiga mekanisme, yaitu: (1) infeksi pada jaringan tanaman melalui spora tepatnya mekanisme penyebaran sejumlah endofit yang bersporulasi dengan cepat dalam inang. Sebagai contoh adalah *Apiognomonina errabunda*, meskipun cendawan ini juga ditularkan benih. (2) Penularan melalui benih, (3) Penularan melalui serangga. Cendawan endofit masuk ke dalam jaringan tanaman melalui 2 cara, yaitu antara vertikal dan horizontal (Doss & Welty, 1995). Penyebaran cendawan endofit dapat secara vertikal melalui biji, yaitu cendawan endofit ditularkan secara maternal melalui biji tanaman inang, kemudian tumbuh dan berkembang dalam ovul dan biji (Clay *et al.*, 1993). Selain itu, penyebaran

cendawan endofit dapat terjadi secara horizontal melalui spora secara eksternal.

Cendawan yang terbawa oleh biji, termasuk Ordo *Clavicipitales*, Genus *Acremonium* (Doss & Welty, 1995). Endofit pada tanaman berkayu masuk pada jaringan tanaman melalui spora di udara, masuk ke dalam jaringan tanaman dan hidup di antara sel, disebut transmisi secara horizontal (Durham, 2004).

Kelimpahan dan Keragaman Endofit Tanaman

Kelimpahan dan keragaman mikroorganisme di alam sangat tinggi. Kegiatan-kegiatan eksplorasi cendawan maupun bakteri endofit pada berbagai inang tanaman telah menghasilkan isolat cendawan maupun bakteri yang sangat banyak. Cendawan maupun bakteri endofit yang ditemukan dalam jaringan maupun organ tanaman ada yang mampu menghasilkan zat alkaloid yang menginfeksi serangga maupun herbivor (Vinton *et al.*, 2001).

Pada umumnya, penyebaran cendawan endofit yang berasosiasi dengan daun sangat melimpah di daerah tropis daripada daerah sub tropis. Di hutan tropis cendawan endofit menginfeksi 100% dalam daun *Quercus emoryi* di Arizona, USA yang dihasilkan dari 30 spesies pohon dan semak belukar yang mewakili 24 famili dan 14 ordo Angiospermae. Selain itu, ditemukan sekitar 98,7% kolonisasi cendawan endofit untuk tiga spesies sampel dalam 14 ordo Angiospermae di daerah pulau Barro Colorado, Panama. Meskipun di daerah tropis kelimpahan cendawan endofit lebih tinggi daripada daerah sub tropis, tetapi di daerah sub tropis mungkin keragamannya lebih tinggi seperti pada daun *Magnoliagrandidiflora* (Magnoliaceae) dihasilkan lebih dari 30 spesies cendawan endofit ditemukan dari 9 sampel daun di daerah iklim dingin, sedangkan di hutan Panama lebih dari 400 jenis morfologi cendawan endofit ditemukan pada dua spesies inang (Arnold & Lewis, 2005).

Beberapa contoh cendawan endofit yang telah ditemukan dari bagian daun inang tanaman di hutan lindung Iwokrama, Guyana

yaitu 2.492 biakan dari 2.520 bagian daun, yang telah berhasil diidentifikasi ada 64 tingkatan morfologi cendawan endofit seperti *Colletotrichum*, *Nodulisporium* mirip *Xylaria*, *Pestalotiopsis*, *Phomopsis* dan lain-lain (Canon & Simmons, 2002). Dari family Orchidaceae, spesies *Lepanthes* dihasilkan isolat cendawan endofit dari isolasi bagian akar dan daun. Isolasi dari tanaman ini didapatkan 98 isolat, 68% dapat diklasifikasikan sampai tingkat spesies, sedangkan 32% belum bisa diidentifikasi sampai tingkat spesies. Keragaman kolonisasi cendawan endofit pada tanaman cabai paling banyak ditemukan pada akar, yaitu sebanyak 101 isolat dibandingkan dengan bagian batang dan cabang (Ramdan, 2014). Menurut Paul *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa hasil isolasi mikroba endofit tertinggi didapatkan dari akar dibandingkan batang dan daun, berturut-turut 41,0; 23,0; dan 36,0%. Cendawan endofit yang telah dieksplorasi dari 1440 sampel kulit buah kakao ditemukan sebanyak 2.843 isolat yang terdiri dari 37 spesies (6 Basidiomycetes, 30 Ascomycetes, dan satu belum teridentifikasi) (Tondok, 2011).

Cendawan Endofit Sebagai Agens Biokontrol

Dalam pengendalian penyakit, beberapa cendawan endofit mampu mengurangi serangan infeksi beberapa patogen. Cendawan endofit dari jenis *Chaetomium* sp dan *Phoma* sp telah berhasil mengurangi jumlah pustul dan luas serangan daun pada gandum yang disebabkan oleh *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*. Selain itu, pencucian media dari *Chaetomium* dan isolat *Phoma* sp telah mengaktifasi reaksi pertahanan aktif dari tanaman, sehingga membatasi persebaran dan replikasi patogen (Dingle & Mc Gee, 2003).

Selain itu, pada tanaman kentang aktivitas cendawan endofit *Hetreoconium chaetospira* juga mampu mengurangi penyakit akar gada 52-97% dan mengurangi kejadian penyakit kuning yang disebabkan oleh *Verticilium* sp 47-67% (Narisawa *et al.*, 2000). 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 *Shipa 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 *Shipa maydis* (Homoptera: Aphididae) (Sabzalian *et al.*, 2004).

MEKANISME KERJA CENDAWAN ENDOFIT

Cendawan endofit dapat berfungsi sebagai biokontrol melalui kombinasi beberapa mekanisme: 1) secara langsung berfungsi antagonis atau mengeluarkan senyawa tertentu, 2) menginduksi sistem resistensi, dan 3) meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan biotik (Hallmann, 1999).

Cendawan endofit sebagai agen biokontrol secara langsung:

1. Produksi Antibiotik

Mikroba endofit dapat menghasilkan satu atau beberapa jenis antibiotik termasuk terpenoid, alkaloid, senyawa aromatic, dan polipeptida.

Tabel 1. Antibiotik yang diproduksi cendawan endofit

Table 1. Antibiotics produced by endophytic fungi

Cendawan endofit	Inang	Antibiotik	Target patogen	Referensi
<i>Acremonium</i>	Jagung	Pyrocidines A.B	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Fusarium verticillioides</i>	Wicklow <i>et al.</i> (2005)
<i>Verticillium</i> sp.	<i>Rehmannia glutinosa</i>	Massariphenone, ergosterolperoxide	<i>Pyricularia oryzae</i> P-2b	You <i>et al.</i> (2009)
<i>Phomopsis cassiae</i>	<i>Cassia spectabilis</i>	Cadinata sesquiterpenes	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Silva <i>et al.</i> (2006)
<i>Muscodor albus</i>	Tanaman tropikal	Tetrohydrofuran, 2-methyl furan, 2-butanone, aciphyllene	<i>Stachybotrys chartarum</i>	Atmosukarto <i>et al.</i> (2005)
<i>Periconia</i> sp.	<i>Taxus cuspidata</i>	Fusicoccane diterpenes	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	Kim <i>et al.</i> (2004)
<i>Ampelomyces</i> sp	<i>Urospermum picroides</i>	3-O-Methylalaternin, Altersolanol A	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Aly <i>et al.</i> (2008)

Sumber/Source: Gao *et al.* (2010)

2. Produksi Enzim Litik

Cendawan endofit memproduksi dan melepaskan enzim litik yang dapat menghidrolisis berbagai senyawa polimer di antaranya kitin, protein, selulosa, hemicellulosa, dan DNA (Tripathi *et al.*, 2008). Cendawan endofit yang berada pada permukaan tanaman menghasilkan enzim litik selain untuk menghidrolisis dinding sel tanaman, juga berfungsi untuk menghidrolisis dinding sel patogen cendawan dan Oomycetes. Enzim litik meliputi 1,3-glucanases, Chiti-NAses, dan selulase. Secara *in vitro* *Streptomyces* menghasilkan enzim litik/lytic enzymes yang bersifat antagonis terhadap witches' broom pada kakao (Macagnan *et al.*, 2008).

Mikroba endofit sebagai agen biokontrol secara tidak langsung:

1. Induksi ketahanan pada tanaman

Mekanisme utama endofit dalam meningkatkan ketahanan inang berupa induksi

ketahanan, dengan cara mengaktifkan gen-gen ketahanan inang yang ada tetapi dalam kondisi inaktif. Menurut Gao *et al.* (2010), ada dua bentuk induksi ketahanan yaitu *systemic acquired resistance* (SAR) dan *induced systemic resistance* (ISR). SAR berperan dalam ketahanan tanaman sebagai molekul sinyal yang memicu ekspresi gen PR (Pathogen-Related genes) (Vlot *et al.*, 2008). Asam salisilat dilaporkan menginduksi produksi protein PR-1 pada tanaman tembakau (Malamy *et al.*, 1990), menginduksi kitinase pada daun dan umbi bawang putih (Van Damme *et al.*, 1993), mengaktifkan reaksi hipersensitif (HR) pada kedelai (Shirasu *et al.*, 1997), dan menginduksi programmed cell death (PCD) (Brodersen *et al.*, 2005). ISR diinduksi oleh beberapa rhizobakteri nonpathogenic berperan dalam produksi asam jasmonic atau etilen dan terkait dengan akumulasi protein PR (Vallad & Goodman, 2004; Tripathi *et al.*, 2008). mekanisme induksi ketahanan oleh cendawan endofit adalah ISR. ISR merupakan induksi

ketahanan sistemik pada tanaman oleh mikroba tanah bermanfaat dan tidak patogenik. Menurut Tondok (2011) cendawan endofit empat isolat (*Xylariaceae*, *C. Gambosa*, *R. Friabile*, *Aschersonia* sp.) dari buah kakao mampu memproduksi asam salisilat yang berperan sebagai penginduksi gen ketahanan. Asam salisilat akan mengaktifkan gen-gen PR untuk memproduksi protein yang berhubungan dengan kondisi patologis seperti peroksidase, kitinase, glukukanase, protease inhibitor dan lain-lain.

PR protein terdiri dari berbagai enzim yang berperan dalam melisis dinding sel (enzim chitinases dan 1, 3-glucanases) (Fukuda dan Shinshi, 1994), memperkuat dinding sel untuk mencegah terjadi infeksi, atau menginduksi kematian sel lokal (Gao *et al.*, 2010). Cendawan endofit yang dapat menginduksi ISR juga dapat mengekspresikan PR protein. Cendawan endofit *Fusariumsolani* diisolasi dari perakaran tanaman tomat dapat memicu induksi resistensi sistemik (ISR) terhadap patogen *Septoria lycopersici* dengan menginduksi gen PR protein yaitu PR5 dan PR7 pada akar tomat (Kavroulakis *et al.*, 2007).

2. Produksi metabolit sekunder

Metabolit sekunder adalah kelompok senyawa yang berperan penting dalam adaptasi tanaman terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Diantaranya adalah produksi phytoalexins (Smith, 1996), yang berisi beberapa zat termasuk flavonoid, terpenoid, dan lain-lain. Meskipun phytoalexins dapat dibentuk karena adanya sinar UV, cekaman logam berat, dan stres garam, namun ternyata cendawan endofit dapat memicu produksi metabolit sekunder. Cendawan endofit *Fusarium* E4 dan E5 dapat meningkatkan pertumbuhan *Euphorbia pekinensis*, dan meningkatkan kandungan terpenoid (Yong *et al.*, 2009). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa *Fusarium* E5 elisitor dapat menginduksi diterpen dan produksi triterpen. Mikroba endofit dapat memproduksi metabolit sekunder dan meningkatkan ketahanan tanaman. Kolonisasi cendawan endofitik menghasilkan hidrolase dari sel tanaman untuk membatasi pertumbuhan cendawan, dengan demikian

endofit bertindak sebagai elisitor. Elisitor seperti lipopolisakarida, polisakarida, dan glikoprotein akan merangsang tanaman untuk membentuk pertahanan tanaman dan metabolit sekunder, yang akan menekan infeksi patogen. Namun, mekanisme bagaimana mikroba endofit dapat bertahan hidup pada konsentrasi metabolit sekunder yang tinggi pada tanaman inang masih belum diketahui dan perlu penelitian lebih lanjut.

3. Meningkatkan pertumbuhan tanaman

Keberadaan mikroba endofit dapat berfungsi meningkatkan ketahanan tanaman inang dari serangan patogen melalui tanaman kontrol fisiologi (Gimenez *et al.*, 2007). Peningkatan pertumbuhan tanaman akan mencegah berbagai serangan baik tekanan abiotik maupun biotik. Banyak penelitian menunjukkan bahwa tanaman terkolonisasi mikrob endofit dapat meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan terhadap cekaman kekeringan (Swarthout *et al.*, 2009) dan toleransi untuk kondisi tanah yang tidak sesuai (Belesky & Fedders, 1995; Malinowski *et al.*, 2004). Peningkatan pertumbuhan tanaman diduga dipengaruhi oleh senyawa phytohormon diproduksi oleh cendawan endofit. Cendawan endofit *Colletotrichum* sp., menghasilkan zat seperti asam asetat indol (IAA) (Lu *et al.* 2000). Menurut Gao *et al.* (2010) *Fusarium* sp. Dapat memacu produksi auksin. Mekanisme cendawan endofit meningkatkan pertumbuhan tanaman diduga dikaitkan adanya efek phytohormon yang dihasilkan oleh cendawan endofit (Dai *et al.*, 2008). Pertumbuhan tanaman yang baik disebabkan oleh cendawan endofit secara tidak langsung akan meningkatkan perlindungan tanaman terhadap patogen.

4. Pemanfaatan ruang/niche

Mikroba endofit dapat menkolonisasi tanaman dengan cepat menempati ruang antar atau intraseluler dan tidak meninggalkan ruang untuk patogen, sehingga dapat menghambat/mencegah infeksi patogen pada tanaman. Kolonisasi jaringan tanaman oleh mikrob endofit terdiri dari perkecambahan,

penetrasi, epidermis, dan kolonisasi jaringan (Petrini, 1996). Setelah endofit berhasil masuk dalam jaringan inang, endofit akan menempati ruang dan mendapatkan nutrisi yang disediakan oleh tanaman berupa eksudat dan melindungi tanaman inang dari serangan mikroorganisme lainnya. Dengan adanya pemanfaatan eksudat/substrat sehingga tidak tersedia untuk patogen (Pal & Gardener, 2006). Selain itu setelah kolonisasi, cendawan endofit tanaman akan menghasilkan lignin yang akan memperkuat dinding sel sehingga patogen sulit untuk menginfeksi tanaman (Gao *et al.*, 2010)

5. Hyperparasites dan predasi

Hyperparasites merupakan strategi ekologi lain yang dimiliki oleh mikroba endofit untuk melindungi tanaman inang. Dalam hiperparasitisme, cendawan endofit secara langsung menyerang propagul patogen (Tripathi *et al.*, 2008). Cendawan endofit akan memparasiti hifa patogen dengan cara memutar, menembus hifa patogen, dan mensekresi enzim liase merusak dinding sel patogen. Sebagai contoh, cendawan *Trichoderma* yang mempunyai kemampuan memparasiti hifa patogen tanaman *Rhizoctonia solani* (Grosch *et al.*, 2006). Berbeda dengan hiperparasitisme, predasi mikroba adalah cara yang lebih umum untuk menekan patogen tanaman. Beberapa endofit menunjukkan perilaku predator pada kondisi nutrisi terbatas. Contohnya *Trichoderma* menghasilkan berbagai enzim yang secara langsung digunakan untuk memperkuat dinding selnya dengan memanfaatkan bagian tubuh patogen (Benhamou & Chet, 1997).

POTENSI DAN PELUANG CENDAWAN ENDOFIT DALAM PENGENDALIAN PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO

Sejak ditemukannya obat anti kanker dari isolasi cendawan endofit *Pestalotiopsis microspora* yang mengkoloni 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 tanaman inang (Maheswari, 2006).

Masing-masing species cendawan endofit dapat tumbuh baik pada daun karena adanya eksudat dari daun yang menjadi media kaya nutrisi (Durham, 2004). Eksudat dapat berupa nutrisi anorganik (mikro dan makro elemen), terdapat juga berupa mineral organik seperti gula bebas, pektik, gula, alkohol, asam amino, asam organik, substansi penyokong pertumbuhan beserta vitamin. Eksudat tersebut dapat mendorong cendawan endofit bergerak dari dalam daun ke permukaan tanaman (Keane & Putter, 1992). Endofit hidup bersama-sama tanaman dan mengkonsumsi karbon (Durham, 2004). Jumlah dan jenis cendawan endofit pada daun juga meningkat seiring dengan bertambahnya umur daun (Clay, 2004). Cendawan endofit berpotensi memproteksi inang terhadap patogen maupun hama melalui berbagai mekanisme yaitu kompetisi, induksi resistensi, antagonism, dan mikroparasitisasi (CABI, 2004). Cendawan endofit dapat juga menginduksi respons metabolisme inang, sehingga menjadi resisten terhadap patogen tanaman (Redline & Carris, 1996). Laporan penelitian menyatakan terdapat kerugian kecil dari cendawan endofit karena dapat menyebabkan layu pada tanaman kakao pada saat tanaman dalam kondisi lemah (Redline & Carris, 1996). Di lapangan daun yang sudah terkontaminasi cendawan endofit pertama kali kemudian diserang oleh *P. palmivora* ada terdapat bercak kecil pada daun (Durham, 2004). Sementara itu, tanpa kehadiran cendawan endofit pertumbuhan *P. palmivora* dapat tumbuh dengan pesat (Mejia *et al.*, 2000). Menurut Clay (2004) menyatakan pada habitat alami cendawan endofit dan patogen masuk ke dalam jaringan tanaman secara bersamaan. Cendawan endofit yang masuk ke tanaman lebih dari satu jenis. Mejia *et al.* (2000) sudah

mencobakan inokulasi pada daun dengan multispesies yang dipilih berdasarkan tingkat penghambatan lebih dari 50% di laboratorium. Inokulasi dengan multispesies menunjukkan penghambatan *P. palmivora* Butl. lebih tinggi jika dibandingkan dengan inokulasi dari satu spesies saja. Tondok (2011) melaporkan bahwa cendawan endofit *Xylariaceae* dan *C. gambosa* mampu menekan penyakit busuk buah masing-masing 38,8% dan 33,8%.

PENUTUP

Cendawan endofit mempunyai prospek yang baik sebagai agensia hayati untuk pengendalian penyakit busuk buah kakao, karena dapat berfungsi sebagai biokontrol melalui kombinasi beberapa mekanisme: 1) secara langsung berfungsi antagonis atau mengeluarkan senyawa tertentu, 2) menginduksi sistem resistensi, dan 3) meningkatkan toleransi tanaman terhadap tekanan lingkungan biotik. Perkembangan penyakit dapat dihambat oleh endofit karena adanya siderofor atau senyawa metabolit yang beracun bagi patogen, atau terjadinya kompetisi ruang dan nutrisi, mereduksi produksi toksin yang dihasilkan oleh patogen sehingga tidak patogenik terhadap tanaman atau menginduksi ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Pengendalian hama ataupun patogen penyebab penyakit tanaman melalui pendekatan ekologi dan ramah lingkungan sangat penting untuk menjaga kelestarian lingkungan dan keberlangsungan pertanian di Indonesia tanpa harus menurunkan produktivitasnya. Di Indonesia, pemanfaatan endofit sebagai agensia hayati belum banyak diteliti. Sebagai negara yang memiliki keragaman hayati tinggi, eksplorasi dan pemanfaatan endofit sebagai agensia hayati sudah saatnya ditingkatkan untuk mendukung program pengendalian hama/penyakit terpadu. Penggunaan endofit untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dan memberikan hasil yang efektif untuk mengendalikan penyakit tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos CJ, Mims CW. 1996. *Introductory Mycology*. Fourth Edition. New York J. Willey. 632p.
- Arnold, A.E., & Lewis, L.C. 2005. *Ecological evolution of fungal endophytes and their roles against insects. di dalam* : Vega FE, Blackwell M, eds. *Insect –Fungal Associations, Ecology and Evolution*. New York USA : Oxford University Press. 74 – 89.
- Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kyllö, D., Rojas., EI, Maynard, Z., Robbins, N., Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *PNAS*. 100:15649-15654.
- Atmosukarto I, Castillo U, Hess WM, Sears J, Strobel G. 2005. Isolation and characterization of *Muscodora albus* I-4.3s, a volatile antibiotic producing fungus. *Plant Sci*. 169, 854-861.
- Amin, N., Asman., Abdullah, T. 2014, Isolasi dan identifikasi cendawan endofit dari klon tanaman kakao tahan VSD M.05 dan klon rentan VSD M.01. 3 (2), 459-467.
- Atmosukarto, I., Castillo, U., Hess, W. M., Sears, J., Strobel, G. (2005). Isolation and characterization of *Muscodora albus* I-4.3s, a volatile antibiotic producing fungus. *Plant Sci*. 169, 854-861.
- Aly, A. H., Edrada, E. R., Wray, V., Muller., Werner, E.G., Kozytska, S., Hentschel, U., Proksch, P., Ebel, R. (2008). Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides*. *Phytochemistry*. 69, 1716-1725.
- Belesky, D.P., & Fedders, J. M. (1995). Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity. *Crop Sci*. 35: 529-533. Bolton
- Bowers, J., Bailey, B.A., Hebbar, K.P., Sanogo, S., & Lumsden, R.D. (2001). The impact of plant diseases on world chocolate production. *Plant Health Progress* doi: <http://dx.doi.org/10.1094/PHP-2001-0709-1001-RV>.
- [ICCO] International Cacao Organization. (2019). Quarterly Bulletin of Cocoa

- Statistics, Vol. XLV, No.1, Cocoa year 2018/19.
- Clay, K. (2004). *Fungi and the food of the gods*. *Nature* 427:401-402. www.biology.
- Clay, K., & Schardl, C. (2002). Evolutionary Origins and Ecological Consequences of Endophyte Symbiosis with Grasses. *The American Naturalist*. 160,99-127 DOI: 10.1086/34216. <https://www.researchgate.net/publication/23174947>.
- Dai, C., Yu, B., & Li, X. (2008). Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. *Afr J Biotechnol*. 7, 3505-3510.
- Dingle, J., & Mc Gee, P.A. (2003) . Some endophyte fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* in wheat. *Mycol Res*. 107, 310 – 316.
- Doss, R.P., & Welty, R.E. (1995). A polymerase chain reaction-based procedure for detection of *Acremonium coenophilum* in Tall Fescue. *Phytopathology* 85: 913-914.
- Durham, N.C. (2004). *Armies of fighting fungi protect chocolate treea*. (serial online) www.rpi.edu/ajayan/locker/publications/natureajayanjan202004.pdf. (02 Februari 2011). Diakses pada tanggal 17 September 2012.
- Dongyi, K., & Kelemu, S. (2004). *Acremonium implicatum*, a seed transmitted endophytic fungus in *Brachiaria* grasses. *Plant Dis* 88: 1252-1254.
- Deberdt, P., Mfegue, C.V., Tondje, P.R., Bon, M.C., Ducamp, M., Hurard, C., Cilas, C. (2008). Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*, 44, 149–159.
- Drenth, A., & Sendall, B. 2004. Economic impact of *Phytophthora* diseases in Southeast Asia. ACIAR Monograph 114. Direktorat Jenderal Perkebunan (Ditjenbun). (2012). Pedoman Teknis Pengembangan Tanaman Kakao tahun 2013. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta.
- Evans, H.C. (2007). Cacao disease. The trilogy revisited. *Phytopathology*, 97, 1640–1643.
- Ernst, M., Mendgen, K.W., Wirsal, S.G.R. (2003). Endophytic fungal mutualists: seedborne *Stagonospora* spp enhance reed biomass production in axenic microcosms. *MPMI* 16, 580-587.
- Erwin, D.C., Ribeiro, O.K. (1996). *Phytophthora Disease Worldwide*. Minnesota: American Phytopathology Society (APS) Press.
- Guest, D. (2007). Black pod: Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology*, 97, 1650-1653
- Gao, F. K., Dai, C., & Li, X. (2010) Review mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4(13), 1346-1351.
- Gimenez, C., Cabrera, R., Reina, M., Coloma, A. (2007). González. Fungal endophytes and their role in plant protection. *Curr. Org. Chem.* 11, 707-720.
- Grosch, R., Scherwinski, K., Lottmann, J., & Berg, G. (2006). Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycol. Res.* 110, 1464-1474.
- Hanada, R.E, Pomella, A,W,V., Costa, H,S., Bezerra, J.L., Loguercio, L.L., Pereira, J.O. 2010. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuacu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of blackpod disease. *Fungal Biol.*114, 901-910.
- Harni, R., Taufiq, E., & Amaria, W. (2014). Pengaruh formula fungisida nabati minyak cengkeh dan serai wangi terhadap penyakit busuk buah kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 1(1), 41–48. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v1n1.2014.p41-48>.

- Harni, R. (2013). Keefektifan fungisida nabati untuk mengendalikan penyakit VSD pada tanaman kakao. Laporan Hasil Penelitian APBN 2013. Sukabumi: Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar.
- Halmann, J. (1999). Plant interactions with endophytic bacteria. <http://www.bspp.org.uk/archives/bspp1999/session3.php>
- Irmawan, D. E. (2007). Kelimpahan Dan Keragaman Cendawan Endofit Pada Beberapa Varietas Padi Di Kuningan, Tasikmalaya dan Subang, Jawa Barat . (Skripsi Institut Pertanian Bogor): Bogor
- Jackson, G.V.H., & Wright, J.G., (2001). Black pod and canker of cocoa. Pest Advisory Leaflet No. 7. Plant Protection Service, Secretariat of the Pacific Community.
- Kim, S., Shin, D. S., Lee, T., & Oh, K. B. (2004). Periconicins, two new fusicoccane diterpenes produced by an endophytic fungus *Periconia* sp. with antibacterial activity. *J. Nat. Prod.* 67, 448-450.
- Keane, P. J. , & Putter, C. A. (1992). *Cocoa Pest and Disease Management in Southeast Asia and Australia*. Food and Agriculture Organisation Plant Production and Protection Paper. Rome: FAO.
- Kavroulakis, N. S., Zervakis, G. I., Ehaliotis, C., Haralampidis, K., Papadopoulou, K. K. (2007). Role of ethylene in the protection of tomato plants against soil-borne fungal pathogens conferred by an endophytic *Fusarium solani* strain. *J. Exp. Bot.* 58: 3853-3864.
- Lu, H., Zou, W.X., Meng, J.C., Hu, J., & Tan, R.X. (2000) New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.* 151, 7376
- Maheswari R. 2006. *What is an endophytic fungus*. *Current Science* 90 : 1309.
- McMahon, P. & A. Purwantara (2004). *Phytophthora on cocoa*. In Drenth A. & D.I. Guest (eds.). *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. ACIAR Monograph, 114, 104–115.
- Macagnan, D., Romeiro, R. S., Pomella, A.W.V., deSouza, J.T. (2008). Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biol. Control*, 47, 309-314.
- Malinowski, D. P., Zuo, H., Belesky, D.P., Alloush, G.A. (2004). Evidence for copper binding by extracellular root exudates of tall fescue but not perennial ryegrass infected with *Neotyphodium* spp. endophytes. *Plant Soil*, 267, 1-12.
- Mejia et al. 2000. *Inoculation of beneficial endophyte fungi in to Theobroma cacao tissues* (serial online) [www.worldcocoafoundation.org/Library/Documens/Endophyte Fungi.doc](http://www.worldcocoafoundation.org/Library/Documens/Endophyte_Fungi.doc)-. (22 juli 2005). Diakses pada tanggal 07 Agustus 2012.
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Arnold, A.E., Kyllö, D., Robbins, N., & Edward, A.H. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, xxx, *Biol. Control*, 46, 4-14. 1–12. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.
- Melnick, R.L., Carmen, S., Bryan, A.B., & Paul, A.B. (2011). Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. *Biological Control*, 57, 236–245.
- Maheswari, R. (2006). What is an endophytic fungus. *Current Science* 90 : 1309
- McMahon, P., & Purwantara, A. (2004). *Phytophthora on cocoa*. In A. Drenth & D.I. Guest (Eds.), *Diversity and management of Phytophthora in Southeast Asia*. (p. 104–115). ACIAR Monograph No. 114.
- Malamy, J., Carr, J.P., Klessing, D.F., Raskin, I. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance respond of tobacco to viral infection. *Science* 250: 1002-1004.
- Motulo F.J., Sinaga, M. S-S. Haratana, A., Suastika, G., Aswidinoor, H. (2007). Karakter Morfologi dan Molekuler Isolat

- Phytophthora Palmivora Asal Kelapa Dan Kakao. *Jurnal Littri*. 13 (3), 111 - 118
- Nasahi, C. (2009). Laporan hasil percobaan pengujian lapangan efikasi fungisida Rizolex 50 WP (metil tolklofos 50%) (385/PPI/8/2008) terhadap penyakit busuk daun *Phytophthora infestas* pada tanaman kentang. Kerja Sama: PT. Sumitomo Indonesia. Bandung: Universitas Padjadjaran. Retrieved from http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2010/06/pengujian_lapangan_efikasi_fungisida.pdf.
- Narisawa, K., Ohki, K.T., & Hashiba, T. (2000). Suppression of clubroot and Verticillium yellows in chinese cabbage in the field by the root endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*. *Plant Pathology*, 49, 141–146
- Paul, N.C., Deng, J.X., Sang, H.K., Choi, Y.P., and Yu, S. H. (2012). Distribution and antifungal activity of endophytic fungi in different growth stages of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) in Korea. *Plant Pathol J*. 28:10-19.
- Petrini, O. (1992). Funga l endhophytes of tree leaves. *di dalam* : Andrews JH, Hirano SS, editor. *Microbial Ecology of Leaves*. Berlin : Springer Verlag. hlm : 179 – 196 [CABI] Commonweal Agricultural Bureaux International. 2004. Crop Protection Compendium.
- Petrini, O. (1996). Ecological and physiological aspects of host-specificity in endophytic fungi. *di dalam* : Redlin CS, Carris LM, eds. *Endophyte Fungi in Grasses and Woody Plants Systematics, Ecology and Evolution*. Minnesota : APS Press. hlm : 87 – 100.
- Prihatiningtias, W. 2006. Mikroba endofit sumber penghasil antibiotic yang potensial. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas GajahMada).
- Ramdan, E. P. (2014). Eksplorasi Cendawan Endofit Sebagai Agens Pengendali Hayati *Phytophthora capsici* Leonian Pada Cabai. (Tesis Institut Pertanian Bogor).
- Redlin, S. C., Carris, L. M. (1996). Endophyte fungi in grasses and woody plants systematics, ecology and evolution. *di dalam* : Redlin CS, Carris LM, editor. *Endophyte Fungi in Grasses and Woody Plants Systematics, Ecology and Evolution*. Minnesota : APS Press. 223.
- Rubini, M. R., R.T. S. Ribeiro, A. W.J. Pomella, C. S. Maki, W. L. Araujo, D.R. Dos-Santos and J. L. Azevedo. (2005). Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int.J. Biol.Sci*, 1, 24-33.
- Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. The plant health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02
- Sabzalian, M.R., Hatami, B., & Mirlohi, A. 2004. Mealybug, *Phenacoccus solani* (Homoptera : Psudococcidae) and barley aphid, *Sipha maydis* (Homoptera: Aphididae) response to endophyte-infected tall and meadow fescues. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 113, 205–209.
- Samuels, J.G., Ismaiel, A., Rosmana, A., Junaid. M., Guest, D., McMahan, Keaned, P., Purwantara, A., Lambertf, S., Rodriguez-Carresg, M., Cubetag, M. A. (2011). Vascular Streak Dieback of Cacao In Southeast Asia And Melanesia: *In Planta* Detection Of The Pathogen And A New Taxonomy. *Fungal Biology*. 1(6),11-23. DOI [10.1016/J.Funbio.2011.07.009](https://doi.org/10.1016/J.Funbio.2011.07.009)
- Siegel, M. R., & Schardl, C. L. (1992). Fungal endhophytes of tree leaves. *di dalam* : Andrews JH, Hirano SS, editor. *Microbial Ecology of Leaves*. Berlin : Springer Verlag. 198 – 216.
- Shirasu, K., Nakajima, H., Rajasekhar, V. K., Dixon, R. A., Lamb, C. (1997). Salicylic acid potentiates an antagonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell* 9, 261–270
- Sinclair, J. B., & Cerkauskas, F. (1996). Latent infection vs. endophytic colonization by fungi in Redlin SC, Carris

- LM (eds.). Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants: Systematics, Ecology, and Evolution. APS Press. Pp 31-66.
- Silva, G. H., Teles, H. L., Zanardi, L. M., Marx, Y. M. C., Eberlin, M. N, Hadad, R., Pfenning, L. H., Costa-Neto, C. M., Castro-Gamboa, I., Bolzani, Y. S, Araújo, A. R. (2006). Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae). *Phytochemistry*, 67: 1964-1969.
- Smith, C. J. (1996). Accumulation of phytoalexins: defense mechanism and stimulus response system. *New Phytologist*, 32, 1-45.
- Stamps, D. j., Waterhouse, G. M., Newhook, F. j., & Hall, G.S. (1990). Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Common. Agric. Bur. Int. Mycol. *Inst. Mycol. Pap.* 162. 28.
- Strobel, G. A., Hess, W. M., Ford, E., Sidhu, R. S., Yang, X. (1996). Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *J. Aquat Plant Manag.* 40, 76-78.
- Tondok, E. T. (2012). Keragaman cendawan endofit pada buah kakao dan potensinya dalam mengendalikan busuk buah *Phytophthora*. (Disertasi Doktor Institut Pertanian Bogor).
- Tripathi, S., Kamal, S., Sheramati, I., Oelmuller, R., Varma, A. (2008). Mycorrhizal fungi and other root endophytes as biocontrol agents against root pathogens. *Mycorrhiza*, 3 edition, 281-306.
- Vinton, M. A., Kathol, E.S., Vogel, K.P., Hopkins, A.A. (2001). Endophytic fungi in Canada wild rye in natural grassland. *Journal of Range Management.* 54, 390-395.
- Vallad, G. E., & Goodman, R. M. (2004). Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Sci.* 44: 1920-1934.
- Vanegtern, B., I Rogers, M., & Scot Nelson, S. (2015). Black Pod Rot of Cacao Caused by *Phytophthora palmivora*. *Tropical Agriculture and Human Resources* (CTAHR), 1914.
- Van Damme, E.J.M., Willems, P., Torrekens, S., Van Leuven, F., & Peumans, W.I. 1993. Garlic (*Allium sativum*) chitinases: characterization and molecular cloning. *Physiol. Plant.* 87, 177-186.
- Vlot, A.C., Klessig, D.F., Park, S.W.. 2008. Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Curr. Opin. Plant Biol.* 11,436-442.
- Worang, Rantje L. 2003. Fungi Endofit Sebagai Penghasil Antibiotika. Makalah Individu. Bogor: IPB.
- Wicklow, D. T., Roth, S., Deyrup, S. T., Gloer, J. B. (2005). A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycol. Res.*109(5), 610-618
- You, F., Han, T., Wu, J. Z., Huang, B. K., Qin, L. P. (2009). Antifungal secondary metabolites from endophytic *Verticillium* sp. *Biochem Syst Ecol.* 37:162-165.
- Yong, Y. H., Dai, C.C., Gao, F. K., Yang, Q.Y., & Zhao, M. (2009). Effects of endophytic fungi on growth and two kinds of terpenoids for *Euphorbia pekinensis*. *Chin. Trad. Herbal Drugs*, 40, 18-22.
- Yuan, Z., Zhang, C., & Lin, F. (2010). Role of diverse nonsystemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches. *J Plant Growth Regul*, 29, 116–126.