

Pengaruh kitosan, mikroba antagonis, dan bakteri endofit dalam menekan perkembangan penyakit bercak daun pada bibit kelapa kopyor

Effect of chitosan, antagonist and endophytic bacteria in suppressing the development of leaf spot disease in kopyor coconut seedlings

Deden Dewantara ERIS*), Sri WAHYUNI, Imron RIYADI, Happy WIDIASTUTI & SISWANTO

Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Jl. Taman Kencana No.1, Bogor 16128, Indonesia

Diterima tgl 15 Januari 2019/ disetujui tgl 30 April 2019

Abstract

Currently, tissue culture is one of the best techniques in propagating of kopyor coconut. The important stage in plant propagation through tissue culture is acclimatization. Upon entering the acclimatization stage, the problem that could arise in kopyor coconut seedlings is leaf spot disease caused by the fungus Colletotrichum sp., Curvularia sp. and Pestalotiopsis sp. Environmentally friendly leaf spot disease control techniques can be done through the use of chitosan, antagonists microbes and endophytic bacteria. This study aimed to examine the use of chitosan, microbial antagonists, endophytic bacteria and their combinations to control leaf spot kopyor coconut disease in four different disease severity categories, namely severe/heavy, moderate, mild, and healthy. Disease development was observed every three weeks, while the rate of disease infection, area under the disease development curve (AUDPC) and disease progression/delta were observed 15 weeks after treatment. The result showed that in heavy severity category, endophytic bacteria treatment was more effective to inhibit leaf spot disease showed by AUDPC value of 131.95 units that significantly different compared to others. In the moderate category, combination treatment was more effective to suppress leaf spot disease, showed by the lowest infection rate by 0.03 unit per week, and percentage disease value progression changes was 12.10%, with no significantly different AUDPC value to the other treatments. In mild and healthy severity category, there were no significantly different between the rate of infection and AUDPC in all treatments. While the percentage of change progression disease was significantly different between endophytic treatment and control.

[Keywords: coconut kopyor seedling, leaf spot disease, antagonist microbes, endophytic bacteria, chitosan]

Abstrak

Saat ini, teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknik terbaik untuk memproduksi bibit kelapa kopyor. Tahap penting dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan adalah aklimatisasi. Pada saat memasuki tahap aklimatisasi, masalah yang dapat muncul pada bibit kelapa kopyor adalah serangan penyakit bercak daun yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp. dan *Pestalotiopsis* sp. Teknik pengendalian penyakit bercak daun yang ramah lingkungan dapat melalui pemanfaatan kitosan, mikroba antagonis dan bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh kitosan, mikroba antagonis, bakteri endofit dan kombinasinya untuk mengendalikan penyakit bercak daun bibit kelapa kopyor pada empat kategori keparahan penyakit yang berbeda yaitu berat, sedang, ringan, dan sehat. Perkembangan penyakit diamati setiap tiga minggu selama 15 minggu sedangkan laju infeksi penyakit, luas area di bawah kurva perkembangan penyakit (AUDPC) dan persentase selisih/delta perkembangan penyakit dihitung pada minggu ke 15. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada bibit kelapa kopyor dengan kategori keparahan berat, perlakuan bakteri endofit lebih efektif menghambat bercak daun dengan menghasilkan nilai AUDPC terkecil yaitu sebesar 131,95 unit dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya sedangkan laju infeksi dan persentase delta perkembangan penyakit tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada bibit kopyor kategori keparahan sedang, perlakuan kombinasi lebih efektif menekan bercak daun ditunjukkan dengan laju infeksi terendah sebesar 0,03 unit per minggu yang menghasilkan delta perkembangan penyakit terkecil yakni sebesar 12,1%, dengan nilai AUDPC tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada bibit kopyor kategori keparahan ringan dan sehat, tidak terdapat perbedaan yang nyata untuk parameter laju infeksi dan nilai AUDPC pada semua perlakuan. Sedangkan nilai persentase delta perkembangan penyakit pada perlakuan endofit berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol.

*) Penulis korespondensi: dewantara40@gmail.com

[Kata Kunci: bibit kelapa kopyor, penyakit bercak daun, kitosan, mikroba antagonis, bakteri endofit]

Pendahuluan

Kelapa kopyor adalah kelapa abnormal yang berupa lepasnya endosperma dari tempurung yang diakibatkan hilangnya enzim α -galaktosidase dan ekspresinya bersifat homozigot resesif. Kelapa kopyor merupakan tanaman kelapa yang mengalami mutasi genetik secara alami, sehingga persentase kelapa berbuah kopyor sangat sedikit (Mashud & Manaroinson, 2018). Untuk memproduksi bibit kelapa kopyor dengan persentase buah kopyor yang tinggi, maka dilakukan teknik khusus perbanyakan yaitu melalui teknik kultur jaringan.

Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia telah mengembangkan teknik perbanyakan kelapa kopyor. Tanaman kelapa kopyor yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan buah kopyor sebesar 90% (Santosa, 2016). Mashud & Matana (2018) juga mengemukakan bahwa teknik kultur jaringan telah dimanfaatkan untuk memperoleh bibit kelapa dengan persentase kopyor yang tinggi. Melalui teknik kultur jaringan juga dimungkinkan produksi bibit dalam jumlah yang besar (massal) secara seragam. Keberhasilan pengembangan tanaman hasil kultur jaringan harus dilengkapi dengan teknik pengendalian penyakit yang ramah lingkungan mengingat kelapa kopyor merupakan produk pangan. Dalam kultur jaringan, tahap aklimatisasi merupakan tahap yang kritis bagi perkembangan tanaman karena bibit kelapa kopyor sangat rentan terhadap kondisi lingkungan termasuk serangan patogen penyebab penyakit bercak daun.

Patogen penyebab penyakit bercak daun diantaranya adalah cendawan genus *Curvularia*, *Pestalotiopsis*, *Alternaria*, *Helminthosporium* dan *Cercospora*. Keberadaan patogen bercak tersebut di lapangan dapat bervariasi. Gejala awal serangan penyakit bercak daun ditandai dengan munculnya bercak kuning (gejala klorosis) yang lama kelamaan berwarna coklat abu-abu atau berwarna kekuningan bercak menjadi kering, mengkerut dan akhirnya jaringan menjadi mati. Penyakit bercak daun menyebar baik melalui spora cendawan yang terbawa angin maupun terpercik bersama air hujan dan air siraman bahkan terbawa serangga (Semangun, 2007). Tingkat kerusakan akibat serangan penyakit bercak daun dapat mencapai lebih dari 50% bahkan bila dibiarkan dapat menyebabkan kematian tanaman (Kittimorakul et al., 2013).

Beberapa teknik pengendalian penyakit yang berkelanjutan dan efektif dalam mengendalikan patogen tanaman diantaranya dengan pemanfaatan kitosan, mikroba antagonis, dan bakteri endofit. Kitosan sebagai senyawa alami terbukti berpotensi dalam pengendalian penyakit

pra dan pasca panen tanaman hortikultura (Romanazzi et al., 2013). Gugus asetil amino dan glukosamin pada kitosan yang bermuatan positif, akan berikatan dengan bagian yang bermuatan negatif dari makromolekul cendawan yang menyebabkan cendawan mengalami gangguan pertumbuhan. Selain itu, kitosan juga menstimulasi biosintesis asam salisilat yang berperan pada pengendalian patogen (Khairani, 2014). Selain berperan dalam pengendalian penyakit, pada konsentrasi 75-100 ppm, kitosan juga dilaporkan berpengaruh nyata terhadap daya kecambah dan pertumbuhan vegetatif tanaman kedelai. Hamdayanty et al., (2012) melaporkan bahwa kitosan pada konsentrasi 0,75% selain dapat menekan kejadian dan keparahan penyakit antraknosa pada buah pepaya, juga meningkatkan daya simpan buah 2 kali lebih lama dibandingkan dengan kontrol. Kitosan 1% yang dikombinasikan dengan agen antagonis juga telah dilaporkan berpotensi dalam pengendalian penyakit karat (*Phakospora pachyrhizi* Syd.) pada kedelai (Khairani, 2014).

Beneduzi (2012) melaporkan terdapat kelompok cendawan dan bakteri yang dapat bersifat sebagai agens antagonis dan pengendali hayati, begitu pula Cameron (2013) dan Rybakova et al. (2016) melaporkan adanya endofit yang mampu menjadi bioprotektan bagi tanaman dalam menghadapi serangan patogen. Beberapa mikroba antagonis yang telah banyak diteliti adalah *Paecilomyces* sp. (Wiyono et al., 2014), *Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp. (Hutabalian et al., 2015) dan bakteri kitinolitik. Sudarma et al., (2012) melaporkan bahwa cendawan *Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp. mampu menghambat perkembangan *Fusarium oxysporum*, patogen pada beragam komoditas, dengan nilai penghambatan $78,89 \pm 1,11\%$ - $95,83 \pm 7,22\%$.

Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman, berasosiasi dan berkembang dengan baik tanpa menyebabkan gangguan pada tanaman inang (Hallmann, 2001). Bakteri endofit memperoleh nutrisi dari tanaman sebagai timbal baliknya bakteri endofit menjaga tanaman dari serangan patogen selama hidupnya. Eris et al. (2017) melaporkan potensi bakteri endofit dalam mengendalikan patogen *Pestalotiopsis* sp. sebagai penyebab penyakit bercak daun. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari perkembangan penyakit bercak daun pada bibit kelapa kopyor masa aklimatisasi melalui aplikasi kitosan, mikroba antagonis dan bakteri endofit.

Bahan dan Metode

Bahan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah bibit kelapa kopyor Genjah berumur 12 bulan hasil perbanyakan kultur jaringan tahap aklimatisasi. Berdasarkan keparahan penyakit bercak daun, bibit tanaman dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu serangan berat, sedang, ringan dan sehat masing

masing dengan keparahan penyakit di atas 20 %, 15-19,9%, 3-14,9 % dan 0-2,9% (Sudir *et al.*, 2002). Jumlah bibit untuk masing-masing kategori adalah 50 tanaman sehingga total bibit yang digunakan dalam percobaan adalah 200 bibit (Gambar 1).

Perlakuan dan pengamatan bibit tanaman

Perlakuan terhadap bibit kelapa kopyor untuk masing masing kategori keparahan penyakit disajikan pada Tabel 1. Lima perlakuan tersebut diaplikasikan pada setiap bibit tanaman untuk setiap kategori keparahan bercak daun. Tanaman

dipelihara dengan memberikan penyiraman dan pemupukan dengan NPK Mutiara 15-15-15 sebanyak 10 g per tanaman setiap 6 minggu selama masa pemeliharaan.

Pengamatan dilakukan setiap 3 minggu mulai minggu pertama hingga 15 minggu terhadap perkembangan penyakit, sedangkan laju infeksi, keparahan penyakit yang diukur melalui luas area di bawah kurva perkembangan penyakit (*area under disease progresion curve*, AUDPC) dan persentase delta (selisih) nilai pengamatan perkembangan penyakit diamati pada minggu ke 15 setelah perlakuan.



Gambar 1. Bibit kelapa kopyor kultur jaringan yang digunakan dalam penelitian.
 Figure 1. Kopyor coconut seedlings derived from tissue culture used in this research.

Tabel 1. Perlakuan pada bibit kelapa kopyor yang diuji pada percobaan ini.
 Table 1. The treatment tested in this research.

No./No.	Kode/ Code	Perlakuan /treatment
1	Kontrol (K) <i>Control</i>	Kontrol (dengan air /tanpa perlakuan). <i>Control (water/without treatment)</i>
2	Kitosan (Chi) <i>Chitosan (Chi)</i>	Pemberian kitosan 1% (1 ml/l) (v/v) (Wahyuni <i>et al.</i> , 2016) dengan cara penyemprotan pada daun, diberikan dengan interval waktu 3 minggu sekali selama 15 minggu. <i>Application of one percent (1 ml/l) (v/v) chitosan by spraying to the leaves once in every 3 weeks till 15 weeks.</i>
3	Konsorsium mikroba antagonis/ Miktagon (Mtg) <i>Antagonist microbe consortium/Miktagon (Mtg)</i>	Pemberian 10 g Mtg per tanaman dengan cara ditaburkan. Mikroba dalam Miktagon (Mtg) meliputi <i>Paecilomyces</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Trichoderma</i> , jamur pelapuk putih <i>Omphalina</i> sp. dan bakteri kitinase, diberikan sekali di awal pengujian pada bagian pangkal batang dekat perakaran. <i>Application of 10 g Mtg per plant. Consortium microbes in Miktagon (Mtg) are Paecilomyces, Gliocladium, Trichoderma, white rot fungi Omphalina sp. and chitinases bacteria once application at basal stem near roots.</i>
4	Endofit (Edf) <i>Endophyte (Edf)</i>	Pemberian bakteri endofit antagonis <i>Burkholderia</i> sp. dan <i>Serratia marcescens</i> sebanyak 30 ml per tanaman kepadatan 10^6 cfu ml ⁻¹ diaplikasikan 1 kali di awal pengujian dengan cara dikocor di sekitar pangkal batang. <i>Application of endophytic antagonist bacteria: Burkholderia sp. and Serratia marcescens, 30 ml per plant 10^6 cfu ml⁻¹ once application by pouring the liquid around basal stem.</i>
5	Kombinasi <i>Combination</i>	Kombinasi perlakuan 2, 3 dan 4 <i>Combination of the 2nd, 3 rd and 4th treatments</i>

Laju infeksi penyakit dihitung dengan menggunakan formula (Campbell & Madden, 1990) sebagai berikut:

$$r = \frac{2.3}{t_{i+1} - t_i} \left(\log \frac{X_{i+1}}{1 - X_{i+1}} - \log \frac{X_i}{1 - X_i} \right)$$

Keterangan :

- r = laju infeksi
- t_i = waktu pengamatan ke-i
- t_{i+1} = waktu pengamatan ke-i+1
- X_i = keparahan penyakit saat pengamatan i
- X_{i+1} = keparahan penyakit saat pengamatan i+1

Sedangkan nilai luas area di bawah kurva perkembangan penyakit (AUDPC) (Campbell & Madden, 1990) dihitung dengan formula:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{X_i + X_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Keterangan :

- r = laju infeksi
- X_i = keparahan penyakit waktu i
- t_i = waktu pengamatan ke-i

Pada bibit kategori keparahan sedang, ringan dan bibit sehat dilakukan pengamatan pertumbuhan meliputi sifat morfologi tanaman diantaranya warna daun berdasarkan Bagan Warna Daun (*IRRI leaf color chart*), jumlah helai daun, diameter batang, dan tinggi tanaman.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan ulangan sebanyak 10 tanaman untuk masing-masing perlakuan. Data yang diperoleh, diolah menggunakan program MS.Excel 2010 dan dianalisis sidik ragam menggunakan program SAS 9.1. Apabila terdapat perlakuan yang berpengaruh nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh perlakuan kitosan, miktagon, endofit dan kombinasinya terhadap perkembangan penyakit bercak daun

Pengaruh perlakuan terhadap perkembangan keparahan penyakit pada tanaman terserang penyakit bercak daun pada kategori berat (A) dan sedang (B) ditunjukkan pada Gambar 2, sedangkan pengaruh perlakuan terhadap perkembangan keparahan penyakit pada tanaman terserang penyakit bercak daun pada kategori ringan (A) dan tanaman sehat (B) ditunjukkan pada Gambar 3.

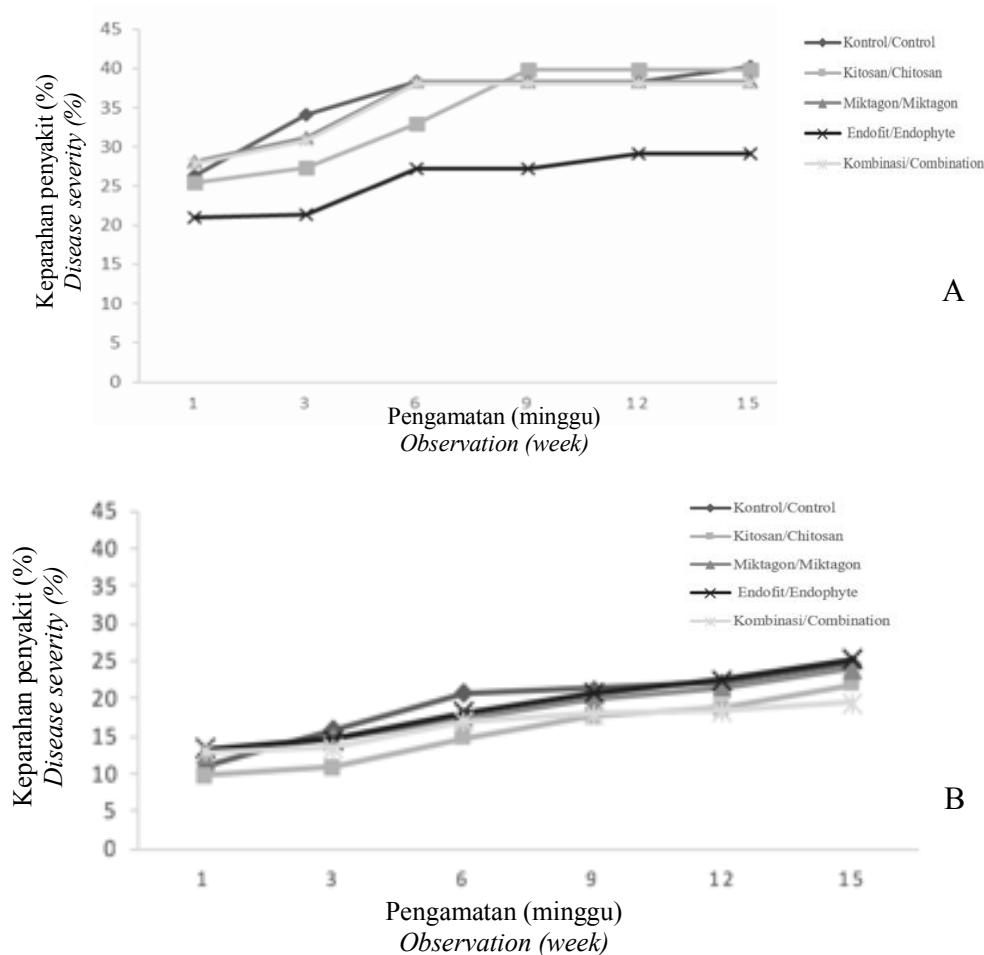
Serangan patogen bercak daun dengan kategori keparahan berat menunjukkan bahwa keparahan

penyakit cenderung meningkat hingga minggu ke-6 dan selanjutnya mendatar hingga minggu ke-15. Keparahan penyakit tertinggi mencapai 40,2% pada perlakuan kontrol. Sedangkan pada perlakuan endofitik stabil pada nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya selama 15 minggu pengamatan. Pada bibit dengan kategori keparahan penyakit sedang, serangan patogen bercak menunjukkan peningkatan memasuki minggu ke-6 pengamatan hingga minggu ke-15. Pola perkembangan penyakit yang sama diperoleh pada bibit kopyor dengan kategori keparahan penyakit ringan. Perkembangan penyakit yang meningkat tajam teramati mulai minggu pengamatan ke-9 sampai dengan ke-15. Pada bibit tanaman kategori sehat keparahan penyakit bercak daun meningkat pada minggu ke 12 hingga minggu ke-15 namun masih berada di bawah 15% (Gambar 3B).

Pada bibit dengan kategori keparahan penyakit berat, pada akhir pengamatan yaitu minggu ke 15 nilai laju infeksi terendah diperoleh pada perlakuan miktagon, bakteri endofit dan kombinasi ketiganya, walaupun demikian nilai ini tidak berbeda nyata. Perlakuan bakteri endofit menghasilkan nilai AUDPC terendah yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 2). Diduga bakteri endofit mengeluarkan sejumlah aktivitas yang mampu menghambat perkembangan patogen sehingga menahan laju infeksi yang berakibat tertahannya keparahan penyakit sehingga menghasilkan nilai AUDPC yang rendah. Semakin rendah nilai AUDPC menunjukkan semakin tingginya tingkat resistensi tanaman atau presentase penghambatan perkembangan penyakit akibat perlakuan (Gunaeni et al., 2014). Sementara itu, nilai AUDPC tertinggi diperoleh pada tanaman kontrol. Hal ini diduga dikarenakan kolonisasi patogen yang sudah terlalu luas, menyebabkan tanaman sudah tidak mampu memberikan respon pertahanan.

Tanaman dengan kategori keparahan penyakit bercak daun sedang, laju infeksi terendah diperoleh pada tanaman yang diberi perlakuan kombinasi dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kitosan. Hal yang sama juga teramati pada persentase delta perkembangan penyakit. Nilai AUDPC terendah diperoleh pada perlakuan kitosan sedangkan selisih/delta perkembangan penyakit terendah diperoleh pada perlakuan kombinasi (Tabel 2).

Hasil ini menunjukkan kemampuan perlakuan kombinasi dalam menekan perkembangan penyakit dan laju infeksi. Hasil ini mendukung pernyataan Sarwono et al., (2013) yang melaporkan adanya sinergisme penggunaan kitosan dan mikroba antagonis dalam menekan perkembangan penyakit hawar daun tanaman cabai. Abdel-Monaim et al., (2014) mengemukakan bahwa kombinasi dari beberapa perlakuan penghambatan perkembangan penyakit yang bersifat organik dan hayati dapat saling



Gambar 2. Perkembangan keparahan penyakit bercak daun pada bibit kelapa kopyor terserang berat (A) dan sedang (B) selama 15 minggu setelah perlakuan.

Figure 2. Disease severity development of leaf spot pathogen on kopyor seedling in severe (A) and moderate (B) symptoms condition after 15 weeks after treatment.

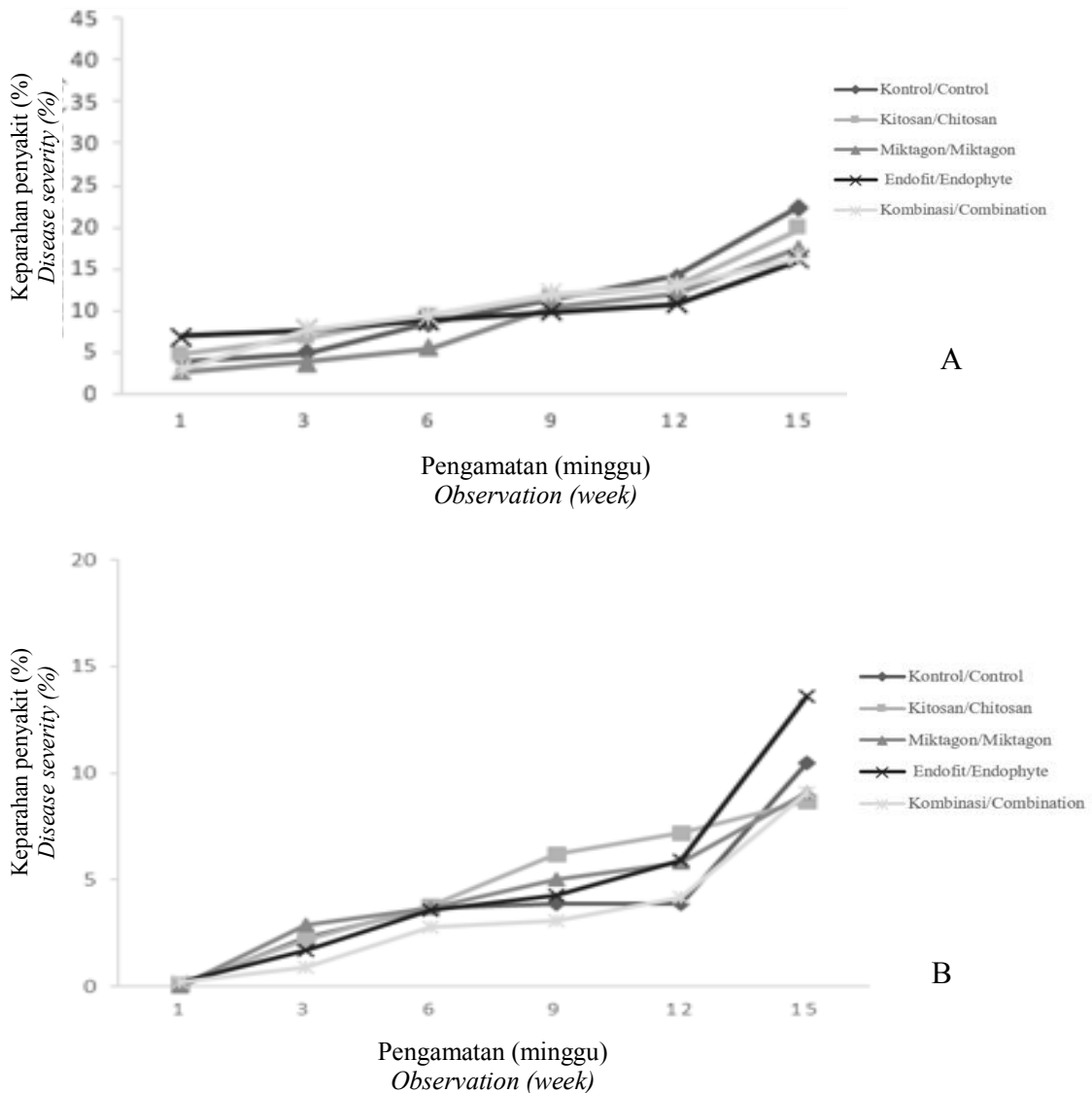
mendukung satu dan lainnya. Khairani *et al.*, (2017) menyatakan bahwa perlakuan kombinasi kitosan dengan bakteri simbiotik dan mikroba endofit cukup meyakinkan pada penanganan penyakit busuk batang jeruk. Aplikasi kitosan yang dikombinasikan dengan aplikasi mikroba terseleksi mampu meningkatkan kemampuan tanaman dalam menghambat perkembangan patogen (Domeneque dalam Souza *et al.*, 2015). Nilai laju infeksi, AUDPC dan selisih/delta perkembangan penyakit tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol. Hal ini dikarenakan pada tanaman kontrol tidak dilakukan inokulasi atau aplikasi agens pengendali hayati penyakit bercak daun sehingga keparahan penyakit berkembang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Sementara itu, pada tanaman dengan keparahan penyakit bercak daun ringan dan sehat, tidak terdapat perbedaan laju infeksi dan nilai AUDPC pada semua perlakuan yang diuji, sedangkan nilai delta perkembangan penyakit berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol walaupun tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kombinasi. Hal ini diduga karena patogen belum secara masif menyebar dan mengkolonisasi

jaringan inang. Faktor pembatas perkembangan patogen tanaman diantaranya adalah kondisi inang dan lingkungan. Suhu dan kelembaban hingga pengamatan terakhir membatasi perkembangan perkecambahan dan kolonisasi patogen sehingga perkembangan penyakit tidak menunjukkan perbedaan antar perlakuan yang diujikan. Keragaan tanaman dalam katagori sehat, kategori serangan bercak ringan dan berat dapat dilihat pada Gambar 4.

Penyakit bercak daun merupakan penyakit yang disebabkan oleh patogen kosmopolit. Parinthewong *et al.*, (2010) menyatakan bahwa penyakit bercak daun diantaranya disebabkan oleh cendawan patogen dari genus *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium* dan *Cercospora*.

Gejala awal berupa klorosis pada jaringan daun diikuti dengan kematian jaringan dengan perubahan warna jaringan semakin gelap dan mengkerut merupakan tanda akibat serangan patogen bercak daun (Agrios, 2005). Namun demikian, mikroba-mikroba unggul yang terkandung dalam produk hayati yang diujicobakan menunjukkan kemampuan dalam menekan perkembangan penyakit bercak daun pada kelapa kopyor.



Gambar 3. Perkembangan penyakit bercak daun pada bibit kelapa kopyor terserang ringan (A) dan sehat (B) selama 15 minggu setelah perlakuan.

Figure 3. Development of leaf spot disease on kopyor seedling in mild symptoms (A) and healthy (B) condition after 15 weeks after treatments.

Perlakuan kombinasi yaitu pemberian kitosan, konsorsium mikroba antagonis dan bakteri endofit secara sinergi mampu menekan perkembangan patogen penyebab penyakit bercak daun sehingga dapat menekan laju infeksi (menghasilkan laju infeksi yang rendah). Penekanan ini diduga disebabkan adanya senyawa metabolit seperti iturin yang dihasilkan mikroba antagonis yang dapat menekan perkembangan cendawan penyebab bercak dan hawar daun (Ye et al., 2012). Bakteri penghasil kitinase berpotensi dalam menghambat dua patogen penyebab penyakit pada daun kelapa sawit yakni *Curvularia affinis* dan *Colletotrichum gloeosporioides* (Asril et al., 2014). Bakteri kitinolitik yang terkandung dalam mikroba antagonis memiliki kemampuan untuk memecah dan mendegradasi kitin yang merupakan

penyusun dinding sel cendawan. Oleh karena itu, bakteri kitinolitik sangat berpotensi untuk menghambat pertumbuhan cendawan patogen pada tanaman (Brzezinska et al., 2015). Sementara Eris et al. (2017) melaporkan bahwa terdapat bakteri endofit asal tanaman *Areaceae* yang efektif menghambat perkembangan penyakit bercak daun *Pestalotiopsis* sp. pada kelapa kopyor secara *in vitro*.

Kitosan adalah biopolymer alam yang dimodifikasi dari lignin sebagai unsur primer dari kepiting, udang, serangga dan dinding sel cendawan. Kitosan banyak digunakan sebagai pelapis produk pertanian seperti buah, benih dan sayuran. Selain itu, kitosan merupakan stimulator sistem pertumbuhan, produksi serta pertahanan dari patogen tanaman (Damayanti et al., 2014).

Tabel 2. Laju Infeksi dan AUDPC bibit tanaman kopyor dengan 4 kategori keparahan bercak daun 15 minggu setelah perlakuan.

Table 2. Infection rate and AUDPC of kopyor seedlings with 4 categories of leaf spot 15 weeks after treatment.

Perlakuan <i>Treatment</i>	Laju Infeksi (unit/minggu) <i>Infection rates (unit/week)</i>	Area di bawah kurva perkembangan penyakit (unit/minggu) <i>Area under disease progesion curve(unit)</i>	Selisih/delta perkembangan penyakit (%) <i>Deviation of disease progression (%)</i>
Bibit dengan penyakit bercak daun berat <i>Seedlings with heavy levels of leaf spot</i>			
BE-K*)	0,04 a**)	185,25 a**)	13,90 a**)
BE-Chi	0,04 a	169,10 a	14,40 a
BE-Mtg	0,03 a	179,30 a	10,20 a
BE-Edf	0,03 a	131,95 b	9,20 a
BE-Kom	0,03 a	178,05 a	10,30 a
Bibit dengan penyakit bercak daun sedang <i>Seedlings with moderat levels of leaf spot</i>			
SE-K	0,09 a	99,80 a	23,10 a
SE-Chi	0,07 a	78,05 a	18,70 ab
SE-Mtg	0,05 ab	92,05 a	17,10 bc
SE-Edf	0,05 ab	96,20 a	14,90 bc
SE-Kom	0,03 b	83,75 a	12,10 c
Bibit dengan penyakit bercak daun ringan <i>Seedlings with mild levels of leaf spot</i>			
RI-K	0,14 a	51,85 a	25,70 a
RI -Chi	0,11 a	52,75 a	28,10 a
RI-Mtg	0,12 a	41,70 a	25,00 a
RI -Edf	0,10 a	48,25 a	15,30 b
RI -Kom	0,12 a	51,55 a	21,30 ab
Bibit sehat/tanpa serangan bercak daun <i>Healthy seedlings / without leaf spot</i>			
SH-K	0,15 a	20,10 a	21,00 a
SH -Chi	0,11 a	23,80 a	19,80 a
SH -Mtg	0,09 a	21,95 a	17,80 a
SH -Edf	0,12 a	20,55 a	20,10 a
SH-Kom	0,14 a	15,65 a	20,51 a

*) BE = kategori serangan berat; SE = kategori serangan sedang; RI = kategori serangan ringan; SH = tanaman sehat; K= kontrol; Chi=kitosan; Mtg = miktagon; Edf = endofit; Kom = kombinasi.

*) BE = *severe category*; SE = *moderate category*; RI = *mild category*; SH = *healthy category*; K = *control*; Chi = *chitosan*; Mtg = *miktagon*; Edf. *endophyte*; Kom = *combination*.

**) Angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada uji selang berganda Duncan dengan $\alpha=5\%$

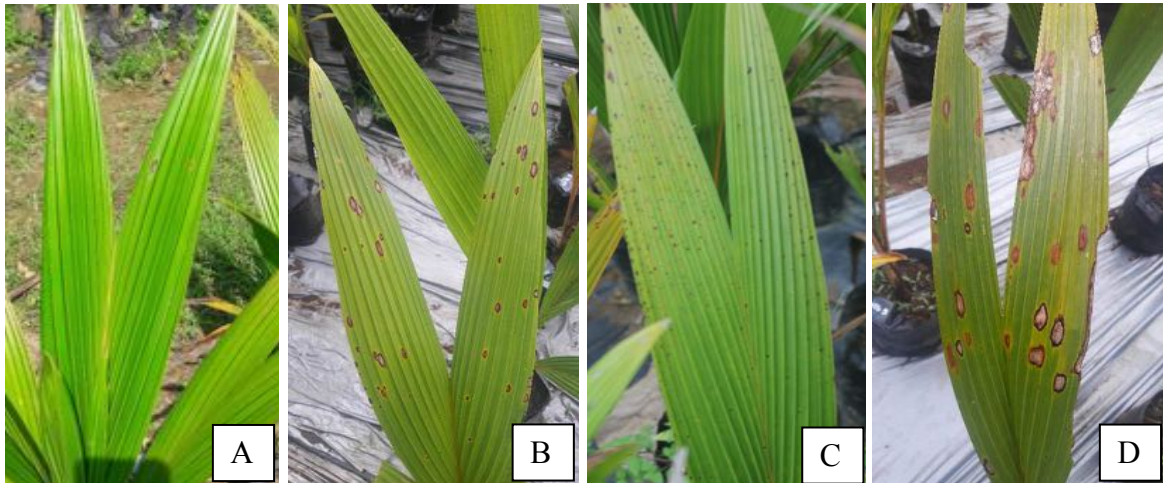
**) Means in the same column followed by the same letter(s) are not significantly different according to Duncan's multiple range test at $\alpha = 0.05$.

Suptijah *et al.*, (2010) melaporkan bahwa perlakuan perendaman kitosan 25 ppm pada benih tomat sebelum penanaman meningkatkan daya dan kecepatan tumbuh dibandingkan dengan tanaman kontrol selain itu kombinasi perlakuan perendaman dan penyemprotan kitosan 25 ppm berpengaruh terhadap tinggi, jumlah cabang, jumlah daun, panjang lebar daun, bobot basah dan bobot kering tanaman tomat. Goy *et al.* (2009) menyatakan bahwa kitosan mampu menghambat germinasi spora, pemanjangan hifa penetrasi dan perkembangan hifa secara radial. Mekanisme pertahanan antifungi kitosan dengan cara molekul kitosan secara langsung masuk ke dalam hifa menghambat aktivitas enzim yang bertanggung

jawab terhadap pertumbuhan hifa cendawan patogen (El Hadrami *et al.*, 2010).

Perkembangan morfologi tanaman

Pengamatan warna daun, menunjukkan adanya perubahan skala warna daun setelah perlakuan selama 15 minggu pada bibit kelapa kopyor kategori keparahan penyakit sedang. Aplikasi kitosan, bakteri endofit dan kombinasi mampu meningkatkan nilai kehijauan daun berkisar 0,1–0,4 unit. Pada bibit dengan kategori keparahan penyakit ringan, memasuki 15 minggu perlakuan bakteri endofit dan kombinasi menunjukkan perubahan nilai skoring warna berkisar 0,5-0,6 unit yang berbeda nyata terhadap kontrol. Hasil



Gambar 4. Tanaman kelapa kopyor pada kategori sehat (A), keparahan penyakit bercak daun ringan (B), sedang(C) dan berat (D).
Figure 4. Kopyor Coconut seedling of healthy (A), mild (B), moderat (C), and severe (D) attacked by leaf spot.

ini menunjukkan bahwa perlakuan bakteri endofit dan kombinasi dapat memperbaiki warna hijau daun bibit yang terserang bercak kategori ringan dalam 15 minggu. Pada bibit kelapa kopyor dengan kategori sehat, perlakuan kitosan dan kombinasi mampu meningkatkan nilai kehijauan daun antara 0,4 – 0,6 unit yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan data perubahan warna daun diketahui bahwa perlakuan kombinasi dapat meningkatkan warna daun baik pada bibit dengan kategori keparahan ringan maupun kategori sehat. Pada penelitian ini beberapa perlakuan merupakan konsorsium mikroba unggul bagi tanaman. Salah satunya mikroba pelarut fosfat. Peran mikroba pelarut fosfat diduga sangat berpengaruh terhadap peningkatan skala warna daun pada tanaman. Mikroba pelarut P mampu menyediakan fosfat yang tidak tersedia menjadi fosfat tersedia bagi tanaman. Pada perlakuan kombinasi terdapat bakteri yang mampu melarutkan P tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman yakni bakteri *Burkholderia* sp. dan *Serratia marcescens*. Mulyono (2014) melaporkan bahwa unsur P dapat membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman, memproduksi klorofil, meningkatkan kadar protein dan mempercepat pertumbuhan daun. Perkembangan warna daun dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada pengamatan jumlah helai daun pada bibit kategori keparahan penyakit sedang, ringan dan sehat, hingga pengamatan minggu ke-15, seluruh perlakuan yang diuji menunjukkan respon tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 3). Pengamatan diameter batang, semua perlakuan tidak berpengaruh terhadap perkembangan diameter batang bibit dengan kategori keparahan penyakit bercak daun ringan dan sehat. Sementara itu, bibit pada kategori serangan bercak daun sedang yang diperlakukan dengan perlakuan bakteri endofit menunjukkan diameter batang yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya namun tidak berbeda nyata terhadap kontrol.

Pengamatan tinggi tanaman 15 minggu setelah perlakuan, pada bibit dengan kategori keparahan sedang, perlakuan miktagon menunjukkan peningkatan tinggi tanaman yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil yang sama juga dijumpai pada bibit dengan serangan penuyakit pada katagori ringan dan sehat (Gambar 5). Sementara itu, pada kategori tanaman sehat/tanpa serangan bercak daun, seluruh perlakuan yang diujikan menunjukkan peningkatan tinggi tanaman, namun tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Tabel 3. Hasil pengamatan vegetatif bibit tanaman kopyor pada 3 kategori keparahan penyakit bercak meliputi warna daun, helai daun, diameter batang dan tinggi tanaman setelah 15 minggu pengamatan.

Table 3. The results of observation of kopyor seedlings with 3 categories of leaf spot include leaf color, leaf blade, stem diameter and plant height after 15 weeks observation.

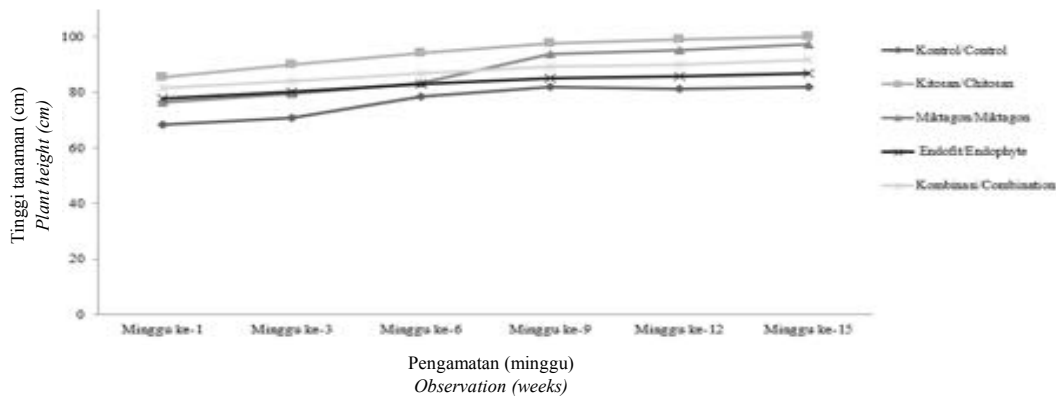
Perlakuan <i>Treatment</i>	Warna daun (unit) <i>Leaf color (unit)</i>			Helai daun (cm) <i>Leaf blade (cm)</i>			Diameter batang (cm) <i>Stem diameter (cm)</i>			Tinggi tanaman (cm) <i>Plant height (cm)</i>		
	Awal/ <i>Early</i>	Akhir/ <i>End</i>	Selisih/ <i>Deviation</i>	Awal/ <i>Early</i>	Akhir/ <i>End</i>	Selisih / <i>Deviation</i>	Awal/ <i>Early</i>	Akhir/ <i>End</i>	Selisih/ <i>Deviation</i>	Awal/ <i>Early</i>	Akhir/ <i>End</i>	Selisih/Deviation
<i>Bibit dengan kategori serangan bercak daun sedang</i> <i>Seedlings with moderate levels of leaf spot</i>												
SE-K ^{*)}	3,00 a ^{**)}	3,20 a ^{**)}	0,20 ab ^{**)}	4,20 a ^{**)}	6,10 a ^{**)}	1,90 a ^{**)}	20,36 a ^{**)}	31,30 a ^{**)}	10,94 ab ^{**)}	68,50 a ^{**)}	82,00 a ^{**)}	13,50 b ^{**)}
SE-Chi	2,50 b	2,90 b	0,40 a	4,90 a	6,60 a	1,70 a	22,30 a	33,07 a	10,77 ab	85,35 a	100,20 a	15,11 ab
SE-Mtg	3,00 a	3,00 ab	0,00 b	4,80 a	6,30 a	1,50 a	20,94 a	31,15 a	10,21 ab	76,40 a	97,40 a	21,00 a
SE-Edf	2,90 a	3,00 ab	0,10 ab	4,10 a	6,10 a	2,00 a	19,99 a	32,76 a	12,77 a	77,90 a	86,80 a	8,90 b
SE-Kom	2,90 a	3,10 ab	0,20 ab	5,30 a	7,20 a	1,90 a	22,04 a	31,63 a	9,59 b	81,80 a	91,70 a	9,90 b
<i>Bibit dengan kategori serangan bercak daun ringan</i> <i>Seedlings with mild levels of leaf spot</i>												
RI-K	2,90 a	2,90 a	0,00 b	6,10 ab	8,00 a	1,90 a	24,02 a	33,62 a	9,60 a	80,90 a	96,30 a	15,40 ab
RI -Chi	2,90 a	2,90 a	0,00 b	5,30 ab	7,30 ab	2,00 a	21,26 a	31,88 a	10,62 a	81,90 a	90,70 a	8,80 b
RI-Mtg	2,80 a	3,10 a	0,30 ab	6,50 a	8,10 a	1,60 a	22,01 a	33,93 a	11,92 a	80,60 a	98,70 a	18,10 ab
RI -Edf	2,60 a	3,10 a	0,50 a	4,70 b	6,30 b	1,60 a	21,70 a	32,93 a	11,23 a	76,20 a	87,70 a	11,50 b
RI -Kom	2,50 a	3,10 a	0,60 a	5,40 ab	7,50 ab	2,10 a	21,28 a	32,54 a	11,26 a	72,50 a	93,80 a	21,30 a
<i>Bibit sehat/ tanpa serangan bercak daun</i> <i>Healthy seedlings / without leaf spot</i>												
SH-K	3,40 a	3,40 ab	0,00 b	5,30 b	6,50 c	1,20 a	20,27 a	30,85 a	10,58 a	76,70 a	88,90 ab	12,20 a
SH -Chi	2,60 b	3,00 b	0,40 a	6,20 a	7,90 a	1,70 a	21,25 a	30,82 a	9,57 a	84,40 a	99,90 a	15,50 a
SH -Mtg	3,20 a	3,20 ab	0,00 b	5,60 ab	7,00 bc	1,40 a	20,21 a	30,69 a	10,48 a	73,40 a	84,00 b	10,60 a
SH -Edf	3,60 a	3,60 a	0,00 b	5,60 ab	7,20 abc	1,60 a	20,43 a	30,36 a	9,93 a	73,50 a	86,40 b	12,90 a
SH-Kom	2,70 b	3,30 ab	0,60 a	5,90 ab	7,40 ab	1,50 a	21,95 a	32,37 a	10,42 a	73,30 a	89,90 ab	16,60 a

^{*)} BE = kategori serangan berat; SE = kategori serangan sedang; RI = kategori serangan ringan; SH = tanaman sehat; K= kontrol; Chi=kitosan; Mtg = miktagon; Edf = endofit; Kom = kombinasi.

^{*)} BE = severe category; SE = moderate category; RI = mild category; SH = healthy category; K = control; Chi = chitosan; Mtg = miktagon; Edf: endophyte; Kom = combination.

^{**)} Angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada uji selang berganda Duncan dengan $\alpha=5\%$

^{**)} Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at $\alpha = 0.05$.



Gambar 5. Perkembangan tinggi bibit kelapa kopyor kategori serangan bercak daun sedang dengan berbagai perlakuan
 Figure 5. The development of kopyor seedling height moderate leaf spot attack category with certain treatments

Kesimpulan

Masing-masing kategori keparahan penyakit memberikan respons yang berbeda terhadap perlakuan yang diuji. Pada bibit dengan kategori keparahan penyakit berat, perlakuan bakteri endofit lebih efektif dalam menghambat perkembangan bercak daun dibandingkan dengan perlakuan lainnya ditunjukkan dengan nilai AUDPC terkecil sebesar 131,95 unit. Pada kategori keparahan sedang, perlakuan kombinasi lebih efektif dalam menekan perkembangan bercak daun ditunjukkan dengan nilai AUDPC yang relatif rendah serta laju infeksi terkecil yakni sebesar 0,03 unit per minggu dan delta perkembangan penyakit terkecil sebesar 12,10%. Pada bibit kopyor dengan kategori keparahan ringan dan sehat, tidak terdapat perbedaan untuk parameter laju infeksi dan nilai AUDPC. Sedangkan untuk delta perkembangan penyakit, perlakuan endofit menunjukkan nilai yang terendah dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Daftar Pustaka

Abdel-Monaim MF, MA Abdel-Gaid & SA Zayan (2014). Effectiveness of organic compounds in controlling root rots/wilts diseases, growth and yield parameters of pepper. *International J Agric Sci* 4(4), 143-150.

Agrios GN (2005). *Introduction to plant pathology*. New York: Elsevier Academic Press Publication.

Asril M, NR Mubarak & AR Wahyudi (2014). Partial purification of bacterial chitinase as biological of leaf blight on oil palm. *Res J Microbiol* 9, 265-277.

Beneduzi A, A Ambrosini & LM Passaglia (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Gen Mol Biol* 35(4), 1044-51.

Brzezinska MS, U Jankiewicz, A Burkowska & M Walczak (2014). Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. *Current Microbiol* 68(1), 71-81.

Cameron DD, AL Neal, SC van Wees & J Ton (2013). Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts?. *Trends in Plant Sci* 18(10), 539-545.

Campbell CL & LV Madden (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York: John Wiley & Sons.

Damayanti TA & S Wiyono (2014). Pemanfaatan kitosan untuk pengendalian bean common mosaic virus (BCMV) Pada Kacang Panjang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 13(2), 110-116.

El Hadrami A., LR Adam, I El Hadrami & F Daayf (2010). Review: Chitosan in Plant Protection. *Mar Drugs* 8, 968-987.

Eris DD, A Munif, BP Soekarno, & A Purwantara (2017). Penapisan dan potensi bakteri endofit asal tanaman *Areaceae* sebagai agens pengendali hayati cendawan *Pestalotiopsis* sp. penyebab penyakit bercak daun pada kelapa kopyor (*Cocos nucifera*). *Menara Perkebunan* 85(1), 19-27.

Goy RC, DD Britto & OB Assis (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros* 19(3), 241-247.

Gunaeni N, W Setiawati & Y Kusandriani (2014). Pengaruh perangkap likat kuning, ekstrak *Tagetes erecta*, dan imidacloprid terhadap perkembangan vektor kutukebul dan virus kuning keriting pada tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.). *J Hort* 24(4), 346-354.

Hallmann J, A Quadt-Hallmann, WG Miller, RA Sikora & SE Lindow (2001). Endophyte colonization of plants by biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathol* 91, 415-422.

- Hamdayanty, R Yunita, NN Amin, & TA Damayanti (2012). Pemanfaatan chitosan untuk mengendalikan antraknosa pada pepaya (*Colletotrichum gloeosporioides*) dan meningkatkan daya simpan buah. *Fitopatol Indo.* 8(4), 97-102.
- Hutabalian M, MI Pinem & S Oemry (2015). Uji antagonisme beberapa jamur saprofit dan endofit dari tanaman pisang terhadap *Fusarium oxysporum f. sp. cubens* di Laboratorium. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara* 3(2), 687-695.
- Khairani HS (2014). Potensi kitosan dan agens antagonis dalam pengendalian penyakit karat (*Phakospora pachyrhizi* Syd.) kedelai. [Skripsi] Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Khairani HS, MS Sinaga, & KH Mutaqin (2017). Mekanisme pengendalian penyakit busuk batang jeruk oleh khamir, kitosan, cendawan mikoriza arbuskular, dan bakteri simbiotiknya. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 13(1), 17.
- Kittimorakul J, C Porn suriya, A SunPapao & V Petcharat (2013). Survey and incidence of leaf blight and leaf spot disease of oil palm seedling in southern Thailand. *Plant Pathology* 12(3), 149-153.
- Mashud N & E Manaroinsong (2018). Teknologi kultur embrio untuk pengembangan kelapa kopyor. *Buletin Palma* (33), 37-44.
- Mashud N & YR Matana (2018). Transplantasi embrio kelapa/ coconut embryo transplantation. *Buletin Palma* 1(31), 19-27.
- Moreira RR, CN Nesi & LLM De Mio (2014). *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors of the *Colletotrichum acutatum* group and potential to control *Glomerella* leaf spot. *Biol Control* 72, 30-37.
- Mulyono (2014). *Membuat MOL dan Kompos dari Sampah Rumah Tangga*. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Parinthawong N, P Tansian & C Youngnit. 2010. Effects of three plant crude extracts on fungal spore germination and hyphal growth of *Curvularia* sp. *Asian Agricultural Symposium and international symposium on agricultural technology*. Faculty of Agricultural Technology. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. Thailand.
- Romanazzi G, E Feliziani, M Santini & L Landi (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest Biol and Technol* 75, 24-27.
- Rybakova D, T Cernava, M Köberl, S Liebminger, M Etemadi & G Berg (2016). Endophytes-assisted biocontrol: novel insights in ecology and the mode of action of *Paenibacillus*. *Plant and soil* 405(1-2), 125-40.
- Santosa B (2016). Status pemuliaan tanaman kelapa dalam penyediaan benih unggul di Indonesia. *Perspektif* 13(2), 99-110.
- Sarwono E, M Nurdin & Prasetyo J (2013). Pengaruh kitosan dan *Trichoderma* SP. terhadap keparahan penyakit antraknosa (*Colletotrichum Capsici* (Syd.) Butl. Et Bisby) Pada Buah Cabai (*Capsicum Annuum* L.). *Jurnal Agrotek Tropika* 1(3), 336-340.
- Semangun H (2007). *Penyakit-penyakit tanaman hortikultura di Indonesia*. Edisi Kedua. Yogyakarta, UGM Press.
- Song J, W Pongnak & K Soyong (2016). Isolation and identification of endophytic fungi from 10 species palm trees. *International J Agric Technol* 12(2), 349-363.
- Souza RD, A Ambrosini & LM Passaglia (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Gen Molecular Biol* 38(4), 401-419.
- Sudarma I (2012). Potensi *Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp. sebagai Mikroba Antagonis Terhadap *Fusarium oxysporum* F.Sp.*Cubense*. *Agrotrop: J Agric Sci* 1(1).
- Sudir S & K Pirngadi (2002). Pengaruh cara pengolahan tanah dan pemupukan terhadap intensitas penyakit dan hasil padi di lahan sawah tadah hujan. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 21(2), 30-35.
- Suptijah P, Jacob AM, & Mursid S (2010). Teknik peranan kitosan dalam peningkatan pertumbuhan tomat (*Lycopersicum Esculentum*) selama fase vegetatif. *Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan* 4(1), 9-11.
- Wahyuni S, Siswanto & A Damayanti (2016). Optimasi pembuatan membran chitosam dalam penurunan COD dan BOD POME (*Palm Oil Mill Effluent*). *Menara Perkebunan* 84(1), 21-27.
- Wiyono S (2014). Potensi cendawan asal tanah perakaran bambu sebagai endofit dan agen biokontrol penyakit akar gada pada tanaman brokoli. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 13(1), 61-68.
- Ye YF, QQ Li, FU Gang, GQ Yuan, JH Miao & LIN Wei (2012). Identification of antifungal substance (Iturin A2) produced by *Bacillus subtilis* B47 and its effect on southern corn leaf blight. *J Integrative Agric* 11(1), 90-99.

