

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Kakao

Kakao berasal dari hutan hujan tropis di Amerika Tengah, yaitu daerah Meksiko sampai ke Bolivia dan Brazil (Siregar dkk., 2009). Di Indonesia, tanaman kakao sudah ditanam di Minahasa pada akhir abad ke 18. Pada tahun 1880 kakao ditanam sebagai perkebunan besar di Jawa Tengah. Penanaman kakao di daerah tersebut menggantikan tanaman kopi arabika yang rusak akibat penyakit karat (*Hemileia vastatrix*) (Semangun, 2000).

Adapun sistematika tanaman kakao menurut klasifikasi botanis adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledon
Ordo	: Malvales
Famili	: Sterculiaceae
Genus	: Theobroma
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i> L.

Kakao merupakan salah satu tanaman yang menghasilkan bunga dari batang atau cabang. Karena itu tanaman ini digolongkan ke dalam kelompok tanaman

caulifloris. Warna buah kakao sangat beragam, tetapi pada dasarnya hanya ada dua macam warna. Buah yang ketika muda berwarna hijau atau hijau agak putih jika sudah masak akan berwarna kuning. Sementara itu, buah yang ketika muda berwarna merah, setelah masak berwarna jingga (orange) (Siregar dkk., 2009).

Kulit buah kakao memiliki 10 alur dalam dan dangkal yang letaknya berselang-seling. Pada tipe criollo dan trinitario alur buah kelihatan jelas. Kulit buah tebal tetapi lunak dan permukaannya kasar. Sebaliknya, pada tipe forasterom permukaan kulit buah pada umumnya halus (rata), kulitnya tipis, tetapi keras dan liat. Buah akan masak setelah berumur enam bulan. Pada saat itu ukurannya beragam, dari panjang 10 hingga 30 cm, bergantung pada kultivar dan faktor-faktor lingkungan selama perkembangan buah (Siregar dkk., 2009).

Biji kakao tersusun dalam lima baris mengelilingi poros buah. Jumlahnya beragam, yaitu 20 – 50 butir per buah. Jika dipotong melintang, tampak bahwa biji disusun oleh dua kotiledon yang saling melipat dan bagian pangkalnya menempel pada poros lembaga (*embryo axis*). Warna kotiledon putih untuk tipe criollo dan ungu untuk tipe forastero. Biji dibungkus oleh daging buah (pulpa) yang berwarna putih, rasanya asam manis dan diduga mengandung zat penghambat perkecambahan. Di sebelah dalam daging buah terdapat kulit biji (testa) yang membungkus dua kotiledon dan poros embrio. Biji kakao tidak memiliki masa dorman. Meskipun daging buahnya mengandung zat penghambat perkecambahan, tetapi kadang-kadang biji berkecambah di dalam buah yang terlambat dipanen karena daging buahnya telah kering. Pada saat berkecambah, hipokotil memanjang dan mengangkat kotiledon yang masih menutup ke atas

permukaan tanah. Fase ini disebut fase serdadu. Fase kedua ditandai dengan membukanya kotiledon diikuti dengan memanjangnya epikotil dan tumbuhnya empat lembar daun pertama. Keempat daun tersebut sebetulnya tumbuh dari setiap ruasnya, tetapi buku-bukunya sangat pendek sehingga tampak tumbuh dari satu ruas. Pertumbuhan berikutnya berlangsung secara periodik dengan interval waktu tertentu (Siregar dkk., 2009). Gambar 1 menunjukkan tanaman kakao dengan buah yang sehat dan belum matang.



Gambar 1. Tanaman Kakao dengan buah (*Theobroma cacao* L.)

2.2. Penyakit Busuk Buah Kakao

Busuk buah (*pod rot*) merupakan penyakit terpenting dalam budidaya kakao di Indonesia dan menjadi masalah utama di negara-negara penghasil kakao lainnya. Kerugian akibat penyakit ini cukup berarti terutama di daerah yang beriklim basah

karena kehilangan hasil di beberapa kebun dapat mencapai di atas 40% (Sulistiyowati, 2003).

Busuk buah kakao yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* merupakan penyakit paling penting karena menyebabkan kerugian yang berkisar antara 10 sampai 30% di seluruh dunia, dan kerugian yang jauh lebih tinggi terjadi di daerah endemis, terutama di daerah basah pada musim hujan (Umaya dan Purwantara, 2006).

2.2.1. Penyebab Penyakit

Terdapat empat spesies jamur penyebab penyakit busuk buah kakao, yaitu *Phytophthora palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici* dan *P. citrophthora* (Evan dan Priori, 1987 dalam Darmono dkk., 2006). Jamur ini dapat menyerang daun (*leaf blight*), bunga, batang (kanker batang), akar tanaman (busuk akar) dan buah (busuk buah) (Pawirosoemardjo dan Purwantara, 1992 dalam Darmono dkk., 2006), tetapi kerugian terbesar terjadi apabila jamur ini menyerang bagian buah.

P. megakarya dilaporkan terdapat di beberapa negara di Afrika Barat seperti Ghana dan Kamerun (Ndoumbe-Nkeng dkk., 2003), *P. capsici* tersebar di daerah Amerika Selatan, Amerika Tengah dan Indies Barat, *P. citrophthora* tersebar di daerah Bahia, Brazil, sedangkan *P. palmivora* tersebar luas di sebagian besar pertanaman kakao di dunia. Purwantara dkk. (2004) dan Semangun (2000) melaporkan bahwa jamur yang menyerang pertanaman kakao di Indonesia adalah *P. palmivora*. Spora jamur *P. palmivora* mempunyai bentuk yang khas yaitu bulat dengan tonjolan papila disalah satu ujungnya (Gambar 2).



Gambar 2. Spora jamur *Phytophthora palmivora* dengan tonjolan papila disalah satu ujungnya (Sumber: Anonim, 2008)

Menurut Hawksworth (1995) dalam Anaf (2009), jamur *P. palmivora* tergolong dalam :

Kingdom	: Stramenophiles
Kelas	: Oomycetes
Ordo	: Peronosporales
Famili	: Pythiaceae
Genus	: <i>Phytophthora</i>
Spesies	: <i>Phytophthora palmivora</i> Butler

2.2.2. Gejala Penyakit

Gejala busuk buah kakao dapat terjadi pada berbagai umur buah, sejak buah masih kecil sampai menjelang masak. Gejala pertama dari penyakit busuk buah pada umumnya dimulai dari titik pertemuan antara tangkai buah dengan buah (pangkal buah), tetapi gejala awal juga kadang-kadang ditemui pada bagian ujung

buah atau bagian tengah buah. Warna buah berubah umumnya mulai dari ujung buah atau dekat tangkai dengan cepat meluas ke seluruh buah. Jamur juga dapat mengkolonisasi isi buah dan menyebabkan busuknya biji kakao, tetapi apabila penyakit terjadi pada buah yang hampir masak maka biji yang berada didalamnya masih dapat dimanfaatkan.

Menurut Purwantara (1992) dalam Semangun (2000), buah menjadi busuk dalam waktu 14-22 hari. Pada permukaan buah yang sakit tersebut timbul lapisan berwarna putih bertepung, yang terdiri atas jamur-jamur sekunder yang banyak membentuk spora. Pada lapisan tersebut terdapat juga sporangiofor dan sporangium jamur *Phytophthora*, yang menjadi penyebab penyakit ini.

2.2.3. Daur Penyakit

Jamur yang dapat mengadakan infeksi pada buah kakao dapat bersumber dari tanah, batang yang sakit kanker batang, buah yang sakit, dan tumbuhan inang lain. Jamur *P. palmivora* terutama bertahan dalam tanah, jamur dapat terbawa oleh percikan air hujan ke buah-buah dekat tanah. Setelah mengadakan infeksi, dalam waktu beberapa hari jamur pada buah akan menghasilkan banyak sporangium. Sporangium ini dapat terbawa oleh percikan air hujan atau angin dan mencapai buah-buah lainnya yang berada di tempat yang lebih tinggi. Jamur yang berada dalam tanah dapat juga terbawa oleh serangga seperti semut, sehingga dapat mencapai buah yang berada di dahan tertinggi pada pohon kakao. Dari buah yang tinggi sporangium dapat terbawa oleh air ke buah-buah di bawahnya. Jamur dapat berkembang dari buah yang sakit ke tangkai dan menyerang bantalan buah,

kemudian dapat berkembang terus sehingga menyebabkan terjadinya penyakit kanker batang dan pada akhirnya jamur dapat kembali menyerang buah (Semangun, 2000).

Jamur *P. palmivora* dapat menyerang berbagai macam tanaman. Meskipun demikian, belum diketahui dengan pasti apakah jamur dari berbagai tanaman tersebut dapat menimbulkan penyakit pada kakao. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa sumber inokulum selalu ada. Namun yang dianggap sebagai sumber inokulum yang paling penting adalah tanah. Griffin (1981) dalam Semangun (2000) mengatakan bahwa jamur bertahan dalam akar kakao meskipun akar tidak menunjukkan gejala penyakit.

2.2.4. Faktor-faktor yang mempengaruhi penyakit busuk buah kakao

Faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit busuk buah kakao antara lain kelembapan udara, curah hujan, cara bercocok tanam, banyaknya buah pada pohon, dan varietas kakao (Semangun, 2000). Kelembapan yang tinggi dapat membantu pembentukan spora dan meningkatkan infeksi. Infeksi hanya dapat terjadi apabila pada permukaan buah terdapat lapisan air. Lapisan air yang dimaksud bukan hanya air hujan, tetapi bisa juga air yang terjadi karena pengembunan uap air pada permukaan buah. Disamping meningkatkan kelembapan kebun, air hujan juga dapat membantu penyebaran spora. Fluktuasi intensitas penyakit cenderung sama dengan fluktuasi curah hujan harian. Puncak intensitas penyakit terjadi 1-3 minggu setelah curah hujan (Semangun, 2000). Pelepasan dan perkecambahan spora terjadi pada suhu 15-30⁰C, sedangkan infeksi

terjadi pada kisaran suhu 20-30⁰C. Pelepasan, perkecambahan, dan infeksi memerlukan adanya air bebas paling sedikit selama 3-4 jam (Purwanta 1990 dalam Semangun, 2000). Suhu minimum jamur masih dapat hidup adalah 11⁰C, sedangkan suhu optimum pertumbuhannya adalah 27,5-30⁰C, dan suhu maksimumnya adalah 35⁰C (Erwin dan Rebeiro, 1996). Pemangkasan, kerapatan tanaman, pemberian mulsa, drainase, pemupukan, dan pemungutan hasil menjadi faktor-faktor yang sangat mempengaruhi penyakit.

2.3. Jamur *Trichoderma viride* sebagai agens antagonis

Salah satu spesies *Trichoderma* yang digunakan sebagai agens hayati adalah *Trichoderma viride*. *T. viride* termasuk dalam filum Ascomycota, kelas Deuteromycetes, sub kelas Hypomycetidae, ordo Moniliales, famili Moniliaceae dan genus *Trichoderma* (Agrios, 2005). Jamur ini terdapat pada hampir semua jenis tanah dan sisa-sisa tanaman yang telah mati dan dapat menekan beberapa jamur tular tanah. Mekanisme antagonisme terjadi dengan beberapa cara yaitu kompetisi (ruang dan makanan), antibiosis (pembentukan antibiotik), dan parasitisme (Djafarudin, 2004).

Trichoderma viride memiliki bentuk konidia hampir bulat seperti bola, diameter pertumbuhan koloni 4,5-7,5 cm dalam 5 hari pada suhu 20⁰C. Konidianya berwarna hijau cerah bergerombol membentuk menjadi seperti bola dan berkas hifa terlihat menonjol jelas diantara konidia spora (Frazier dan Westhoff, 1981). Apabila diidentifikasi menggunakan mikroskop, jamur ini memiliki bagian yang khas antara lain miselium berseptat, bercabang banyak, konidia spora berseptat,

dan konidiofornya bercabang membentuk *verticillate*, cabang yang pendek terjadi dekat ujung pada percabangan yang penjang. Pada bagian ujung konidiofor tumbuh sel yang berbentuk menyerupai botol (*fialida*), sel ini dapat berbentuk tunggal maupun berkelompok. Fialid tersusun dalam kelompok yang terpisah antara 2-4, ramping dengan arah yang tak beraturan (Domsch dkk., 1993).

Jamur *T. viride* memiliki benang-benang halus yang disebut hifa. Hifa pada *T. viride* berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium. Dalam pertumbuhannya, bagian permukaan *T. viride* akan terlihat putih bersih dan bermiselium kusam. Setelah dewasa, miselium *T. viride* berwarna hijau kekuningan (Larry, 1977). Miseliumnya dapat tumbuh dengan cepat dan dapat memproduksi berjuta-juta spora, karena sifatnya inilah *T. viride* dikatakan memiliki daya kompetisi yang tinggi (Alexopoulou dan Mims, 1979).

Koloni muda *T. viride* tumbuh sangat cepat, bisa mencapai 5-8 cm selama 7 hari dalam media PDA, tipis seperti kapas yang menjadi semakin hijau saat koloni berkembang. Sporodokia kasar berbentuk piramid, dengan cabang panjang dekat pangkal dan cabang yang lebih pendek di atasnya. Cabang disudut poros utama berdekatan, biasanya berdiameter 3,6-4,5 μm (Sinulingga, 1989) (Gambar 3).



Gambar 3. Sporodokia *Trichoderma viride* (Sumber: Anonim, 2010)

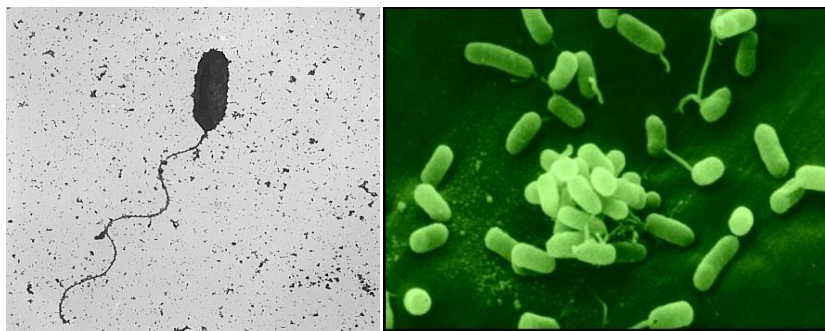
T. viride memiliki kemampuan produksi antibiotik gliotoksin dan piridin serta enzim β -1-3 glukanase, β -1-4 glukanase, kitinase, dan selulase. Mekanisme *T. viride* sebagai agens hayati yang lain adalah mikoparasitisme dengan cara pertumbuhan miselium *T. viride* yang panjang akan melingkari hifa jamur inang dan menyebabkan jamur inang menjadi hancur. Agrios (1988), juga menyatakan bahwa mekanisme pengendalian hayati *T. viride* dapat melalui antibiosis dan lisis. Sifat-sifat yang mendukung aktivitas antagonisme *Trichoderma* adalah tumbuh cepat dan memproduksi antibiotik seperti *trichodermin*, *suzukalicin*, dan *alamethicin*. Selain itu, *Trichoderma* juga memproduksi antibiotik volatil yang memiliki aktivitas metabolit tinggi, dan toleran terhadap zat metabolit yang diproduksi oleh jamur lainnya (Djafarudin, 2000).

2.4. *Pseudomonas fluorescens* sebagai agens antagonis

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* berbentuk batang lurus atau tegak lengkung, berukuran $(0,5 - 1,0) \times (1,5 - 5,0) \mu\text{m}$, tidak spiral, bergerak dengan satu atau beberapa flagelum polar, dan bersifat gram negative (Gambar 4). Bakteri

P. fluorescens hidup secara aerob, mempunyai tipe pernapasan secara tegas dari metabolisme, dengan oksigen sebagai penerima elektron akhir (terminal), mempunyai tipe metabolisme respirasi tidak fermentatif, dan menggunakan denitrifikasi sebagai pilihan. Beberapa bakteri adalah kemolitotrof fakultatif, yang menggunakan H₂ sebagai sumber energi, sedangkan mekanisme respirasinya bersifat aerob (Soesanto, 2008).

P. fluorescens termasuk ke dalam bakteri yang dapat hidup pada bagian tanaman (permukaan daun dan akar) dan sisa tanaman yang membusuk, tanah dan air sisa-sisa makanan yang membusuk, serta kotoran hewan (Supriadi, 2006). Sebagian besar *P. fluorescens* adalah penghuni rizosfer, secara agresif mengkoloni akar dan biasa disebut dengan rizobacteria. *P. fluorescens* mengeluarkan pigmen kuning kehijauan pada medium yang kekurangan unsur besi. *P. fluorescens* membentuk pigmen berpendar (*fluorescein*). *Fluorescein* disebut juga dengan *resorcinolphthalein* yang berbeda dengan antibiotik *pyoverdin* (Soesanto, 2008).



Gambar 4. Sel *Pseudomonas fluorescens* (Sumber: Anonim, 2000)

Klasifikasi *Pseudomonas* berdasarkan Muray (1948) dalam Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Prokariota
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Proteobacteria
Bangsa	: Pseudomobadaceae
Marga	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>

Koloni bakteri berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Pigmen tersebut membedakan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok *P. fluorescens* dengan kelompok lain (Arwiyanto dkk., 2007).

Brock dan Madigan (1988) melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas* bisa menekan pertumbuhan patogen dalam tanah secara alamiah. Kemampuan *P. fluorescens* sebagai agens pengendalian hayati adalah karena kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan, atau karena hasil-hasil metabolit seperti siderofor, hidrogen sianida, antibiotik, atau enzim ekstraseluler yang bersifat antagonis melawan patogen (Kloepper dan Schroth, 1978 dalam Septiana, 2009).

Secara umum, metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* memegang peranan penting dalam pengendalian hayati penyakit tanaman. Metabolit sekunder yang berperan penting dalam pengendalian hayati, yaitu siderofor,

pterin, pirol, fenazin, dan aneka senyawa antibiotika. Metabolit sekunder tertentu berperan di dalam membunuh secara langsung atau hanya menghambat patogen. Produksi metabolit sekunder antimikroba dan pengaruhnya terhadap patogen tanaman sangat tergantung pada faktor lingkungan, seperti kimia tanah, suhu, dan potensi air (Soesanto, 2008).

Siderofor adalah senyawa organik selain antibiotik yang dapat berperan dalam pengendalian hayati penyakit tumbuhan. Siderofor diproduksi secara ekstrasel, senyawa ini memiliki berat molekul rendah dengan afinitas yang sangat kuat terhadap besi (III). Dengan demikian, senyawa siderofor merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain (Fravel, 1988). Selain peranannya sebagai agen pengangkutan besi (III), siderofor juga aktif sebagai faktor pertumbuhan, dan beberapa diantaranya berpotensi sebagai antibiotik (Neilands, 1981 dalam Septiana, 2009).

2.5 Media Tumbuh

Menurut Borowicz dan Omer (2000), media biakan mikroorganisme mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme tersebut untuk pertumbuhannya. Perbedaan kandungan nutrisi pada media dapat mengakibatkan produksi metabolit yang berbeda dari mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media tersebut.

Kandungan nutrisi media biakan berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur maupun bakteri yang hidup pada media tersebut. Pertumbuhan dan sporulasi *T. viride* sangat dipengaruhi oleh karbon dan berbagai sumber nitrogen. Sporulasi

T. viride baik apabila natrium sitrat, xilosa, arabinosa, laktosa, pektin, PGA, ribosa dan asam malat dilengkapi dalam media tumbuh. *T. viride* memiliki kemampuan untuk memanfaatkan beragam faktor gizi serta memiliki toleransi terhadap pH dan suhu untuk pertumbuhannya. *T. viride* tidak mampu tumbuh pada pH diatas 9,0 (Jayaswal dkk., 2003).

Media biakan juga berpengaruh terhadap mekanisme *P. fluorescens* dalam menghambat mikroorganisme penyebab penyakit tumbuhan antara lain melalui produksi siderofor, hidrogen sianida, antibiotik *pirolnitrin*, *pyoluteorin* serta *2,4diasetilfluoroglusinol*. Antibiotik *2,4diasetilfluoroglusinol* diproduksi *P. fluorescens* pada medium yang mengandung glukosa (Rodriguez dan Pfender, 1997 dalam Dirmawati, 2004).