



Potensi *Trichoderma asperellum* TKD dalam Menghambat *Phytophthora* spp. pada Benih Kakao Selama Masa Penyimpanan

The Potential of *Trichoderma asperellum* TKD as Inhibitor of *Phytophthora* spp. on Cocoa Seeds during Storage Period

Kadek Dian Lila Sawitri Kumala¹, Meitini Wahyuni Proborini^{1*}, Febri Eka Wijayanti²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jalan Raya Kampus UNUD Jimbaran, Kuta Selatan, Badung 80361, Bali, Indonesia

²Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar

Jalan Raya Sesetan No.312/Jalan Raya Benoa No.20, Pedungan, Denpasar 80222, Bali, Indonesia

Email: pmeitini@unud.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Quality of cocoa seeds are indispensable for propagation cacao plants. Presence of *Phytophthora* spp. Infection may cause the reduction of cocoa seeds quality which affected the plant growth. The *T. asperellum* TKD has an ability against pathogens *Phytophthora* spp. The aim of the study were to test ability *T. asperellum* TKD against *Phytophthora* spp. *in vitro* and *in vivo*, determine optimum concentration *T. asperellum* TKD spores and test seed viability. *In vitro* treatment was carried out with dual culture, and *in vivo* treatment was carried out on cocoa seeds. Parameters observed are percentage inhibition of dual culture, seed germination, germination rate index and population decline of *Phytophthora* spp. The results showed *T. asperellum* TKD inhibited population *Phytophthora* spp. *in vitro* and *in vivo* ($P \leq 0.05$). *In vitro* inhibition of dual cultures at $58.74 \pm 4.58\%$. Spore concentration of *T. asperellum* TKD up to 10^4 was effective in reducing population of *Phytophthora* spp. Maximum concentration of *T. asperellum* TKD spores inhibit growth *Phytophthora* spp. was $T_{1,70 \times 10^6}$. The mechanism of inhibition *T. asperellum* TKD are competition and interactions between mycoparasites and antibiosis. The application of *T. asperellum* TKD to seeds had a germination rate more than 80% and was followed by a high germination rate index. *T. asperellum* TKD was able to reducing *Phytophthora* spp. population in cocoa seeds *in vitro* and *in vivo*. Cocoa seeds germinate grow optimally until 7th day storage after giving *T. asperellum* TKD spores.

Keywords: Antagonist, Cocoa seeds, *Phytophthora* spp., Storage, *Trichoderma asperellum* TKD

Abstrak

Benih berkualitas sangat diperlukan dalam perbanyak tanaman kakao. Adanya infeksi *Phytophthora* spp. menjadikan kualitas benih kakao menurun yang berdampak pada kemampuan tumbuh tanaman. Cendawan *T. asperellum* TKD dapat menghambat pertumbuhan patogen. Tujuan penelitian ini yaitu menguji kemampuan *T. asperellum* TKD dalam menghambat *Phytophthora* spp. secara *in vitro* dan *in vivo*, menentukan konsentrasi spora *T. asperellum* TKD yang optimum dan uji viabilitas benih. Perlakuan *in vitro* dilakukan dengan kultur ganda, dan perlakuan *in vivo* dilakukan pada benih kakao. Parameter yang diamati meliputi persentase daya hambat dengan kultur ganda, daya kecambah, indeks kecepatan perkecambahan dan penurunan populasi *Phytophthora* spp. Hasil penelitian menunjukkan *T. asperellum* TKD menghambat *Phytophthora* spp. secara *in vitro* dan *in vivo* ($P \leq 0,05$). Rerata daya hambat *in vitro* adalah $58,74 \pm 4,58\%$. Konsentrasi spora *T. asperellum* TKD hingga 10^4 efektif menurunkan populasi *Phytophthora* spp secara *in vivo*. Konsentrasi spora *T. asperellum* TKD yang dapat menghambat pertumbuhan *Phytophthora* spp. yang optimum adalah konsentrasi $T_{1,70 \times 10^6}$. Mekanisme penghambat *T. asperellum* TKD adalah kompetisi dimana terjadi interaksi dengan mekanisme mikoparasit dan antibiosis. Pemberian *T. asperellum* TKD menyebabkan benih memiliki daya perkecambahan lebih dari 80% dengan diikuti indeks kecepatan kecambah yang tinggi. Pemberian *T. asperellum* TKD mampu menghambat pertumbuhan *Phytophthora* spp. secara *in vitro* dan *in vivo* dan benih kakao dapat berkecambah optimal hingga hari ke-7 penyimpanan setelah pemberian *T. asperellum* TKD.

Kata kunci: Antagonis, Biji kakao, Penyimpanan, *Phytophthora* spp., *Trichoderma asperellum* TKD

Pendahuluan

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) di Indonesia memiliki rerata usia 25-30 tahun, umur tanaman yang tua menyebabkan penurunan produksi tanaman. Peremajaan tanaman kakao untuk menggantikan tanaman tua selain dapat meningkatkan produksi tanaman juga dapat memutus rantai infeksi dari satu tanaman ke tanaman yang lain (Leiwakabessy et al., 2020). Perbanyak tanaman kakao dapat dilakukan secara generatif dengan menggunakan benih. Namun perbanyak dengan menggunakan benih dari kebun induk yang menghasilkan benih dengan varietas unggul terbatas, harga benih berkualitas yang meningkat, dan benih yang tidak tahan lama untuk disimpan (Baharudin & Rubiyo, 2013). Benih kakao digolongkan sebagai benih rekalsitran, yaitu benih kakao diketahui tidak tahan dengan pengeringan, bersifat peka terhadap suhu serta kelembapan yang rendah dan tidak memiliki masa dormansi sehingga benih kakao mudah—terinfeksi cendawan patogen selama masa penyimpanannya (Miftakhurrohmat & Widiyanti, 2016).

Benih kakao yang terinfeksi cendawan patogen akan menyebabkan penurunan kualitas benih (Rachma et al., 2016). Cendawan *Phytophthora* spp., *Moniliophthora perniciosa*, *Moniliophthora rorer*, *Oncobasidium theobromae* dan *Ceratostyxis cacaofunesta* merupakan patogen penginfeksi tanaman kakao di tiga wilayah penghasil kakao yaitu Afrika, Amerika dan Asia (Delgado-Ospina et al., 2021). Infeksi cendawan *Phytophthora* spp. menyebabkan gangguan fisiologis tanaman yang dapat menurunkan produktivitas kakao paling besar dibanding cendawan lainnya, yaitu sebesar 20-40% di seluruh dunia (Simamora et al., 2021). Infeksi dapat terjadi melalui spora *Phytophthora* spp. yang terbawa air atau angin, dimana spora yang menempel pada permukaan buah akan menunjukkan gejala bercak kehitaman dari pangkal hingga seluruh buah hingga ke dalam daging buah (Cikita et al., 2016; Perrine-Walker, 2020).

Penggunaan agen hayati antagonis dipercaya dapat mengendalikan organisme patogen tanaman secara aman dan tidak mencemari lingkungan dengan meninggalkan residu (Agustina et al., 2019). Pengendalian hayati dari infeksi patogen pada benih dapat

dilakukan dengan memanfaatkan cendawan antagonis yaitu *Trichoderma*. Cendawan *Trichoderma* telah umum dimanfaatkan sebagai biokontrol yang bersifat atagonistik terhadap penyakit pada tanaman, beberapa patogen pada tanah dan benih (Dendang, 2015). Cendawan *Trichoderma* menyebabkan tanaman menjadi resistensi secara sistematis terhadap patogen dan menciptakan mekanisme pertahanan sehingga infeksi oleh patogen dapat diatasi (Anhar et al., 2020). Cendawan *Trichoderma* memiliki mekanisme antagonis diantaranya mekanisme kompetisi, mikoparasit dan antibiosis (Wu et al., 2017).

Cendawan *T. asperellum* TKD merupakan salah satu spesies *Trichoderma* yang bersifat antagonis sehingga diharap mampu mengendalikan pertumbuhan cendawan patogen. Darmayasa&Oka (2016) melaporkan bahwa penggunaan dari cendawan *T. asperellum* TKD dapat menghambat laju pertumbuhan dari cendawan patogen *Aspergillus flavus* FNC6109. Antari (2020) juga melaporkan bahwa, *T. asperellum* TKD dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsica* sebesar 100%. Berdasarkan penelitian sebelumnya maka dilakukan pengujian terhadap *T. asperellum* TKD dalam menghambat pertumbuhan patogen *Phytophthora* spp. yang diisolasi dari benih kakao secara *in vitro* dan *in vivo* sehingga dapat meningkatkan masa penyimpanan benih kakao sebelum pembibitan tanaman kakao.

Metode Penelitian

Pemeriksaan Koloni *Phytophthora* spp. pada Benih kakao

Benih kakao yang digunakan berasal dari perkebunan kakao di Sumedang, Jawa Barat tipe Criollo. Kertas saring diletakkan ke dalam cawan petri steril kemudian dibasahi dengan akuades. Benih kakao dipilih secara acak kemudian diletakkan di atas kertas saring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 25°C selama 7 hari. Infeksi patogen yang diindikasikan *Phytophthora* spp. diamati, dan persentase infeksi dihitung menggunakan rumus yang disampaikan Permana&Rustiani (2016).

$$\% \text{ Infeksi} = \frac{\text{Jumlah benih terinfeksi}}{\text{Jumlah benih yang digunakan}} \times 100\%$$

Isolasi, Identifikasi Koloni *Phytophthora* spp. dan Uji Postulat Koch

Isolat yang diindikasikan *Phytophthora* spp. pada benih kakao diremajakan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan diinkubasi selama dalam inkubator pada suhu 25°C selama 5 hari. Isolat yang tumbuh kemudian dipotong dengan *cork borer* kemudian diinokulasikan pada benih kakao sehat selama 7 hari sebagai Uji Postulat Koch. Pengamatan terhadap benih dilakukan, jika isolat cendawan yang diinokulasikan menunjukkan gejala sama seperti benih yang terinfeksi *Phytophthora* spp., maka isolat tersebut merupakan patogen penginfeksi. Benih kakao yang terinfeksi *Phytophthora* spp. menunjukkan gejala benih mengkerut, terjadi perubahan warna menjadi kehitaman dan terkolonisasi cendawan infeksi *Phytophthora* spp. menyelubungi seluruh permukaan benih (Firmansyah & Alfarisi, 2016). Reisolasi dilakukan dari benih yang diuji Postulat Koch. Hasil reisolasi diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat hasil isolasi dan diamati dengan perbesaran 400x. Hasil identifikasi dibandingkan menggunakan literatur Pengenalan Kapang Tropik Umum (1999).

Peremajaan Koloni dan Reidentifikasi *T. asperellum* TKD

Isolat *T. asperellum* TKD diperoleh dari koleksi Dr. Drs. Ida Bagus Darmayasa, M. Si., Laboratorium Mikrobiologi, Prodi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana. *T. asperellum* TKD diremajakan pada media PDA kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 25°C selama 4 hari. Reidentifikasi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat hasil isolasi dan diamati dengan perbesaran 400x. Hasil identifikasi dibandingkan menggunakan literatur Pengenalan Kapang Tropik Umum (1999).

Pengujian Daya Hambat *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. dengan Metode Kultur Ganda

Cendawan *Phytophthora* spp. dan *T. asperellum* TKD berusia 7 hari dipotong dengan menggunakan *cork borer* ukuran 5 mm, kemudian diletakkan dalam cawan petri berisi media PDA dengan jarak 3 cm dari masing-

masing tepi cawan petri, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 25°C selama 7 hari. Persentase daya hambat dihitung pada hari ke-7 dengan menggunakan rumus yang disampaikan oleh Mardhatillah (2018). R1 merupakan jari-jari *Phytophthora* spp. tanpa antagonis dan R2 merupakan jari-jari *Phytophthora* spp. dengan antagonis.

$$\% \text{Daya hambat} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

Pembuatan suspensi Spora *T. asperellum* TKD dan *Phytophthora* spp.

Biakan murni cendawan *Phytophthora* spp. dan *T. asperellum* TKD yang berusia 5 hari pada media miring ditambah akuades sebanyak 10 mL kemudian permukaan media diusap-usap menggunakan jarum ose. Suspensi spora *T. asperellum* TKD diencerkan hingga mendapat kerapatan spora 10⁴ masing-masing 20 mL. Suspensi spora *Phytophthora* spp. diencerkan hingga diperoleh kerapatan spora 10⁶. Kerapatan spora masing-masing suspensi cendawan dihitung menggunakan *Haemocytometer*, kemudian kerapatan spora dihitung menggunakan rumus Konsentrasi spora (Nufus, 2013).

$$S = \frac{x}{L \times t \times d} \times 0,01$$

S=spora per mL larutan; x=jumlah total spora; L=luas kotak hitung (0,2 mm²); t=kedalaman bidang hitung (0,1 mm); d=faktor pengenceran; dan 0,01 mL=volume suspensi terambil

Uji Viabilitas Benih

Uji viabilitas dilakukan pada benih kakao yang diberikan perlakuan. Benih disimpan selama 2 minggu. Selama 2 minggu penyimpanan kemampuan daya berkecambah benih dan indeks kecepatan perkecambahan benih diamati. Benih yang tidak dapat berkecambah digolongkan sebagai benih mati. Persentase daya kecambah benih dihitung dengan menggunakan rumus ISTA (*International Seed Testing Association*) dan indeks kecepatan perkecambahan dihitung dengan rumus menurut Putra (2020).

- Daya kecambah (%) = $\frac{\text{jumlah benih berkecambah normal}}{\text{jumlah benih diujikan}} \times 100\%$
- IKP = $\frac{N1}{H1} + \frac{N2}{H2} + \frac{N3}{H3} + \dots + \frac{Nx}{Hx}$

Keterangan, IKP=Indeks kecepatan perkecambahan; N=Jumlah benih yang berkecambah dalam satuan waktu tertentu; H=lama waktu (hari) antara pengujian awal sampai akhir; x = lama waktu (hari) pada perhitungan terakhir.

Pengaruh Kerapatan Spora *T. asperellum* TKD terhadap Populasi *Phytophthora* spp. pada Benih Kakao

Benih kakao disterilkan dengan mencuci benih dengan air mengalir, kemudian direndam dalam larutan NaOCl 0,5% selama 10 menit,

lalu dibilas dengan *aquadest* sebanyak 2 kali. Benih yang telah steril diinfeksi dengan spora *Phytophthora* spp. dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam infeksi, 20 benih kakao disiapkan di atas cawan petri dengan 5 kali pengulangan, kemudian aplikasi spora *T. asperellum* TKD dengan berbagai kerapatan diberikan sesuai dengan Tabel 1 dengan cara disemprotkan. Inkubasi dilakukan selama 14 hari di dalam inkubator pada suhu 25°C (Rahmandanty, 2021)

Tabel 1. Aplikasi spora *T. asperellum* TKD pada *Phytophthora* spp.

Perlakuan	Keterangan
K _S	Benih kakao tanpa perlakuan
K _T	Benih + <i>Phytophthora</i> spp.
K _T + T _{1,70} ×10 ⁶	Benih+ <i>Phytophthora</i> spp.+kerapatan spora <i>T. asperellum</i> TKD 1,70×10 ⁶
K _T + T ₁₀ ¹	Benih+ <i>Phytophthora</i> spp.+ kerapatan spora <i>T. asperellum</i> TKD 10 ⁻¹
K _T + T ₁₀ ²	Benih+ <i>Phytophthora</i> spp. + kerapatan spora <i>T. asperellum</i> TKD 10 ⁻²
K _T + T ₁₀ ³	Benih+ <i>Phytophthora</i> spp. + kerapatan spora <i>T. asperellum</i> TKD 10 ⁻³
K _T + T ₁₀ ⁴	Benih+ <i>Phytophthora</i> spp. + kerapatan spora <i>T. asperellum</i> TKD 10 ⁻⁴

Perhitungan populasi *Phytophthora* spp. (koloni/g) pada benih kakao dilakukan dengan metode tuang hingga taraf pengenceran 10⁻⁶, lalu dilakukan perhitungan populasi dengan menggunakan rumus (Arantika et al., 2019).

$$\text{koloni/g} = \frac{\text{Jumlah rata-rata Koloni}}{\text{Volume Inokulum} \times \text{Faktor pengenceran}}$$

Persentase penurunan jumlah koloni *Phytophthora* spp. dihitung menggunakan rumus CBI (*colony before incubation*) yaitu jumlah koloni sebelum inkubasi dan CAI (*colony after incubation*) yaitu jumlah koloni setelah inkubasi (Microchem Laboratory, 2022).

$$\% \text{ penurunan populasi} = \frac{\text{CBI}-\text{CAI}}{\text{CBI}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data bersifat kuantitatif dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) taraf 5%

(P≤0,05), dilanjutkan dengan pengujian Duncan *software* IBM SPSS *Statistic* 25. Data kuantitatif dan kualitatif ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan *Phytophthora* spp. pada benih kakao

Benih kakao yang telah dilakukan pemeriksaan memiliki persentase infeksi *Phytophthora* spp. dengan rerata infeksi 62±0,94% (Tabel 2) dari total seluruh benih kakao yang diuji. Infeksi terjadi melalui spora *Phytophthora* spp. yang terbawa air atau angin, dan kondisi lingkungan yang lembab menyebabkan spora lebih mudah untuk bergerminasi dan menginfeksi. Infeksi lebih lanjut dapat mencapai ke dalam buah kakao hingga ke biji kakao yang akan menjadi bakal benih (Oluyemi et al., 2014).

Tabel 2. Persentase infeksi benih kakao

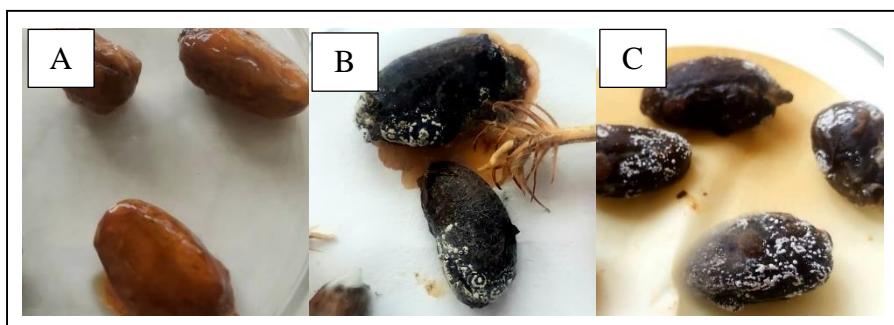
N	Subunit			Total benih	Infeksi (%)	Rerata infeksi (%)
	I	II	III			
A	4	3	3	15	66	62 ± 0,94%
B	2	3	3	15	53	
C	4	2	4	15	66	

Nilai rerata infeksi merupakan rerata±standar deviasi; N = ulangan

Identifikasi koloni *Phytophthora* spp. dan Uji Postulat Koch

Setelah dilakukan uji Postulat Koch, isolat yang diindikasikan sebagai patogen *Phytophthora* spp. menunjukkan gejala yang sama dengan benih yang terinfeksi *Phytophthora* spp. yaitu benih menjadi

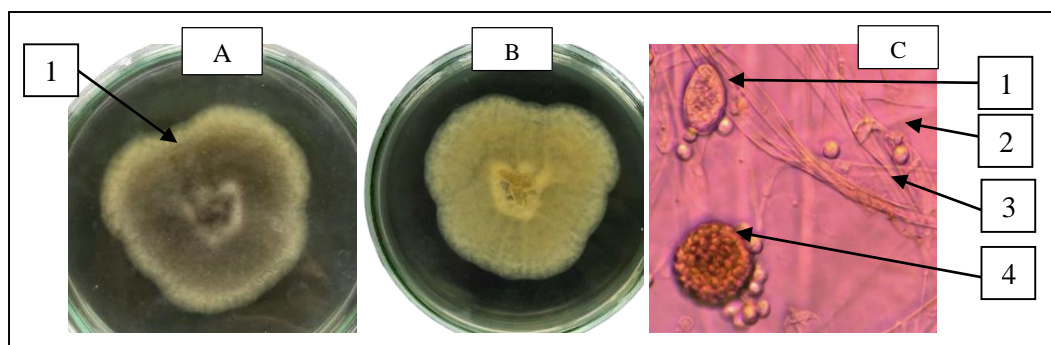
mengkerut, berubah warna menjadi kehitaman dan terkolonisasi patogen *Phytophthora* spp. (Gambar 1). Uji Postulat Koch dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa *Phytophthora* spp. merupakan penyebab dari infeksi suatu penyakit dengan melihat kesamaan gejala (Firmansya&Alfarisi, 2016).



Gambar 1. Uji Postulat Koch. (A) Benih sehat; (B) Benih terinfeksi; (C) Uji Postulat Koch

Cendawan *Phytophthora* spp. yang diisolasi dari benih yang terinfeksi menunjukkan karakter makroskopis dan mikroskopis (Gambar 2). Karakter makroskopis yang dimiliki oleh *Phytophthora* spp. adalah diameter koloni 55 mm, koloni berwarna putih kehitaman di satu arah dan berwarna putih kecokelatan pada arah sebaliknya, tekstur koloni seperti kapas, dan memiliki zona pertumbuhan. Menurut Wibowo *et al.* (2017) koloni makroskopis *Phytophthora* spp. memiliki bentuk pertumbuhan stelat, berbentuk seperti kapas dan datar. Muzuni *et al.* (2020) menyatakan, warna koloni pada permukaan putih, sedangkan warna sebaliknya dari koloni adalah kecokelatan, memiliki wilayah zona pertumbuhan dengan tepi koloni tidak rata.

Karakter mikroskopis yang dimiliki *Phytophthora* spp. meliputi hifa aseptat, memiliki klamidiospora berbentuk bulat berukuran 14,26 μm , memiliki sporangium berbentuk lonjong berdiameter 25,53 μm , zoospora berbentuk bulat berukuran 9,94 μm . Menurut Wibowo *et al.* (2017) karakter mikroskopis *Phytophthora* spp. memiliki klamidiospora berbentuk bulat dengan dinding tipis bersifat hialin berukuran 23 μm memiliki sporangium berukuran 25 μm , hifa bersifat hialin dan aseptat. Hal yang sama dilaporkan oleh Muzuni *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa, koloni *Phytophthora* spp. memiliki hifa tipe aseptat, klamidiospora berbentuk bulat, dan sporangium berbentuk lonjong.



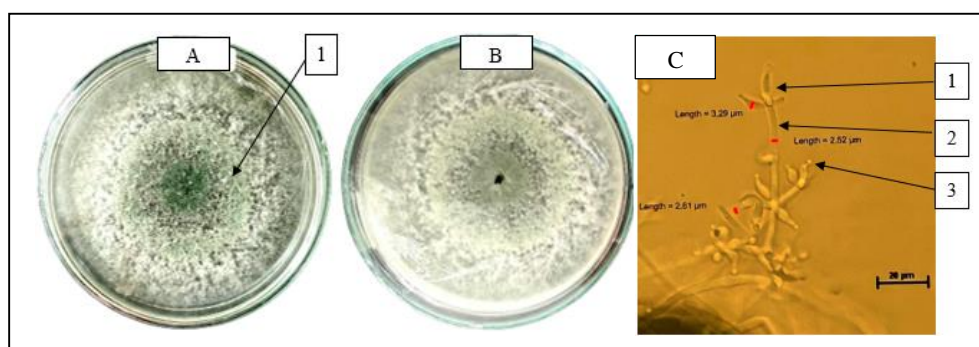
Gambar 2. Karakter morfologi *Phytophthora* spp. Keterangan (A) Karakter makroskopis permukaan koloni: (1) Zona pertumbuhan; (B) Koloni sebalik; (C) karakter mikroskopis perbesaran 400x: (1) sporangium, (2) zoospora, (3) Hifa dan (4) Klamidiospora.

Reidentifikasi *T. asperellum* TKD

Cendawan *T. asperellum* TKD yang telah diisolasi menunjukkan karakter makroskopis dan mikroskopis (Gambar 3). Karakter makroskopis *T. asperellum* TKD yang diinkubasi selama 4 hari memiliki diameter koloni 44 mm, koloni berwarna hijau tua dengan gradasi cincin konsentris hijau muda, koloni di sisi sebaliknya berwarna putih kehijauan dengan tekstur koloni seperti kapas dan kasar, serta memiliki zona pertumbuhan dengan pola pertumbuhan melingkar. Menurut Darmayasa&Oka (2016), *Trichoderma* sp. TKD yang diinkubasi selama 4 hari memiliki diameter 4,6 cm, memiliki miselia menyebar terlihat menumpuk, koloni muda berwarna putih kehijauan kemudian akan menjadi hijau tua saat masa inkubasi diperpanjang. Menurut Oszako et al. (2020), *T. asperellum* memiliki

koloni berbentuk lingkaran dengan tepi halus, permukaan koloni berwarna putih kemudian menjadi hijau, memiliki koloni dan membentuk cincin-cincin konsentris.

Karakter mikroskopis *T. asperellum* TKD menunjukkan hifa bersepta, memiliki konidiofor yang bersifat hialin, bercabang dan menonjol, memiliki ukuran konidiofor 2,52µm, konidia berbentuk oval berukuran 2,61 µm dan memiliki fialid berbentuk oval, berlengan pendek berukuran 3,29 µm. Menurut Darmayasa&Oka (2016) *Trichoderma* sp. TKD memiliki konidiofor bercabang, ujung konidiofor memiliki fialid yang memproduksi konidia. Oszako et al., (2021) menyatakan *T. asperellum* memiliki konidiofor bercabang, dengan fialid menyerupai botol, dan terdapat konidia berbentuk bulat di ujungnya.



Gambar 3. Karakter morfologi *T. asperellum* TKD. Keterangan (A) Karakter makroskopis; (1) Zona pertumbuhan; (B) Koloni sebaliknya; (C) Karakter mikroskopis perbesaran 400x: (1) Fialid, (2) Konidiofor dan (3) Konidia

Daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. dengan metode kultur ganda (*in vitro*)

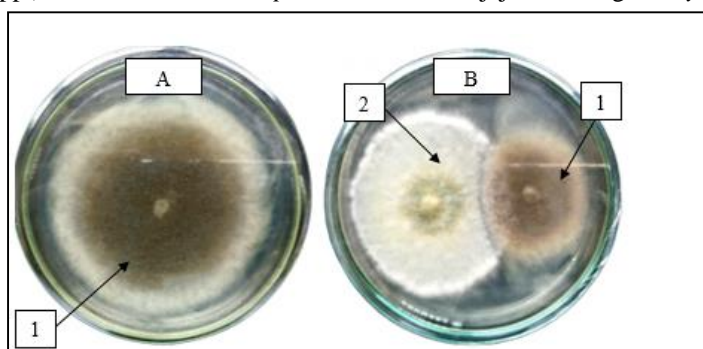
Pengujian daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. dengan metode kultur ganda menunjukkan hasil, *Phytophthora* spp. kontrol tanpa antagonis *T. asperellum* TKD menunjukkan jari-jari diameter pada hari ke tujuh sebesar 37±1,67 mm, sedangkan diameter koloni yang diberikan perlakuan pengujian *T. asperellum* TKD dengan *Phytophthora* spp. menunjukkan rata-rata nilai sebesar 15,2±1,17 cm. Rerata persentase kemampuan daya hambat *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. yaitu sebesar 58,74±4,58% (Tabel 3).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan oleh *Trichoderma* adalah dengan mekanisme kompetisi, yaitu cendawan *Trichoderma* memiliki kemampuan untuk tumbuh lebih cepat untuk memperoleh ruang, tempat dan nutrisi pada media dibandingkan dengan *Phytophthora* spp. Hal tersebut mengakibatkan pertumbuhan *Phytophthora* spp. menjadi terhambat kemudian akan mengalami kematian (Cikita et al., 2016). *T. asperellum* TKD memiliki interaksi dengan mekanisme mikoparasit dan antibiosis. Mekanisme kompetisi, mikoparasit dan antibiosis merupakan mekanisme yang dimiliki *Trichoderma* sebagai antagonis dalam menghambat pertumbuhan patogen (Gambar 4) (Dania&Eze, 2020).

Tabel 3. Persentase Daya hambat *in vitro* *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. (7 hari inkubasi)

Perlakuan	Jari-jari koloni <i>Phytophthora</i> spp. setelah inkubasi (mm)					Total seluruh	Rerata
	N1	N2	N3	N4	N5		
PT	35	38	35	38	39	185	37±1,67
TA + PT	15	14	17	16	14	76	15,2±1,17
Hambatan (%)	57,14	63,16	51,43	57,89	54,01	293,73	58,74±4,58

Ket: Nilai pada Tabel 3 menunjukkan nilai hasil dari 5 kali ulangan dan rerata ± standar deviasi; N = Ulangan. PT = Kontrol (*Phytophthora* spp.), dan TA + PT = *T. asperellum* TKD disejajarkan dengan *Phytophthora* spp.



Gambar 4. Kultur ganda *T. asperellum* TKD terhadap *Phytophthora* spp. Keterangan: (A) Kontrol: (1) *Phytophthora* spp.; (B) Kultur Ganda (1) *Phytophthora* spp.; (2) *T. asperellum* TKD

Daya kecambah dan Indeks kecepatan perkecambahan

Pemberian perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD pada benih selama 14 hari mempengaruhi daya perkecambahan dan indeks kecepatan perkecambahan benih ($P \leq 0,05$). Benih kakao yang diberikan perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD memiliki daya

berkecambah di atas 80% dibandingkan dengan tanpa perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD (Tabel 4). Perkecambahan benih di atas 80% menunjukkan benih memiliki kemampuan berkecambah yang baik. Hal ini sesuai dengan Peraturan Pemerintah Tahun 2013 menyatakan bahwa benih dikatakan memiliki kualitas baik jika benih memiliki daya perkecambahan minimal 80%.

Tabel 4. Persentase perkecambahan benih kakao pada hari ke-14 penyimpanan

Perlakuan	% benih berkecambah
K _S	69±13,88 ^{ab}
K _T	65±7,08 ^a
K _T + T _{1,70} × 10 ⁶	85±7,08 ^c
K _T + T ₁₀ ⁻¹	82±12,04 ^{bc}
K _T + T ₁₀ ⁻²	81±5,48 ^{bc}
K _T + T ₁₀ ⁻³	80±10,60 ^{bc}
K _T + T ₁₀ ⁻⁴	80±6,12 ^{bc}

Nilai perkecambahan yang tinggi diikuti dengan indeks kecepatan perkecambahan yang tinggi, hal tersebut menjadikan benih memiliki kemampuan untuk dapat tumbuh lebih tinggi. Kecepatan perkecambahan menjadi tolak ukur dari kemampuan benih untuk tumbuh dimana benih dengan kemampuan berkecambah tinggi akan menghasilkan tanaman dengan

kemampuan tumbuh serta produksi yang baik (Rachma *et al.*, 2016; Ningsih *et al.*, 2018). Indeks kecepatan perkecambahan benih kakao yang diberikan perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD menunjukkan kecepatan perkecambahan yang lebih tinggi dibandingkan dengan benih tanpa pemberian suspensi spora *T. asperellum* TKD (Tabel 5)

Tabel 5. Indeks kecepatan perkecambahan benih kakao selama 14 hari

Perlakuan	IKP (Indeks Kecepatan Perkecambahan)
K _S	11,17±3,82 ^b
K _T	10,10±3,76 ^a
K _T + T _{1,70} ×10 ⁶	17,76±5,22 ^e
K _T +T ₁₀ ⁻¹	12,50±4,76 ^{de}
K _T +T ₁₀ ⁻²	12,01±5,32 ^{cd}
K _T +T ₁₀ ⁻³	11,93±4,72 ^{cd}
K _T +T ₁₀ ⁻⁴	11,69±5,08 ^{bc}

Cendawan *Trichoderma* memiliki kemampuan biostimulan terhadap benih, sehingga benih dapat menjadi bibit yang baik serta memiliki kualitas benih yang baik (Campos *et al.*, 2020). Menurut Zani&Anhar (2021) *Trichoderma* menghasilkan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang dapat merangsang pembentukan fitorhormon yang akan bekerja secara aktif sehingga pertumbuhan dan proses fisiologis benih dapat berlangsung. Kandungan ZPT dari *Trichoderma* yang dapat memacu pertumbuhan antara lain IAA (*Indole Asetic Acid*), sitokinin dan giberelin.

Benih kakao merupakan benih rekalsitran, sehingga tidak dapat disimpan terlalu lama dan dapat mengalami penurunan kualitas benih. Benih kakao yang diberikan perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD berkecambah secara optimum pada hari ke-7. Menurut Batubara *et al.* (2018) lama simpan memiliki pengaruh dalam mempertahankan kadar air benih dimanalama simpan maksimal benih kakao adalah 1 minggu. Semakin lama benih disimpan akan semakin tinggi mengalami detiorasi. Detiorasi menyebabkan benih mengalami kemunduran, penurunan mutu serta kualitas dan penurunan viabilitas serta indeks vigor benih.

Daya hambat suspensi spora *T. asperellum* TKD terhadap populasi *Phytophthora* spp. pada benih kakao (*in vivo*)

Pemberian suspensi spora *T. asperellum* TKD dapat menurunkan populasi *Phytophthora* spp. secara efektif pada benih kakao. Penurunan populasi *Phytophthora* spp. pada permukaan benih kakao setelah perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD berbagai konsentrasi menunjukkan nilai pengaruh yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) (Tabel 6). *Trichoderma*

memiliki mekanisme antagonis terhadap patogen permukaan seperti pada biji, benih, dan tanaman yang terinfeksi. Mekanisme antagonis *Trichoderma* adalah mekanisme kompetisi. *Trichoderma* mampu berkompetisi dengan organisme patogen sehingga patogen mengalami kekurangan nutrisi dan menyebabkan kematian (Berlian *et al.*, 2013; Yulia *et al.*, 2017).

Trichoderma memiliki kemampuan antagonis terhadap patogen pada media yang mengandung bahan organik sebagai kesiapan predisposisi serta sintasan sebelum melakukan kompetisi dengan patogen. Hal ini menjadikan *Trichoderma* menjadi lebih siap untuk melakukan kompetisi dengan organisme patogen dalam memperebutkan ruang dan nutrisi. Benih kakao memiliki pulmp yang kaya akan karbohidrat sebagai bahan media organik. Pulmp pada benih kakao dapat menjadi nutrisi bagi *Trichoderma* dalam membentuk koloni dan menjadi habitat perkecambahan konidiospora *Trichoderma* (Metz *et al.*, 2011).

Tiga mekanisme antagonis *Trichoderma* yaitu kompetisi, mikoparasi dan antibiosis berinteraksi satu sama lain dalam menghambat pertumbuhan patogen. Mekanisme kompetisi yang dimiliki *Trichoderma* melibatkan mekanisme mikoparasit, yaitu hifa *Trichoderma* membelit hifa patogen sehingga hifa patogen menjadi pipih kemudian lisis. Terjadinya interaksi antara mikoparasit diikuti dengan melibatkan mekanisme antibiosis (Cikita *et al.*, 2016). Menurut Kumar&Khrurana (2021) mekanisme antibiosis *Trichoderma* sp. mampu menghasilkan berbagai jenis antibiotik yang aktif menginduksi kematian sel pada cendawan patogen.

Tabel 6. Hasil pengujian daya hambat suspensi spora *T. asperellum* TKD terhadap populasi *Phytophthora* spp. secara *in vivo* pada benih kakao

Perlakuan	Jumlah spora <i>Phytophthora</i> spp. (koloni/g)		Persentase penurunan spora <i>Phytophthora</i> spp. (%)
	Jumlah spora sebelum inkubasi (T ₀)	Jumlah spora setelah inkubasi (T ₁₄)	
K _S	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 ^a	0,00
K _T		61,2 × 10 ⁶ ± 9,87 ^g	0,00
K _T + T _{1,70 × 10⁶}		5,8 × 10 ⁶ ± 1,33 ^b	88,85
K _T + T _{10¹}	52 × 10 ⁶ ± 0,89	14,8 × 10 ⁶ ± 2,22 ^c	71,54
K _T + T _{10²}		23 × 10 ⁶ ± 2,28 ^d	55,77
K _T + T _{10³}		29,2 × 10 ⁶ ± 1,72 ^e	43,85
K _T + T _{10⁴}		43,8 × 10 ⁶ ± 2,04 ^f	15,77

Keterangan: Nilai pada tabel diatas menunjukkan rata-rata dari 5 kali ulangan dengan diikuti notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama yang menunjukkan nilai rata-rata yang berbeda nyata ($P \leq 0,05$) berdasarkan Uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA). C/g (koloni/g).

Simpulan dan Saran

Cendawan *Trichoderma asperellum* TKD efektif menghambat pertumbuhan *Phytophthora* spp. pada benih kakao secara *in vitro* dan *in vivo*. Rerata persentase daya hambat secara *in vitro* adalah sebesar 58,7 ± 4,58%. Pemberian suspensi spora dengan konsentrasi T_{1,70 × 10⁶}, T_{10¹}, T_{10²}, T_{10³} dan T_{10⁴} efektif menurunkan populasi *Phytophthora* spp. dengan konsentrasi optimum T_{1,70 × 10⁶} dan persentase penurunan 88,85%. Benih kakao yang diberikan perlakuan suspensi spora *T. asperellum* TKD berkecambah diatas 80%, dan indeks kecepatan perkecambahan benih yang tinggi.

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu bentuk produk dari suspensi spora *T. asperellum* TKD sehingga dapat dikomersilkan dan memiliki nilai ekonomis. Pengujian terhadap viabilitas benih kakao yang telah diberikan suspensi spora *T. asperellum* TKD dengan mengukur kadar berat basah dan berat kering benih, panjang akar, dan jumlah daun yang tumbuh selama penyimpanan. Serta dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan benih kakao hingga menjadi tanaman yang dapat dibudidayakan.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Bapar Dr. Drs. Ida Bagus Darmayasa atas izin penggunaan isolat *T. asperellum* TKD. Bapak Dr. I Ketut Ginantra, S. Pd., M. Si. atas kepercayaan yang diberikan dalam mengerjakan prosedur penelitian di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan (Mikologi) Prodi Biologi, FMIPA, Universitas

Udayana. Bapak Kepala Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar drh. I Putu Terunanegara, M. M. atas izin peminjaman lokasi penelitian serta seluruh analisis perkarantinaan tumbuhan di Balai Karantina Pertanian Kelas I Denpasar atas kepercayaan yang diberikan dalam mengerjakan prosedur penelitian di Laboratorium Karantina Tumbuhan.

Daftar Pustaka

- Agustina, D., Triasih, U., Dwiastuti, M. E dan Wicaksono, R. C. (2019). Potensi Cendawan Antagonis dalam Menghambat Pertumbuhan Cendawan *Botryodiplodia theobromae* Penyebab Penyakit Busuk Batang Pada Tanaman Jeruk. *Jurnal Agronida* 5(1): 1-6.
- Anhar, A., Putri, D. H., Doni, F. dan Advinda, L. (2020). Respon Pertumbuhan Benih Varietas Anak Daro Asal Solok Terhadap Isolat *Trichoderma Indiginous*. *Biosci Antari ence* 4(1): 32-38.
- Antari, N. M., Darmayasa, I. B. G. dan Hardini, J. (2020). Efektivitas *Trichoderma asperellum* TKD dengan Mediator Pupuk Kandang untuk Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Simbiosis* 8(2): 63-71.
- Arantika, M., Umboh, S. D. dan Pelealu, J. J. (2019). Analisis Tingkat Populasi Cendawan Tanah di Lahan Pertanian Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Berdasarkan Metode *Totap Plate Count* (TPC). *Jurnal Ilmiah Sains* 19(2): 105-110.
- Baharudin. dan Rubiyo. (2013). Pengaruh Perlakuan Benih dan Media Tanam Terhadap Peningkatan Vigor Bibit Kakao Hibrida. *Jurnal Buletin Ristri* 4(1): 27-38.

- Batubara, S. S., Nefri, J. dan Nofrianil. (2018). Analisis Pengaruh Pelapisan Benih dengan Bahan Desikan dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.) di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember. *Jurnal Agroteknika* 19(2): 99-110.
- Berlian, I., Setyawan, B. dan Hadi, H (2013). Mekanisme Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap Beberapa Patogen Tular Tanah. *Jurnal Warta Perkaratan* 32(2): 74-82.
- Campos, B. F., Araujo, A. J. C., Felseburgh, C. A., Vieira, T. A. dan Lustosa, D. C. (2020). *Trichoderma* Contributes to the Germination and Seedling Development of Acai Palm. *Journal of Agriculture* 10(456): 1-16.
- Cikita, D., Khotimah, S. dan Linda, R. (2016). Uji Antagonis *Trichoderma* spp. Terhadap *Phytophthora palmivora* Butl. Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) *Jurnal Protobiont* 5(3): 59-65.
- Dania, V. O. dan Eze, S. E. (2020). Using *Trichoderma* Species in Combination with Cattle Dung as Soil Amendment Improves Yield and Reduces Pre-Harvest Aflatoxin in Groundnut. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science* 42(3): 449-461
- Darmayasa, I. B. G. dan Oka, I. G. L. (2016). A Study on Inhibitory Effect of *Trichoderma* sp. TKD on *Aspergillus flavus* FNCC6109 and Its Molecular Identification. *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 4(2): 103-110.
- Delgado-Ospina, J., Molina-Hernandez, J. B., Chaves-Lopez, C., Romanazzi, G. dan Paparella, A. (2021). The Role of Fungi in the Cocoa Production Chain and Challenge of Climate Change. *Journal of Fungi* 7(202): 1-25.
- Dendang, B. (2015). Uji Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* sp. yang Menyerang Tanaman Sengon secara *In-vitro*. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*. 4(2): 147-156.
- Firmansyah, M. A. dan Alfarisi, M. H. (2016). Uji Patogenitas Patogen Hawar Daun pada Tanaman Kayu Afrika (*Marsipis eminii* Engl.) di Persemaian Permanen BPDAS Bogor. *Jurnal Silvikultur Tropika* 7(2): 115-124.
- Gandjar, I., Samson, R. A., Oetari, A., Santoso, L., dan Vermeulen, K. T. (1999). *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Leiwakabessy, C., Masauna, E. dan Uruilal., C. (2020). Kejadian Penyakit Busuk Buah Kakao (*Phytophthora palmivora* var. *palmivora*) di Desa Karlutu, Kecamatan Seram Utara Barat, Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Pertanian Kepulauan* 4(1): 1–11.
- Mardhatillah, Z. (2018). Keefektifan *Trichoderma harzianum* dan *Trichoderma koningii* dalam Pengendalian Penyakit Moler pada Bawang Merah [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Microchem Laboratory. (2022). *Log and Percent Reductions in Microbiology and Antimicrobial Testing*. <https://microchemlab.com/information/log-and-percent-reductions-microbiology-and-antimicrobial-testing/>.
- Miftakhurrohmat, A. dan Widyanti, T. (2016). Pengaruh Lama Penyimpanan dan Perlakuan Invigorasi terhadap Viabilitas Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Nabatia* 13(2): 109-117.
- Metz B, V. Seidl-Seiboth, Haarmann, T., Kopchinskiy, A., Lorenz, P., Seiboth, B. dan Kubicek, C. P. (2011). Expression of Biomass-Degrading Enzymes is a Major Event During Conidium Development in *Trichoderma reesei*. *Eukaryot Cell* 10(11): 1527–1535.
- Muzuni, Haidin. dan Yanti, N. A. (2020). Karakterisasi Morfologi *Phytophthora* sp. Asal Buah Kakao Desa Olo-Oloho, Kabupaten Konawe, Sulawesi Tenggara. *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi* 7(1): 1064-1069.
- Ningsih, N. Y. D. R., Raka, I. G. N., Siadi, I. K. dan Wirya, G. N. A. S. (2018). Pengujian Mutu Benih Beberapa Jenis Tanaman Hortikultura yang Beredar di Bali. *Jurnal Agroekoteknologi tropika* 7(1): 64-72.
- Nufus, H. (2013). Pengaruh Inokulum *Monascus purpureus* terhadap Produksi Pigmen pada Substrat Tepung Biji Durian [Skripsi]. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Oluayemi, B. M., Olubisi, A. T., Bunmi, A. A. dan Francis, O. F. (2014). Identification of *Phytophthora* Species on Cocoa Pods and Pod Husks Using Three Culture Media. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 57(2): 81-85.
- Oszako, T., Voitka, D., Stocki, M., Stocka, N., Nowakowska, J. A., Linkiewicz, A., Hsiang, T., Belbahri, L., Berezovska, D. dan Malewski, T. (2021). *Trichoderma asperellum* Efficiently Protects *Quercus Robur* Leaves Against Erysiphe Alphitoides. *Journal Plant Pathology* 159: 159-295.

- Peraturan Menteri Pertanian Nomor 90/Permentan/OT.140/9/2013. Standar Operasional Prosedur Penetapan Kebun Sumber Benih, Sertifikasi Benih, dan Evaluasi Kebun Sumber Benih Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.).
- Permana, I. N. D. dan Rustiani, U. S. (2016). *Modul Identifikasi Cendawan Penyebab Penyakit Tanaman*. Deepublish: Yogyakarta.
- Putra, R. P. (2020). Perkecambahan dan Pertumbuhan Awal Budset dan Budchip Tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang Ditanam pada Berbagai Posisi Mata Tunas. *Jurnal Agrotek Tropika* 8(3): 435-444.
- Perrine-Walker, F. (2020). *Phytophthora palmivora*-Cocoa Interaction. *Journal of Fungi* 6(167): 1-20.
- Rachma, T.N.S., Damanhuri, dan Saptadi, D. (2016). Viabilitas dan Vigor Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Beberapa Jenis Media Invigorasi. *Plantropica Jurnal Sains Agrikultural* 1(2): 72-80.
- Rahmadanty, N. H. (2021). Potensi Filtrat *Trichoderma asperellum* TKD dalam Menghambat Kontaminasi *Aspergillus parasiticus* pada Biji Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) [Tesis]. Universitas Udayana. Denpasar.
- Simamora, A. V., Hahuly, M. V. dan Henuk, J. B. D. (2021). Endophytic Fungi as Potential Biocontrol Agents of *Phytophthora palmivora* in the Cocoa Plant. *Biodiversitas* 22(5): 2601-2609.
- Wibowo, O.A., Sudarma, I.M. dan Puspawati, N. M. (2017). Uji Daya Hambat Cendawan Eksofit terhadap *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao secara *In Vitro*. *Jurnal Agrokomplek Tropika*. 6(3): 279-289.
- Wu, Q., Sun, R., Ni, M., Yu, J., Li, Y., Yu, C., Dou, K., Ren, J. dan Chen, J. (2017). Identification of a Novel Fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and Comprehensive Evaluation of its Biocontrol Efficacy. *Plos One* 12(6): 1-20.
- Yulia, E., Istifadah, N., Widiyanti, F. dan Utami, H. S. (2017). Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap Jamur *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imazeki dan Penekanan Penyakit Jamur Akar Putih pada Tanaman Karet. *Jurnal Agrikultural* 28(1): 47-55.
- Zani, R. Z. dan Anhar, A. (2021). Pengaruh *Trichoderma* spp. terhadap Tinggi Perkecambahan Benih Sawah (*Oryza sativa* L. var. *sirandah batuampa*). *Jurnal Pendidikan Biologi Biogenerasi* 6(1): 1-9.