



EKSPLORASI CENDAWAN *DARK SEPTATE ENDOPHYTE* (DSE) DARI AKAR KELAPA SAWIT SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI *Ganoderma boninense*

MIRTA ARDI LESTARI



PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024

Hak cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA*

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul “Eksplorasi Cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE) dari Akar Kelapa Sawit sebagai Agens Pengendali Hayati *Ganoderma boninense*” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Mirta Ardi Lestari
NIM A3502202011

RINGKASAN

MIRTA ARDI LESTARI. Eksplorasi Cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE) dari Akar Kelapa Sawit sebagai Agens Pengendali Hayati *Ganoderma boninense* Dibimbing oleh SURYO WIYONO, ABDUL MUNIF, dan SURONO.

Ganoderma boninense adalah salah satu patogen utama yang menghambat produktivitas kelapa sawit di Indonesia. Keparahan infeksi cendawan *G. boninense* pada tanaman kelapa sawit di Indonesia yang telah dilaporkan paling besar mencapai 60% dengan luas area yang diserang lebih dari 50%. Infeksi *G. boninense* di Indonesia paling banyak dilaporkan terjadi di pulau Sumatera dan Jawa. Dampak infeksi cendawan *G. boninense* menyebabkan lahan kelapa sawit mengalami penurunan produktivitas hingga 85%.

Berbagai upaya untuk mengendalikan infeksi *G. boninense* telah banyak dilakukan namun hingga saat ini belum ada teknik pengendalian yang efektif untuk mengendalikan *G. boninense*. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan eksplorasi untuk mencari agens biokontrol potensial baru yang dapat menekan *G. boninense*. Salah satu kelompok cendawan yang belum banyak dilaporkan untuk mengendalikan *G. boninense* adalah *dark septate endophyte* (DSE).

Cendawan DSE merupakan salah satu agens hayati yang berpotensi untuk digunakan dalam menekan penyebaran penyakit busuk pangkal batang. Penggunaan DSE telah terbukti menekan perkembangan patogen tular tanah lainnya, seperti *Fusarium oxysporum*, *Rigidoporus microporus*, *G. boninense* (*in vitro*). Salah satu mekanisme DSE sebagai agens pengendali hayati adalah menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat toksik terhadap patogen. Penelitian ini bertujuan memperoleh isolat DSE dari perakaran kelapa sawit yang berpotensi sebagai agens pengendali hayati *G. boninense* dan menganalisis mekanisme kerja cendawan DSE dalam menghambat *G. boninense*.

Penelitian ini terdiri dari empat kegiatan utama, yaitu: (1) pengamatan asosiasi antara cendawan DSE dan tanaman kelapa sawit dari sampel akar kelapa sawit dilapangan, (2) Isolasi dan karakterisasi DSE, (3) seleksi isolat cendawan DSE Potensial, (4) analisis senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan DSE. Pengamatan asosiasi pada sampel akar kelapa sawit dari lapangan dilakukan untuk melihat hubungan simbiosis cendawan DSE dan tanaman kelapa sawit di alam. Proses isolasi cendawan DSE dilakukan dari sampel akar kelapa sawit. Proses seleksi cendawan DSE dimulai dengan pengujian keamanan hayati yang meliputi uji fitopatogenisitas dan uji hemolisis darah. Selanjutnya isolat non patogen diuji lebih lanjut terkait kemampuannya dalam menghambat perkembangan *G. boninense* dan kemampuannya sebagai pemacu pertumbuhan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hubungan simbiosis antara tanaman kelapa sawit dan cendawan DSE terjalin secara alami, yang dibuktikan dengan adanya kolonisasi hifa dan struktur mikroskopis di dalam akar kelapa sawit yang diamati. Kolonisasi cendawan DSE banyak ditemukan pada tanaman yang terinfeksi *G. boninense*. Persentase kolonisasi cendawan DSE pada akar kelapa sawit berkisar 5-60%. Kolonisasi cendawan DSE dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti teknik budidaya, suhu, dan curah hujan.

Dari proses isolasi diperoleh 12 isolat cendawan DSE dari akar kelapa sawit.

Cendawan DSE yang diperoleh pada penelitian ini sebagian besar diperoleh dari akar tanaman yang sehat dengan persentase isolasi total sebesar 1,71%. Berdasarkan hasil kolonisasi dan isolasi membuktikan bahwa cendawan DSE mampu membentuk simbiosis dengan akar kelapa sawit. Isolat cendawan DSE yang telah diperoleh diuji keamanannya dengan uji fitopatogenisitas dan helolisis. Berdasarkan hasil uji keamanan hayati, diperoleh empat isolat yang tidak patogen, yaitu S51, S14, GS2, dan GS3. Keempat isolat cendawan tersebut juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan berat kering tanaman, panjang tajuk, dan panjang akar *Brassica rapa* sebesar 38-125%, 35-163%, dan 23-140%.

Selain meningkatkan pertumbuhan tanaman keempat cendawan DSE memiliki aktivitas antibiosis dan aktivitas kitinolitik. Aktivitas antibiosis cendawan DSE ditunjukkan dengan keberadaan zona bening diantara cendawan DSE dan *G. boninense* yang teramati pada umur 7 HSI. Aktivitas kitinolitik cendawan DSE dideteksi dengan menumbuhkan cendawan DSE pada media yang diperkaya dengan koloidal kitin. Aktivitas kitinolitik ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media terdapat disekitar isolat cendawan DSE. Berdasarkan hasil pengamatan aktivitas kitinolitik tertinggi diperoleh dari isolat cendawan DSE S51.

Mempertimbangkan hasil uji keamanan hayati, aktivitas antibiosis dan kitinolitik, maka dipilih dua isolat terbaik untuk diuji lebih lanjut yaitu isolat cendawan DSE S51 dan S14. Kedua cendawan DSE tersebut dianalisis senyawa metabolit sekundernya dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS). Hasil analisis metabolit sekunder pada penelitian ini menunjukkan bahwa cendawan DSE mampu menghasilkan senyawa metabolit seperti 1-H-imidazol-2,4,5-D3, 4-Kloro-3-fenil-2-pirazolin-5, dan benzena-2-propenil, yang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense*. Dua isolat cendawan DSE terpilih juga dianalisis secara molekuler dan telah teridentifikasi mirip dengan *Cladophialophora nyingchiensis* (isolat DSE S51) dan *Exophiala pisciphila* (isolat DSE S14).

Penelitian ini melaporkan untuk pertama kalinya bahwa cendawan DSE dapat membentuk hubungan simbiosis dengan akar kelapa sawit dan memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan *G. boninense*. Berdasarkan hasil penelitian cendawan DSE dapat berpotensi sebagai agens biokontrol dengan mekanisme sekresi enzim pendegradasi dinding sel dan antibiosis dengan menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang diduga sebagai senyawa antifungal. Selain itu cendawan DSE dapat meningkatkan respon pertahanan tanaman dan membantu mencegah pembentukan senyawa *reactive oxygen spesies* (ROS) dengan menghasilkan senyawa yang bersifat antioksidan. Cendawan DSE juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan pertumbuhan.

Kata kunci: Antifungal, *Cladophialophora nyingchiensis*, *Exophiala pisciphila*, metabolit sekunder

SUMMARY

MIRTA ARDI LESTARI. Exploration of Dark Septate Endophyte (DSE) Fungi from Oil Palm Roots as Biocontrol Agents of *Ganoderma boninense* Supervised by SURYO WIYONO, ABDUL MUNIF, and SURONO.

Ganoderma boninense is one of the major pathogens affecting oil palm productivity in Indonesia. The severity of *G. boninense* infection in oil palm plants in Indonesia has been reported to be as high as 60%, with more than 50% of the area affected. *G. boninense* infection in Indonesia is most commonly reported in Sumatera and Java. The impact of *G. boninense* fungal infection causes oil palm plantations to lose up to 85% of their productivity.

Various efforts have been made to control *G. boninense* infection, but to date there is no effective control technique to control *G. boninense*. Therefore, this study explores the search for new potential biocontrol agents that can suppress *G. boninense*. One group of fungi that has not been widely reported to control *G. boninense* is the dark septate endophyte (DSE).

DSE is one of the potential biological agents that can be used to suppress the spread of stem base rot. The use of DSE has been shown to suppress the development of other soil-borne pathogens such as *Fusarium oxysporum*, *Rigidoporus microporus*, and *G. boninense* (*in vitro*). One of the mechanisms of DSE as a biological control agent is the production of secondary metabolites that are toxic to pathogens.

This study aims to obtain DSE isolates from oil palm roots that have potential as biological control agents of *G. boninense* and to analyze the mechanism of action of DSE fungi in inhibiting *G. boninense*. This study consisted of four main activities, namely: (1) observation of association between DSE fungi and oil palm plants from oil palm root samples in the field; (2) isolation and characterization of DSE; (3) selection of potential DSE fungi isolates; and (4) analysis of secondary metabolites produced by DSE fungi. Association observations on oil palm root samples from the field were carried out to see the symbiotic relationship between DSE fungi and oil palm plants in nature. The isolation process of DSE fungi was carried out from oil palm root samples. The DSE fungus selection process begins with biosafety testing, which includes phytopathogenicity tests and blood hemolysis tests. In addition, non-pathogenic isolates were further tested for their ability to inhibit the development of *G. boninense* and their ability as growth promoters.

The results showed that the symbiotic relationship between oil palm plant and DSE fungi was naturally established, as evidenced by the presence of hyphal colonization and microscopic structures in the observed oil palm roots. DSE fungal colonization was mostly found in plants infected with *G. boninense*. The percentage of DSE fungus colonization in oil palm roots ranged from 5 to 60%. DSE fungal colonization can be influenced by several factors, such as cultivation techniques, temperature, and rainfall.

From the isolation process, 12 DSE fungal isolates were obtained from oil palm roots. The DSE fungi obtained in this study were mostly obtained from healthy plant roots with a total isolation percentage of 1,71%. Based on the results of colonization and isolation, it proves that DSE fungi are able to form symbiosis with

oil palm roots. The obtained DSE fungal isolates are tested for safety by phytopathogenicity and helolysis tests. Based on the results of the biosafety test, four isolates were obtained that were not pathogenic, namely S51, S14, GS2, and GS3. The four fungal isolates also have the ability to increase plant dry weight, crown length, and root length of chicory by 38-125%, 35-163%, and 23-140%, respectively.

In addition to increasing plant growth, the four DSE fungi have antibiotic and chitinolytic activity. The antibiotic activity of DSE fungi was indicated by the presence of a clear zone between DSE fungi and *G. boninense* observed at the age of 7 HSI. Chitinolytic activity of DSE fungi was determined by growing DSE fungi on colloidal chitin-enriched media. Chitinolytic activity is indicated by a change in the color of the media around the DSE fungus isolate. Based on the observation, the highest chitinolytic activity was obtained from DSE fungal isolate S51.

Considering the results of the biosafety test, antibiosis, and chitinolytic activity, the two best isolates were selected for further testing, namely DSE fungal isolates S51 and S14. Both DSE fungi were analyzed for secondary metabolites using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results of secondary metabolite analysis in this study showed that DSE fungi were able to produce metabolite compounds such as 1-H-imidazol-2,4,5-D3, 4-chloro-3-phenyl-2-pyrazolin-5, and benzene-2-propenyl, which were influential in inhibiting the growth of *G. boninense*. Two selected DSE fungal isolates were also molecularly analyzed and identified as similar to *Cladophialophora nyingchiensis* (DSE isolate S51) and *Exophiala pisciphila* (DSE isolate S14).

This study reports for the first time that DSE fungi can form symbiotic relationships with oil palm roots and have the ability to suppress the growth of *G. boninense*. Based on the results of the study, DSE fungi may have potential as biocontrol agents with the mechanism of secretion of cell wall-degrading enzymes and antibiosis by producing various metabolites that are believed to be antifungal compounds. In addition, DSE fungi can enhance plant defense responses and help prevent the formation of reactive oxygen species (ROS) compounds by producing antioxidant compounds. DSE fungi also have the ability to enhance growth

Keywords: Antifungal agent, *Cladophialophora nyingchiensis*, *Exophiala pisciphila*, secondary metabolites





© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2024 Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis inidalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

EKSPLORASI CENDAWAN *DARK SEPTATE ENDOPHYTE* (DSE) DARI AKAR KELAPA SAWIT SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI *Ganoderma boninense*

MIRTA ARDI LESTARI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Fitopatologi

**PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. Ir. Efi Toding Tondok, M.Sc. Agr



Judul Tesis : Eksplorasi Cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE) dari Akar Kelapa Sawit sebagai Agens Pengendali Hayati *Ganoderma boninense*
Nama : Mirta Ardi Lestari
NIM : A3502202011

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Abdul Munif, M.Sc.Agr

Pembimbing 3:
Surono, SP, M.Agr, Ph.D

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Giyanto, M.Si.
NIP. 19670709 199303 1 002

Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr
NIP. 19690212 199203 1 003

Tanggal Ujian: 15 Mei 2024

Tanggal Pengesahan: 06 AUG 2024

PRAKATA

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya pada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir tesis yang berjudul “Eksplorasi cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE) dari akar kelapa sawit sebagai Agens pengendali hayati *Ganoderma boninense*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister di Program Studi Fitopatologi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak sehingga penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih, khususnya kepada para pembimbing Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc. Agr, Prof. Dr. Ir Abdul Munif, M.Sc. Agr, dan Surono, S.P, M.Agr, Ph.D sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis juga ingin menyampaikan terima kasih kepada berbagai pihak atas segala bantuan yang diberikan dalam proses penyelesaian tesis ini. Penyelesaian tesis ini juga tidak lepas dari doa dan dukungan orangtua, suami, serta seluruh kerabat dan rekan sejawat atas segala doa, motivasi, dan dukungannya.

Demikian rasa syukur dan ucapan terima kasih ini penulis sampaikan. Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar dapat menjadi koreksi untuk menjadi lebih baik lagi serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Bogor, Agustus 2024

Mirta Ardi Lestari

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	VII
DAFTAR TABEL	IX
DAFTAR GAMBAR	IX
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit	4
2.2 Gejala infeksi <i>Ganoderma boninense</i> pada kelapa sawit	5
2.3 Pengendalian penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit	5
2.4 <i>Dark septate endophyte</i> (DSE)	7
III. BAHAN DAN METODE	9
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	9
3.2 Metode	9
3.2.1 Pengamatan kolonisasi sampel akar dari lapangan	9
3.2.2 Isolasi cendawan <i>dark septate endophyte</i>	9
3.2.3 Uji keamanan hayati isolat cendawan <i>dark septate endophyte</i>	10
3.2.4 Karakterisasi morfologi cendawan <i>dark septate endophyte</i>	10
3.2.5 Uji aktivitas antibiosis <i>dark septate endophyte</i> terhadap <i>Ganoderma boninense</i>	11
3.2.6 Uji aktivitas kitinolitik	11
3.2.7 Analisis senyawa metabolit sekunder cendawan <i>dark septate endophyte</i>	12
3.2.8 Karakterisasi molekuler cendawan <i>dark septate endophyte</i>	12
3.3 Analisis Data	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Kolonisasi cendawan <i>dark septate endophyte</i> pada sampel akar tanaman kelapa sawit	14
4.2 Total cendawan <i>dark septate endophyte</i> yang terisolasi dari akar kelapa sawit	15
4.3 Keamanan hayati isolat cendawan <i>dark septate endophyte</i> yang diperoleh dari akar tanaman sawit	16
4.4 Karakteristik morfologi isolat cendawan <i>dark septate endophyte</i>	18
4.5 Aktivitas antibiosis cendawan <i>dark septate endophyte</i> terhadap <i>Ganoderma boninense</i>	20
4.6 Aktivitas kitinolitik cendawan <i>dark septate endophyte</i>	21
4.7 Analisis metabolit sekunder dari cendawa <i>dark septate endophyte</i> terpilih	22



4.8 Karakteristik genetik isolat <i>cendawan dark septate endophyte</i> terpilih	23
--	----

V.PEMBAHASAN UMUM	25
-------------------	----

VI.SIMPULAN DAN SARAN	28
-----------------------	----

6.1 Simpulan	28
--------------	----

6.2 Saran	28
-----------	----

DAFTAR PUSTAKA	29
----------------	----

LAMPIRAN	37
----------	----

RIWAYAT HIDUP	42
---------------	----

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.