Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium* Aromaticum L.) Terhadap *Phytophthora Palmivora* Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.)

NI LUH PUTU SONIA SAVITA DEWI DEWA NGURAH SUPRAPTA*) I KETUT SUADA

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana Jl. PB. Sudirman Denpasar 80231 Bali *)Email: issaasbali@yahoo.com

ABSTRACT

Effectiveness of Clove Leaf Extract (Syzygium aromaticum L.) against Phytophthora palmivora the Cause of Cocoa Fruit Rot (Theobroma cacao L.)

Cocoa fruit rot caused by *Phytophthora palmivora* is one of the main diseases that can greatly reduce the yield of cocoa production in the world. Therefore it is necessary to control the disease in an environmentally friendly way. One of which is using botanical pesticides. Clove leaf is one of the plants which extract can be used as a fungicide. This study aimed to examine the effectiveness of clove leaf extract on *P. palmivora* the cause of cocoa fruit rot. MIC test and colony test was done using 10 extract concentrations namely 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 and 0,0% (control). The *in vivo* test uses 6 extract concentrations of 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 and 0,0% (control). The results showed the MIC (minimum inhibitory concentration) of clove leaf extract to suppress the growth of *P. palmivora* was 0.5% which means it is feasible to be used as a botanical pesticide. Under *in vivo* condition, clove leaf extract inhibited the growth of fungal colonies and infection and can be used as fungicide to suppress the growth of *P. palmivora*. The extract concentration of 1% prevented the damage of cocoa fruit caused by *P. palmivora* by 100%.

Keywords: clove extract, Phytophthora palmivora, cocoa fruit rot

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah komoditi perkebunan unggulan di Indonesia. Indonesia sendiri merupakan salah satu negara penghasil kakao terbesar di dunia. Penurunan produksi dari tanaman kakao disebabkan oleh berbagai faktor baik secara biotik maupun abiotik. Hama dan penyakit merupakan salah satu penyebab

ISSN: 2301-6515

usaha pengembangan dan peningkatan produksi kakao menurun. Penyakit busuk buah kakao merupakan salah satu penyakit utama yang dapat mempengaruhi sistem produksi kakao di dunia. Penyakit ini dapat menyebabkan kehilangan hasil mencapai 90% (Rosmana *et al.*, 2010). Penyakit busuk buah kakao yang disebabkan oleh patogen *Phytophthora palmivora* sulit untuk dikendalikan, dan pada umumnya petani cenderung menggunakan pestisida sintetis secara berlebihan sehingga menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan dan lingkungan.

Untuk mencegah penggunaan pestisida yang berlebihan diperlukan suatu teknologi dan metode pengendalian yang ramah lingkungan dan efektif menekan pertumbuhan patogen tanaman, seperti pemanfaatan pestisida nabati. Tanaman obat merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati. Tanaman obat memilki potensi untuk dijadikan fungisida alami, dikarenakan tanaman obat mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antijamur (Sati *et al.*, 2011). Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai fungisida nabati yaitu tanaman cengkeh.

Daun cengkeh merupakan salah satu dari bagian tanaman cengkeh yang dapat digunakan sebagai pestisida nabati. Dalam daun cengkeh mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain saponin, alkaloid, flavonoid dan tannin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahahui efektivitas ekstrak daun cengkeh terhadap *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Penelitian ini berlangsung sejak bulan Desember 2018 sampai Mei 2019.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunaakan dalam penelitian ini adalah *Rotary Vacuum Evaporator*, piring Petri, tabung erlenmeyer, autoklaf, kompor, tissue, plastik, pisau, pinset, jarum Ose, timbangan elektrik, tabung reaksi, kertas label, gunting, kamera, blender, aluminium foil, panci, *laminar air flow*, lampu spiritus, *cork borer*, gelas ukur, mikroskop, dan mikropipet. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*), buah kakao (*Theobroma cacao* L.), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), metanol, alkohol 70%, *Levofloxacin*, dan air steril.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

2.3.1 Isolasi Phytophthora palmivora Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao

Isolat patogen di ambil dari buah kakao yang sudah mengalami busuk seperempat bagian. Isolasi patogen diambil dari bagian buah di antara bagian sakit dan sehat. Buah dicuci bersih, disemprot dengan alkohol 70% dan dilap dengan tissue. Bagian buah di antara bagian sakit dan sehat diambil dengan pisau steril, lalu dipotong

sebesar 1cm x 1cm dan ditanam pada media PDA. Jamur yang tumbuh pada setiap potongan buah dimurnikan dan dilakukan uji *postulat Koch*. Jamur yang tumbuh diidentifikasi sesuai dengan ciri dan morfologinya.

2.3.2 Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Cengkeh

Daun cengkeh pada tahap awal dicuci terlebih dahulu dengan air bersih, kemudian ditiriskan dan dipotong-potong kecil lalu dikering anginkan selama empat hari pada tempat teduh atau dalam ruangan. Daun diblender dan direndam menggunakan metanol dengan perbandingan 1:10 selama 5 hari lalu dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator*.

2.3.3 Uji Aktivitas Antijamur dengan Metode Sumur Difusi

Piring Petri diisi dengan 200 µl spora jamur *P.palmivora* kemudian ditambahkan dengan 10 ml media PDA encer (suhu media sekitar 42-45°C) digoyangkan secara horizontal agar spora jamur dan media PDA tercampur merata. Setelah media memadat buat sumur difusi menggunakan *cork borer* sebanyak 2 buah pada setiap piring Petri dan setiap sumur difusi diisi dengan ekstrak kasar daun cengkeh sebanyak 20 µl. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitaran sumur difusi (Suriani, 2015).

2.3.4 Penentuan MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

Sebanyak 200 µl suspensi jamur dicampur dengan 10 ml PDA encer (suhu media sekitar 42-45°C) dan di goyang secara horizontal sampai tercampur merata dalam piring Petri. Setelah PDA memadat, buat empat buah sumur difusi menggunakan *cork borer*, lalu diberikan masing-masing konsentrasi ekstrak yaitu 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 dan 1% sebanyak 20 µl ke dalam sumur difusi menggunakan pipet mikro. Pengukuran diameter zona hambatan dilakukan ketika jamur pada kontrol telah tumbuh merata pada piring Petri.

2.3.5 Uji Daya Hambat Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur

Uji persentase daya hambat dilakukan dengan metode koloni (Suprapta, 2014). Masing-masing konsentrasi ekstrak dicampurkan dengan media PDA, lalu digoyangkan hingga merata. Setelah media memadat, miselia jamur yang diambil dari koloni jamur biakan murni menggunakan *cork borer* diletakkan pada bagian tengah piring Petri menggunakan jamur *ose*. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengukuran persentase daya hambat dilakukan ketika jamur kontrol telah memenuhi piring Petri. Daya hambat perlakuan ektrak dihitung dengan menggunakan rumus (1) sebagai berikut (Suprapta, 2014):

$$I(\%) = \frac{\text{diameter koloni jamur kontrol - diameter koloni jamur perlakuan}}{\text{diameter koloni jamur kontrol}} \times 100\%.....(1)$$

$$(I = Daya hambat dalam persen)$$

2.3.6 Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cengkeh Secara In vivo Pada Buah Kakao

Uji efektivitas ekstrak daun cengkeh secara *in vivo* di laboratorium diawali dengan menyiapkan buah kakao sehat, setelah itu buah kakao dicuci bersih dengan air dan disemprot alkohol, lalu buah kakao dibelah menjadi 4 bagian. Buah ditusuk-tusuk dengan jarum spelden sebanyak 5 kelompok tusukan dengan masing-masing 5 tusukan perkelompok pada setiap potongan buah. Buah disemprot dengan masing-masing konsentrasi ekstrak cengkeh yaitu 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 dan 0% sebagai kontrol, setelah itu didiamkan selama 15 menit baru diinokulasikan koloni jamur *P. palmivora* yang diambil pada piring Petri. Percobaan dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dan pengamatan uji efektivitas dilihat dari daya hambat kerusakan yang diakibatkan.

2.3 Analisis Data

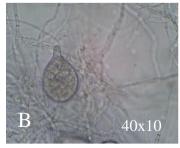
Data yang diperoleh dilakukan dengan uji ANOVA. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa berpengaruh berbeda nyata terhadap parameter yang diamati diperlukan uji lanjutan yaitu Uji Duncan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi dan Identifikasi Phytophthora palmivora Penyebab Busuk Buah Kakao

Hasil isolasi patogen busuk buah kakao pada media PDA menunjukkan koloni jamur berwarna putih bersih dan tampak berlapis tipis baik dari bagian atas maupun bawah cawan petri (A). Ciri tersebut sesuai dengan dilaporkan oleh Yoza (2010) dan Hendrawati (1997). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ciri dari *P. palmivora* itu memiliki sporangium yang jelas dan serupa dengan buah jeruk nipis dan tonjolan di ujungnya sangat jelas (B). Holiday (1980) melaporkan bahwa bentuk sporangium *P. palmivora* umumnya berbentuk elip atau seperti buah jeruk nipis dengan tonjolan diujungnya.

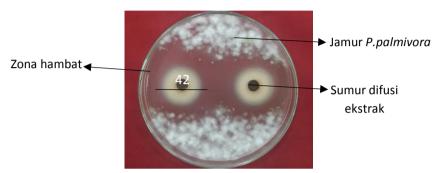




Gambar 1. Jamur *P. palmivora*. Koloni (A) dan Sporangium (B). (Sumber: Koleksi pribadi, 2019)

3.2 Aktivitas Antijamur dengan Metode Sumur Difusi

Hasil uji aktivitas antijamur dengan metode sumur difusi menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari daun cengkeh mampu menghambat pertumbuhan jamur P.palmivora pada media PDA dengan diameter 42 mm seperti (Gambar 2). Menurut Davis dan Stout (1971) melaporkan bahwa zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm berarti daya hambatnya dikatakan sangat kuat, zona hambat 10-20 mm dikatakan kuat, zona hambat 5-10 mm dikatakan sedang, dan jika zona hambat ≤ 5 mm daya hambatnya dikatakan kurang atau lemah.



Gambar 2. Daya hambat ekstrak daun cengkeh terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora* pada media PDA. (Sumber: Koleksi pribadi, 2019).

Berdasarkan Davis dan Stout (1971) maka ekstrak dauh cengkeh memiliki daya hambat sangat kuat karena diameter zona hambat yang terbentuk ≥ 20 mm. Karena daya hambat yang terbentuk sangat kuat maka ekstrak daun cengkeh dapat uji lanjutan.

3.3 Nilai MIC Ekstrak Daun Cengkeh Terhadap Phytophthora palmivora

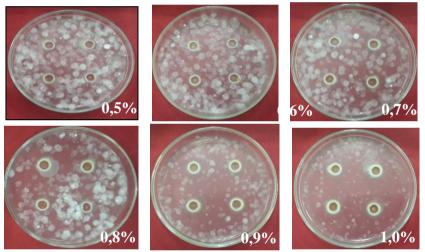
Hasil uji yang telah dilakukan menunjukkan bahwa konsentrasi minimum yang dapat menimbulkan hambatan terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora* adalah 0,5%. Diameter zona hambatan tertinggi yaitu sebesar 11,92 mm pada konsentari 1% dan terendah dari konsentrasi 0.5% yaitu sebesar 8,03 mm yang diamati pada hari ke-5 setelah inkubasi. Konsentrasi ekstrak daun cengkeh di bawah 0,5% tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora*, namun dari konsentrasi 0,5% ke atas memiliki daya hambat yang meningkat sesuai dengan peningkatan konsentari yang diberikan (Tabel 1, Gambar 3).

Penetapan nilai MIC sangat penting dalam pengujian suatu ekstrak tanaman karena memberikan informasi tentang potensi aktivitas antimikroba dari ekstrak tersebut. Nilai MIC juga dapat dijadikan acuan untuk mengevaluasi resistensi mikrooganisme terhadap suatu ekstrak (Sen *et al.* 2012). Suprapta (2014) melaporkan, nilai MIC suatu zat atau ekstrak sangat bervariasi satu sama lainnya. Secara umum ekstrak tumbuhan akan layak untuk dijadikan sebagai bahan aktif pestisida nabati bila MIC ekstrak tersebut dibawah 0,5% atau maksimum 0,5%.

raber 1. Zona nambat ekstrak daun eengken ternadap jamur 1. patmivora					
No.	Konsentrasi ekstrak (%)	Diameter zona hambat (mm)			
1	0,1	0			
2	0,2	0			
3	0.3	0			
4	0,4	0			
5	0,5*	8,25*			
6	0,6	8,75			
7	0,7	9,41			
8	0,8	10,33			
9	0,9	11,50			
10	1	11,92			

Tabel 1. Zona hambat ekstrak daun cengkeh terhadap jamur P.palmivora

^{*}Nilai MIC ekstrak daun cengkeh



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk akibat perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun cengkeh.

3.4 Daya Hambat Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur

Hasil uji daya hambat ekstrak daun cengkeh terhadap pertumbuhan jamur *P.palmivora* pada media PDA menunjukkan ekstrak daun cengkeh mampu menekan pertumbuhan koloni jamur *P. palmivora* secara nyata (P<0,5). Perlakuan ekstrak daun cengkeh secara nyata berpengaruh terhadap penurunan luas koloni jamur dan peningkatan persentase daya hambat terhadap jamur *P. plamivora* sesuai dengan tingkatan konsentrasi yang diberikan. Konsensentrasi 0,1% merupakan konsentrasi yang memiliki diameter koloni terbesar yaitu 35,33 mm dengan daya hambat terkecil sebesar 60,74%. Konsentrasi 0,3% sampai 1,0% memiliki diameter koloni 0 mm atau tidak tumbuh dengan daya sebesar 100% (Tabel 2, Gambar 4).

100,00

jamur <i>P.palmivora</i>						
No.	Konsentrasi ekstrak	Diameter koloni	Daya hambat			
	(%)	(mm)	(%)			
1	0	$90,00^{d}$	-			
2	0,1	$35,33^{c}$	60,74			
3	0,2	14,33 ^b	84,07			
4	0,3	$0,00^{a}$	100,00			
5	0,4	$0,00^{a}$	100,00			
6	0,5	$0,00^{a}$	100,00			
7	0,6	$0,00^{a}$	100,00			
8	0,7	$0,00^{a}$	100,00			
9	0,8	$0,00^{a}$	100,00			
10	0,9	$0,00^{a}$	100,00			

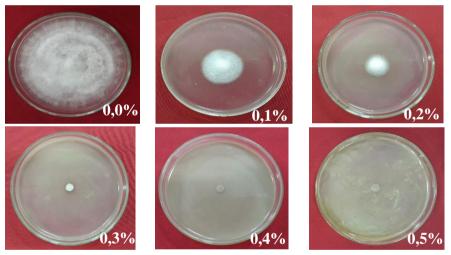
 0.00^{a}

Tabel 2. Daya hambat ekstrak daun cengkeh terhadap pertumbuhan koloni jamur *P.palmivora*

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

1.0

11



Gambar 4. Pertumbuhan koloni jamur P. palmivora pada berbagai konsentrasi ekstrak kasar daun cengkeh.

Menurut Kartika *et al.* (2003) persentase daya hambat antara 1-25% merupakan daya hambat lemah, 26-50% merupakan daya hambat sedang, 51-75% merupakan daya hambat kuat dan daya hambat diatas 75% merupakan daya hambat sangat kuat. Berdasarkan golongan persentase tersebut maka ekstrak daun cengkeh konsentrasi 0,1% tergolong ke dalam persentase daya hambat kuat dan konsentrasi 0,2-1,0% tergolong ke dalam persentase daya hambat sangat kuat. Ekstrak daun cengkeh ini bersifat sebagai fungisida terhadap jamur *P. palmivora* penyebab busuk buah kakao setelah diuji kembali pada media PDA.

Menurut Sitepu *et al.* (2012) semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diujikan pada media, maka semakin banyak ekstrak yang berdifusi ke dalam sel jamur, sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan jamur bahkan dapat menyebabkan kematian jamur.

3.5 Efektivitas Ekstrak Daun Cengkeh Secara In Vivo Pada Buah Kakao

Hasil uji efektivitas ekstrak daun cengkeh secara *in vivo* pada buah kakao menunjukkan perbedaan pengaruh yang nyata terhadap daya hambat pertumbuhan koloni jamur dan kerusakan buah kakao. Pemberian dari setiap konsentrasi ekstrak memiliki persentase daya hambat yang berbeda-beda baik daya hambat koloni maupun daya hambat kerusakan. Pada konsentrasi 0,5% memiliki daya hambat terkecil sebesar 16,37% dan 72,45%. Daya hambat tertinggi pada konsentrasi 1,0% sebesar 32,27% dan 100% (Tabel 3).

Table 3. Daya hambat ekstrak daun cengkeh terhadap pertumbuhan jamur *P.palmivora* dan kerusakan pada buah kakao

No.	Konsentrasi	Diameter	Daya hambat	Diameter	Daya
110.	ekstrak	koloni	(%)	kerusakan	hambat
	(%)	(mm)		(mm)	(%)
1	0	$11,60^{d}$	-	$7,65^{c}$	-
2	0,5	$9,70^{c}$	16,37	$2,10^{b}$	72,45
3	0,6	$9,10^{bc}$	21,46	$1,75^{b}$	76,80
4	0,7	$9,10^{bc}$	21,46	1,65 ^{ab}	78,62
5	0,8	$8,30^{ab}$	28,18	$0,65^{ab}$	91,46
6	0,9	$7,95^{a}$	31,39	$0,55^{ab}$	92,91
7	1,0	$7,85^{a}$	32,27	$0,00^{a}$	100,00

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Pemberian ekstrak daun cengkeh memberikan pengaruh nyata terhadap penghambatan terjadinya infeksi atau kerusakan terhadap buah kakao. Koloni jamur yang tumbuh pada permukaan buah kakao tidak mampu masuk untuk mengadakan infeksi atau menyebabkan kerusakan pada buah dan hanya tumbuh pada permukaan buah saja (Gambar 5). Ekstrak daun cengkeh mampu mencegah terjadinya infeksi dikarenakan ekstrak daun cengkeh mengandung senyawa aktif seperti triterpenoid, steroid, flavonoid, fenol, tanin, dan alkaloid. Menurut Indriasi *et al.* 2015 senyawa tersebut mampu bersifat fungisida, yaitu membunuh jamur sebelum mempenetrasi ke sel tanaman.



Gambar 5. Pertumbuhan koloni jamur P. palmivora pada berbagai konsentrasi ekstrak kasar daun cengkeh.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1. Secara *in vitro* konsentrasi minimum ekstrak daun cengkeh yang efektif menghambat pertumbuhan *P. palmivora* adalah 0,5% yang berarti layak untuk dipergunakan sebagai pestisida nabati.
- 2. Secara *in vivo* ekstrak daun cengkeh menghambat pertumbuhan koloni jamur dan terjadinya infeksi, serta dapat bersifat fungisida menekan pertumbuhan *P. palmivora* penyebab busuk buah kakao. Konsentrasi ekstrak 1% dapat menekan kerusakan buah kakao oleh *P. palmivora* sebesar 100%.

4.2 Saran

Perlu dilakukan uji lanjutan di lapangan pada kebun kakao dengan lokasi yang berbeda-beda agar diketahui pengaruh lingkungan terhadap keefektifan ekstrak daun cengkeh dalam menekan penyakit busuk buah kakao di lapangan.

Daftar Pustaka

Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic essay. *Journal of Microbiology*. 22 (4): 659-665.

- ISSN: 2301-6515
- Hendrawati (1997). Analisis DNA Phytophthora spp. penyebab penyakit busuk pada buah kakao (Theobroma cacao L.) dengan teknik RAPD. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor.
- Holliday, P. 1980. Fungus Diseases of Trofical Crops. Cambridge Univ. Press, U. K.
- Indriasi M., C. Indra., A. Taufik. (2015). Pemanfaatan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai repellent nabati dalam mengurangi jumlah lalat yang hinggap selama proses penjemuran ikan asin. Jurnal. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Kartika, R., W. Syafi'i, dan M. Hanafi. 2003. Aktivitas anti jamur damar mata kucing, Jurnal Teknologi Hasil Hutan, 02 (16). Fakultas Kehutanana. IPB. Bogor.
- Puslitbangbun (Pusat Penelitian dan Pengem-bangan Perkebunan). 2007. Teknologi unggulan cengkeh budi daya pendukung varietasunggul. P.2-5 Booklet. Pusat Penelitiandan Pengembangan Perkebunan, Bogor.
- Rosmana A., C. Waniada., M. Junaid., A. Gassa. 2010a. Peranan semut *Iridomirmex* cordatus (Hyminoptera: Formicidae) dalam menularkan patogen busuk buah *Phytophthora palmivora*. Pelita Perkebunan. (26): 169-176.
- Sati S.C. & S. Joshi. 2011. Aspects of antifungal potential of ethnobotanically known medicinal plants. Research Journal of Medicinal Plant, 5 (4): 377-391.
- Sen, A. and A. Batra. 2012. Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: Melia azedarach L. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4(2): 67-73.
- Sitepu, I. S., I. K. Suada dan I. G. K. Susrama. 2012. Uji aktivitas antimikroba beberapa ekstrak bumbu dapur terhadap pertumbuhan jamur *Curvularia lunata*.
- Suprapta, D. N. 2014. Pestisida Nabati: Potensi dan Prospek Pengembangan. Pelawa Sari: Denpasar.
- Suriani, N. L. 2015. Pemanfaatan ekstrak daun cabe hutan (*Piper caninum* Blume) untuk mengendalikan jamur *Pyricularia oryzae* Cav. penyebab penyakit blas pada padi (*Oryza sativa* L.). Disertasi. Universitas Udayana: Denpasar.
- Yoza, R. dan D. Sunarwati. 2010. Kemampuan *Trichoderma* dan *Penicillium* dalam menghambat pertumbuhan cendawan penyebab penyakit busuk akar durian (*Phytophthora palmivora*) secara *In Vitro*. Seminar Nasional Program dan Strategi Pengembangan Buah Nusantara. Solok.