

Kemampuan Kapang *Dark Septate Endophyte* dari Akar Tanaman Aren dalam Menghambat *Ganoderma* sp.

(The Ability of Dark Septate Endophyte Fungi from the Roots of Sugar Palm Plant to Inhibit *Ganoderma* sp.)

Dalia Sukmawati^{1*}, Atin Supiyani¹, Zakiah Nur Afifah¹, Mutia Balqis¹, Nabilah Nov Fikriyah¹, Dessy Putriana Sari¹, Raden Haryo Bimo Setiarto²

(Diterima Maret 2023/Disetujui Januari 2024)

ABSTRAK

Ganoderma merupakan kapang patogen yang dapat menyebabkan penyakit busuk pada basal batang tanaman. Penyakit ini merupakan ancaman bagi produksi kelapa sawit, khususnya di Asia Tenggara. Kapang *Trichoderma* dapat mengendalikan penyakit *Basal Stem Rot* pada *Ganoderma boninense*, namun belum efektif. Salah satu solusi yang dapat dilakukan untuk menghambat pertumbuhan *Ganoderma* adalah dengan penggunaan kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE). Penelitian DSE yang diisolasi dari tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.) belum banyak dikaji. Tanaman aren adalah famili *Arecaceae* yang berkerabat dengan tanaman kelapa sawit. Penelitian ini bertujuan menganalisis potensi kapang DSE asal akar tanaman aren dalam menghambat kapang patogen *Ganoderma* sp. Tahapan penelitian ini adalah isolasi dan purifikasi kapang DSE dari akar aren, uji antagonis DSE pada *Ganoderma* sp., dan uji senyawa volatil DSE pada *Ganoderma* sp. Hasil isolasi dan purifikasi menunjukkan terdapat 18 isolat kapang DSE yang dikelompokkan berdasarkan persamaan morfologi berupa warna koloni kapang DSE di mana terdapat 10 isolat kapang yang mewakili 10 warna koloni yang berbeda, yakni isolat A.3.1 (1); A.3.2 (2); A.4.1 (2); A.4.1 (3); A.4.2; A.5.2; A.5.3; A.6.1 (a); A.6.2 (a); A.6.4 (a). Sebanyak 8 isolat kapang dilakukan pengujian antagonis dan pengujian senyawa volatil pada kapang *Ganoderma* sp. Hasil uji antagonis menunjukkan isolat kapang DSE A4.1(2) memiliki persentase daya hambat tertinggi dengan nilai 36,12% dan isolat A6.2 memiliki persentase daya hambat terendah dengan nilai 15,65%. Hasil pengujian senyawa volatil menunjukkan isolat kapang DSE A4.2 memiliki persentase daya hambat tertinggi pada *Ganoderma* sp. sebesar 18,25% sedangkan persentase penghambatan terendah diperoleh dari isolat kapang DSE A5.2 dengan nilai 0,43%.

Kata kunci: aren (*Arenga pinnata* Merr.), *dark septate endophyte*, *ganoderma*

ABSTRACT

Ganoderma is a fungal pathogen that can cause rot disease at the base of plant stems. This disease threatens oil palm production, especially in Southeast Asia. *Trichoderma* sp. fungi can control Basal Stem Rot disease in *Ganoderma boninense* but are ineffective. One solution that can be done to inhibit the growth of *Ganoderma* sp. is by using *Dark Septate Endophyte* (DSE) fungi. Research on DSE isolated from sugar palm (*Arenga pinnata* Merr.) has not been widely studied. The sugar palm plant is related to the oil palm plant in the *Arecaceae* family. This study aims to analyze the potential of DSE fungi from the roots of the sugar palm plant in inhibiting the pathogenic fungi *Ganoderma* sp. The stages of this research were isolation and purification of DSE fungi from sugar palm roots, DSE antagonists against *Ganoderma* sp., and DSE volatile compounds against *Ganoderma* sp. The results of isolation and purification showed that there were 18 DSE isolates grouped based on morphological similarities in the form of DSE fungi colony colors, where there were ten fungi isolates representing ten different colony colors, namely, isolate A.3.1 (1); A.3.2 (2); A.4.1 (2); A.4.1 (3); A.4.2; A.5.2; A.5.3; A.6.1(a); A.6.2(a); A.6.4(a). A total of 8 fungi isolates were tested for antagonists and volatile compound testing on *Ganoderma* sp. The results of the antagonist test showed that DSE A4.1(2) had the highest percentage of inhibition with a value of 36.12%, and isolated A6.2 had the highest percentage of inhibition and the lowest with a value of 15.65%. The testing results for volatile compounds showed that the isolate of DSE A4.2 had the highest percentage of inhibition against *Ganoderma* sp. at 18.25%. In comparison, the lowest inhibition percentage was obtained from DSE A5.2 fungi isolate with a value of 0.43%.

Keywords: *dark septate endophyte*, *ganoderma*, sugar palm (*Arenga pinnata* Merr.)

PENDAHULUAN

Fungi adalah kelompok organisme eukariotik yang dapat ditemukan di berbagai substrat, seperti tanah, tanaman, dan juga produk makanan (Sukmawati *et al.* 2018a). Fungi merupakan mikroorganisme yang memiliki banyak manfaat, di antaranya sebagai penghasil enzim amilase, sebagai agen antagonis, ataupun sebagai agen antioksidan (Sukmawati *et al.*

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Gd. Hasjim Asj'arie FMIPA, Jl. Rawamangun Muka, Jakarta Timur 13220

² Pusat Riset Mikrobiologi Terapan BRIN, Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46, KST Soekarno, Cibinong, Bogor 16911

* Penulis Korespondensi:
E-mail: dalia-sukmawati@unj.ac.id

2019; Dellanerra *et al.* 2019; Husen *et al.* 2021). Salah satu mikroorganisme yang termasuk ke dalam fungi dan sering ditemukan adalah kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE). Kapang yang hidup di bagian intraseluler akar dan memiliki hifa berpigmen gelap serta berseptat juga didefinisikan sebagai kapang DSE (Jumpponen 2001). Kapang DSE berkolonisasi di akar tanaman tanpa menimbulkan kerusakan jaringan tanaman. DSE memiliki konidia atau steril, membentuk struktur termelanisasi (hifa interseluler, hifa intraseluler, dan mikroskleria) di dalam akar tanaman inang (Jumpponen & Trappe 1998). Kolonisasi DSE dilaporkan terjadi pada sekitar 600 spesies tanaman yang meliputi 320 genus dan 114 famili dan tersebar luas mulai dari daerah tropis sampai kutub. Umumnya, DSE tidak bersporulasi, atau bila bersporulasi, konidia yang dihasilkan sangat sedikit (Jumpponen & Trappe 1998). Beberapa strain hanya dapat bersporulasi bila diberi stimulus temperatur rendah (Fernando & Currah 1995).

Simbiosis antara DSE dan tanaman sering disebut simbiosis mutualisme di mana kapang mendapat manfaat dengan memperoleh karbohidrat dari inang dan inang diuntungkan oleh pertumbuhan yang lebih baik dan perolehan nutrisi yang lebih efisien (Jumpponen, 2001). Selain itu, disebutkan juga bahwa kapang endofit dapat meningkatkan investasi reproduksi inang dilihat dari hasil pengukuran benih dan kandungan nutrisi benih. Penelitian lain mengungkapkan bahwa DSE memiliki berbagai kemampuan enzimatis di mana DSE dapat memanfaatkan beberapa kelompok nutrisi organik utama (Caldwell *et al.* 2000). Berbagai jenis DSE telah diisolasi dari beberapa jenis inang mulai dari tanaman kehutanan, tanaman pertanian, atau tanaman perkebunan. Sebagai contoh, *Leptodontidium orchidicola* telah diisolasi dari tanaman cemara putih (*Picea glauca*) dan *Potentilla fruticosa*, serta beberapa DSE telah diisolasi dari famili Rosaceae, Salicaceae, dan Arecaceae (Fernando & Currah 1996; Furrzola *et al.* 2020). Salah satu tanaman yang termasuk ke dalam famili Arecaceae adalah tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.).

Tanaman aren merupakan keluarga palma yang tumbuh subur di wilayah tropis. Persebaran tanaman aren secara alami di negara-negara kepulauan bagian tenggara, antara lain Malaysia, India, Myanmar, Laos, Vietnam, Kepulauan Ryukyu, Taiwan, dan Philipina (Hadi 1991). Di Indonesia, tanaman aren tersebar hampir di seluruh wilayah Nusantara, khususnya di daerah-daerah perbukitan yang lembap (Sunanto 1993), dan tumbuh secara individu maupun secara berkelompok (Alam & Suhartati 2000). Tanaman ini tumbuh liar di berbagai macam kondisi tanah, baik tanah berlempung, berkapur, maupun berpasir, namun tidak dapat tumbuh pada tanah yang kadar asamnya terlalu tinggi. Aren dapat tumbuh dan berproduksi secara optimal pada ketinggian >1.200 meter di atas permukaan laut dengan suhu udara rata-

rata 25°C, di luar itu tanaman ini dapat tumbuh, namun kurang optimal dalam bereproduksi.

Ganoderma merupakan kapang patogen yang dapat menyebabkan pembusukan pada kayu sehingga kapang ini mengakibatkan matinya batang tanaman (Martinez *et al.* 1995). Kapang dari genus *Ganoderma* yang menyebabkan penyakit pada tanaman dari famili Aracaceae lainnya, seperti kelapa sawit di antaranya, yaitu *Ganoderma boninense* (Mercière *et al.* 2015). *Ganoderma boninense* umumnya ditemukan pada tanaman famili Palmaceae di daerah Asia dan Oceania (Steyaert 1967). Penyakit yang disebabkan oleh *G. boninense* adalah *Basal Stem Rot* (BSR) atau busuk pangkal batang. Penyakit ini merupakan ancaman utama bagi produksi kelapa sawit, khususnya di Asia Tenggara (Pilotti 2005).

Penyakit busuk akar merupakan penyakit yang merugikan meskipun berada dalam keadaan endemik. *Ganoderma* sp. menginfeksi pada jaringan akar tanaman yang kemudian tumbuh dan berkembang di buah. Tanda tanaman yang terserang tampak pada akar yang terinfeksi, yaitu adanya miselium berwarna krem yang selanjutnya berubah menjadi merah sampai kehitaman. Miselium berwarna putih ditemukan pada bagian dalam akar yang terinfeksi dan mempunyai bau yang spesifik (Mohammed 2006). Miselium ini akan meluas membentuk selaput-selaput tebal berwarna merah (rhizomorf) yang akan tampak jelas jika dibasahi air (Aciar 2008). Berdasarkan penelitian Ho dan Khairudin (1995) yang dilakukan di dalam rumah kaca, tanaman yang terserang *Ganoderma* sp. menunjukkan gejala awal berupa munculnya klorosis atau garis-garis pada daun tertua diikuti dengan nekrosis daun. Secara mikroskopis gejala internal akar yang sakit berubah warna dari putih menjadi cokelat. Pengendalian alternatif yang bisa dilakukan dengan menggunakan Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) sebagai mikroorganisme antagonis. Salah satu faktor yang memengaruhi keberhasilan simbiosisnya adalah jenis FMA dan tanaman inang (Sulistyono *et al.* 1999).

Berbagai upaya pencegahan untuk mengurangi tingkat keparahan serangan *Ganoderma* telah banyak dilakukan. Aplikasi fungisida, penerapan biokontrol melalui aplikasi bakteri PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), mikoriza, dan *Trichoderma* spp. (Izzati & Abdullah 2008). Pengendalian penyakit *Basal Stem Rot* menggunakan mikroorganisme telah dilakukan pada penelitian Musa *et al.* (2018) menggunakan kapang dari genus *Trichoderma* dan menunjukkan bahwa kapang tersebut mampu mengontrol pertumbuhan *G. boninense*. Akan tetapi, penggunaan kapang *Trichoderma* sp. memiliki satu kendala, yaitu memakan waktu yang terlalu lama dalam penanggulangan bahaya penyakit akibat *Ganoderma* sp.

Pada saat ini masih perlu dilakukan penelitian dalam upaya pengendalian *Ganoderma* dengan cepat dan tepat. Salah satu alternatif adalah penggunaan kapang endofit, yaitu *Dark Septate Endophyte* (DSE).

Surono & Narisawa (2017) memberi laporan bahwa kapang DSE mampu berperan dalam pengendalian penyakit pada tanaman. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE) yang diisolasi dari akar tanaman aren dan mengetahui kemampuan kapang DSE asal akar tanaman aren dalam menghambat pertumbuhan kapang patogen *Ganoderma* sp.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah sampel akar tanaman aren, isolat kapang *Ganoderma* sp. yang diperoleh dari PT Perkebunan Nusantara VIII, Kebun Cimulang, Bogor, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) 39 g/L, Tween 20 0,005%, alkohol 70%, klorox 1%, akuades steril, chloramphenicol 2 mg/L, dan spiritus.

Isolasi Kapang DSE dari Akar Tanaman Aren (*Arenga pinnata* Merr.)

Sampel jaringan akar tanaman sehat diambil dari Hutan Wisata Alam Kaliurang, Yogyakarta. Pengambilan sampel dilakukan dengan pemilihan lokasi dengan *purposive sampling*. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi. Isolasi kapang DSE dilakukan berdasarkan Surono & Narisawa (2017) dengan modifikasi. Isolasi dilakukan dengan dua tahapan, yakni sterilisasi permukaan akar dan inkubasi. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan mencuci sampel akar menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan disterilkan menggunakan klorox 1% selama 3 menit lalu akar dipotong sekitar 10 mm. Potongan akar dicuci dengan alkohol 70% sebanyak tiga kali selama 3 menit dan larutan 0,005% Tween 20 sebanyak satu kali selama 3 menit kemudian dibilas sebanyak tiga kali menggunakan akuades steril. Selanjutnya potongan akar dikeringkan dengan tisu steril selama 3 menit. Potongan akar steril diinkubasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) selama 7 hari pada suhu 24°C dalam kondisi gelap. Koloni kapang berwarna gelap yang tumbuh dari jaringan tanaman selanjutnya dipindahkan ke media PDA lalu diinkubasi kembali pada suhu 27°C.

Pemurnian Kapang DSE

Kapang DSE yang tumbuh kemudian dimurnikan ke dalam media PDA dengan cara hifa kapang diinokulasi dengan menggunakan jarum tanam pada media PDA secara aseptis. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 27°C. Setiap koloni kapang DSE yang berbeda dipindahkan ke dalam cawan petri berisi media PDA lainnya hingga diperoleh isolat murni. Setiap isolat kapang dibuat dua kali ulangan, satu untuk *working culture* dan yang lain untuk *stock culture*.

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Selama masa tersebut dilakukan pengamatan tingkat pertumbuhan kapang DSE. Jika kapang DSE telah menunjukkan adanya sifat morfologi, kapang dapat dipindahkan ke media PDA yang baru untuk memperoleh isolat murni dan dilakukan pengamatan secara mikroskopis dan makroskopis. Pengamatan makroskopis meliputi warna, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, dan warna balik koloni (Sukmawati *et al.* 2018b). Pengamatan mikroskopis DSE kapang dilakukan dengan membuat preparat pada *object glass*. Pembuatan preparat dilakukan dengan menggoreskan biakan kapang pada alkohol 70% dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan mikroskopis kapang meliputi bentuk septat dan mikroskleretia.

Uji Antagonis Kapang DSE pada *Ganoderma* sp.

Uji antagonis dengan metode biakan ganda (*dual culture*) antara kapang DSE dan *Ganoderma* sp. dilakukan berdasarkan Amaria *et al.* (2013). Media yang digunakan adalah media PDA yang diberi antibiotik chloramphenicol (2 mg/L). Isolat kapang *Ganoderma* dan kapang DSE diinokulasi menggunakan sedotan steril berukuran ± 6,72 mm pada media PDA dengan jarak antarkapang 3 cm. Inkubasi dilakukan pada suhu 27°C dan pengambilan data dilakukan pada hari ke-7. Kontrol pada penelitian ini ialah *Ganoderma* sp. tanpa perlakuan. Persentase penghambatan kapang DSE pada kapang *Ganoderma* dihitung menggunakan rumus berdasarkan Surono dan Narisawa (2018).

$$\text{Persentase penghambatan (\%)} = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

R1 = Jari-jari koloni patogen kontrol

R2 = Jari-jari koloni patogen dengan perlakuan

Tingkat penghambatan kapang DSE pada kapang *Ganoderma* berdasarkan persentase dibagi menjadi empat skala dari 0 hingga 4, yaitu:

0 = tidak ada aktivitas penghambatan

1 = 1–25% penghambatan

2 = 26–50% penghambatan

3 = 51–75% penghambatan

4 = 76–100% penghambatan (Živković *et al.* 2010).

Uji Senyawa Volatil Kapang DSE

Uji senyawa volatil dilakukan berdasarkan Raza *et al.* (2015) dengan menggunakan dua cawan petri dengan ukuran diameter seragam. DSE dengan usia 3 hari inkubasi diinokulasikan pada media PDA kemudian ditutup dengan cawan petri yang telah diinokulasikan *Ganoderma* sp. usia 3 hari inkubasi. Cawan petri kemudian direkatkan menggunakan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 27°C. Kontrol berupa *Ganoderma* sp. tanpa

perlakuan. Persentase penghambatan DSE pada *Ganoderma* sp. dihitung menggunakan rumus:

$$PI = (\phi K - \phi P) / (\phi K) \times 100\%$$

Keterangan:

PI = Persentase penghambatan (%)

ϕK = Diameter *Ganoderma* sp. kontrol

ϕP = Diameter *Ganoderma* sp dengan perlakuan

Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif berupa karakteristik kapang secara makroskopik dan mikroskopik. Data kuantitatif berupa persentase penghambatan kapang DSE pada kapang *Ganoderma* pada uji antagonis dan uji senyawa volatil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi kapang DSE dari akar tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.)

Sampel berupa akar tanaman aren diambil dari enam pohon yang memiliki tinggi pohon berkisar antara 0,5 m–2 m (umur 0,5–1 tahun) di wilayah

Telaga Muncar, Kaliurang, Yogyakarta. Titik pengambilan enam sampel akar tanaman aren diilustrasikan seperti pada Gambar 1. Data sekunder berupa tinggi pohon, pH tanah, dan kemiringan pohon disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan data sekunder diketahui bahwa pohon aren memiliki pH tanah yang seragam, yaitu 7 dan memiliki kemiringan pohon berkisar antara 75°–90°.

Hasil isolasi kapang DSE menunjukkan bahwa pada pohon aren 1 dan pohon aren 2 tidak terdapat pertumbuhan kapang DSE, sedangkan pada pohon aren lainnya terdapat kapang DSE. Hal ini disebabkan karena sampel akar yang berasal pohon aren 1 dan pohon aren 2 memiliki substrat berupa tanah berpasir yang sangat kering sehingga dapat menyebabkan kadar air yang terkandung pada akar tanaman sedikit dan menyebabkan kapang DSE tidak dapat berkolonisasi dengan akar tanaman tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian Li *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa terdapat kapang DSE yang tidak mampu tumbuh pada substrat yang terlalu kering.

Sebanyak 17 isolat kapang DSE berhasil diisolasi dari akar tanaman aren yang berasal dari empat pohon yang berbeda sebagaimana disajikan pada Tabel 2. Semua isolat yang tumbuh memiliki warna hifa yang berbeda-beda, yaitu hitam, putih, hijau



Gambar 1 Titik pengambilan sampel akar tanaman aren di Taman Nasional Gunung Merapi, Yogyakarta.

Tabel 1 Tinggi pohon, pH tanah, dan kemiringan pohon aren yang diambil sampel akarnya untuk diisolasi kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE)-nya

Sampel	Tinggi pohon (m)	pH tanah	Kemiringan pohon (°)
Pohon 1	1,50	7	75,0
Pohon 2	0,65	7	83,7
Pohon 3	1,20	7	85,6
Pohon 4	0,80	7	84,5
Pohon 5	0,88	7	87,9
Pohon 6	1,60	7	89,5

kehitaman, abu-abu kehitaman, coklat, dan krem. Pada pohon 1 dan pohon 2 tidak terlihat adanya pertumbuhan DSE (Tabel 2).

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Kapang DSE yang telah murni dilakukan pengamatan berdasarkan karakteristik morfologi secara makroskopik dan mikroskopik. Karakteristik morfologi yang diamati secara makroskopik berupa warna, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, dan warna balik koloni (Tabel 3). Sebanyak 17 isolat kapang DSE dikelompokkan secara morfologi berdasarkan karakteristik warna koloni sehingga didapatkan 10 jenis warna yang

berbeda di mana kapang DSE berwarna *warm grey III* memiliki persentase tertinggi sebesar 23,5% (Tabel 4). Sebanyak 88,23% kapang DSE yang didapatkan memiliki karakteristik morfologi lainnya berupa zonasi, 82,35% memiliki karakteristik *growing zone*, 23,52% memiliki *radial furrow*, dan 41,17% memiliki *exudate drop* (Tabel 3). Karakteristik mikroskopik DSE yang diamati berupa jenis hifa dan mikrosklerotia. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa DSE memiliki hifa yang bersekat (Gambar 2).

Sebanyak 17 kapang DSE didapatkan dari akar tanaman aren yang kemudian dikelompokkan berdasarkan kesamaan karakteristik morfologi berupa warna koloni sehingga didapatkan 10 kapang DSE

Tabel 2 Hasil isolasi kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE) dari akar tanaman aren yang ditumbuhkan pada media PDA dan diinkubasi selama 7 hari dalam kotak gelap

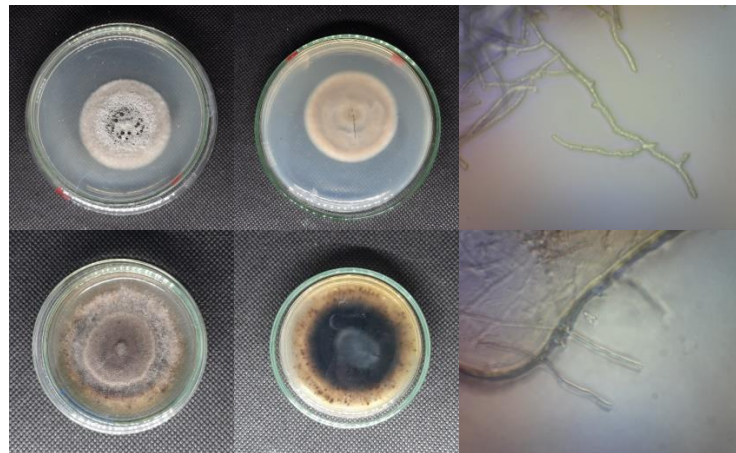
Asal isolat kapang	Kode isolat
Pohon 1	-
Pohon 2	-
Pohon 3	A3.1, A3.2, A3.3, A3.4, A3.5, A3.6
Pohon 4	A4.1, A4.2
Pohon 5	A5.1, A5.2, A5.3, A5.4, A5.5, A5.6
Pohon 6	A6.1, A6.2, A6.4

Tabel 3 Isolat kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE) asal akar tanaman aren berdasarkan karakteristik makroskopik pada media PDA yang diinkubasi selama 14 hari pada suhu 28°C

Pohon	Isolat	Warna koloni	Warna sebalik koloni	Exudate drop	Radial furrow	Growing zone	Zonasi
1	-						
2	-						
3	A.3.1 (1)	light flash	light orange	-	√	√	√
	A.3.1 (2)	light flash	light orange	-	√	√	√
	A.3.2 (2)	warm grey IV	warm grey V	-	-	-	√
	A.3.2 (3)	warm grey IV	nougat	-	-	-	-
4	A.4.1 (1)	payne's grey	dark sepia	-	√	√	√
	A.4.1 (2)	payne's grey	dark sepia	-	√	√	√
	A.4.1 (3)	nougat	dark sepia	-	-	√	√
	A.4.2	vandyck brown	dark sepia	-	-	√	√
5	A.5.1	warm grey I	copper	√	-	√	√
	A.5.2	warm grey I	copper	√	-	√	√
	A.5.3	warm grey III	copper	√	-	√	√
	A.5.4	warm grey III	copper	√	-	√	√
	A.5.5	warm grey III	copper	√	-	√	√
	A.5.6	warm grey III	copper	√	-	√	√
6	A.6.1 (a)	bistre	sepia light	-	-	√	√
	A.6.2 (a)	dark sepia	sepia light	-	-	-	-
	A.6.4 (a)	Cold grey I	warm grey 5	√	-	√	√

Tabel 4 Persentase kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE) berdasarkan karakteristik morfologi berupa warna permukaan koloni

Pohon	Warna									
	Light flash	Warm grey I	Warm grey III	Warm grey IV	Payne's grey	Nougat	vandyck brown	Bistre	Dark sepia	Could grey
1										
2										
3	2			2						
4					2	1	1			
5		2	4							
6								1	1	1
Total	2 (11,8%)	2 (11,8%)	4 (23,5%)	2 (11,8%)	2 (11,8%)	1 (5,8%)	2 (5,8%)	3 (5,8%)	4 (5,8%)	5 (5,8%)



Gambar 2 Pengamatan koloni kapang *Dark Septate Endophyte* (DSE) pada media PDA yang diinkubasi selama 14 hari pada suhu 27°C. Isolat kapang DSE A5.5 (atas) dan isolat kapang DSE A4.2 (bawah).

Tabel 5 Daya hambat kapang DSE antagonis pada kapang patogen *Ganoderma* sp. pada media PDA, inkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C

Kode isolat	Rata-rata persentase penghambatan (%)
A4.1(2)	36,12
A4.1 (3)	35,12
A4.2	30,62
A5.2	29,29
A6.4	28,75
A5.5	25,00
A6.2	15,65
A6.1	-0,16

dengan warna yang berbeda-beda di mana kapang DSE berwarna *warm grey* III memiliki persentase tertinggi sebesar 23,5% (Tabel 4). Hal ini sesuai dengan penelitian Knapp *et al.* (2015) bahwa kapang DSE diketahui memiliki ciri khusus, yaitu hifa melanin yang menyebabkan terbentuknya koloni dengan warna gelap. Sebanyak 88,23% kapang DSE yang didapatkan memiliki karakteristik morfologi lainnya berupa zonasi, 82,35% memiliki karakteristik *growing zone*, 23,52 memiliki *radial furrow*, dan 41,17% memiliki *exudate drop* (Tabel 3). Hal ini sesuai dengan penelitian Surono dan Narisawa, (2017) yang mendapatkan kapang DSE *Phialocephala fortinii* dengan ciri-ciri warna koloni gelap, memiliki zonasi, dan *growing zone*. Pada pengamatan mikroskopik, kapang DSE terlihat bahwa kapang yang diamati memiliki hifa bersekat (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan karakteristik DSE yang dapat diamati dengan adanya hifa bersekat (Jumpponen & Trappe 1998), dan memiliki mikroskleretia (Gomes 2017).

Sebanyak 10 isolat kapang DSE digunakan untuk melakukan pengujian dalam menghambat pertumbuhan kapang *Ganoderma* sp. dengan 2 tahap, yaitu uji antagonis dan uji senyawa volatil, namun sebanyak 2 isolat kapang DSE mengalami kontaminasi sehingga total kapang DSE yang dilakukan pengujian berikutnya berjumlah 8 isolat dengan kode isolat A4.1(2), A4.1(3), A4.2, A5.2, A5.5, A6.2, A6.1, dan A6.4.

Uji Antagonis Kapang DSE pada *Ganoderma* sp.

Pengujian antagonis dilakukan dengan menggunakan delapan isolat kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp. Hasil menunjukkan bahwa tujuh isolat DSE memiliki daya hambat yang berbeda-beda sementara satu isolat tidak dapat menghambat pertumbuhan kapang patogen *Ganoderma* sp. (Tabel 5). Isolat kapang DSE A4.1(2) menunjukkan persentase daya hambat tertinggi sebesar 36,12%, diikuti dengan isolat kapang DSE A4.1(3) sebesar 35,12%. Isolat kapang DSE A6.2 memiliki persentase daya hambat terendah dengan nilai 15,65% (Gambar 3).

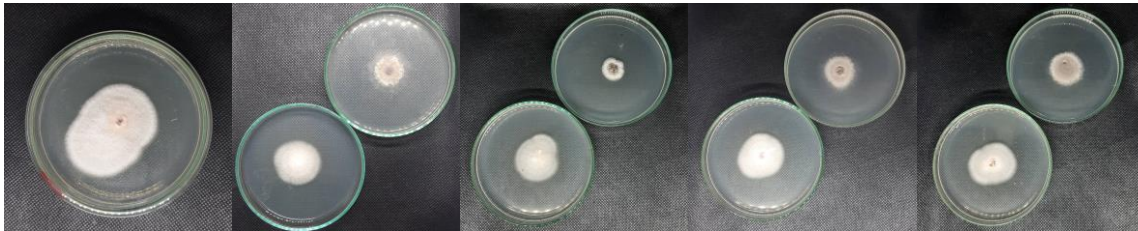
Uji Senyawa Volatil Kapang DSE

Pengujian senyawa volatil dilakukan menggunakan delapan isolat kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp. Hasil menunjukkan bahwa isolat kapang DSE A4.2 memiliki persentase daya hambat tertinggi sebesar 18,25% diikuti dengan isolat A6.4 dengan nilai 13,51%. Persentase penghambatan terendah diperoleh pada isolat kapang DSE A5.2 dengan nilai 0,43%.

Berdasarkan hasil uji antagonis kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp. terdapat 7 isolat DSE yang memiliki variasi persentase penghambatan (Gambar 4). Persentase penghambatan tertinggi terdapat pada isolat A4.1(2) sebesar 36,12%, diikuti dengan isolat kapang DSE A4.1(3) sebesar 35,12%.



Gambar 3 Hasil uji antagonis kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp., kontrol (tanpa DSE) (a); isolat A4.1(2) (b); isolat A4.1(3) (c); isolat A4.2 (d); dan isolat A5.2 (e).



Gambar 4 Hasil uji volatil kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp., kontrol (tanpa DSE) (a); isolat A.4.2 (b); isolat A6.4 (c); isolat A4.1(2) (d); dan isolat A4.1(3) (e).

Isolat kapang DSE A6.2 memiliki persentase daya hambat terendah dengan nilai 15,65% (Tabel 5). Isolat kapang DSE memiliki lebih dari satu mekanisme antagonis dalam menghambat pertumbuhan patogen meliputi kompetisi ruang dan nutrisi, serta memproduksi senyawa aktif biologis yang dapat menghambat pertumbuhan patogen (Castillo *et al.* 2002; Compant *et al.* 2005). Kompetisi adalah mekanisme yang terjadi antara dua atau lebih mikroorganisme yang menggunakan atau memperebutkan nutrisi (karbon dan nitrogen) atau sumber mineral yang sama, maupun menempati habitat atau inang yang sama (Trigiano *et al.* 2008). Berdasarkan penelitian sebelumnya, kapang *Trichoderma*, *Verticillium*, *Torulomyces*, dan *Lentinus cladopus* LC4 memiliki potensi antagonistik pada kapang patogen *Ganoderma boninense* (Angraini 2017).

Tahap selanjutnya dilakukan pengujian senyawa volatil kapang DSE pada pertumbuhan Kapang *Ganoderma* sp. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat kapang DSE A4.2 mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. setelah inkubasi selama 3 hari dengan nilai 18,25%, diikuti dengan isolat A6.4 dengan nilai 13,51%. Persentase penghambatan terendah diperoleh dari isolat kapang DSE A5.2 dengan nilai 0,43% (Tabel 6). Menurut Wheatley (2002) kapang DSE dapat menghasilkan *volatile organic compound* (VOC) yang merupakan molekul rendah karbon yang dapat menguap dengan mudah pada suhu dan tekanan normal dan memiliki fungsi sebagai antimikrob. Mikroorganisme yang diketahui dapat menghasilkan VOC adalah dari genus *Trichoderma* yang mampu mengkolonisasi akar tanaman inangnya. Efek kolonisasi *Trichoderma* adalah mampu meningkatkan resistansi tanaman inangnya dan menghambat pertumbuhan kapang patogen (Raza *et al.* 2015). Contoh VOC yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma* adalah *salicylic acid* (SA) dan *abscisic acid* (ABA) (Lim *et al.* 2015).

Isolat kapang DSE memiliki lebih dari satu mekanisme antagonis dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang meliputi produksi senyawa allelokimia untuk menghambat patogen, menginduksi ketahanan sistemik (ISR) tanaman inang, dan kompetisi ruang dan nutrisi (Compant *et al.* 2005). Hal ini sesuai dengan Agrios (2005) yang melaporkan bahwa mekanisme biokontrol adalah melemahkan maupun membunuh mikroorganisme patogen pada tanaman dengan perlawanan, yaitu memparasit patogen secara langsung, memproduksi antibiotik (toksin), dan kompetisi ruang dan nutrisi. Kapang *Trichoderma* sp. yang telah banyak diteliti yang memiliki hubungan simbiosis dengan tanaman aren. Beberapa hasil penelitian terkait hal tersebut antara lain kapang *Trichoderma harzianum* sebagai salah satu agens biokontrol terhadap *R. microporus* (Jayasuriya & Thennakoon, 2007). Selain itu juga, kapang *T. koningii* dan *T. viridae* telah diformulasikan dalam suatu biofungisida di Indonesia (Setyawan *et al.* 2013).

Kapang endofit memiliki mekanisme untuk melindungi tanaman dari serangan mikroorganisme patogen yang terjadi baik secara langsung maupun tidak langsung. Induksi cendawan endofit dapat menstimulasi tanaman untuk mensintesis metabolit sekunder asam salisilat, asam jasmonat, dan etilen yang berfungsi untuk menangkal serangan patogen maupun berperan sebagai antimikrob, seperti fitoaleksin (Gao *et al.* 2010).

KESIMPULAN

Sebanyak 17 isolat kapang DSE berhasil diisolasi dari akar tanaman aren (*Arenga pinnata* Merr.) di Taman Nasional Gunung Merapi, Yogyakarta. Isolat kapang DSE dikelompokkan secara morfologi berdasarkan karakteristik warna koloni sehingga

Tabel 6 Daya hambat senyawa volatil kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp. pada media PDA, inkubasi selama 7 hari pada suhu 28°C

Kode isolat	Rata-rata persentase penghambatan (%)
A4.2	18,25
A6.4	13,51
A4.1(2)	12,69
A4.1(3)	11,64
A6.2	9,67
A5.5	2,77
A5.2	0,43
A6.1	-0,52

didapatkan 10 jenis warna yang berbeda di mana kapang DSE berwarna *warm grey* III memiliki persentase tertinggi sebesar 23,5%. Hasil uji antagonis kapang DSE pada kapang patogen *Ganoderma* sp. menunjukkan bahwa persentase penghambatan tertinggi terdapat pada isolat A4.1(2) sebesar 36,12% dan persentase penghambatan terendah terdapat pada isolat kapang DSE A6.2 dengan nilai 15,65%. Hasil pengujian senyawa volatil menunjukkan bahwa isolat kapang DSE A4.2 mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. dengan persentase tertinggi sebesar 18,25% dan persentase penghambatan terendah diperoleh dari isolat kapang DSE A5.2 dengan nilai 0,43%. Dapat disimpulkan bahwa kapang DSE yang memiliki kemampuan antagonis pada *Ganoderma* sp. juga memiliki kemampuan menghasilkan senyawa volatil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Hibah ini di danai oleh sumber dana BLU LPPM tahun 2023, Penelitian Kolaboratif Internasional dengan judul "Dark Septate Endofit: Its Potential as Immunity Agent for Health" tahun 2023 atas nama Dalia Sukmawati.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. *Plant pathology*. Fifth Edition. USA (US): Elsevier Academic Press.
- Amaria W, Harni R, Samsudin S. 2015. Evaluasi Kapang Antagonis dalam Menghambat Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* Penyebab Penyakit Kapang Akar Putih pada Tanaman Karet. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*. 2(1): 51. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v2n1.2015.p51-60>
- Amaria W, Taufiq E, Harni R. 2013. Seleksi dan Identifikasi Kapang Antagonis Sebagai Agens Hayati Kapang Akar Putih *Rigidoporus microporus* pada Tanaman Karet. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar-Journal of Industrial and Beverages Crops Research*. 4(1): 55–64. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v4n1.2013.p55-64>
- Angraini E. 2017. Uji Antagonisme *Lentinus cladopus* LC4 terhadap *Ganoderma boninense* Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Kelapa Sawit. *Biosfera*. 34(3): 144. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2017.34.3.512>
- Balandreau J, Lyon CB, Lyon CB. 2001. Effects of Rice Seed Surface Sterilization with Hypochlorite on Inoculated *Burkholderia vietnamiensis*. *Microsoft Research*. 67(7): 3046–3052. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3046-3052.2001>
- Caldwell BA, Jumpponen A, Trappe JM. 2000. Mycological Society of America Utilization of major detrital substrates by dark-septate, root endophytes. *Mycologia*. 92(2): 230–232. <https://doi.org/10.2307/3761555>
- Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, Hess WM, Porter H, Jensen JB, Yaver D. 2002. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigriscans*. *Microbiology*. 148(9): 2675–2685. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-9-2675>
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Christophe, C., & Barka, Ait, E. 2005. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(9): 1–68. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Dellanerra D, Risandi A, Sunari A, Sukmawati D, Al Husna SN, El-Enshasy HA. 2019. Screening and characterization of amylolytic mold originated from ghost crab (*Ocypode* sp.) in Cidaon, Ujung Kulon National Park, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*, 2120: 070008. <https://doi.org/10.1063/1.5115725>
- Fernando AA, Currah RS. 1996. A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium orchidicola* and *Phialocephala fortinii* (Fungi Imperfecti) on the growth of some subalpine plants in culture. *Canadian Journal of Botany*. 74(7): 1071–1078. <https://doi.org/10.1139/b96-131>
- Furrazola E, Sánchez-Rendón JA, Guadarrama P, Pernús M, & Torres-Arias Y. 2020. Mycorrhizal status of *Coccothrinax crinita* (Arecaceae), an endangered endemic species from western Cuba. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 91.

- <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3048>
- Gao FK, Dai CC, Liu XZ. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 4(13): 1346–1351.
- Haselwandter K. 1983. Pectic enzymes produced by fungal root associates of alpine plants. *Phyton: Annales Rei Botanicae*. 23(1): 55–64.
- Husen F, Hernayanti H, Ekowati N, Sukmawati D, Ratnaningtyas NI. 2021. Antidiabetic Effects and Antioxidant Properties of the Saggy Ink Cap Medicinal Mushroom, *Coprinus comatus* (Agaricomycetes), in Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 23(10): 9–21. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2021040020>
- Jayasuriya KE, Thennakoon BI. 2007. Biological control of *Rigidoporus microporus*, the cause of white root disease in rubber. *Biology, Environmental Science*. 36(1): 9–16.
- Jumpponen A. 2001. Dark septate endophytes—Are they mycorrhizal?. *Mycorrhiza*. 11(4): 207–211. <https://doi.org/10.1007/s005720100112>
- Lempang M. 2012. Pohon Aren dan Manfaat Produksinya. *Info Teknis EBONI*. 9(1): 37–54. <https://doi.org/10.18330/jwallacea.2012.vol1iss1p26-35>
- Li X, He X, Hou L, Ren Y, Wang S, Su F. 2018. Dark septate endophytes isolated from a xerophyte plant promote the growth of *Ammopiptanthus mongolicus* under drought condition. *Scientific Reports*. 8(1): 26–28. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26183-0>
- Lim CW, Baek W, Jung J, Kim JH, Lee SC. 2015. Function of ABA in stomatal defense against biotic and drought stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(7): 15251–15270. <https://doi.org/10.3390/ijms160715251>
- Pilotti CA. 2005. Stem rots of oil palm caused by *Ganoderma boninense*: Pathogen biology and epidemiology. *Mycopathologia*. 159(1): 129–137. <https://doi.org/10.1007/s11046-004-4435-3>
- Raza W, Yuan J, Ling N, Huang Q, Shen Q. 2015. Production of volatile organic compounds by an antagonistic strain *Paenibacillus polymyxa* WR-2 in the presence of root exudates and organic fertilizer and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biological Control*. 80: 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.09.004>
- Setyawan B, Pawirosoemardjo S, Hadi H. 2013. Trichoderma-based biofungicide “TRIKO COMBI” as a control method against white root disease on hevea rubber. *Warta Perkaratan*. 32(2): 83–94. <https://doi.org/10.22302/ppk.wp.v32i2.40>
- Sukmawati D, Setyaningsih A, Kurniati TH, Rahayu S, Rustam Y, Moersilah M, Wahyudi P, Al Husna SN. 2018a. Isolation and characterization of aflatoxigenic *Aspergillus* spp. from maize of livestock feed from Bogor. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 434(2018). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/434/1/012105>
- Sukmawati D, Wahyudi P, Rahayu S, Moersilah M, Handayani T, Rustam KY, Puspitasari SI. 2018b. Skrining Kapang *Aspergillus* spp. Penghasil Aflatoksin Pada Jagung Pipilan di Daerah Bekasi, Jawa Barat. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*. 11(2): 151–162. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v11i2.6961>
- Sukmawati D, Arman Z, Sondana GA, Fikriyah NN, Hasanah R, Afifah ZN, Balqis M, El-Enshasy H, Al Husna SN, Rahayu S, Kurniati TH, Puspitaningrum R. 2019. Potential amylase-producing yeast isolated from indigenous fermented beverages originating from Bali, Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*. 1402(5): 055021. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/5/055021>
- Surono, Narisawa K. 2017. The dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* is a potential decomposer of soil organic compounds and a promoter of *Asparagus officinalis* growth. *Fungal Ecology Journal*. 28: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.04.001>
- Surono, Narisawa K. 2018. The inhibitory role of dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* against *Fusarium* disease on the *Asparagus officinalis* growth in organic source conditions. *Biological Control*. 121: 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.02.017>
- Wheatley RE. 2002. The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 81(1–4): 357–364. <https://doi.org/10.1023/A:1020592802234>
- Živković S, Stojanovic S, Ivanovic Z, Gavrilovic V, Popovic T, & Balaz J. 2010. Screening of Antagonistic Activity of Microorganisms Against *Colleotrichum acutatum* and *Colleotrichum gleoeosporioides*. *Archives of Biological Sciences Belgrade*, 62(3): 611–623. <https://doi.org/10.2298/ABS1003611Z>