

Mekanisme Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jeruk oleh Khamir, Kitosan, Cendawan Mikoriza Arbuskular, dan Bakteri Simbiotiknya

Control Mechanism of Citrus Stem Rot Disease by Yeast, Chitosan, Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Its Symbiotic Bacteria

Hagia Sophia Khairani, Meity Suradji Sinaga*, Kikin Hamzah Mutaqin
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Produktivitas tanaman jeruk seringkali dibatasi oleh penyakit tanaman. Di Indonesia, penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Botryodiplodia theobromae* menjadi penyakit penting yang menyebabkan tanaman jeruk mati meranggas. Penelitian dilakukan untuk mempelajari mekanisme pengendalian *B. theobromae* oleh khamir, cendawan mikoriza arbuskular (CMA), bakteri simbiotik CMA dan kitosan. Uji *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi mekanisme antibiosis, hiperparasitisme, produksi senyawa volatil, dan produksi enzim kitinase. Percobaan dilanjutkan dengan pengujian *in planta* terhadap khamir, CMA, bakteri simbiotik CMA terpilih, dan kitosan baik secara tunggal maupun kombinasi. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan. Peubah yang diamati ialah periode laten, insidensi dan keparahan penyakit, laju infeksi, *area under disease progress curve* (AUDPC), tingkat asosiasi CMA, dan kandungan fenol total. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa khamir mempunyai aktivitas hiperparasitisme pada *B. theobromae* dengan afinitas 26 sel per hifa, memproduksi senyawa volatil dengan tingkat hambatan relatif (THR) 29.1%, dan memproduksi enzim kitinase. Isolat bakteri simbiotik CMA terbaik menunjukkan mekanisme antibiosis dengan THR 42.9% dan memproduksi senyawa volatil dengan THR 26.7%. Isolat ini memiliki homologi 98% dengan *Bacillus subtilis* asal Vietnam. Perlakuan khamir + CMA + kitosan memperlambat periode laten dan menekan insidensi penyakit. Perlakuan tunggal CMA dan kombinasi khamir + CMA menekan keparahan penyakit, laju infeksi, dan nilai AUDPC. Aplikasi khamir + CMA menunjukkan tingkat asosiasi CMA dan peningkatan kandungan fenol total paling tinggi. Berdasarkan hasil penelitian ini, perlakuan tunggal CMA dan khamir + CMA direkomendasikan dalam pengendalian penyakit busuk batang jeruk.

Kata kunci: antibiosis, *Botryodiplodia theobromae*, hiperparasitisme, kitinase

ABSTRACT

Plant diseases become an important constraint on citrus production. Stem rot disease caused by *Botryodiplodia theobromae* is a major disease on citrus in Indonesia. This study was aimed to evaluate the mechanism of yeast, arbuscular mycorrhiza fungi (AMF), symbiotic bacteria of AMF and chitosan in controlling stem rot disease. *In vitro* study was performed to evaluate the mechanism of antibiosis, hyperparasitism, production of volatile compounds, and production of chitinase enzyme. The experiment was continued by *in planta* assays using yeast, AMF, symbiotic bacteria of AMF, and chitosan either singly or in combination. The experiments were performed using completely randomized

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper Kampus IPB Darmaga Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: mssinaga@yahoo.com

design with 3 replications. Disease progress were observed based on its latent period, AUDPC, infection rate, AMF association rate, and total phenol content. *In vitro* studies indicated that the yeasts showed hyperparasitism to *B. theobromae* with affinity of 26 cells per hyphae, produced volatile compounds with relative resistance level (RRL) 29.1%, and produced chitinase. Selected symbiotic bacteria from AMF showed antibiosis with RRL 42.9%, production of volatile compounds with RRL 26.7%, and has 98% homology with *Bacillus subtilis* from Vietnam. Application of yeast + AMF + chitosan delayed disease latent period and suppressed disease incidence. Single AMF and combination of yeast + AMF suppressed disease severity, infection rate, and AUDPC. Application of yeast + AMF showed highest association level of AMF and total phenol content. Therefore, the application of AMF and yeast + AMF is recommended in controlling citrus stem rot disease.

Key words: antibiosis, *Botryodiplodia theobromae*, chitinase, hyperparasitism

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan buah unggulan di Indonesia yang produktivitasnya seringkali dibatasi oleh penyakit tanaman. Salamiah *et al.* (2008) dan Sinaga *et al.* (2009) melaporkan bahwa beberapa kebun di sentra produksi jeruk di Indonesia mengalami busuk batang gumosis dan mati meranggas yang disebabkan oleh *Botryodiplodia theobromae* sehingga menyebabkan penurunan produktivitas jeruk hingga 53.9%. Patogen ini memiliki kisaran inang lebih dari 280 spesies tanaman dan menyebabkan gejala nekrosis batang, diikuti dengan gumosis, busuk batang, mati pucuk, dan mati meranggas (Adeniyi *et al.* 2016).

Jeruk umumnya dibudidayakan melalui perbanyakan secara okulasi. Selama ini, kultivar jeruk yang digunakan untuk batang bawah ialah *Javansche citroen* (JC) yang dilaporkan mulai tidak resisten terhadap penyebab penyakit busuk batang (Muhammad *et al.* 2003). Selain *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp., agens hayati khamir dan cendawan mikoriza arbuskular (CMA) dapat dijadikan komponen pengendalian penyakit tanaman. Kitosan yang merupakan suatu biopolimer juga dilaporkan mampu mengendalikan patogen penyakit seperti cendawan, bakteri, dan virus (Hadrami *et al.* 2010).

Pengendalian penyakit tanaman oleh agens hayati dan kitosan dapat terjadi melalui mekanisme: kompetisi, hiperparasitisme, dan memicu tanaman untuk memproduksi enzim kitinase (Hartati *et al.* 2014). Bakhtiar (2013)

melaporkan bahwa CMA dapat meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap air dan hara, memicu produksi fitoaleksin dan berbagai enzim pertahanan tanaman, dan berasosiasi dengan bakteri nonpatogen. Algam *et al.* (2010) menyatakan bahwa selain dapat menghambat pertumbuhan patogen, kitosan juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman.

Potensi khamir, CMA dan bakteri simbiotik CMA, serta kitosan sudah banyak dievaluasi. Namun, informasi tentang mekanismenya mengendalikan *B. theobromae* pada tanaman jeruk belum banyak dilaporkan. Berkaitan dengan hal-hal tersebut, dilakukan studi yang bertujuan untuk mengevaluasi mekanisme pengendalian penyakit busuk batang jeruk oleh khamir, CMA, bakteri simbiotik CMA, dan kitosan.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan Isolat Patogen, Agens Hayati, dan Kitosan

Isolat uji *B. theobromae* asal Garut (BT Grt) merupakan koleksi Laboratorium Mikologi Tumbuhan, Fakultas Pertanian, IPB. Isolat diremajakan pada medium agar-agar dekstrosa kentang (ADK) dan agar-agar air (AA). Morfologi *B. theobromae* diamati berdasarkan pada perubahan warna koloni, karakter pertumbuhan, hifa, konidium, dan piknidium menggunakan mikroskop majemuk. Gejala infeksi penyakit busuk batang diamati pada tanaman yang diinokulasi *B. theobromae* di dalam rumah kaca.

Khamir dengan kode isolat YP diperoleh dari koleksi Klinik Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB. Isolat diremajakan pada medium ADK dan diinkubasi selama 48 jam. Isolat CMA diperoleh dalam bentuk produk komersial butiran siap pakai. Bakteri simbiotik CMA diperoleh dari inkubasi 0.5 g CMA pada medium *trypticase soya agar* (TSA) selama 24 jam. Isolat bakteri yang diperoleh diseleksi kemampuan antagonismenya secara *in vitro* untuk menentukan isolat yang digunakan pada pengujian *in planta*.

Bakteri simbiotik CMA diidentifikasi secara molekuler melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR) untuk target 16s rRNA dan dilanjutkan dengan perunut DNA (dilakukan di First Base, Malaysia). Primer yang digunakan ialah primer universal bakteri dengan primer *forward* 27 F (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') dan primer *reverse* 1492 R (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3').

Kitosan diperoleh dari Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB dalam bentuk serbuk. Sebanyak 0.7 g kitosan dicampurkan dengan 10 mL asam asetat 1% dan ditambahkan akuades sampai 1 L untuk menghasilkan larutan kitosan dengan konsentrasi 0.7%.

Evaluasi Mekanisme Antagonisme *in Vitro* Agens Hayati terhadap *B. theobromae*

Evaluasi hiperparasitisme, antibiosis, produksi senyawa volatil dan enzim kitinase disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan.

Hiperparasitisme. Khamir berumur 48 jam diinokulasikan di sekeliling medium AA blok berjarak 0.5 cm dari koloni *B. theobromae*. Inkubasi dilakukan selama 5 hari kemudian afinitas khamir diamati dengan menghitung jumlah sel khamir yang menempel pada hifa *B. theobromae* (Chan dan Tian 2005).

Antibiosis. Bakteri diinokulasikan pada bagian tengah medium TSA dan *B. theobromae* diinokulasi pada 2.5 cm sisi kanan dan kiri bakteri. Inkubasi dilakukan selama 2 hari. Tingkat hambatan relatif (THR) diukur menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{THR} = \frac{R_2 - R_1}{R_1} \times 100\%, \text{ dengan}$$

R_2 , jari-jari koloni *B. theobromae* yang menjauhi bakteri; R_1 , jari-jari koloni *B. theobromae* yang mendekati bakteri.

Produksi senyawa volatil. Isolat agens hayati diinokulasikan pada medium TSA pada dasar dan isolat *B. theobromae* diinokulasikan pada medium ADK bagian atas cawan. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 2 hari. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan antara *B. theobromae* pada perlakuan dan kontrol.

Produksi enzim kitinase. Koloni agens hayati diinokulasikan sebanyak 0.1 mL di atas kertas saring pada medium agar-agar koloidal kitin konsentrasi 0.4%. Produksi enzim kitinase ditandai dengan pembentukan zona bening di sekitar koloni.

Evaluasi Keefektifan Pengendalian *in Planta*

Bibit jeruk kultivar Siam Pontianak berumur 3 bulan, hasil okulasi dari Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropik, Malang, ditanam pada pot berisi tanah steril dan pupuk kandang (1:1) sebanyak 5 kg. Jeruk diberi perlakuan: (1) khamir 3.2×10^7 cfu mL⁻¹ 1 minggu sebelum inokulasi patogen (MSbI), (2) CMA 4 MSbI, (3) bakteri simbiotik CMA 6.0×10^6 cfu mL⁻¹ 1 MSbI, (4) kitosan 0.7% 2 MSbI, 2 dan 4 minggu setelah inokulasi (MSI), (5) khamir + CMA (6) CMA + kitosan, (7) khamir + kitosan, (8) khamir + CMA + kitosan, dan (9) kontrol. Setiap perlakuan diulang 3 kali dan masing-masing ulangan terdiri atas 3 unit tanaman.

Inokulasi buatan patogen dilakukan pada batang bawah jeruk, kulit batang jeruk dibilas dengan kloroks 0.5% kemudian dibilas dengan air steril. Biakan *B. theobromae* berumur 5 hari diinokulasikan pada 15 cm dari pangkal batang yang telah dilukai menggunakan jarum steril di 3 titik, lalu dibalut kapas steril basah.

Peubah pengamatan perkembangan penyakit meliputi: periode laten (PL), insidensi penyakit (IP), keparahan penyakit (KP), laju infeksi (r), *area under disease progress curve* (AUDPC), tingkat asosiasi

CMA, dan kandungan fenol total. Periode laten dihitung sejak inokulasi patogen sampai munculnya gejala. Insidensi penyakit dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{n}{N} \times 100\%, \text{ dengan}$$

n, jumlah tanaman yang terinfeksi; dan N, jumlah tanaman yang diamati. Pengukuran keparahan penyakit menggunakan rumus:

$$KP = \frac{\sum_{i=1}^k (n_i \times v_i)}{Z \times N} \times 100, \text{ dengan}$$

ni, jumlah tanaman terinfeksi pada skor ke-i; vi, nilai skor ke-i; N, jumlah tanaman yang diamati; dan V, skor tertinggi yang terdapat pada acuan skoring (Tabel 1). Laju infeksi (r) dan AUDPC dihitung dengan persamaan:

$$r = \frac{e}{t} \left(\log \frac{1}{1-X_t} - \log \frac{1}{1-X_0} \right)$$

$$AUDPC = \frac{(X_t - X_0)}{2} \cdot (t), \text{ dengan}$$

r, laju infeksi; e, nilai konstanta 2.3; t, selang waktu pengamatan; Xt, keparahan penyakit pada waktu-t; dan Xo, keparahan penyakit pada pengamatan sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada 6–15 minggu setelah inokulasi (MSI).

Pengukuran tingkat asosiasi CMA dilakukan berdasarkan metode Brundrett

(1991) dengan teknik pewarnaan akar menggunakan zat biru tripan. Analisis kuantitatif total fenol dilakukan mengikuti metode Slinkard dan Singleton (1977) menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu yang diawali dengan ekstraksi etanol dari tanaman.

Analisis Data

Pengaruh perlakuan uji *in vitro*, perkembangan penyakit *in planta*, dan tingkat asosiasi CMA dianalisis ragam dan perlakuan yang berpengaruh nyata diuji lanjut dengan DMRT pada α 0.05 menggunakan SAS 9.1.

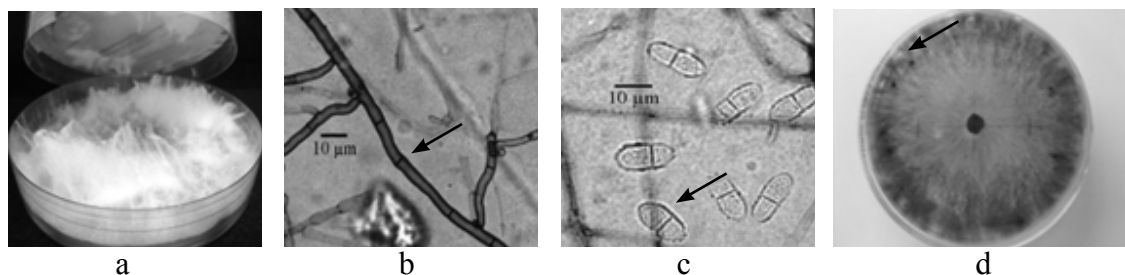
HASIL

Identifikasi Penyakit Busuk Batang pada Jeruk dan Bakteri Simbiotik CMA

Hasil diagnosis penyakit busuk batang jeruk menunjukkan bahwa *B. theobromae* (BT Grt) memiliki karakter koloni aerial, hifa berseptata, berwarna putih sampai pada hari ketiga kemudian menjadi warna abu-abu kehitaman mulai hari keempat. Piknidium ditemukan pada medium AA setelah hari ke-24. Konidium *B. theobromae* memiliki satu sekat dengan dinding agak bergerigi. Konidium dapat diamati setelah hari ke-30 (Gambar 1).

Tabel 1 Skoring penyakit busuk batang jeruk berdasarkan luas gejala

Skor	Luas gejala (cm ²)	Keterangan
0	0	Tidak terdapat gejala
1	0 < x < 2	Muncul nekrotik pada batang
2	2 ≤ x < 4	Mulai terbentuk gum
3	4 ≤ x < 6	Gum melingkari setengah diameter batang, daun gugur
4	> 6	Gum melingkari batang tanaman, tanaman mati meranggas



Gambar 1 Morfologi *Botryodiplodia theobromae* (BT Grt). a, Miselium aerial *B. theobromae* pada medium agar-agar dekstrosa kentang umur 4 HSI; b, Hifa berseptata; c, Konidium berseptata; d, Piknidium pada medium agar-agar air umur 24 hari.

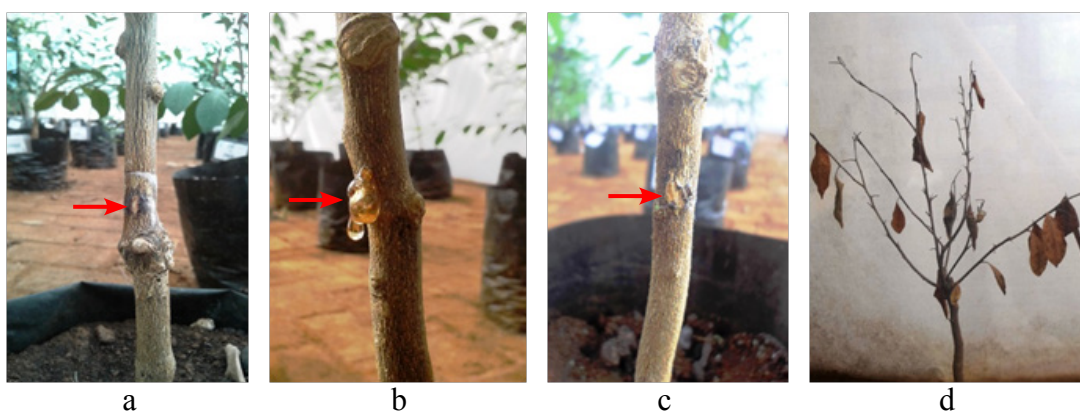
Tanaman jeruk yang diinokulasi buatan dengan *B. theobromae* menunjukkan gejala nekrosis, kulit batang terkelupas, muncul gum pada batang. Infeksi lanjut dari *B. theobromae* menunjukkan terhambatnya pembentukan daun baru, diikuti oleh penguningan daun-daun tua, layu, dan tanaman mati merangas secara keseluruhan (Gambar 2).

Berdasarkan karakter fisiologi dan hasil identifikasi secara molekuler, isolat bakteri simbiotik CMA (B2) terseleksi merupakan bakteri Gram positif, nonpatogen, dan

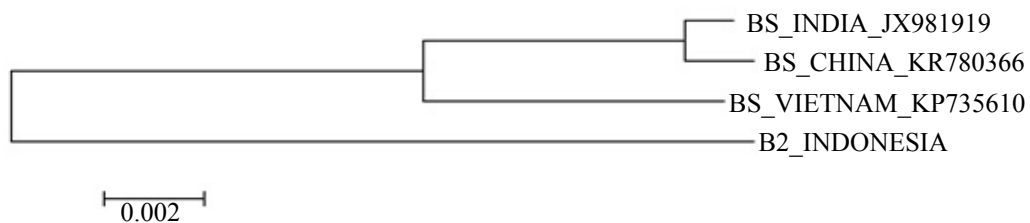
memiliki homologi 98% dengan *Bacillus subtilis* asal Vietnam (Gambar 3).

Mekanisme Antagonisme *in Vitro* Agens Hayati terhadap *B. theobromae*

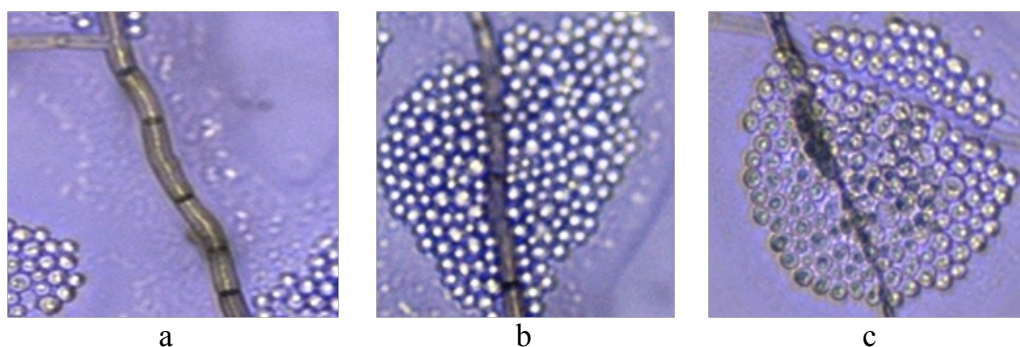
Berdasarkan pengujian, khamir dan bakteri simbiotik CMA menunjukkan berbagai mekanisme dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan *B. theobromae*. Uji hiperparasitisme menunjukkan bahwa khamir memiliki afinitas 26 sel dan menyebabkan abnormalitas pada hifa *B. theobromae*



Gambar 2 Gejala infeksi *Botryodiplodia theobromae* pada batang tanaman jeruk. a, Nekrosis; b, Gumosis; c, Terkelupasnya kulit batang; d, Tanaman merangas.



Gambar 3 Pohon filogenetika untuk isolat bakteri B2 dengan *Bacillus subtilis* asal Vietnam, Cina, dan India.



Gambar 4 Interaksi antara khamir (YP) dan *Botryodiplodia theobromae* (BT Grt) (perbesaran 400x). a, Hifa *B. theobromae* yang tidak terparasit; b, Sel-sel khamir mulai menempel pada hifa *B. theobromae*; c, Hifa *B. theobromae* abnormal setelah diparasiti oleh khamir.

(Gambar 4). Uji antibiosis menunjukkan bahwa *B. subtilis* memiliki THR sebesar 42.9%. Produksi senyawa volatil ditunjukkan dari THR 29.1% (khamir) dan 26.7% (*B. subtilis*). Khamir (YP) dan *B. subtilis* (B2) memproduksi enzim kitinase.

Evaluasi Keefektifan Pengendalian *in Planta*

Aplikasi agens hayati dan kitosan menunjukkan penekanan terhadap periode laten, insidensi, keparahan, laju infeksi, dan nilai AUDPC dari penyakit busuk batang. Rata-rata periode laten *B. theobromae* pada kontrol ialah 44.5 hari, sedangkan yang diberi perlakuan agens hayati dan kitosan

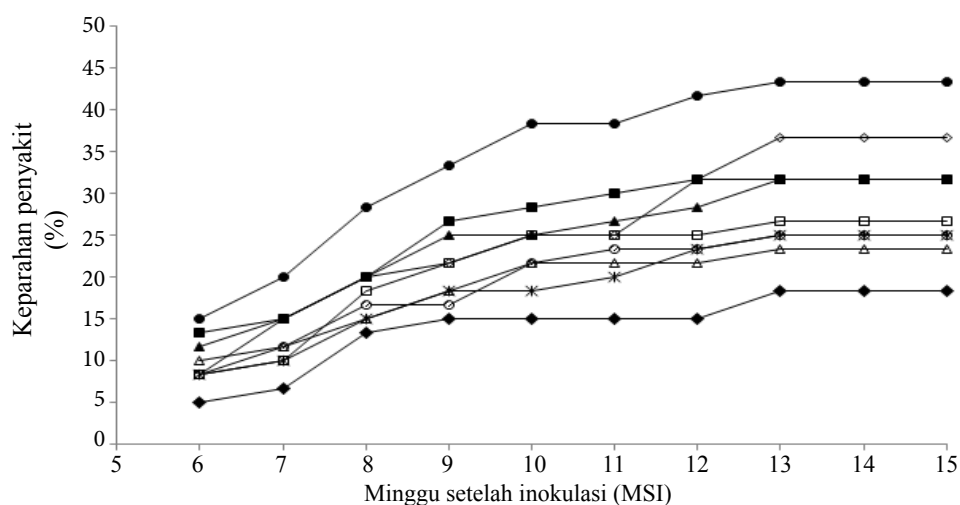
berkisar 47.8–60.5 hari. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi agens hayati dan kitosan memperlambat periode laten. Perlakuan kombinasi khamir + CMA + kitosan secara nyata menurunkan insidensi penyakit, memperlambat laju infeksi dan nilai AUDPC (Tabel 2). Perkembangan penyakit seluruh perlakuan tunggal dan kombinasi selalu di bawah perkembangan penyakit pada kontrol. Perlakuan CMA tunggal dan khamir + CMA berhasil menekan keparahan penyakit pada akhir masa pengamatan (15 MSI) (Gambar 5). Perlakuan khamir + CMA menunjukkan tingkat asosiasi CMA (39.1%) dan kandungan fenol total tertinggi (300 mg g⁻¹). Perlakuan Khamir

Tabel 2 Periode laten, insidensi penyakit, keparahan penyakit, laju infeksi, dan nilai AUDPC busuk batang pada 15 minggu setelah inokulasi

Perlakuan	PL (hari)	IP (%)	KP (%)	r (%)	AUDPC
Kontrol	44.5 a	100.0 a	43.3 a	0.9a	2210.8 a
Khamir	55.2 bc	80.0 ab	25.0 cd	0.4 b	1260.0 bc
CMA	53.4 bc	80.0 ab	18.3 d	0.3 b	898.3 c
Kitosan	55.6 bc	100.0 a	31.7 bc	0.5 b	1575.0 b
<i>Bacillus subtilis</i> (B2)	56.7 bc	73.3 ab	33.3 bc	0.6 b	1662.5 ab
Khamir + CMA	47.8 ab	86.7 ab	23.3 d	0.3 b	1213.3 bc
Kitosan + CMA	48.2 ab	80.0 ab	26.7 cd	0.5 b	1370.8 bc
Khamir + Kitosan	55.2 bc	100.0 a	36.7 ab	0.8 ab	1639.2 b
Khamir + Kitosan + CMA	60.5 c	66.7 b	26.7 cd	0.5 b	1201.7 bc

Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji jarak berganda Duncan pada α 0.05

PL: periode laten, IP: insidensi penyakit, KP: keparahan penyakit, r: laju infeksi, AUDPC: *area under disease progress curve*



Gambar 5 Perkembangan keparahan penyakit busuk batang jeruk pada 6 sampai 15 MSI. —●—, Kontrol; —○—, Khamir; —◆—, CMA; —▲—, Kitosan; —■—, *Bacillus subtilis*; —△—, Khamir + CMA; —□—, Kitosan + CMA; —◇—, Khamir + Kitosan; —*—, Khamir + CMA + Kitosan.

Tabel 3 Tingkat asosiasi CMA dan perubahan kandungan fenol pada tanaman jeruk

Perlakuan	Tingkat asosiasi CMA (%)		Kandungan fenol total (mg g ⁻¹)
	Dengan patogen	Tanpa patogen	
Kontrol	0.0 d	0.0 d	120
Khamir	0.0 d	0.0 d	110
CMA	34.1 a	20.9 b	120
Kitosan	0.0 d	0.0 d	270
<i>B. subtilis</i> (B2)	0.0 d	0.0 d	90
Khamir + CMA	39.1 a	31.4 a	300
Kitosan + CMA	5.2 c	5.2 c	0
Khamir + Kitosan	0.0 d	0.0 d	150
Khamir + Kitosan + CMA	18.3 c	7.8 c	130

Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji jarak berganda Duncan pada α 0.05

dan *B. subtilis* menunjukkan kandungan fenol yang lebih rendah dari kontrol. Perlakuan kitosan + CMA menunjukkan tingkat asosiasi CMA yang rendah dan kandungan fenol pada perlakuan ini tidak terdeteksi (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing agens hayati dan kitosan memiliki mekanisme unggulan pada berbagai peubah pengamatan. Potensi unggulan khamir dalam pengendalian penyakit tanaman ialah produksi senyawa volatil dan enzim kitinase meskipun keefektifannya sangat bergantung pada jenis patogen dan jenis tanamannya. Sugipriatini (2009) melaporkan bahwa *Cryptococcus albidus* var. *aerius* IPB 1 berhasil menghambat pertumbuhan koloni *B. theobromae* pada mangga selama masa penyimpanan. Khamir *Williopsis mrakii* menghambat pertumbuhan *B. theobromae* sampai 100% (Campos *et al.* 2010) melalui produksi senyawa volatil.

Meskipun menunjukkan aktivitas hiperparasitisme, produksi senyawa volatil dan produksi enzim kitinase oleh khamir pada uji *in vitro* tidak menekan perkembangan penyakit di lapangan jika diaplikasikan secara tunggal. Namun, kombinasi khamir + CMA mampu menekan perkembangan penyakit. Perlakuan khamir + CMA memiliki tingkat asosiasi CMA dan kandungan fenol total yang paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa khamir memiliki

interaksi sinergisme dengan CMA, sesuai dengan laporan Sampedro *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa *Rhodotorula mucilaginosa*, *Cryptococcus laurentii*, dan *Saccharomyces kunashirensis* memproduksi eksudat yang dapat meningkatkan perkecambahan spora dan pertumbuhan hifa *Glomus mossae*. Hal ini akan meningkatkan peran CMA dalam melindungi tanaman dari cekaman biotik dan abiotik. Selain itu, tingginya tingkat asosiasi CMA juga akan meningkatkan kandungan fenol tanaman (Ozgonen *et al.* 2009).

Perlakuan tunggal CMA memiliki penekanan optimum terhadap perkembangan penyakit terutama pada akhir masa pengamatan. CMA dilaporkan dapat meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap nutrisi, lignifikasi jaringan, dan produksi beberapa senyawa kimia seperti fenol, enzim kitinase, dan enzim β -1,3 glukanase (Ozgonen *et al.* 2009). Keberhasilan CMA dipengaruhi oleh populasi dan aktivitas *B. subtilis* yang menunjukkan aktivitas antibiosis, produksi senyawa volatil, dan produksi enzim kitinase *in vitro* meskipun percobaan aplikasi *B. subtilis* secara tunggal tidak menurunkan keparahan penyakit di lapangan. Bakteri simbiotik CMA diketahui berperan penting dalam peningkatan pertumbuhan hifa CMA dan kemampuan melarutkan fosfat.

Meskipun belum berhasil menekan perkembangan penyakit di lapangan, perlakuan kitosan menunjukkan kandungan fenol total

yang tinggi. Menurut Hadrami *et al.* (2010), tingginya produksi senyawa fenol pada tanaman dipicu oleh aplikasi kitosan yang merupakan respons dari produksi enzim hidrolitik oleh cendawan patogen. Bersamaan dengan produksi senyawa fenol, enzim β -1,3 glukanas juga diproduksi sebagai pertahanan mekanis terhadap invasi miselium cendawan dan melindungi jaringan tanaman dari senyawa yang bersifat fitotoksik yang dikeluarkan oleh cendawan patogen.

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlakuan tunggal CMA menunjukkan penekanan yang optimum terhadap penyakit busuk batang. Hal ini didukung oleh asosiasi CMA dengan *B. subtilis* yang memiliki mekanisme antibiosis, produksi senyawa volatil, dan produksi enzim kitinase. CMA juga bersifat sinergis dengan khamir yang memiliki mekanisme hiperparasitisme, produksi senyawa volatil, dan produksi enzim kitinase. Oleh karena itu, perlakuan tunggal CMA dan kombinasi khamir + CMA direkomendasikan untuk pengendalian penyakit busuk batang jeruk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), Kementerian Keuangan Republik Indonesia yang mendanai penelitian ini melalui Beasiswa Tesis 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi DO, Olufolaji DB, Joseph A. 2016. Characteristic variations in *Lasiodiplodia theobromae*; pathogen of inflorescens dieback of cashew in growing ecologies in Nigeria. *Ann Res Rev Biol.* 10(2):1–6. DOI: <https://doi.org/10.9734/ARRB/2016/18047>.
- Algam SAE, Xie G, Li B, Yu S, Lasen J. 2010. Effects of *Paenibacillus* strains and chitosan on plant growth promotion and control of ralstonia wilt in tomato. *J Plant Pathol.* 92(3):593–600.
- Bakhtiar Y. 2013. Peran cendawan mikoriza arbuskular dan bakteri endosimbiotik mikoriza dalam meningkatkan daya adaptasi bibit kelapa sawit (*Elais gunensis* Jacq.) terhadap cekaman *Ganoderma boninense* Pat. *Microbiol Indones.* 6(4):157–164. DOI: <https://doi.org/10.5454/mi.6.4.3>.
- Brundrett M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Adv Ecol Res.* 21:171–313. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60099-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60099-9).
- Campos VP, de Pinho RSC, Freire ES. 2010. Volatiles produced by interacting microorganisms potentially useful for the control of plant pathogens. *Ciência Agrotecnologia.* 34(3):525–535. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000300001>.
- Chan Z, Tian S. 2005. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biol Tech.* 36(2005):215–223. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.01.001>.
- Hadrami AE, Adam LR, Hadrami IE, Daayf F. 2010. Chitosan in plant protection. *Marine Drugs.* 2010(8):968–987. DOI: <https://doi.org/10.3390/md8040968>.
- Hartati S, Wiyono S, Hidayat SH, Sinaga MS. 2014. Seleksi khamir epifit sebagai agens antagonis antraknosa pada cabai. *J Hort Indones.* 24(3):258–265. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v24n3.2014.p258-265>.
- Muhammad H, Armianti, Dewayanti W. 2003. Jeruk keprok selayar dan upaya pelestariannya. *J Litbang Pertanian.* 22(3):87–94.
- Ozgonen H, Yardimci N, Kilic HC. 2009. Induction of phenolic compound and pathogenesis-related protein by mycorrhizal fungal inoculation against *Phytophthora capsici* Leonian in pepper. *Pak J Biol Sci.* 12(17):1181–1187. DOI: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.1181.1187>.
- Salamiah, Badruzsaufari, Arsyad M. 2008. Jenis tanaman inang dan masa inkubasi patogen *Botryodiplodia theobromae* Pat. pada jeruk. *JHPT Tropika.* 8(2):123–131.
- Sampedro I, Aranda E, Scervino JM, Fracchia S, Garcia-Romera I, Ocampo

- JA, Godeas A. 2004. Improvement by soil yeasts of arbuscular mycorrhizal of soybean colonized by *Glomus mossae*. *Mycorrhiza*. 14(4):229–234. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00572-003-0285-y>.
- Sinaga MS, Wiyono S, Husni A, Kosmiatin M. 2009. Pemanfaatan batang bawah jeruk mutan dan mikoriza arbuskular untuk mengendalikan penyakit busuk pangkal batang pada tanaman jeruk. *J Litbang Pertanian*. 29(4):45–47.
- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enolol Viticul*. 28:49–55.
- Sugipriatini D. 2009. Potensi penggunaan khamir dan kitosan untuk pengendalian busuk buah *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (syn. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) pada buah mangga selama penyimpanan [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.