

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI CENDAWAN TERBAWA BENIH KAKAO HIBRIDA

Isolation and Identification of Fungi on Hybrid Cacao Seeds

BAHARUDIN¹⁾, AGUS PURWANTARA²⁾, SATRIYAS ILYAS³⁾, dan MOHAMAD RAHMAD SUHARTANTO³⁾

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

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

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

e-mail : briec@indo.net.id

³⁾ Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB
Jl. Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680
e-mail : agrohort.ipb.ac.id

(Diterima Tgl. 20 - 10 - 2010 - Disetujui Tgl. 27 - 2 - 2012)

ABSTRAK

Benih merupakan komponen dasar dalam menentukan produktivitas tanaman kakao. Benih yang sehat dapat merupakan faktor penting dalam menentukan keberhasilan produktivitas kakao. Benih kakao mempunyai kadar air cukup tinggi sehingga berpotensi terinfeksi cendawan, yang dapat menurunkan mutu benih dan produksi kakao. Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi beberapa cendawan terbaawa benih pada kakao hibrida. Penelitian dilakukan di Kebun Induk Benih Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember, Laboratorium Mikrobiologi, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, dan Laboratorium Pengendalian Hayati IPB Bogor pada bulan Juni sampai Oktober 2008. Penelitian menggunakan benih kakao hibrida dari hasil persilangan buatan antar TSH 858 dengan Sca 6, dan percobaan disusun dengan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan. Benih ditumbuhkan pada 3 media, yaitu *water agar* (WA), *potato dextrose agar* (PDA), dan kertas saring (KS). Tingkat infeksi pada benih diamati setiap hari dan dianalisis dengan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan. Cendawan diisolasi, dibiakkan, dimurnikan, dan diidentifikasi dengan menggunakan buku kunci identifikasi. Tingkat infeksi cendawan terbaawa benih kakao hibrida tertinggi terdapat pada hari keempat (35,00%) dan kelima (51,67%) pada media PDA. Sebanyak 13 spesies cendawan terbaawa benih kakao hibrida berhasil diidentifikasi dengan menggunakan media WA dan PDA, serta 8 spesies cendawan dengan media KS. Ke-13 cendawan terbaawa benih yang ditemukan sangat berpotensi menurunkan mutu fisiologis benih dan produktivitas kakao. Cendawan tersebut perlu diuji lebih lanjut karena masing-masing memiliki sifat-sifat patogenik, saprofitik, atau antagonis terhadap cendawan lain pada benih kakao. Cendawan terbaawa benih kakao hibrida paling dominan adalah *Aspergillus* spp., *Penicillium chrysogenum*, *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, dan *Fusarium* spp. Cendawan-cendawan yang diduga berbahaya adalah *Aspergillus* spp., *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium* spp., *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp., dan yang diduga bersifat patogenik adalah *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp.

Kata kunci : *Theobroma cacao*, benih hibrida, infeksi cendawan, media tanam

ABSTRACT

Seed is the basic component influencing the productivity of cacao plantation. Healthy seed is the most important factor in determining the success of cacao productivity. Moisture content of cacao seeds is quite high potentially to cause fungi infection, which can further reduce seed quality and cacao production. The research aimed at isolating and identifying several seedborne fungi on hybrid cacao. The study was conducted at main nursery of Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute Jember, Laboratory of Microbiology, Indonesian Biotechnology Research Institute for Estate Crops, and the Laboratory for Biological Control of IPB Bogor from June to October 2008. Research used hybrid cacao seeds derived from crossing between TSH 858 x SCA 6, and the experiment was arranged using completely randomized design with three replicates. Cacao seeds were grown on three media, i.e. water agar (WA), potato dextrose agar (PDA), and filter paper (KS). Infection rates on the seedlings were observed every day and analyzed using ANOVA followed by Duncan's multiple regression test (DMRT). Fungi were isolated, cultured, purified, and identified using the identification keys. The highest rate of seedborn fungal infection occurred on fourth (35.00%) and fifth (51.67%) days on PDA media. A total of 13 species of seedborn fungi on hybrid cocoa were identified by using WA and PDA media, as well as 8 other species by using KS. The 13 seedborne fungi potentially reduce seed physiological quality and cacao productivity. These fungi need to be further tested because each has its own pathogenic, saprophytic, or antagonistic properties towards other fungi on cacao seeds. Predominant seedborn fungi on hybrid cacao were *Aspergillus* spp., *Penicillium chrysogenum*, *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, and *Fusarium* spp. The fungi suspected harmful were *Aspergillus* spp., *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium* spp., *Phoma glomerata*, and *Macrophoma* sp., and those suspected pathogenic were *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata*, and *Macrophoma* sp.

Key words : *Theobroma cacao*, fungi infection, hybrid seed, growing media

PENDAHULUAN

Benih kakao tergolong rekalsitran artinya buah yang masak secara fisiologis tidak dapat disimpan lama, berkadar air tinggi, tidak tahan suhu tinggi dan rendah, sehingga cepat berkecambah dan mudah terkontaminasi patogen. Cendawan terbawa benih yang dapat menimbulkan infeksi sangat berpotensi sebagai sumber inokulum bagi penularan suatu penyakit. Infeksi patogen terbawa benih pada berbagai komoditas pertanian yang dibudidayakan seringkali dapat mengakibatkan kerusakan pada tanaman dan kerugian hasil yang besar (BBPPMBTPH, 2007). Oleh karena itu dalam mengatasi permasalahan ini, benih kakao setelah periode konservasi perlu segera mendapat penanganan khusus dan pengendalian sebelum mengalami kemunduran dan terserang cendawan patogen terbawa benih.

Infeksi cendawan patogen yang terbawa benih kakao merupakan masalah dasar yang sangat penting untuk diketahui di dalam pengelolaan benih. Cendawan patogen dapat timbul pada semua bagian penanganan di dalam pengelolaan benih, namun sering terlambat untuk diketahui, sehingga dapat mengakibatkan kerusakan pada benih sebelum disemai atau ditanam. Menurut SULISTIYOWATI (2000) dan SOESANTO (2006), patogen dapat menyerang pada semua bagian pengelolaan pasca panen dan bahkan sejak buah belum dipanen. Selama perkembangan benih kakao memiliki potensi untuk terkontaminasi patogen. Kebanyakan cendawan menginfeksi benih legum pada saat primordia, menjelang dan setelah masak fisiologis, serta selama dalam penyimpanan dan sangat bervariasi dalam menurunkan kualitas dan mutu benih (EMBABY dan ABDEL-GALIL, 2006). Menurut SATISH *et al.* (2007), infeksi patogen dapat terjadi sebelum dan sesudah panen dengan gejala terlihat pada penurunan kualitas benih *Acacia nilotica*, *Punica granatum* dan *Syzgium cumini*. Sebesar 25% dari 300 spesies patogen kontaminan memiliki metabolit sekunder dan memproduksi mycotoxin (KIRAN dan RAVEESHA, 2006).

Menurut KUMUD *et al.* (2004), terdapat beberapa koloni dan spesies cendawan yang dapat menginfeksi benih cowpea. Selanjutnya EMBABY dan ABDEL-GALIL (2006) menyatakan bahwa pada benih legum (benih kacang-kacangan, cowpea dan lupine) ditemukan sebanyak 260 isolat teridentifikasi terinfeksi cendawan yang terdiri dari 60 isolat merupakan bakteri dan 200 isolat adalah cendawan serta lima genus *Alternaria*, *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Fusarium*, dan *Trichoderma*. GUEHI *et al.* (2007) menyatakan bahwa terdapat beberapa spesies terbawa biji kakao seperti *Absidia corymbifera*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus tubingensis*, *A. tamarii*, *A. flavus*, dan *Penicillium chrysogenum*. Beberapa penelitian lain menemukan 10 spesies *Aspergillus*, 1 spesies *Rhizopus*, 6 spesies *Fusarium*, 5 spesies *Alternaria*, dan 1 spesies *Neurospora* pada benih lupine dan biji kakao (EL-NAGERABI

dan EL-SHAFIE, 2000; ADENIYI *et al.*, 2011). Dilaporkan oleh KOFFI *et al.* (2007) bahwa cendawan terbawa biji kakao adalah *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Chaetomium* spp., dan *Rhizopus* spp. Cendawan *Aspergillus* dan *Fusarium* memproduksi fumonisin, mycotoxin, vomitoxin, diacetoxyscirpenol, ochratoxin A, trichothecens, dan zeralenon (DOMJAN *et al.*, 2005; TSENG *et al.*, 1995; KRITZINGER *et al.*, 2003; SANCHEZ-HERVAS *et al.*, 2008). Menurut AZIZ dan MAHROUS (2004), *Aspergillus flavus* yang memproduksi aflatoxins mampu menurunkan kandungan lipid dan karbohidrat pada benih gandum, kedelai, dan buncis.

Benih yang terinfeksi patogen memiliki perkecambahan dan pertumbuhan bibit yang rendah pada benih kacang-kacangan dan *Vigna radiate* (KUMAR dan SINGHAL, 2009). Selain itu kontaminasi cendawan patogen mempunyai potensi untuk menurunkan viabilitas benih kakao, sehingga pertumbuhan bibit menjadi abnormal atau tumbuh kerdil (RAHARDJO, 1997; MUNANDAR *et al.*, 2004). Cendawan patogen dari benih dapat menyerang bagian tanaman pada saat perkecambahan seperti akar, batang, daun dan pucuk. Gangguan patogen terbawa benih apabila tidak dikendalikan lebih awal dapat menurunkan produksi kakao. Gangguan patogen yang disebabkan penyakit busuk buah bervariasi di seluruh dunia lebih dari 10% di Semenanjung Malaysia dan 80-90% di Kamerun (SEMANGUN, 2000). Menurut WOOD dan LASS (1985); SEMANGUN (2000), gangguan patogen dapat menyebabkan kerugian hasil sekitar 20-30%. Di Jawa gangguan *P. palmivora* pada kakao sangat tinggi dengan kehilangan hasil antara 33-50% (SOEMOMARTO dalam DARMONO, 1994). Patogen pada buah kakao ini dapat juga berkembang dan menginfeksi hingga pada biji. Menurut SUKAMTO dan PUJIASTUTI (2004), cendawan patogen dapat masuk ke dalam buah dan menyebabkan busuknya biji, sehingga dapat menurunkan kualitas benih. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi cendawan terbawa benih hibrida dari hasil persilangan buatan antara kakao TSH 858 x Sca 6.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor pada bulan Juni sampai Oktober 2008. Benih yang diuji berasal dari hasil persilangan buatan (*hand pollination*) tetua jenis tetua TSH 858 dengan Sca 6 sebagai tetua jantan, merupakan klon unggul kakao yang dipanen pada saat masak fisiologis dan umur 150 hari setelah anthesis (HSA). Buah kakao yang dipanen pada saat masak fisiologis tersebut berumur 5 bulan, kemudian dibelah melintang. Benih diekstraksi dengan menggunakan arang abu sekam padi. Benih didesinfeksi dengan larutan natrium

hipoklorit (NaOCl) 2% selama 5 menit untuk mencegah kontaminasi silang, dicuci dengan air steril, dikeringkan dengan tisu steril, dan selanjutnya dikeringanginkan di dalam *Laminar air flow cabinet* dengan suhu 28°C selama 3 jam. Dalam kondisi antiseptis kulit ari benih dilepas, kemudian ditanam pada media *water agar* (WA), *potato dextrose agar* (PDA), dan kertas saring (KS) di dalam cawan petri diameter 9 cm selama 14 hari pada suhu ruang di laboratorium, sesuai dengan rekomendasi dari ISTA (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 2006; Umayah dan Purwantara, 2006). Pada media WA dan PDA ditambahkan antibiotik streptomycin sulphate 0,5 g/100 ml air untuk mencegah kontaminasi bakteri.

Untuk merangsang sporulasi cendawan, benih pada cawan petri diinkubasi di bawah lampu *near ultra violet* (NUV) selama 7-14 hari (Samson *et al.*, 1984). Pada 24 jam pertama, benih diinkubasi di bawah lampu *near ultra violet* (NUV) selama 12 jam terang dan 12 jam gelap dengan suhu 27-28°C (Drenth dan Sendall, 2001). Pada 24 jam berikutnya, benih dimasukkan ke dalam *freezer* - 20°C agar benih tidak mengalami pertumbuhan selama penanaman di media cawan Petri. Setelah itu benih diinkubasi lagi di bawah lampu NUV hingga benih ditumbuhi koloni cendawan dalam kondisi steril. Pengamatan dilakukan dengan menghitung benih yang terinfeksi cendawan baik secara visual maupun di bawah mikroskop *stereo binocular* (Bennett dan Hunter, 1998; Dugan, 2006). Pengamatan cendawan dilakukan setiap hari dan hari ke 3-14 sampai munculnya gejala yang ditandai dengan adanya koloni cendawan. Tingkat infeksi ditetapkan berdasarkan persentase benih terinfeksi, cendawan selanjutnya dimurnikan, dibiakkan pada media PDA untuk diidentifikasi. Cendawan yang tumbuh pada berbagai media dimurnikan secara berulang-ulang pada media PDA sampai didapatkan satu spesies tunggal.

Perhitungan tingkat infeksi berdasarkan rumus:

$$Ti = \frac{\Sigma \text{benih yang terinfeksi cendawan}}{\Sigma \text{benih yang ditanam}} \times 100\%$$

Keterangan : Ti = tingkat infeksi

Identifikasi cendawan pada benih kakao hibrida dilakukan dengan menggunakan buku panduan yang menyajikan kunci-kunci jenis atau golongan cendawan tertentu pada semua bagian tanaman Samson *et al.* (1984); Bennett dan Hunter (1998); Dugan (2006); Gandjar *et al.* (1999). Identifikasi morfologi hifa, vesikel, dan metula diamati dengan mikroskop Nikon Biophot seri AFX-IIA dengan pembesaran 450 kali. Untuk mempermudah mengetahui bentuk konidia dan konidiophore koloni cendawan, pada media preparat ditambahkan pewarna *methylene blue*. Mikroskop yang digunakan dilengkapi dengan mikrometer okuler, objektif, dan kamera Canon tipe *Ixus 60* dan lensa *close up*.

Perlakuan yang digunakan adalah media tumbuh cendawan terdiri atas: 1) *water agar*, 2) *potato dextrose agar* dan, 3) kertas saring. Satu perlakuan terdiri atas satu petri dan setiap petri berisi 10 butir benih dan masing-masing diulang 6 kali. Dengan demikian terdapat 18 unit satuan percobaan. Penelitian ini disusun menggunakan rancangan acak lengkap. Data dianalisis dengan analisis sidik ragam, dan apabila hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh faktor perlakuan yang nyata pada taraf 0,05, maka dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat Infeksi

Tingkat infeksi cendawan pada benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 bervariasi tergantung medium yang digunakan (Tabel 1). Tabel 1 menunjukkan bahwa tingkat infeksi tertinggi terjadi pada hari kelima kemudian menurun, dan mencapai 100% pada hari keenam (media PDA) dan hari ketujuh (medium WA dan KS). Pertumbuhan cendawan yang lebih cepat dan tertinggi terdapat pada media PDA, dan terjadi pada hari keempat dan kelima (35,00 dan 51,67%) dibanding media WA dan KS. Pertumbuhan cendawan terbawa benih kakao yang lebih cepat terlihat pada media PDA dan pada hari keenam sudah mencapai 100%. Hal ini disebabkan media PDA kaya nutrisi untuk pertumbuhan cendawan. Nutrisi yang terkandung dalam media PDA adalah protein dan glukosa yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan cendawan.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi patogen pada benih dapat terjadi pada saat prapanen dan pascapanen. Infeksi patogen dapat terjadi pada saat penyerbukan, buah sebelum dipanen, saat panen, pengolahan, dan selama penyimpanan benih. Pada permukaan benih infeksi patogen dapat melalui lenti sel, luka dan infeksi langsung (Pathak, 1980). Infeksi patogen melalui

Tabel 1. Tingkat infeksi cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 pada berbagai media tumbuh

Table 1. The infection rate of seedborn fungi of hybrid cacao TSH 858 x Sca 6 on some media

Perlakuan medium tumbuh <i>Treatment media</i>	Tingkat infeksi cendawan (%) pada hari ke- <i>Percentage rate of fungi infection (%) at day-</i>				
	3	4	5	6	7
<i>Water Agar</i> (WA)	0,00 a	26,67 a	46,67 a	21,67 a	3,33 a
<i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	3,33 a	35,00 b	51,67 b	11,67 a	0,00 a
Kertas Saring (KS)	0,00 a	23,33 a	43,33 a	31,67 a	1,67 a
<i>Filter Paper</i> (FP)					

Keterangan : Angka pada kolom yang sama, yang diikuti oleh huruf tidak sama, berbeda nyata menurut uji berganda Duncan pada taraf 0,05

Note : Numbers in the same column followed by the same letter are not significantly different at 0.05 DMRT

lenti sel (stomata) dan luka lebih mudah terjadi dibandingkan infeksi langsung. Menurut SOESANTO (2006), kemampuan patogen dalam menginfeksi langsung terjadi apabila patogen memiliki enzim yang memantak dan masuk ke dalam benih seperti patogen antraknosa yang dapat menguraikan dinding sel sehingga mudah masuk ke dalam dan menginfeksi inang. Kejadian ini apabila diketahui sejak awal maka dapat dilakukan pencegahan lebih dini sebelum benih terinfeksi patogen.

Penggunaan berbagai media tumbuh dapat berpengaruh positif terhadap persentase tingkat infeksi cendawan terbawa benih kakao hibrida. Hasil penelitian SUKAMTO *et al.* (1997), identifikasi beberapa isolat jamur pada buah kakao dengan menggunakan media tumbuh PDA menunjukkan hasil yang sama. Benih kakao bersifat rekalsitran, sehingga sangat mudah terinfeksi oleh patogen. Cendawan yang menginfeksi benih kakao secara langsung dapat mempengaruhi kehilangan daya hidup maupun daya tumbuh atau mendorong pada penurunan viabilitas dan vigor benih. Hal ini disebabkan karena rusaknya pada bagian penting benih diantaranya kotiledon, embrio axis, dan radikula yang merupakan sumber nutrisi patogen. Menurut STYER dan CANTLIFFE (1983); PARERA dan CANTLIFFE (1991); WANN (1980); WILSON dan MOHAN (1998), infeksi cendawan dapat merusak benih seperti pericarp dan membran, berkurangnya rasio embrio dan endosperma, serta kandungan pati pada saat terjadi imbibisi. Selanjutnya menurut RAHARDJO (1997), kontaminasi cendawan patogen mempunyai potensi untuk menurunkan viabilitas benih, sehingga pertumbuhan bibit menjadi abnormal atau tumbuh kerdil.

Benih kakao memiliki kadar air yang tinggi di atas 50% sehingga merupakan media yang sangat sesuai untuk

pertumbuhan dan perkembangan cendawan patogen. Selain kondisi lingkungan tumbuh yang mendukung juga cukup tersedia nutrisi. Menurut SOESANTO (2006), perkembangan patogen sangat dipengaruhi oleh lingkungan (suhu, pH), nutrisi, kandungan air yang tersedia, dan enzim untuk mengurai sel-sel jaringan. Selain itu sifat parasitisme antara organisme patogen juga saling dapat menyerang untuk mendapatkan nutrisi dari organisme patogen yang lain. Kelembaban yang tinggi dapat membantu pembentukan spora dan meningkatkan infeksi. Infeksi patogen dapat terjadi apabila tersedia air dengan kelembaban yang tinggi, sehingga membantu penyebaran spora (SEMANGUN, 1988; SUKAMTO *et al.*, 1997). Menurut SEMANGUN (1989); SUKAMTO *et al.* (1997), hifa jamur tertentu dapat membelit jamur lainnya, bahkan sering terjadi hifa jamur pertama tumbuh di dalam hifa jamur kedua sebagai jamur parasit patogen yang disebut hiperparasit.

Identifikasi Cendawan

Hasil identifikasi beberapa karakteristik morfologi cendawan terbawa benih kakao hibrida secara makroskopis dan mikroskopis disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, spesies cendawan terbawa benih yang diisolasi dari benih kakao hibrida menunjukkan perkembangan morfologis yang berbeda-beda. Menurut BARON (1968); GANDJAR *et al.* (1999); DUGAN (2006), konidiofor dan vesikel atau metula *Aspergillus* spp. berwarna hialin dan berbentuk bulat sampai semi bulat, sedangkan *Penicillium chrysogenum* berwarna hialin dan berbentuk silindris hingga bulat. *Cladosporium herbanum* tumbuh

Tabel 2. Beberapa karakteristik morfologi cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 yang diamati secara makroskopis dan mikroskopis
Table 2. The morphological characters of seedborn fungi on hybrid cacao TSH 858 x Sca 6 observed macroscopically and microscopically

Kode isolat <i>Isolate code</i>	Spesies cendawan patogen <i>Fungi pathogen species</i>	Karakteristik morfologis spesies cendawan <i>Morphological characters of fungi species</i>					Bentuk <i>Shape</i>
		Koloni pada PDA <i>Colonies on PDA</i>		Konidiofor/hifa/vesikel/metula <i>Conidiofor/hiva/methula</i>			
		Warna <i>Color</i>	Diameter <i>Diameter (cm)</i>	Warna <i>Color</i>	Diameter <i>Diameter (µm)</i>	Panjang <i>Length (µm)</i>	
C - 1	<i>Aspergillus flavus</i>	Kuning kehijauan	4	Hialin	35	8 x 4,75	Bulat - semi bulat
C - 2	<i>Aspergillus versicolor</i>	Putih-kuning	1	Hialin	14	6,75 x 2,75	Semi bulat
C - 3	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Putih-hitam	3	Hialin	42,5	9 x 2,75	Bulat - semi bulat
J - 1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Hijau	4,5	Hialin	6	13 x 5,15	Silindris - bulat
J - 2	<i>Cladosporium herbanum</i>	Putih bening	1,5	Hialin	8	3,4 x 5	Elips - silindris
J - 3	<i>Coletotrichum acutatum</i>	Merah muda kecokelatan	6	Hialin	5,4	9,6	Bulat - silindris
J - 4	<i>Curvularia geniculata</i>	Hijau cokelat-kehitaman	3,5	Hialin	307	533 x 5,5	Silindris - gada
P - 1	<i>Fusarium semitectum</i>	Putih	6	Hialin	7,5	31 x 3,75	Bulan sabit - bulat
P - 2	<i>Fusarium culmorum</i>	Cokelat putih	8,5	Hialin	11,5	40,2 x 6	Bulan sabit
P - 3	<i>Fusarium oxysporum</i>	Ungu kecokelatan	7	Hialin	10	48 x 4	Silindris - semibulat
P - 4	<i>Moniliella acetoabutens</i>	Putih melingkar	3,5	Hialin	9,5	6,75 x 4,3	Elips - silindris
P - 5	<i>Phoma glomerata</i>	Putih	5,4	Hialin	130	7 x 3	Bulat elips
P - 6	<i>Macrophoma</i> sp.	Putih	2,5	Hialin	120	7 x 3	Elips - silindris

tidak terlalu cepat dengan panjang terminal pada hifa 250 x 3-6 μm (GANDJAR *et al.*, 1999). Menurut SAMSON *et al.* (1984); DUGAN (2006), dalam waktu tidak terlalu cepat konidia *Colletotrichum acutatum* tumbuh berwarna merah kecokelatan, berbentuk bulat agak panjang atau bulat lonjong dan konidiofor berwarna hialin dan bercabang.

Konidiofor *Curvularia geniculata* berwarna hialin, aksomata dan askospora berbentuk silindris (GANDJAR *et al.*, 1999). Konidiofor *Fusarium* spp. berwarna hialin, berbentuk bulan sabit sampai bulat (SAMSON *et al.*, 1984; BERNETT dan HUNTER, 1998; GANDJAR *et al.*, 1999; DUGAN, 2006). Dalam tujuh hari pertumbuhan koloni *Moniliella acetoabutens*, hifa berwarna hialin, bersepta, bercabang dengan panjang 150 μm di dalam arthokonidia berbentuk silindris (SAMSON *et al.*, 1984; GANDJAR *et al.*, 1999). *Phoma glomerata* dan *Macrophoma* sp. pada umur tujuh hari pycnidia berwarna hijau setelah menghasilkan dyctyochlamidiospora berwarna hitam. Menurut SAMSON *et al.* (1984), pycnidia berwarna hialin terdapat satu klamidiospora di dalam dictyochlamidio-spora berwarna cokelat kehitaman dan berbentuk bulat elips atau silindris. Morfologi koloni dan konidia cendawan terbawa benih kakao sangat bervariasi dan berbeda-beda. Hasil identifikasi spesies cendawan patogen terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 dapat dilihat pada Tabel 3.

Pengamatan pada benih yang terinfeksi menunjukkan bahwa beberapa jenis cendawan tumbuh dan berkembang menyelimuti benih, dimana masing-masing cendawan saling membelit dan mempertahankan diri, serta hifa tumbuh saling menutupi. Hal ini sangat menyulitkan dalam melakukan pembiakan dan pemurnian. Sebanyak 13 spesies cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 berhasil diidentifikasi dengan menggunakan media WA dan PDA, serta delapan spesies cendawan teridentifikasi dengan media KS. Ketigabelas spesies cendawan terbawa benih kakao hibrida yang diisolasi, tidak

ditemukan cendawan utama seperti *Phytophthora palmivora* dan *Botryodiplodia* sp. Hal ini diduga karena kedua patogen tersebut merupakan patogen primer yang tidak dapat menyerang sampai ke biji. Benih hibrida yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari buah kakao yang sehat dan secara visual tidak menunjukkan gejala serangan patogen.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa dari ke-13 cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6, terdapat 5 cendawan paling dominan adalah *Aspergillus* spp., *Penicillium chrysogenum*, *Colletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, dan *Fusarium* spp. Cendawan yang diduga berbahaya adalah *Aspergillus* spp., *Colletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium* spp., *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp. Cendawan yang diduga bersifat patogenik adalah *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium herbanum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata* dan *Macrophoma* sp.

Peran ke-13 spesies cendawan yang berhasil diisolasi tersebut di atas belum diketahui, baik sebagai patogen kontaminan atau antagonis pada benih kakao. Beberapa cendawan yang termasuk golongan genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, dan *Alternaria* dilaporkan memproduksi metabolit sekunder (NOVERIZA, 2008). SANCHEZ-HERVAS *et al.* (2008), menyatakan bahwa *Aspergillus flavus* dan *A. tamarii* merupakan cendawan yang memproduksi mycotoxin atau ochratoxin A dan sebanyak 10 - 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ terinfeksi pada biji atau produk dapat berpotensi menyebabkan toksik dan menurunkan produksi kakao. Tingkat infeksi suatu patogen ditentukan oleh jumlah mikotoksin, sifat fisiologis dan efek sinergisnya dengan tanaman (BAHRI *et al.*, 2002). Cendawan yang menginfeksi benih kakao hibrida diduga dapat terjadi sebelum maupun setelah panen dan berperan dalam memanfaatkan sumber nutrisi untuk hidup secara saprofitik

Tabel 3. Spesies cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 yang berhasil diidentifikasi dengan media *Potato Dextrose Agar*, *Water Agar*, dan kertas saring

Table 3. The species of seedborn in hybrid cacao TSH 858 x Sca 6 identified with *Potato Dextrose Agar*, *Water Agar*, and filter paper media

Kode isolat Code of isolate	Media tumbuh Growing media		
	WA Water Agar	PDA Potato Dextrose Agar	Kertas saring Filter paper
C - 1	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
C - 2	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus versicolor</i>
C - 3	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
J - 1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
J - 2	<i>Cladosporium herbanum</i>	<i>Cladosporium herbanum</i>	-
J - 3	<i>Colletotrichum acutatum</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	-
J - 4	<i>Curvularia geniculata</i>	<i>Curvularia geniculata</i>	<i>Curvularia geniculata</i>
P - 1	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium semitectum</i>
P - 2	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
P - 3	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
P - 4	<i>Moniliella acetoabutens</i>	<i>Moniliella acetoabutens</i>	-
P - 5	<i>Phoma glomerata</i>	<i>Phoma glomerata</i>	-
P - 6	<i>Macrophoma</i> sp.	<i>Macrophoma</i> sp.	-

atau bersifat patogenik. Cendawan-cendawan ini belum diketahui tingkat patogenisitasnya yang dapat menurunkan viabilitas maupun vigor benih kakao hibrida.

KESIMPULAN

Tingkat infeksi cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 tertinggi pada hari keempat (35,00%) dan kelima (51,67%) pada media PDA dibanding media WA dan KS. Sebanyak 13 spesies cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 berhasil diidentifikasi dengan menggunakan media WA dan PDA, dan delapan spesies cendawan diidentifikasi dengan medium KS. Cendawan terbawa benih kakao hibrida paling dominan adalah *Aspergillus* spp., *Penicillium chrysogenum*, *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, dan *Fusarium* spp.

Cendawan terbawa benih kakao hibrida TSH 858 x Sca 6 yang diduga berbahaya adalah *Aspergillus* spp., *Coletotrichum acutatum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium* spp., *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp. Cendawan yang diduga bersifat patogenik adalah *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia geniculata*, *Fusarium oxysporum*, *Phoma glomerata*, dan *Macrophoma* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Dr. Ir. H. Darmono Taniwiryono, M.Sc. yang telah mengizinkan penggunaan fasilitas Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia dan Dr. Ir. Yusmani Prayogo, M.Si. dan Siti Ropikoh, SP. dalam membantu pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- 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. Wiely-Vclt Verlag GMBt and Co. KgaA, Weinheim, Germany 48: 234 - 238.
- ADENIYI, D.O., A.V OYEDOKUN, K.B. ADEJOBI, and O.O. ADENUGA. 2011. Mycoflora associated with fermentation of cocoa beans in Nigeria. Cocoa Research Institute of Nigeria, Journal of Applied Biosciences. 39: 2647-2651.
- BAHRI, S., R. MARYAM, and R. WIDIASTUTI. 2002. Workshop on "Grain and Feed Quality", Bogor 30 Januari - 1 Februari 2002. 48p.
- BARON, G.L. 1968. The genera of Hypomycetes from soil. Robert E. Kreige. Publ. Co. Inc. Huntinton. New York.
- BBPPMBTPH. 2007. Deteksi Bakteri Patogen Benih. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. Balai Besar Pengembangan Pengujian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura. 122p.
- BERNETT, H.L. and B.B. HUNTER. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. West Virginia and Department of Biological and Environmental Sciences California University of Pennsylvania, Pennsylvania. APS Press. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. 217 p.
- DARmono, T.W. 1994. Kemampuan beberapa isolat *Trichoderma* spp. dalam menekan inokulum *Phytophthora* sp. di dalam jaringan buah kakao. Menara Perkebunan. pp.25-30.
- DOMIJAN, A. M., M. PERACIA, V. ZLENDER, B. CVJETKOVIC, Z. JURJEVIC, S. TOPOLOVEC-PINTARIC and D. IVIC. 2005. Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. Food and chemical Toxicology. Elsevier Ltd, Amsterdam, Netherlands: 43: 427-432.
- DRENTH, A. dan B. SENDALL. 2001. Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*. CRC for Tropical Plant Protection. Brisbane Australia.
- DUGAN, F.M. 2006. The Identification of Fungi. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. 175p.
- EL NAGERABI, S.A.F. and A.E. EL-SHAFFIE. 2000. Composition of mycoflora and aflatoxins in lupine seeds from the Sudan (*Lupinus termis* forrsk.). Phytopathologia-Mediterranea. (Italy).V(39): 257- 262.
- 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: 1064-1071.
- GANDJAR, I., R. A. SAMSON, K. VAN DEN TWEEL-VERMEULEN, A. OETARI, dan I. SANTOSO. 1999. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Yayasan Obor Indonesia. Universitas Indonesia (University of Indonesia Culture Collection). Centraalbureau Voor Schimmelcultures. Baarn Netherlands. 136 p.
- GUEHI, T.S., Y.M. KONAN, N.R. KOFFI, N.D.D. YAO and N.P. MANIZAN. 2007. Enumeration and identification of main fungal isolates and evaluation of fermentation's degree of ivoirian raw Cocoa beans. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 1(4): 479-486.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 2006. Seed science and technology. International Rules for Seed Testing. Zurich. International Seed Testing Association. No. 131. April 2006 49 p.

- KIRAN, B. and K.A. RAVEESHA. 2006. Antifungal activity of seed extract of *Psoralea corylifolia* L. Plant Disease Research 20: 213 - 215.
- KOZLOWSKI, T.J. 1972. Seed Biology III. Academic Press. New York and London 310 p.
- KRITZINGER, Q., T.A.S. AVELING, W.F.O. MARASAS, J.P. RHEEDER, L. VAN DER WESTHUIZEN, and G.S. SHEPHARD. 2003. Mycoflora and fumonis mycotoxins associated with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seeds. Journal of Agricultural and Food chemistry. American Chemical Society, Washington, USA: 51: 21-2192.
- KUMUD, K., J. SINGH, and V. RATAN. 2004. Seedborne fungi of Cowpea, their parasitism and control. Annals of Plant Protection Sciences. Society of Plant Protection Science, New Delhi, India. 12: 80-82.
- KUMAR, V. and A. SINGHAL. 2009. Germinating seeds of the mung bean, *Vigna radiata* (Fabaceae), as a model for the preliminary evaluation of cytotoxic effects of drugs. Biocell. 33: 19 - 24.
- KOFFI, N. R., N.D. YAO, and N.P. MANIZAN. 2007. Enumeration and identification of main fungal isolates and evaluation of fermentation's degree of ivoirian raw cocoa beans. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1 (14): 479-486.
- MUNANDAR, D.E., P. RAHARDJO, dan SLAMETO. 2004. Perkembangan teknik penyimpanan benih kakao dalam upaya pengembangan tanaman kakao di Indonesia. Prosiding Simposium Kakao Yogyakarta 4-5 Oktober 2004. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jember. 185-195.
- NOVERIZA, R. 2008. Kontaminasi cendawan dan mikotoksin pada tumbuhan obat. Puslitbangbun. Perspektif. 7: 35-46.
- PARERA, C.A. and D.J. CANTLIFFE. 1991. Improved germination and modified imbibition of shrunken-2 sweet corn by seed disinfection and solid matrix priming. Journal of the American Society of Horticultural Science. 120: 128-132.
- PATHAK, V.N. 1980. Disease of Fruit Crops. Oxford and IBH Publishing Company. New Delhi. 309p.
- 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.
- SAMSON, R.A., E.S. HOEKSTRA, and C.A.N. VAN OORSCHOT. 1984. Introduction to Food-Borne Fungi. Second Edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures. Baarn Delft. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Science. 248 p.
- SANCHEZ-HERVAS, M., J.V. GIL, F. BISBAL, D. RAMON, and P.V. MARTINEZ-CULEBRAS. 2008. Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans. International Journal of Food Microbiology. 125: 336-340.
- SATISH, S., D.C. MOHANA, M.P. RANHAVENDRA, and K.A. RAVEESHA. 2007. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. Journal of Agricultural Technology. 3: 109-119.
- SEMANGUN, H. 1988. Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Gadjah Mada University Press. 346-387.
- SEMANGUN, H. 1989. Ekologi Patogen Tropika dan Pemanfaatan dalam Pengendalian Penyakit Tumbuhan. Kongres Nasional X PFI Denpasar. 15p.
- SEMANGUN, H. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Gadjah Mada University Press. 375 - 429.
- SOESANTO, L. 2006. Penyakit Pascapanen. Kanisius. Yogya-karta. 268p.
- STYER, R.C. and D.J. CANTLIFFE. 1983. Changes in seed structure and composition during development and their effects on leakage in two endosperm mutants of sweet corn. Journal of the American Society of Horticultural Science. 108. 721-728.
- SUKAMTO, S., H. SEMANGUN, dan A. HARSOYO. 1997. Identifikasi beberapa isolat jamur dan sifat antagonisnya terhadap *Phytophthora palmivora* pada kakao. Pelita Perkebunan. 13(3):148-160.
- SUKAMTO, S. dan D. PUJASTUTI. 2004. Keefektifan beberapa pengendali penyakit busuk buah kakao *Phytophthora palmivora*. Pelita Perkebunan. 20: 132-142.
- SULISTYOWATI, E. 2000. Kontaminasi jamur pada biji kakao; pengaruh terhadap mutu dan metode penentuannya. Warta Puslitkoka Indonesia. 16: 11-20.
- TSENG, T.C., J.C. TU, and S.S. TZEAN. 1995. Mycoflora and mycotoxins in dry bean (*Phaseolus vulgaris*) produced in Taiwan and Ontario, Canada. Botanical-Bulletin-of-Academic-Sinica. 36:229-234.
- UMAYAH, A. dan A. PURWANTARA. 2006. Identifikasi isolat *Phytophthora* asal kakao. Menara Perkebunan. 74: 76-86.
- WANN, E.V. 1980. Seed vigor and respiration of maize kernels with different endosperm genotypes. Journal of the American Society of Horticultural Science. 105:31-34.
- WOOD, G.A.R. and R.A. LASS. 1985. Cacao 4th. Ed. Longman Group Lim. New York. 620p.

