

## Potensi ekstrak kasar metabolit sekunder yang dihasilkan *Trichoderma asperellum* dan *Pseudomonas fluorescens* untuk pengendalian antraknosa pada buah kakao

*Potency of secondary metabolite crude extracts produced by Trichoderma asperellum and Pseudomonas fluorescens for anthracnose control in cocoa pod*

Christina Oktora MATONDANG<sup>1)</sup>, MUKLASIN<sup>1)</sup> & Loekas SOESANTO<sup>2\*)</sup>

<sup>1)</sup> Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan, Jl. Asrama 124 Helvetia, Sei Sikambang B, Medan 20124, Indonesia

<sup>2)</sup> Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. dr. Suparno, Purwokerto 53123, Indonesia

Diterima tgl 14 Jan 2023 / Perbaikan tgl 11 Apr 22 / Disetujui tgl 14 Apr 2023

### Abstract

*Cocoa pod anthracnose is an important disease of cocoa and can reduce yields. Many attempts have been made to control anthracnose rot disease on cocoa pods but have not been successful yet. This study aimed to examine the potency of secondary metabolite crude extracts produced by Trichoderma asperellum and Pseudomonas fluorescens solely or in combination in controlling anthracnose rot disease of cocoa pods in the field at Silo Bonto Village, Asahan Regency, North Sumatera Province. The secondary metabolite crude extracts was prepared by the form of conidia or T. asperellum and P. fluorescens cells. A randomized block design was used to assessed four treatments i.e. T. asperellum + P. fluorescens, T. asperellum, P. fluorescens secondary metabolite crude extracts and control, which was repeated six times. The observation parameters were the percentage of healthy and diseased pods (anthracnose fruit rot). The results showed that the secondary metabolite crude extracts of T. asperellum, P. fluorescens, and T. asperellum + P. fluorescens reduced the number of diseased fruits by 94.71, 89.09, and 92.09% compared to the control respectively. The increasing of healthy fruits number in the application of secondary metabolite crude extracts of T. asperellum, P. fluorescens, and T. asperellum + P. fluorescens was 52.68, 54.20, and 54.18%, respectively.*

[Keywords: anthracnose pod rot, antagonistic microbes, bioactive compound, field tests]

### Abstrak

Penyakit antraknosa buah kakao merupakan salah satu penyakit penting tanaman kakao dan dapat menurunkan hasil. Pengendalian penyakit busuk antraknosa pada buah kakao telah banyak dilakukan tetapi belum berhasil dengan baik. Penelitian ini bertujuan mengkaji potensi ekstrak kasar metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Trichoderma asperellum* dan *Pseudomonas fluorescens* tunggal atau gabungan dalam mengendalikan penyakit busuk antraknosa buah kakao di kebun kakao rakyat di Desa Silo Bonto, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara. Ekstrak kasar metabolit sekunder yang diaplikasikan adalah dalam bentuk konidium atau sel *T. asperellum* dan *P. fluorescens*. Rancangan acak kelompok digunakan untuk menguji empat perlakuan yaitu ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* + *P. fluorescens*, *T. asperellum*, *P. fluorescens*, dan kontrol, yang diulang enam kali. Parameter pengamatan adalah persentase buah sehat dan sakit (busuk buah antraknosa). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum*, *P. fluorescens*, dan *T. asperellum* + *P. fluorescens* menurunkan jumlah buah sakit masing-masing sebesar 94,71; 89,09; dan 92,09% dibandingkan kontrol. Peningkatan jumlah buah sehat pada aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum*, *P. fluorescens*, dan *T. asperellum* + *P. fluorescens* masing-masing sebesar 52,68; 54,20; dan 54,18%.

[Kata kunci: busuk buah antraknosa, mikroba antagonis, senyawa bioaktif, uji lapangan]

\*) Korespondensi penulis: lukassusanto26@gmail.com

0125-9318/ 1858-3768 ©2023 Authors

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Menara Perkebunan is DOAJ indexed Journal and accredited as Sinta 2 Journal (<https://sinta.kemdikbud.go.id/journals/profile/3125>)

How to Cite: Matondang, C. O., Muklasin, & Soesanto, L. (2023). Potensi ekstrak kasar metabolit sekunder yang dihasilkan

*Trichoderma asperellum* dan *Pseudomonas fluorescens* terhadap pengendalian antraknosa pada buah kakao. *Menara Perkebunan*, 91(1), 87-95.

## Pendahuluan

Kakao merupakan salah satu produk pertanian yang memiliki peranan yang cukup nyata dan dapat diandalkan dalam mewujudkan program pertanian. Lahan kakao seluas 1.492.588 ha (98,9 %) merupakan perkebunan rakyat dan 16.368 ha (1,07 %) dikembangkan perusahaan swasta dan nasional (Badan Pusat Statistik, 2020). Hal ini berarti bahwa komoditas kakao tidak hanya sebagai penyumbang ekspor, tetapi juga sebagai sumber mata pencaharian utama petani serta sumber bahan baku industri. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2020), produksi kakao Indonesia pada 2018 tercatat 767.280 ton, sedangkan produksi kakao di tahun 2020 menjadi sebesar 720.660 ton atau terjadi penurunan sebesar 6,076%.

Penurunan luas lahan akan berimbas kepada penurunan produksi kakao, karena sebagian besar tanaman kakao rakyat sudah berumur tua, kurang terpelihara, dan terserang hama dan penyakit, sehingga tingkat produktivitas semakin menurun. Hal ini dikarenakan petani kurang mampu mengelola usahatani kakao dan terbatasnya ekonomi serta penyuluh perkebunan kakao di Indonesia. Salah satu penyakit penting pada tanaman kakao adalah penyakit antraknosa, yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum gloeosporioides* (Mohanan et al., 2008). Penyakit antraknosa merupakan penyakit yang membahayakan kebun kakao petani. Apabila menyerang bagian buah pentil akan menyebabkan buah mengering dan akhirnya gugur (Guest, 2007). Serangan pada daun dapat menyebabkan daun menjadi rontok dan akhirnya ranting terlihat gundul. Lebih dari 38% buah muda yang berukuran 15 cm mengalami busuk akibat serangan *C. gloeosporioides* (Asare et al., 2021).

Pengendalian penyakit antraknosa buah kakao umumnya dilakukan dengan aplikasi fungisida kimia sintetis. Akan tetapi, aplikasi fungisida yang terus menerus dapat menyebabkan dampak negatif tidak saja terhadap lingkungan, tetapi juga terhadap kesehatan manusia, terutama petani atau pengaplikasi fungisida (Keswani et al., 2019). Oleh karenanya, diperlukan alternatif pengendalian penyakit antraknosa buah kakao yang aman dan ramah lingkungan, salah satunya dengan pengendalian hayati.

Agensia pengendali hayati yang sering dikaji adalah *Trichoderma* spp. dan *Pseudomonas fluorescens*. *Trichoderma* spp. telah terbukti dapat mengatasi beragam penyakit tanaman (Munir et al., 2013; Kumar et al., 2017; Ghazanfar et al., 2018). Sementara itu, *P. fluorescens* juga digunakan dan mampu mengendalikan secara hayati berbagai penyakit tanaman (Sivasakthi et al., 2014). Mikroba antagonis (Rashid et al., 2016) dan zat kimia (Muturi

et al., 2017), akan mengalami penurunan secara langsung oleh sinar matahari saat diaplikasikan di lapangan sehingga membatasi kemampuannya. Salah satu strategi untuk menghindari degradasi agensia hayati perlu dikembangkan penggunaan ekstrak kasar metabolit sekunder yang dihasilkannya (Mutawila et al., 2015). Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder dari mikroba antagonis lebih menguntungkan daripada bentuk sel atau spora (Buddhika & Abeysinghe, 2021; Verma, et al., 2020).

*Trichoderma* spp. menghasilkan metabolit sekunder yang terdiri atas beragam senyawa bioaktif (Mukherjee et al., 2012b; Vinale et al., 2014). *P. fluorescens* menghasilkan metabolit sekunder yang mengandung antibiotika dan bersifat PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacter*), yang menghambat pertumbuhan patogen dan merangsang pertumbuhan tanaman (Sahu et al., 2018; Alsohim, 2020). Penggunaan bakteri ini dilaporkan telah memberikan hasil positif pada pertumbuhan dan produksi pada tanaman pertanian (Jain & Das, 2016). Akan tetapi, ekstrak kasar metabolit sekunder kedua mikroba antagonis tersebut baik tunggal ataupun gabungan belum pernah diuji untuk mengendalikan penyakit antraknosa buah kakao. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji potensi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* tunggal atau gabungan dalam mengendalikan penyakit busuk buah antraknosa pada tanaman kakao.

## Bahan dan Metode

### Persiapan isolat antagonis

Dua mikroba antagonis yang digunakan, yaitu *T. asperellum* dan *P. fluorescens*, merupakan koleksi Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan, Medan. *T. asperellum* ditumbuhkan kembali pada medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari (Yun et al., 2017), sedangkan *P. fluorescens* pada medium King's B dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari (Lamichhane & Varvaro, 2013). Khusus *T. asperellum*, antagonis tersebut kemudian diperbanyak pada jagung pecah dengan cara jagung pecah dicuci bersih terlebih dahulu sampai bersih, kemudian dimasukkan ke dalam plastik sebanyak 50 g, disterilkan dengan autoklav pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 30 menit, dan didinginkan. *T. asperellum* sebanyak 3 plug bor gabus (diameter 6 mm) diinokulasikan ke jagung pecah steril dingin dalam plastik menggunakan spatula steril, kemudian mulut plastik ditutup dengan staples dan diinkubasi selama 6-7 hari pada suhu kamar (Soesanto et al., 2014).

### Penyiapan ekstrak kasar metabolit sekunder

Dua bungkus plastik jagung pecah (@ 50 g) yang telah ditumbuhi *T. asperellum* dilarutkan dalam 1 L air steril. Selanjutnya diaduk hingga spora lepas dari jagung dan disaring. Air hasil saringan siap untuk digunakan. Medium yang digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder adalah campuran air cucian beras dan air kelapa (4:1, v/v) dan gula sebanyak 10 g L<sup>-1</sup> kemudian dimasak sampai mendidih, disaring, dan dimasukkan ke dalam jeriken steril dan didinginkan. Setelah medium tersebut dingin, larutan konidium sebanyak 100 mL L<sup>-1</sup> ditambahkan (Soesanto et al., 2021). Selanjutnya jeriken ditutup rapat dan diinkubasi dengan cara digoyang secara manual sampai homogen selama 14 hari (Hudson et al., 2021). Setelah diinkubasi, kepadatan konidia dihitung menggunakan haemositometer untuk menentukan tingkat pengenceran, dan diperoleh kepadatan konidia 10<sup>6</sup> konidia mL<sup>-1</sup>. Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 1 untuk memisahkan propagul jamur dari supernatnya (Rauf et al., 2018). Selanjutnya larutan konidia disentrifus dengan kecepatan 9.000 rpm selama 2 menit untuk memisahkan konidia dari larutan ekstrak kasar metabolit sekunder (Shehata et al., 2019). Ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* siap untuk diaplikasikan.

Tahapan pembuatan ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens* adalah sebagai berikut; keong dikumpulkan, kemudian dipecah cangkangnya dan diambil dagingnya. Daging dibersihkan dan ditimbang sebanyak 400 g L<sup>-1</sup> air ditambah terasi 2 g L<sup>-1</sup> dan direbus sampai lunak (Soesanto et al., 2014). Selanjutnya, kaldu disaring, dimasukkan ke dalam jeriken steril dan didinginkan. Kemudian *P. fluorescens*, yang dipanen dari King's B dengan menambahkan air steril 10 mL, dimasukkan ke dalam medium kaldu tersebut, di-shaker selama 3 hari pada kecepatan 150 rpm (Soesanto et al., 2014). Setelah inkubasi tersebut, kepadatan spora dihitung menggunakan pengenceran bertingkat, menggunakan media Nutrient Agar (NA) dan didapatkan kepadatan 10<sup>9</sup> upk mL<sup>-1</sup>. Supernatan disiapkan dengan mensentrifuse suspensi antagonis pada 5.000 rpm selama 30 menit (Decoin et al., 2014). Supernatan yang diperoleh siap untuk digunakan.

### Penyiapan tanaman kakao

Pengujian dilakukan di kebun kakao rakyat di Desa Silo Bonto, Kecamatan Silo Bonto, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara pada Februari sampai Desember 2019. Varietas tanaman kakao yang digunakan adalah klon BCL, yang berumur 4-5 tahun, dengan jarak tanam 2,5 m x 3 m, dan terserang busuk buah antraknosa. Kondisi pohon penangunya adalah pohon kelapa. Tanaman kakao

sampel dipilih secara acak yang menunjukkan gejala busuk buah antraknosa pada buah kakao muda sampai dewasa, kemudian diberi label, sesuai perlakuan. Jumlah buah kakao per tanaman kakao sebelum perlakuan antara 19-20 buah.

### Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder

Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder kedua mikroba antagonis baik secara tunggal maupun gabungan dilakukan terhadap bunga, yaitu dengan dikabutkan ke bunga kakao sampai disemprot pada buah pentil. Pengabutan dilakukan menggunakan *knapsack sprayer*, dengan lubang nozel paling kecil dan penyemprotan dilakukan interval 1 kali setiap 1 minggu selama 5 kali. Konsentrasi yang digunakan untuk ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* berdasarkan kepadatan konidia 10<sup>6</sup> konidia mL<sup>-1</sup> dan ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens* berdasarkan kepadatan spora 10<sup>9</sup> upk mL<sup>-1</sup>.

### Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* + metabolit sekunder *P. fluorescens* (P1), metabolit sekunder *T. asperellum* (P2), metabolit sekunder ekstrak kasar *P. fluorescens* (P3), dan kontrol (P4). Jumlah ulangan sebanyak enam ulangan; masing-masing ulangan terdiri atas tiga pohon sampel, sehingga total tanaman adalah 72.

### Variabel pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah buah kakao sakit (bergejala) dan sehat saat di pohon dan setelah panen, dilakukan 2 minggu sekali, sebanyak 8 atau 10 kali pengamatan. Pengamatan dilakukan mulai dari bunga, buah pentil, dan dewasa sampai menjadi buah matang (siap panen). Persentase buah kakao sakit dan buah kakao sehat dihitung dengan rumus (1-4).

### Analisis data

Data dianalisis dengan analisis varian pada taraf kesalahan 5%. Apabila berbeda nyata antar-perlakuan, dilanjutkan dengan BNJ taraf 5%.

## Hasil dan Pembahasan

*Pengaruh ekstrak kasar metabolit sekunder T. asperellum dan P. fluorescens terhadap jumlah buah kakao sakit (bergejala antraknosa)*

Hasil penghitungan persentase buah sakit sebelum dan setelah perlakuan pada tiap perlakuan disajikan dalam Tabel 1. Tabel ini juga menyajikan data persentase penurunan jumlah buah kakao sakit akibat aplikasi perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder agensia hayati.

$$\text{persentase buah sakit (\%)} = \frac{\text{jumlah buah sakit}}{\text{jumlah buah total}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{persentase buah sehat (\%)} = 100\% - \text{persentase buah sakit (\%)} \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{peningkatan persentase buah sakit (\%)} = \frac{\text{persentase sebelum perlakuan} - \text{persentase setelah perlakuan}}{\text{persentase sebelum perlakuan}} \times 100\% \dots\dots(3)$$

$$\text{peningkatan persentase buah sehat (\%)} = \frac{\text{persentase sebelum perlakuan} - \text{persentase setelah perlakuan}}{\text{persentase sebelum perlakuan}} \times 100\% \dots\dots(4)$$

Tabel 1. Pengaruh aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder terhadap persentase buah sakit pada tanaman kakao  
 Table 1. Effect of secondary metabolite crude extracts application on percentage of diseased pods on cocoa

Perlakuan <i>Treatment</i>	Persentase buah sakit (%) <i>Percentage of diseased pods (%)</i>		Penurunan buah sakit (%) <i>Decreasing diseased pods (%)</i>
	Sebelum perlakuan <i>Before treatment</i>	Setelah perlakuan <i>After treatment</i>	
MS Ta+ Pf	10,33 <sup>a*)</sup>	0,82 <sup>a</sup>	92,09
MS Ta	8,18 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	94,71
MS Pf	9,17 <sup>a</sup>	1,00 <sup>a</sup>	89,09
Kontrol	8,55 <sup>a</sup>	14,70 <sup>b</sup>	- 71,93

<sup>a)</sup> Angka yang diikuti huruf sama pada kolom sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut BNJ taraf 5%

<sup>b)</sup> Number followed by the same letter in the same column are not significantly different according to BNJ at the 5% level

Tabel 1 menunjukkan jumlah buah sakit sebelum perlakuan pada masing-masing jenis perlakuan pada tanaman kakao tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa serangan patogen antraknosa merata di kebun kakao. Tanaman sampel yang digunakan mempunyai masalah penyakit antraknosa buah kakao yang sama atau homogen. Kondisi jumlah buah kakao sakit awal yang homogen berperan penting dalam menentukan keberhasilan penelitian yang dilakukan. Hal ini sesuai pendapat Huebner et al. (2016) bahwa data awal yang homogen secara statistika memegang peran penting bagi keberhasilan penelitian.

Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder mikroba antagonis baik tunggal maupun gabungan menunjukkan berbeda nyata jika dibandingkan kontrol (Tabel 1). Perbedaan tersebut bukan disebabkan oleh heterogennya ulangan atau blok, tetapi disebabkan oleh perlakuan yang diberikan. Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* baik tunggal maupun gabungan berpotensi menurunkan jumlah buah kakao sakit atau menurunkan serangan patogen antraknosa buah kakao antara 89,09-94,71 % (Tabel 1). Jumlah buah kakao sakit terlihat lebih sedikit pada tanaman kakao yang telah diberi perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* dibandingkan jumlah

buah kakao sakit pada tanaman kakao kontrol atau pada tanaman kakao yang tidak diaplikasikan.

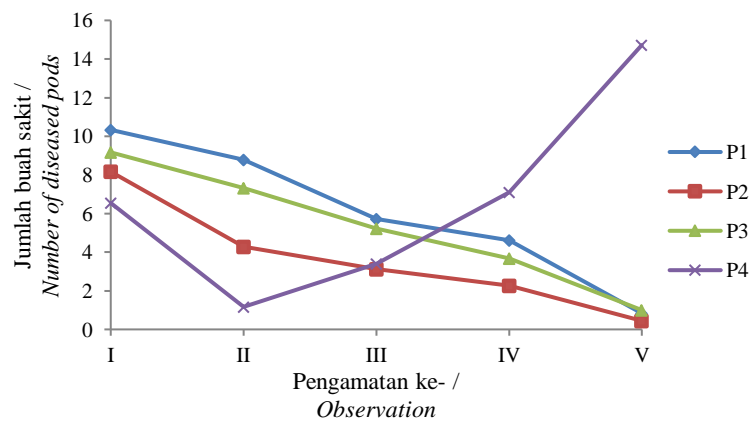
Hal ini menunjukkan bahwa *T. asperellum* dan *P. fluorescens* berpotensi mengatasi penyakit antraknosa buah kakao. Penetrasi hifa patogen melalui pembentukan apresorium, produksi enzim pendegradasi dinding sel, dan parasitisasi isi dinding sel patogen (Mukherjee et al., 2012a). Degradasi dinding sel patogen selama mikoparasitisme dimediasi oleh sekumpulan enzim hidrolisis termasuk  $\beta$ -(1,6)-glukanase, kitinase, dan protease (Adnan et al., 2019). *Trichoderma* sp. menghasilkan metabolit sekunder terdiri atas enzim selulolisis, xilanolisis, kitinolisis dan beta-1,3-glukanolisis (Kredics et al., 2005), selain menghasilkan peptida non-ribosomal seperti peptaibiotik, siderofor dan gliotoxin, dan gliovirin seperti diketopiperazine, poliketida, terpen, piron, dan metabolit isosian (Zeilinger et al., 2016), serta beberapa enzim lisis (Vinale et al., 2014). Kemampuan menghasilkan sejumlah besar metabolit sekunder tersebut membuat *Trichoderma* spp. berhasil sebagai agensia biokontrol. Mikoparasit *Trichoderma* spp. sebagai antagonis dan membunuh jamur patogen dengan aksi gabungan dari senyawa bioaktif dan enzim hidrolisis yang melisiskan dinding sel jamur patogen (Druzhinina et al., 2011). Aplikasi metabolit

sekunder *P. fluorescens* dan *T. asperellum* yang digabung dengan pupuk organik sebagai perlakuan terbaik untuk meningkatkan pertumbuhan kakao dan peningkatan jumlah tunas sebanyak 43,58 tunas (Simamora et al., 2021).

Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* mampu menurunkan jumlah buah sakit sebesar 92,09% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder gabungan *T. asperellum* dan *P. fluorescens*; 94,71% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan 89,09% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens*. Hal ini diduga karena ekstrak kasar metabolit sekunder tersebut mampu meningkatkan senyawa fenol pada tanaman, sehingga dapat mengimbas ketahanan kakao terhadap penyakit antraknose. Hal ini didukung oleh pernyataan Soesanto et al. (2020) bahwa perlindungan akibat aplikasi metabolit sekunder adalah dari dalam jaringan tanaman, yang berfungsi dalam ketahanan tanaman terhadap serangan patogen tanaman. Oleh karenanya, aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder dilakukan melalui

bunga, sehingga dapat masuk ke dalam jaringan buah kakao (Fang et al., 2018).

Gambar 1 menunjukkan perkembangan jumlah buah kakao sakit semakin menurun pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens*. Sementara itu, pada tanaman kontrol (tanpa perlakuan), jumlah buah kakao sakit menunjukkan semakin meningkat atau bertambah banyak. Semua perlakuan menunjukkan penurunan jumlah buah kakao sakit pada pengamatan kedua, termasuk pada tanaman kontrol. Penurunan jumlah buah kakao sakit berlanjut akibat aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens*, tetapi pada pengamatan III jumlah buah sakit pada tanaman kontrol makin meningkat hingga pengamatan terakhir. Penurunan jumlah buah kakao sakit pada tanaman kontrol di pengamatan II tersebut disebabkan oleh aplikasi pengendalian lainnya pada saat penelitian dilakukan, termasuk sanitasi dengan memusnahkan buah kakao sakit serta sisa-sisa daun dan ranting tanaman kakao sakit (Ndoumbe-Nkeng et al., 2004).



Gambar 1. Perkembangan jumlah buah kakao sakit pada masing-masing perlakuan. Keterangan: P1 = ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* + *P. fluorescens*, P2 = ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum*, P3 = ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens*, dan P4 = kontrol

Figure 1. The development of the number of healthy cocoa pods in each treatment. Note: P1 = secondary metabolite crude extracts of *T. asperellum* + *P. fluorescens*, P2 = secondary metabolite crude extracts of *T. asperellum*, P3 = secondary metabolite crude extracts of *P. fluorescens*, and P4 = control

Tabel 2. Pengaruh ekstrak kasar metabolit sekunder terhadap persentase buah sehat pada tanaman kakao

Table 2. Effect of secondary metabolite crude extracts on the percentage of healthy pods in cocoa plants

Perlakuan Treatment	Persentase buah sehat (%) Percentage of healthy pods (%)		Peningkatan buah sehat (%) Increasing healthy pods (%)
	Sebelum perlakuan Before treatment	Setelah perlakuan After treatment	
	MS Ta+ Pf	10,88 <sup>a*)</sup>	
MS Ta	10,88 <sup>a</sup>	23,00 <sup>a</sup>	52,68
MS Pf	10,72 <sup>a</sup>	23,40 <sup>a</sup>	54,20
Kontrol	10,62 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup>	-34,39

<sup>\*)</sup> Angka yang diikuti huruf sama pada kolom sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut BNJ taraf 5%

<sup>\*)</sup> Number followed by the same letter in the same column are not significantly different according to BNJ at the 5% level

Pada pengamatan III, jumlah buah kakao sakit pada tanaman kontrol mulai meningkat, (Gambar 2). Hal ini diduga karena kelembapan di bawah tajuk tanaman kakao lebih tinggi dan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan jamur patogen antraknosa. Selain itu, kondisi kebun yang kurang perawatan misalnya pemangkasan rutin, menyebabkan sinar matahari tidak dapat mencapai di bawah tajuk (Govindaraj & Jancirani, 2017; Lahive et al., 2019). Kondisi ini menyebabkan kelembapan lebih tinggi dan berpengaruh terhadap perkembangan penyakit antraknosa pada tanaman kakao kontrol, mengingat serangan jamur patogen antraknosa terjadi sejak bunga sampai terbentuk buah kakao kecil, yang terletak di permukaan batang di bawah tajuk tanaman kakao (Gautam, 2014).

Di lain pihak, penurunan jumlah buah kakao sakit pada tanaman kakao yang diaplikasikan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* diduga karena peran penting metabolit sekunder dalam ekstrak kasar tersebut. Seperti diketahui bahwa metabolit sekunder *T. asperellum* mengandung beragam senyawa bioaktif (Zeilinger et al., 2016) dan demikian pula ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens* (Sahu et al., 2018). Senyawa bioaktif tersebut dapat berfungsi sebagai antijamur, antivirus, PGPR, dan pengimbas ketahanan sistemik, sehingga keberadaan jamur patogen antraknosa terhambat dan gejala yang ditimbulkan juga terhambat. Akibatnya, keberadaan buah kakao sakit menjadi menurun.

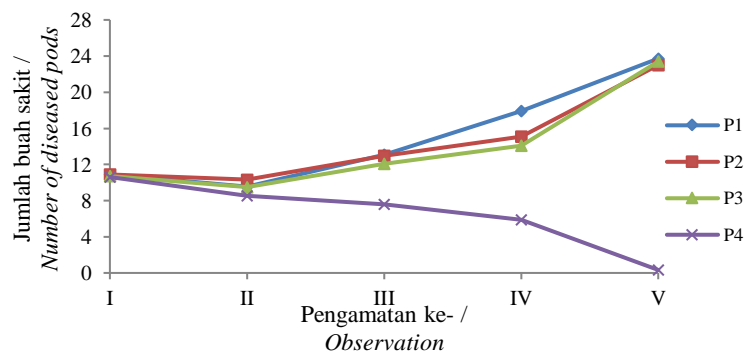
*Pengaruh ekstrak kasar metabolit sekunder T. asperellum dan P. fluorescens terhadap jumlah buah sehat*

Parameter yang diamati pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* terhadap penyakit antraknosa adalah

juga jumlah buah sehat. Hasil analisis ragam parameter jumlah buah sehat disajikan pada Tabel 2.

Aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder mikroba antagonis berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan jamur penyebab antraknosa pada buah kakao sampai di atas 50 %. Ekstrak kasar metabolit sekunder mikroba antagonis mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antijamur, PGPR, dan pengimbas ketahanan tanaman (Zeilinger et al., 2016; Sahu et al., 2018).

Gambar 2 menunjukkan jumlah buah sehat semakin bertambah pada perlakuan aplikasi ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* dibandingkan dengan kontrol, yang terus menurun jumlah buah kakao sehatnya. Peningkatan jumlah buah kakao sehat ini selaras dengan penurunan jumlah buah kakao sakit (Tabel 1, Gambar 1). Hal ini dikarenakan kandungan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* yang beragam senyawa bioaktif dan berperan di dalam mengatasi pertumbuhan dan perkembangan jamur antraknos. Senyawa bioaktif bekerja dari dalam jaringan tanaman kakao, sehingga dapat menjangkau keberadaan jamur patogen antraknosa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Santra & Banerjee (2020), bahwa sejumlah besar senyawa bioaktif mulai senyawa antimikroba dengan berat molekul rendah yang dikenal sebagai fitoaleksin hingga metabolit sekunder yang mudah menguap dan tidak mudah menguap (anggota jamur dan aktinobakteri) berada di dalam jaringan inang. Produk metabolisme mikroba antagonis juga dapat mengobati dan seringkali menyembuhkan infeksi semacam itu. Selain beberapa enzim juga dihasilkan oleh APH ini yang terkandung di dalam metabolit sekunder eks-



Gambar 2. Perkembangan jumlah buah kakao sehat pada masing-masing perlakuan. Keterangan: P1 = ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* + *P. fluorescens*, P2 = ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum*, P3 = ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens*, dan P4 = kontrol

Figure 2. The development of the number of healthy cocoa pods in each treatment. Note: P1 = secondary metabolite crude extracts of *T. asperellum* + *P. fluorescens*, P2 = secondary metabolite crude extracts of *T. asperellum*, P3 = secondary metabolite crude extracts of *P. fluorescens*, and P4 = control

trak kasarnya, dan peran enzim sebagai mekanisme antagonis, yaitu mikoparasit atau hiperparasit. Enzim yang terdapat di dalam metabolit sekunder *Trichoderma* spp., di antaranya protease, selulase, selubiasase, khitinase, dan 1,3- $\beta$ -glukanase (Vinale et al., 2014). Metabolit sekunder *P. fluorescens* mampu merangsang tanaman untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder yang berperan menghambat perkembangan jamur patogen dan dapat merangsang ketahanan tanaman (Jain & Das, 2016; Sahu et al., 2018).

Aplikasi gabungan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens* menunjukkan tidak berbeda nyata dibandingkan perlakuan tunggal ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* atau *P. fluorescens* meskipun terdapat peningkatan (Tabel 2). Kondisi ini diduga disebabkan oleh jumlah atau kuantitas senyawa bioaktif di dalam ekstrak kasar metabolit sekunder gabungan yang tidak banyak atau disebabkan sinergisme atau adanya efek saling menetralkan antar-senyawa bioaktif yang ada di dalam ekstrak kasar metabolit sekunder gabungan. Sesuai dengan pendapat Boik et al. (2009) bahwa adanya interaksi antar-senyawa bioaktif karena gabungan beberapa senyawa tersebut yakni bersifat sinergi, aditif, atau antagonis.

### Kesimpulan

Ekstrak kasar metabolit sekunder *Trichoderma asperellum*+*Pseudomonas fluorescens* berpengaruh nyata dalam peningkatan jumlah buah sehat dan penurunan buah sakit (terserang antraknose) pada tanaman kakao. Peningkatan jumlah buah sehat dan penurunan jumlah buah sakit masing-masing sebesar 54,18 dan 92,09% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan *P. fluorescens*; diikuti 52,68 dan 94,71% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *T. asperellum* dan 54,20 dan 89,09% pada perlakuan ekstrak kasar metabolit sekunder *P. fluorescens*.

### Daftar Pustaka

- Adnan, M., Islam, W., Shabbir, A., Khan, K. A., Ghramh, H. A., Huang, Z., Chen, H. Y. H., & Lu, G. D. (2019). Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis* 129, 7–18. 10.1016/j.micpath.2019.01.042
- Alsohim, A. S. (2020). Influence of *Pseudomonas fluorescens* mutants produced by transposon mutagenesis on *in vitro* and *in vivo* biocontrol and plant growth promotion. *Egyptian Journal Biological Pest Control* 30(19). 10.1186/s41938-020-00220-5
- Asare, E. K., Avicor, S. W., Pobee, P., Bukari, Y., & Amoako-Attah, I. (2021). *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. causes an outbreak of anthracnose of cacao in Ghana. *South African Journal of Plant and Soil* 38(2), 107–115. 10.1080/02571862.2020.1863485
- Badan Pusat Statistik (2020). *Statistika Kakao Indonesia*. Badan Pusat Statistik, Jakarta. 82 hlm.
- Bock, C. H., Chiang, K. S., & Ponte, E. M. D. (2022). Plant disease severity estimated visually: a century of research, best practices, and opportunities for improving methods and practices to maximize accuracy. *Tropical Plant Pathology* 47, 25–42. 10.1007/s40858-021-00439-z
- Boik, J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Seymour, E. M., & Spelman, K. (2009). Interactions of bioactive plant metabolites: Synergism, antagonism, and additivity. In: Recent Advances in Plant Biotechnology. Springer, Boston, MA. 10.1007/978-1-4419-0194-1\_10.
- Buddhika, U. V. A., & Abeysinghe, S. (2021). Secondary Metabolites from Microbes for Plant Disease Management. In: K. P. Singh, S. Jahagirdar, B. K. Sarma (Eds.), *Emerging Trends in Plant Pathology*. Springer, Singapore. 10.1007/978-981-15-6275-4\_15.
- Decoin, V., Barbey, C., Bergeau, D., Latour, X., Feuilloley, M. G. J., Orange, N., Merieau, A. (2014). A Type VI secretion system is involved in *Pseudomonas fluorescens* bacterial competition. *PLoS ONE* 9(2): e89411. 10.1371/journal.pone.0089411
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., Mukherjee, P. K., Zeilinger, S., Grigoriev, I. V., & Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology* 9, 749–759. 10.1038/nrmicro2637
- Evans, H. C., & Prior, C. (1987). Cocoa pod diseases: Causal agents and control. *Outlook on Agriculture* 16(1), 35–41. 10.1177/003072708701600106
- Fang, F., Oliva, M., Ehi-Eromosele, S., Zaccari, M., Arazi, T., & Oren-Shamir, M. (2018). Successful floral-dipping transformation of post-anthesis lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers. *Plant Journal*. 96(4), 869-879. DOI: 10.1111/tbj.14076

- Gautam, A. K. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, pathogenicity and management in India. *Journal of Plant Physiology & Pathology* 2(2). 10.4172/2329-955X.1000125
- Ghazanfar, M. U., Raza, M., Raza, W., & Qamar, M. I. (2018). *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. *Plant Protection* 02(03), 109–135.
- Govindaraj, K., & Jancirani, P. (2017). Effect of pruning on cocoa (*Theobroma cacao* L) on morphological, flowering and yield and quality of cocoa beans. *International Journal of Agricultural Science and Research (IJASR)* 7(6), 113–118.
- Guest, D. (2007). Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology* 97(12), 1650–1653. 10.1094/PHYTO-97-12-1650
- Hudson, O., Waliullah, S., P, Ji., & Ali, M. d. E. (2021). Molecular characterization of laboratory mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* resistant to prothioconazole, a demethylation inhibitor (DMI) fungicide. *Journal of Fungi*, 7(9), 704. 10.3390/jof7090704
- Huebner, M., Vach, W., & Cessie, S. I. (2016). A systematic approach to initial data analysis is good research practice. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 151(1), 25–27. 10.1016/j.jtcvs.2015.09.085
- Jain, A., & Das, S. (2016). Insight into the interaction between plants and associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *International Journal of Agronomy*. 10.1155/2016/4269010
- Keswani, C., Sing, H. B., Hermosa, R., García-Estrada, C., Caradus, J., He, Y. W., Mezaache-Aichour, S., Glare, T. R., Borriss, R., Vinale, F., & Sansinenea, E. (2019). Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important fungi as next biocontrol agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, 9287–9303. 10.1007/s00253-019-10209-2
- Kredics, L., Antal, Z., Szekeres, A., Hatvani, L., Manczinger, L., Vágvölgyi, C., & Nagy, E. (2005). Extracellular proteases of *Trichoderma* species. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 52(2), 169–84. 10.1556/AMicr.52.2005.2.3
- Kumar, G., Maharshi, A., Patel, J., Mukherjee, A., Singh, H. B., & Sarma, B. K. (2017). *Trichoderma*: A potential fungal antagonist to control plant diseases. *SATSA Mukhapatra Annual Technical Issue 21*, 206–218.
- Lahive, F., Hadley, P., & Daymond, A. J. (2019). The physiological responses of cacao to the environment and the implications for climate change resilience. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 39(5). 10.1007/s13593-018-0552-0
- Lamichhane, J. R., & Varvaro, L. (2013). A new medium for the detection of fluorescent pigment production by pseudomonads. *Plant Pathology* 62, 624–632.
- Mohanan, R. C., Kaveriappak, M., & Nambiar, K. N. (2008). Epidemiological studies of *Colletotrichum gloeosporioides* disease of cocoa. *Annals of Applied Biology* 114(1), 15–22. 10.1111/j.1744-7348.1989.tb06783.x
- Mukherjee, P. K., Buensanteai N., Morán-Diez, M. E., Druzhinina, I., & Kenerley, C. M. (2012). Functional analysis of non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs) in *Trichoderma virens* reveals a polyketide synthase (PKS)/NRPS hybrid enzyme involved in the induced systemic resistance response in maize. *Microbiology* 158, 155–165. 10.1099/mic.0.052159-0
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma*—a genomic perspective. *Microbiology* 158, 35–45. 10.1099/mic.0.053629-0
- Munir, S., Jamal, Q., Bano, K., Sherwani, S. K., Bokhari, T. Z., Khan, T. A., Khan, R. A., Jabbar, A., & Anees, M. (2013). Biocontrol ability of *Trichoderma*. *International Journal of Agriculture Crop Sciences* 6(18), 1246–1252.
- Mutawila, C., Vinale, F., Halleen, F., Lorito, M., & Mostert, L. (2015). Isolation, production and in vitro effects of the major secondary metabolite produced by *Trichoderma* species used for the control of grapevine trunk diseases. *Plant Pathology* 65(1), 104–113. 10.1111/ppa.12385
- Muturi, E. J., Donthu, R. K., Fields, C. J., Moise, I. K., & Kim, C. H. (2017). Effect of pesticides on microbial communities in container aquatic habitats. *Scientific Reports*. 7, 44565. 10.1038/srep44565
- Ndoumbe-Nkeng, M., Cilas, C., Nyemb, E., Nyasse, S., Bieysse, D., Flori, A., & Sache, I. (2004). Impact of removing diseased pods on cocoa black pod caused by *Phytophthora megakarya* and on cocoa production in Cameroon. *Crop Protection* 23(5), 415–424. 10.1016/j.cpro.2003.09.010



- Rashid, M. I., Mujawar, L. H., Shahzad, T., Almeelbi, T., Ismail, I. M. I., & Oves, M. (2016). Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. *Microbiol Research* 183, 26–41. 10.1016/j.micres.2015.11.007
- Rauf, S., Ali, Y., Hussain, S., Ullah, F., & Hayat, A. (2018). Design of a novel filter paper based construct for rapid analysis of acetone. *PLOS ONE* 13(7), e0199978. 10.1371/journal.pone.0199978
- Sahu, B., Singh, J., Shankar, G., & Pradhan, A. (2018). *Pseudomonas fluorescens* PGPR bacteria as well as biocontrol agent: A review. *International Journal of Chemical Studies* 6(2), 01–07.
- Santra, H. K., & Banerjee, D. (2020). Natural products as fungicide and their role in crop protection. *Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture*. 131–219. 10.1007/978-981-15-3024-1\_9
- Shehata, M. G., Badr, A. N., El Sohaimy, S. A., Asker, D., & Awad, T. S. (2019). Characterization of antifungal metabolites produced by novel lactic acid bacterium and their potential application as food biopreservatives. *Annals of Agricultural Sciences* 64(1): 71-78. 10.1016/j.aosas.2019.05.002
- Simamora, M., Basyuni, M., & Lisnawati, L. (2021). Potency of secondary metabolites of *Trichoderma asperellum* and *Pseudomonas fluorescens* in the growth of cocoa plants affected by vascular streak dieback. *Biodiversitas* 22(5), 2542–2547. 10.13057/biodiv/d220511
- Sivasakthi, S., Usharani, G., & Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research* 9(16), 1265–1277. 10.5897/AJAR2013.7914
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Rahayuniati, R. F. (2014). Aplikasi formula cair *Pseudomonas fluorescens* P60 untuk menekan penyakit virus cabai merah. *Jurnal Fitopat Indonesia* 9(6), 179–185. 10.14692/jfi.9.6.179
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., Suyanto, A., & Rahayuniati, R. F. (2020). Application of raw secondary metabolites from two isolates of *Trichoderma harzianum* against anthracnose on red chili pepper in the field. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 20(1), 19–27. 10.23960/j.hptt.12019-27
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Manan, A. (2021). The use of alternative liquid media for propagation of pathogenic fungi and their effect on weeds. *Biodiversitas* 22(2), 719–725. 10.13057/biodiv/d220224
- Verma, C., Jandaik, S., Gupta, B. K., Kashyap, N., Suryaprakash, V. S., Kashyap, S., & Kerketta, A. (2020). Microbial metabolites in plant disease management: Review on biological approach. *International Journal of Chemical Studies* 8(4): 2570-2581. 10.22271/chemi.2020.v8.i4ad.10026
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Ruocco, M., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal* 8(Suppl-1, M5), 127–139.
- Yun, H. G., Kim, D. J., Gwak, W. S., Shin, T. Y., & Woo, S. D. (2017). Entomopathogenic fungi as dual control agents against both the pest *Myzus persicae* and phytopathogen *Botrytis cinerea*. *Mycobiology* 45(3), 192–198. 10.5941/MYCO.2017.45.3.192
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews* 30(2), 74-90. 10.1016/j.fbr.2016.05.001