

Aktivitas Metabolit Sekunder Cendawan Endofit terhadap *Colletotrichum acutatum* pada Cabai Merah

Activity of Fungal Endophyte Secondary Metabolites against *Colletotrichum acutatum* on Chili Pepper

Nur Alfi Saryanah, Suryo Wiyono*, Dadang
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Colletotrichum acutatum merupakan penyebab penyakit antraknosa pada cabai yang paling banyak ditemukan di Pulau Jawa. Metabolit sekunder cendawan endofit memiliki aktivitas anticendawan, namun aktivitasnya terhadap *C. acutatum* pada tanaman cabai belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas metabolit sekunder cendawan endofit terhadap *C. acutatum* secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengujian secara *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas ekstrak filtrat biakan (FCBR) dan massa miselium (MCBR) isolat cendawan endofit CBR1D14 dalam menghambat perkecambahan konidium *C. acutatum*, sedangkan pengujian secara *in vivo* dilakukan untuk menentukan aktivitas ekstrak FCBR dan MCBR dalam menghambat kejadian penyakit dan diameter bercak penyakit antraknosa pada buah cabai. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat FCBR (EA FCBR) menunjukkan aktivitas paling tinggi dalam menghambat perkecambahan konidium *C. acutatum*. Fraksi metanol dari hasil partisi EA FCBR (FM FCBR) dan dari hasil partisi ekstrak etil asetat MCBR (FM MCBR) menghambat perkecambahan konidium *C. acutatum*. Fraksi metanol FCBR (IC_{95} 609.90 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dan FM MCBR (IC_{95} 1178.27 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dapat menghambat kejadian dan diameter bercak penyakit antraknosa dengan tingkat efikasi masing-masing fraksi ekstrak sebesar 36.72% dan 48.68%. Uji bioautografi fraksi ekstrak terhadap *C. acutatum* dilakukan pada pelat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel. Fraksi metanol FCBR dan MCBR masing-masing menghasilkan 3 bercak yang menunjukkan zona penghambatan pada pelat KLT. Pada FM FCBR, zona hambat terdapat pada R_f 0.04, 0.07, dan 0.7, sedangkan pada FM MCBR zona hambat terdapat pada R_f 0.06, 0.52, dan 0.7.

Kata kunci: antraknosa, bioautografi, ekstrak, perkecambahan konidium

ABSTRACT

Colletotrichum acutatum is one of anthracnose causal agents on chili pepper that has been reported to be predominant species in a some regions of Java Island. Secondary metabolites of endophytic fungi have been reported to have a potency as antifungal agents against plant pathogen. However, its antifungal activity against *C. acutatum* has not been reported yet. This study was aimed to evaluate the antifungal activity of fungal endophyte secondary metabolite against *C. acutatum* at *in vitro* and *in vivo* assay. *In vitro* assay was conducted to evaluate antifungal activity of fungal endophyte CBR1D14 isolate culture filtrate (FCBR) and mycelia extract (MCBR) in inhibiting conidial germination of *C. acutatum*. The results of *in vitro* assay showed that ethyl acetate extract of FCBR (EA FCBR) had the highest activity in inhibiting *C. acutatum* conidial germination. Methanol fraction from the partition of EA FCBR (FM FCBR) and from the partition of MCBR ethyl acetate extract (FM MCBR) showed the ability in inhibiting *C. acutatum* conidial germination. *In vivo* assay to chili pepper fruit showed that the treatment

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Dramaga IPB, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: suryowi269@gmail.com

of FM FCBR (IC_{95} 609.9 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and FM MCBR (IC_{95} 1178.27 $\mu\text{g mL}^{-1}$) decreased anthracnose disease incidence and lesion diameter. The efficacy rate of FM FCBR and FM MCBR treatments against anthracnose was 36.72% and 48.68%, respectively. Bioautography test was done on silica gel thin layer chromatogram. Methanol fraction of FCBR and MCBR were separated into 3 bioautographic spots respectively (R_f 0.04, 0.07, 0.7 for FM FCBR and R_f 0.06, 0.52, 0.7 for FM MCBR).

Key words: anthracnose, bioautography, conidial germination, extract

PENDAHULUAN

Metabolit sekunder dari cendawan endofit mampu menghambat patogen tanaman baik bakteri, cendawan, virus, maupun protozoa. Ekstrak kasar cendawan endofit yang telah diketahui aktivitasnya terhadap cendawan patogen antara lain ialah ekstrak etil asetat *Microsphaeropsis olivacea* dan ekstrak metanol *Chaetomium globosum*. Ekstrak *M. olivacea* dapat menghambat pertumbuhan cendawan *Alternaria alternata* dengan konsentrasi penghambatan minimum 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dan ekstrak metanol *C. globosum* dari hasil partisi ekstrak etil asetat dapat menghambat pertumbuhan radial *Sclerotinia sclerotiorum* sebesar 80.83% pada konsentrasi 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Kumar dan Kaushik 2013).

Penyakit antraknosa merupakan penyakit utama pada tanaman cabai. Ibrahim *et al.* (2017) melaporkan sampel buah cabai terinfeksi antraknosa dari Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur disebabkan oleh *C. acutatum*. Pada beberapa kasus, tanaman yang terinfeksi antraknosa pada saat sebelum dan setelah panen secara bersama-sama dapat menyebabkan kehilangan hasil lebih dari 50%. Keparahan penyakit antraknosa dapat bervariasi bergantung pada varietas yang ditanam dan kondisi cuaca pada suatu wilayah (Garg *et al.* 2014).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengendalikan penyakit antraknosa pada cabai, namun pengendalian dengan memanfaatkan metabolit sekunder cendawan endofit terhadap *C. acutatum* belum pernah dilaporkan. Pada uji pendahuluan, isolat cendawan endofit CBR1D14 (miselium steril) memiliki aktivitas antibiosis terhadap cendawan *C. acutatum*. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas dari metabolit sekunder cendawan endofit

CBR1D14 asal tanaman cabai terhadap *C. acutatum* secara *in vitro* dan *in vivo*.

BAHAN DAN METODE

Perbanyak dan Ekstraksi Biakan Cendawan Endofit

Cendawan endofit yang digunakan pada pengujian ini ialah isolat CBR1D14 yang diisolasi dari bagian daun tanaman cabai rawit yang berasal dari Pasir Sarongge, Cianjur. Sebanyak 3 potongan biakan cendawan endofit berdiameter 6 mm pada medium agar-agar dekstroza kentang (ADK) yang berumur 7 hari ditumbuhkan dalam 50 mL medium *malt extract broth* (MEB) (6 g L⁻¹ ekstrak malt, 1.8 g L⁻¹ maltosa, 6 g L⁻¹ dekstroza, 1.2 g L⁻¹ ekstrak khamir, pH 4.7 ± 0.2) di dalam botol berukuran 500 mL. Biakan diinkubasi pada suhu 25 °C dan digoyang dengan kecepatan putar 100 rpm selama 15 hari.

Filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit dipisahkan dengan metode filtrasi vakum. Massa miselium dihaluskan, kemudian ditambahkan pelarut etil asetat (1:1 v/v) ke dalam erlenmeyer masing-masing berisi filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit. Setelah 24 jam campuran miselium dan etil asetat disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 41. Filtrat fase etil asetat dan fase air dipisahkan menggunakan corong pisah. Masing-masing fase etil asetat filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit dipekatkan menggunakan evaporator putar (Hormazabal dan Piontelli 2009).

Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Cendawan Endofit CBR1D14 terhadap Perkecambahan Konidium *C. acutatum*

Patogen uji yang digunakan ialah *C. acutatum* koleksi Laboratorium Mikologi, Departemen Proteksi Tanaman, Faperta, IPB.

Ekstrak etil asetat filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit CBR1D14 yang sudah dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dicampur dengan suspensi konidium *C. acutatum* dengan kerapatan $2-3 \times 10^4$ konidium mL^{-1} (1:19) (v/v). Sebanyak 20 μL suspensi diletakkan pada permukaan kaca objek (Chen dan Ko 2014). Konsentrasi akhir ekstrak etil asetat filtrat biakan cendawan endofit CBR1D14 (EA FCBR) yang diuji ialah 50, 100, 200, 300, 400, dan 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sedangkan konsentrasi akhir ekstrak etil asetat massa miselium CBR1D14 (EA MCBR) yang diuji ialah 100, 200, 400, 800, dan 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Suspensi konidium yang hanya ditambahkan pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Suspensi pada kaca objek diletakkan dalam cawan petri yang dilembapkan dengan kertas saring, lalu diinkubasi pada suhu 25 °C dengan kondisi gelap. Setelah 17 jam, konidium diwarnai dengan laktofenol biru dan diamati perkecambahannya menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 \times . Penghambatan perkecambahan konidium oleh perlakuan ekstrak FCBR dan MCBR dihitung dengan rumus:

$$\text{CGI} = \frac{C-T}{C} \times 100\%, \text{ dengan}$$

CGI, penghambatan perkecambahan konidium patogen *C. acutatum* oleh perlakuan ekstrak; C, perkecambahan konidium *C. acutatum* pada kontrol; dan T, perkecambahan konidium patogen uji pada perlakuan.

Partisi Ekstrak Etil Asetat dan Uji Aktivitas Fraksi Ekstrak Biakan Cendawan Endofit CBR1D14

Ekstrak etil asetat filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit CBR1D14 dipartisi menggunakan pelarut metanol 90% dan heksana (1:1) (v/v). Pemisahan dilakukan menggunakan corong pisah, masing-masing fraksi dipisahkan dengan evaporator putar (Kumar dan Kaushik 2013). Uji aktivitas fraksi ekstrak filtrat biakan dan massa miselium CBR1D14 dilakukan seperti pada pengujian ekstrak etil asetatnya. Konsentrasi fraksi

metanol FCBR (FM FCBR) yang diuji ialah 100, 150, 300, 500, 600, dan 700 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sedangkan konsentrasi fraksi metanol MCBR (FM MCBR) dan fraksi heksana MCBR yang diuji ialah 100, 200, 400, 800, 1200, dan 1600 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Fungisida berbahan aktif benomil digunakan sebagai pembanding dengan konsentrasi uji 100, 200, 400, 600, 800, dan 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Suspensi konidium yang hanya ditambahkan pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol FM FCBR dan FM MCBR, sedangkan kontrol pada fungisida benomil hanya suspensi konidium saja. Masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ulangan.

Uji *in Vivo* Fraksi Ekstrak Filtrat Biakan dan Massa Miselium Cendawan Endofit CBR1D14

Fraksi ekstrak filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit CBR1D14 yang menunjukkan aktivitas penghambatan pada uji *in vitro* diuji secara *in vivo* pada buah cabai merah varietas Pilar F1. Fraksi ekstrak filtrat biakan dan massa miselium CBR1D14 diuji pada IC_{95} . Fraksi ekstrak filtrat biakan CBR1D14 disuspensikan dalam pelarut DMSO 0.8%, Tween 80 0.2%, dan air. Fraksi ekstrak massa miselium CBR1D14 disuspensikan dalam pelarut metanol:aseton 1% (1:1), Tween 80 0.2%, dan air. Pelarut dan pengemulsi yang digunakan pada formulasi ekstrak diaplikasikan pada buah cabai sebagai kontrol. Setiap konsentrasi diaplikasikan pada 4 buah cabai. Masing-masing buah diinokulasi pada 2 titik dan setiap perlakuan diulang 4 kali.

Sebelum diberi perlakuan, buah cabai merah disterilkan permukaannya dengan NaOCl 1% selama 5 menit dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Buah cabai direndam ke dalam masing-masing formula ekstrak FM FCBR dan FM MCBR kemudian dikeringanginkan. Sebanyak 10 μL suspensi konidium dengan kerapatan 2×10^4 konidium mL^{-1} diteteskan pada permukaan buah cabai yang sudah dilukai dengan jarum. Selanjutnya buah cabai diletakkan di atas kotak plastik pada kondisi lembap. Keefektifan fraksi ekstrak cendawan endofit diukur dengan mengamati

gejala yang muncul sampai 5 hari setelah inokulasi (HSI), kemudian diameter bercak pada buah cabai diukur.

Insidensi penyakit dihitung dengan rumus:

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

IP, insidensi penyakit; n, jumlah buah cabai yang terinfeksi; dan N, jumlah buah cabai yang diamati. Efikasi pengendalian penyakit antraknosa oleh ekstrak yang diuji dihitung dengan rumus Shu *et al.* (2017):

$$\text{Tingkat efikasi (\%)} = \left(1 - \frac{dp}{dk}\right) \times 100\%, \text{ dengan}$$

dp, diameter bercak pada perlakuan dan dk, diameter bercak pada kontrol.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis dan Uji Bioautografi

Metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada pelat KLT gel silika 60 F₂₅₄ dengan ketebalan 0.1 cm (Wallhausser 1969). Eluen yang digunakan ialah 10 mL diklorometana:metanol (97:3) dan 10 µL NH₄OH. Bercak diamati menggunakan sinar UV 254 dan 366 nm. Deteksi dilakukan menggunakan pereaksi pembentuk warna vanilin-asam sulfat. Nilai R_f dari masing-masing bercak tersebut dihitung. KLT untuk bioautografi dilakukan dengan cara yang sama, namun pelat tidak disemprot dengan vanilin-asam sulfat.

Uji bioautografi dilakukan dengan metode bioautografi langsung, yaitu dengan menginokulasikan suspensi konidium *C. acutatum* pada pelat KLT (Wedge dan Nagle 2000). Zona hambat yang terbentuk pada pelat diamati, kemudian nilai R_f pada zona tersebut dihitung.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Pengujian *in vitro* disusun menggunakan rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh pada pengujian *in vivo* dianalisis dengan uji-*t*. Nilai IC ditentukan dengan menganalisis probit data penghambatan perkecambahan konidium menggunakan program POLO-PC (LeOra Software 1987).

HASIL

Potensi Ekstrak Etil Asetat Biakan Cendawan Endofit CBR1D14 dan Fraksinya dalam Menghambat Perkecambahan Konidium *C. acutatum*

Ekstrak etil asetat biakan CBR1D14 yang berasal dari filtrat biakan (EA FCBR) maupun massa miselium (EA MCBR) menghambat perkecambahan massa konidium *C. acutatum*. Aktivitas penghambatan perkecambahan konidium tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak EA FCBR (Gambar 1).

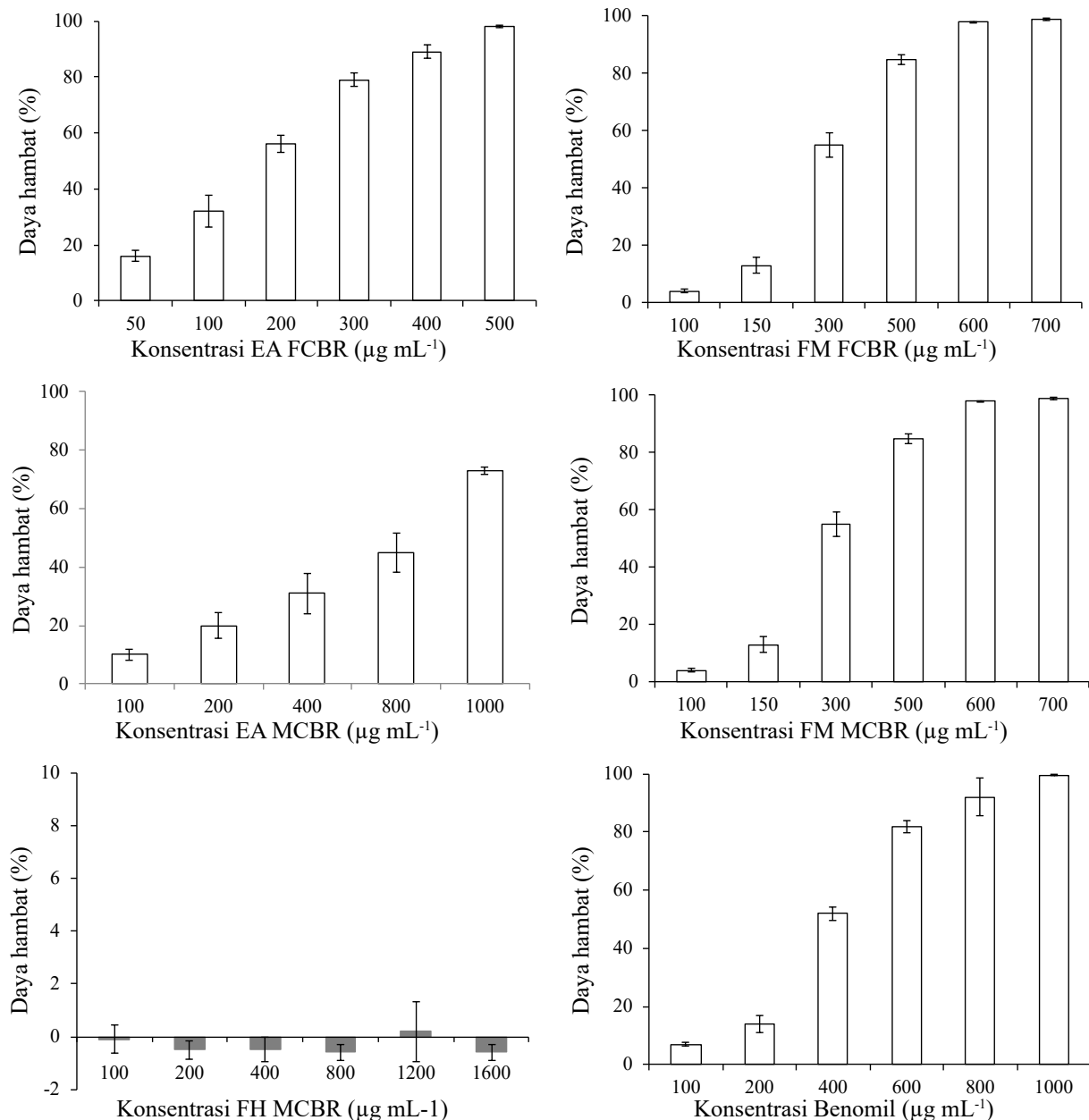
Ekstrak EA FCBR yang dipartisi dengan metanol 90% dan heksana hanya didapatkan fraksi metanol saja. Fraksi metanol FCBR (FM FCBR) memiliki aktivitas penghambatan perkecambahan konidium *C. acutatum* yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak kasarnya (Gambar 1). Nilai IC₅₀ dan IC₉₅ FM FCBR berturut-turut 266.20 µg mL⁻¹ dan 609.90 µg mL⁻¹ (Tabel 1).

Hasil partisi ekstrak EA MCBR dengan pelarut metanol 90% dan heksana didapatkan fraksi metanol dan fraksi heksana. Fraksi metanol MCBR (FM MCBR) menunjukkan aktivitas penghambatan perkecambahan konidium *C. acutatum*, sedangkan fraksi heksana MCBR (FH MCBR) tidak menunjukkan aktivitas penghambatan. Aktivitas penghambatan perkecambahan konidium *C. acutatum* oleh FM MCBR lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetatnya sebelum dipartisi (EA MCBR) (Gambar 1). Nilai IC₅₀ dan IC₉₅ FM MCBR berturut-turut 330.79 dan 1178.27 µg mL⁻¹.

Hasil pengujian menunjukkan FM FCBR memiliki nilai IC₅₀ dan IC₉₅ yang lebih rendah dibandingkan dengan FM MCBR dan fungisida benomil dalam menghambat perkecambahan konidium *C. acutatum* (Tabel 1). Dengan demikian FCBR berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan anticendawan.

Potensi Fraksi Aktif Ekstrak terhadap *C. acutatum* pada Cabai Merah secara *in Vivo*

Insidensi penyakit antraknosa pada perlakuan maupun kontrol terus meningkat sampai akhir waktu pengamatan. Perlakuan



Gambar 1 Penghambatan perkecambahan konidium *C. acutatum* pada perlakuan ekstrak etil asetat cendawan endofit CBR1D14 dan fraksinya. Garis vertikal menunjukkan galat baku.

Tabel 1 Nilai konsentrasi inhibisi (IC) fraksi ekstrak filtrat biakan dan massa miselium cendawan endofit CBR1D14 pada uji *in vitro*

Bahan uji	a ± GB	b ± GB	IC ₅₀ (SK 95) (µg mL ⁻¹)	IC ₉₅ (SK 95) (µg mL ⁻¹)
FM FCBR	-11.08±0.26	4.57±0.10	266.20 (226.88–306.69)	609.90 (506.36–800.19)
FM MCBR	-7.51±0.19	2.98±0.07	330.79 (227.32–450.06)	1178.27 (788.95–2563.92)
Benomil	-11.05±0.41	4.31±0.15	366.69 (274.01–437.68)	882.96 (708.23–1366.48)

FM, Fraksi metanol; FCBR, Filtrat biakan CBR1D14; MCBR, Massa miselium CBR1D14.

a, Intersep garis regresi probit; GB, galat baku; b, Kemiringan regresi probit; IC₅₀, Konsentrasi yang dapat menghambat perkecambahan konidium sebesar 50%; SK 95, Selang kepercayaan 95%; dan IC₉₅, Konsentrasi yang dapat menghambat perkecambahan konidium sebesar 95%.

FM FCBR dan FM MCBR pada IC_{95} dapat menurunkan insidensi penyakit berturut-turut sebesar 25% dan 21.88% pada akhir pengamatan (Tabel 2).

Diameter bercak antraknosa pada buah cabai yang diberi perlakuan FM FCBR dan FM MCBR berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Tingkat efikasi FM FCBR pada konsentrasi IC_{95} ($609.9 \mu\text{g mL}^{-1}$) sebesar 36.72%, sedangkan tingkat efikasi FM MCBR pada konsentrasi IC_{95} ($1178.27 \mu\text{g mL}^{-1}$) sebesar 48.68% (Tabel 3).

Analisis Kromatografi dan Uji Bioautografi

Fraksi metanol filtrat biakan maupun massa miselium CBR1D14 menghasilkan bercak yang menimbulkan zona hambatan pertumbuhan terhadap *C. acutatum*. Pada FM FCBR, zona hambat terdapat pada R_f 0.04, 0.07, dan 0.70, sedangkan pada FM MCBR zona hambat terdapat pada R_f 0.06, 0.52, dan

0.70 (Tabel 4). Bercak pada kromatografi lapis tipis yang bersifat anticendawan pada FM FCBR dan FM MCBR memberikan hasil reaksi yang positif terhadap pereaksi vanillin-asam sulfat (Gambar 2).

PEMBAHASAN

Cendawan endofit dilaporkan dapat melindungi tanaman dari infeksi patogen melalui berbagai mekanisme, salah satunya dengan menghasilkan senyawa antibiotik (Gao *et al.* 2010). Cendawan endofit CBR1D14 merupakan galur yang tidak menghasilkan spora (miselium steril) dan menunjukkan aktivitas antibiosis terhadap *C. acutatum*.

Beberapa cendawan endofit dilaporkan dapat menghasilkan senyawa antibiotik saat dibiakkan. Suhu, komposisi medium tumbuh, dan tingkat aerasi dapat memengaruhi jumlah dan jenis senyawa yang dihasilkan oleh

Tabel 2 Insidensi penyakit antraknosa pada buah cabai yang diberi perlakuan fraksi ekstrak filtrat dan massa miselium cendawan endofit CBR1D14

Jenis Ekstrak	Insidensi penyakit (%) pada hari setelah inokulasi		
	3	4	5
FM FCBR			
0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	21.88	81.25	93.75
IC_{95} ($609.90 \mu\text{g mL}^{-1}$)	3.13	53.13	68.75
FM MCBR			
0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	68.75	81.25	90.63
IC_{95} ($1178.27 \mu\text{g mL}^{-1}$)	40.63	56.25	68.75

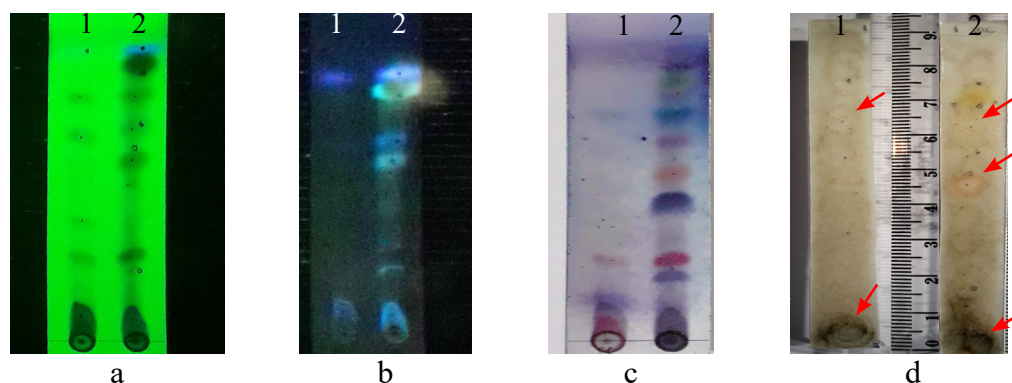
FM, Fraksi metanol; FCBR, Filtrat biakan CBR1D14; MCBR, Massa miselium CBR1D14.

Tabel 3 Diameter bercak antraknosa dan tingkat efikasi fraksi ekstrak cendawan endofit CBR1D14 dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada buah cabai

Jenis ekstrak	Diameter bercak (cm)	Tingkat efikasi (%)
FM FCBR		
0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	0.66a	-
IC_{95} ($609.90 \mu\text{g mL}^{-1}$)	0.42b	36.72
FM MCBR		
0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	0.71a	-
IC_{95} ($1178.27 \mu\text{g mL}^{-1}$)	0.37b	48.68

FM, Fraksi methanol; FCBR, Filtrat biakan CBR1D14; MCBR, Massa miselium CBR1D14.

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama pada masing-masing jenis ekstrak tidak berbeda nyata berdasarkan uji-t.



Gambar 2 Profil KLT ekstrak uji. a, Disinari UV 254 nm; b, Disinari UV 366 nm; c, Disemprot vanillin-asam sulfat; dan d, Bioautografi ekstrak uji pada pelat KLT. Ekstrak uji: 1, FM FCBR; 2, FM MCBR. Tanda panah berwarna merah pada uji bioautografi menunjukkan zona hambatan pertumbuhan.

Tabel 4 Jumlah dan lokasi senyawa anticendawan dari metabolit sekunder cendawan endofit CBR1D14 yang dianalisis dengan metode bioautografi dan metode kimia

Jenis ekstrak	Jumlah zona hambatan pertumbuhan	R _f zona hambatan pertumbuhan	Pereaksi pembentuk warna vanillin-asam sulfat*
FM FCBR	3	0.04	Positif (ungu muda)
		0.07	Positif (abu-abu muda)
		0.70	Positif (biru)
FM MCBR	3	0.06	Positif (abu-abu tua)
		0.52	Positif (cokelat muda)
		0.70	Positif (biru)

FM, Fraksi methanol; FCBR, Filtrat biakan CBR1D14; MCBR, Massa miselium CBR1D14.

*warna dalam kurung menandakan warna bercak pada nilai R_f yang menunjukkan zona hambat setelah disemprot vanilin asam sulfat.

cendawan endofit saat dibiakan (Strobel *et al.* 2004). Pembentukan metabolit sekunder merupakan implikasi terhadap berbagai proses seluler, termasuk perkembangan sel, pertahanan sel, dan untuk bertahan pada kondisi dengan nutrisi terbatas (Keller *et al.* 2005).

Ekstrak etil asetat filtrat biakan dan massa miselium CBR1D14 yang sebelumnya dibiakkan pada medium MEB menunjukkan aktivitas anticendawan terhadap *C. acutatum*. Sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak etil asetat galur E-10, E-26, dan E-33 (tidak menghasilkan spora) memiliki aktivitas anticendawan terhadap *A. alternata* dan *Botrytis cinerea* (Hormazabal dan Piontelli 2009).

Aktivitas anticendawan ekstrak etil asetat filtrat biakan CBR1D14 terhadap *C. acutatum*

menurun setelah dipartisi dengan pelarut metanol 90% dan heksana. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kerusakan senyawa-senyawa bersifat anticendawan yang terdapat di dalam ekstrak selama proses partisi dan pengeringan. Sebaliknya, fraksi metanol MCBR dari hasil partisi ekstrak etil asetat MCBR memiliki aktivitas anticendawan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi heksana dan ekstrak etil asetatnya. Hal ini dapat disebabkan oleh senyawa-senyawa anticendawan yang terdapat dalam ekstrak MCBR bersifat polar sehingga pemisahan senyawa nonpolar dari ekstrak dapat meningkatkan aktivitas anticendawan ekstrak tersebut.

Perkecambahan konidium merupakan fase awal dalam patogenesis cendawan *C. acutatum* setelah konidium kontak dengan

permukaan inangnya. Proses penghambatan perkecambahan konidium diharapkan dapat mencegah terjadinya infeksi dan tingkat infeksi penyakit antraknosa pada cabai dapat ditekan. Mekanisme penghambatan fraksi ekstrak terhadap perkecambahan konidium *C. acutatum* akan dapat menurunkan jumlah inokulum viabel. TeBeest *et al.* (1978) melaporkan bahwa perkembangan penyakit antraknosa pada gulma *Aeschynomene virginica* (L.) semakin cepat dengan semakin meningkatnya konsentrasi konidium *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* yang diinokulasikan. Bertetti *et al.* (2016) melaporkan bahwa keparahan penyakit antraknosa pada tanaman *Rhododendron azalea* akan semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi konidium *C. acutatum* yang diinokulasikan.

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlakuan FM FCBR dan FM MCBR dapat menurunkan insidensi penyakit. Selain itu, FM FCBR dan FM MCBR juga dapat memperpanjang masa inkubasi penyakit antraknosa. Hal ini ditunjukkan oleh buah yang diberi perlakuan FM FCBR dan FM MCBR membutuhkan waktu yang lebih lama untuk menimbulkan gejala penyakit dibandingkan dengan kontrol. Tingkat efikasi fraksi metanol FCBR maupun MCBR dalam menghambat diameter bercak penyakit antraknosa secara *in vivo* masih di bawah 50%. Oleh karena itu, konsentrasinya perlu ditingkatkan untuk dapat meningkatkan efikasinya dalam menekan penyakit antraknosa.

Senyawa-senyawa yang menunjukkan aktivitas anticendawan terhadap *C. acutatum* pada uji bioautografi menunjukkan hasil yang positif terhadap pereaksi vanilin-asam sulfat pada analisis KLT. Alkohol, fenol, steroid, dan minyak esensial merupakan senyawa yang dapat bereaksi positif dengan pereaksi vanillin-asam sulfat (Sudirman 2005).

Beberapa senyawa fenol dan steroid yang diisolasi dari cendawan endofit dilaporkan memiliki aktivitas anticendawan terhadap cendawan patogen (Li *et al.* 2008; Yu *et al.* 2010). Li *et al.* (2008) melaporkan bahwa senyawa fenol yang diisolasi dari cendawan

endofit *Pestalotiopsis adusta* memiliki aktivitas anticendawan yang nyata menghambat patogen tanaman *Fusarium culmorum*, *Gibberella zeae*, dan *Verticillium albo-atrum*.

Berdasarkan hasil penelitian ini, metabolit sekunder dari filtrat biakan CBR1D14 memiliki aktivitas anticendawan terhadap *C. acutatum* yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak miseliumnya dan fungisida benomil, serta menunjukkan aktivitas penekanan penyakit antraknosa pada buah cabai. Oleh karena itu, filtrat kultur CBR1D14 potensial dikembangkan sebagai bahan anticendawan untuk mengendalikan penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PUSBINDIKLAT, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi atas beasiswa yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bertetti D, Gullino ML, Garibaldi A. 2016. Effect of leaf wetness duration, temperature and inoculum concentration on infection of evergreen azalea by *Colletotrichum acutatum*, the causal agent of anthracnose. *J Plant Pathol.* 91(3):763–766.
- Chen YT, Ko WH. 2014. Characterization of a fungicidal substance produced by *Eupenicillium brefeldianum* isolated from soil for plant disease control and its significance in nature. *Bot Stud.* 55:39. DOI: <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-39>.
- Gao FK, Dai CC, Liu XZ. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *Afr J Microbiol Res.* 4(13):1346–1351.
- Garg R, Loganathan M, Saha S, Roy BK. 2014. Chilli Anthracnose: a review of causal organism, resistance source and mapping of gene. Di dalam: Kharwar RN, Upadhyay R, Dubey N, Raguwanshi R, editor. *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. New Delhi (IN): Springer

- New Delhi. hlm 589–610. DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-1801-2_53.
- Hormazabal E, Piontelli E. 2009. Endophytic fungi from Chilean native gymnosperms: antimicrobial activity against human and phytopathogenic fungi. *World J Microbiol Biotechnol.* 25:813–819. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9953-6>.
- Ibrahim R, Hidayat SH, Widodo. 2017. Keragaman morfologi, genetika, dan patogenisitas *Colletotrichum acutatum* penyebab antraknosa cabai di Jawa dan Sumatera. *J Fitopatol Indones.* 13(1):9–16. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1.9>.
- Keller NP, Turner G, Bennett JW. 2005. Fungal secondary metabolism from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbiol.* 3(12):937–947. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1286>.
- Kumar S, Kaushik N. 2013. Endophytic fungi isolated from oil-seed crop *Jatropha curcas* produces oil and exhibit antifungal activity. *PLoS One.* 8(2):e56202. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056202>.
- LeOra Software.1987. *POLO-PC: A User's Guide to Probit or Logit Analysis.* California (US): LeOra Software.
- Li E, Jiang L, Guo L, Zhang H, Che Y. 2008. Pestalochlorides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta*. *Bioorg Med Chem.* 16:7894–7899. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.075>.
- Shu C, Chen Q, Pi L, Zhang D, Pahwar QA, Zhou E. 2017. Identification and antifungal activity analysis of two biocontrol antagonists to *Colletotrichum musae*. *J Phytopathol.* 165(7–8):554–561. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12592>.
- Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. 2004. Natural products from an endophytic microorganisms. *J Nat Prod.* 67:257–268. DOI: <https://doi.org/10.1021/np030397v>.
- Sudirman LI. 2005. Deteksi senyawa antimikrob yang diisolasi dari berbagai *Lentinus* tropis dengan metode bioautografi. *HAYATI J Biosci.* 12(2):67–62. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1978-3019\(16\)30327-8](https://doi.org/10.1016/S1978-3019(16)30327-8).
- TeBeest DO, Templeton GE, Smith Jr RJ. 1978. Temperature and moisture requirements for development of anthracnose on northern jointvetch. *Phytopathol.* 68:389–393. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-68-389>.
- Wallhausser KH. 1969. Antibiotics. Di dalam: Stahl E, editor. *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook.* Berlin (DE): Springer-Verlaag.
- Wedge DE, Nagle DG. 2000. A new 2D-TLC bioautography method for the discovery of novel antifungal agents to control plant pathogens. *J Nat Prod.* 63:1050–1054. DOI: <https://doi.org/10.1021/np990628r>.
- Yu H, Zhang L, Li L, Zheng C, Guo L, Li W, Sun P, Qin L. 2010. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiol Res.* 165:437–449. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.009>.