

Potensi dan Karakterisasi Fisiologis Bakteri Endofit Asal Tanaman Kakao Sehat sebagai Pemacu Pertumbuhan Benih Kakao

(Potential and Physiological Characterization of Endophytic Bacteria Isolated from Healthy Cacao Plant as a Growth Promoter of Cacao Seeds)

Andi Khaeruni*, Tanza Nirmala, Waode Siti Anima Hisein, Gusnawaty, Teguh Wijayanto, Gusti Ayu Kade Sutariati

(Diterima September 2019/Disetujui Mei 2020)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri endofit asal tanaman kakao sehat yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan pada benih kakao. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Unit Fitopatologi, Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo di Kendari. Penelitian dilaksanakan dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan sepuluh isolat bakteri endofit asal kakao sehat sebagai perlakuan ditambah kontrol. Pengujian dilakukan dengan metode perendaman benih dan benih ditanam dalam kotak perkecambahan yang berisi sekam padi steril sebagai media tanam. Hasil pengamatan menunjukkan tiga isolat bakteri endofit, yaitu isolat 2RPR1, 2RWB2, dan 5BRB3 yang paling berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman kakao karena ketiga isolat tersebut mampu meningkatkan daya berkecambah sampai 96,67%, keserempakan tumbuh 90–96,67%, meningkatkan tinggi tanaman 47,84–67,17%, bobot kering akar 35,08–52,63%, dan bobot kering tajuk 97,71–108,46%. Ketiga isolat bakteri endofit memiliki kemampuan melarutkan fosfat, memfiksasi N, dan memproduksi Indol Asam Asetat.

Kata kunci: bakteri endofit, kakao, pemacu pertumbuhan, viabilitas benih

ABSTRACT

This study aimed to obtain endophytic bacterial isolates originated from healthy cacao plant, potential for plant-growth promoting of cacao seedlings. This study was carried out in the Phytopathology Laboratory Unit of the Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Halu Oleo University. This study was conducted using a completely randomized design (CRD) using ten isolates of endophytic bacteria from healthy cocoa plants as treatments, plus a control treatment. The experiment was conducted in a greenhouse using seed treatment and planted in seedling boxes, containing sterile rice-husk charcoal as a growing medium. The result showed that three endophytic bacteria tested (isolates 2RPR1, 2RWB2, and 5BRB3) were potential as plant growth-promoting of cacao seedlings, because the isolates were able to increase seed germination up to 96.67%, relative growth rate up to 90–96.67%, increased plant height up to 47.85–67.17%, root dry weight up to 35.08–52.63%, and canopy dry weight up to 97.71–108.46%. The superiority of the three isolates were related to their abilities to fix nitrogen, dissolve phosphate, as well as to produce indole acetic acid.

Keywords: cacao, endophytic bacteria, plant growth-promoting agent, seed viability

PENDAHULUAN

Provinsi Sulawesi Tenggara merupakan salah satu sentra produksi kakao di Indonesia. Produksi kakao di Sulawesi Tenggara dari tahun 2013–2015 mengalami penurunan drastis. Pada tahun 2013, produksi kakao mencapai 185.201 ton, sementara pada tahun 2015 hanya sebesar 135.932 ton (BPS 2015). Penurunan produksi kakao di Sulawesi Tenggara terjadi karena beberapa faktor penghambat, di antaranya adanya serangan hama dan patogen yang tinggi dan tanaman yang sudah berumur tua.

Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo, Jl. HEA Mokodompit Kendari, 93232

* Penulis Korespondensi:

Email: andikhaeruni.uho@gmail.com

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi kakao di Sulawesi Tenggara adalah melakukan rehabilitasi tanaman kakao yang sudah berumur tua dan tidak produktif dengan penanaman klon/varietas unggul atau dengan perluasan areal perkebunan kakao. Rehabilitasi pertanaman kakao yang berumur tua dan perluasan areal perkebunan kakao memerlukan ketersediaan benih kakao yang bervigor tinggi. Penggunaan benih yang bervigor tinggi diharapkan dapat mengatasi masalah penurunan laju produktivitas dan dapat ditanam pada lahan marjinal yang masih luas di wilayah Sulawesi Tenggara.

Sutariati *et al.* (2013) mengemukakan bahwa invigorasi benih dengan rizobakteri dapat meningkatkan vigor benih kakao. Selain rizobakteri, kelompok bakteri yang banyak dilaporkan sebagai pemacu per-

tumbuhan tanaman adalah bakteri endofit dari beberapa strain, seperti *Azoarcus*, *Burkholderia*, *Gluconobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pantoea*, dan *Rahnella* (Kandel *et al.* 2017). Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri yang hidup dan berasosiasi dengan jaringan tanaman tanpa mengganggu pertumbuhan dan tanpa menimbulkan suatu gejala penyakit pada tanaman tersebut. Bakteri endofit membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya sehingga bakteri endofit mempunyai potensi sebagai penghasil metabolit sekunder, seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya (Gaiero *et al.* 2013). Bakteri endofit sebagai agens pemacu pertumbuhan dan biokontrol memiliki kelebihan dibandingkan dengan agens hayati lainnya karena keberadaannya dalam jaringan tanaman membuatnya mempunyai kemampuan bertahan terhadap tekanan biotik dan abiotik (Resti *et al.* 2013).

Usuki & Narisawa (2007) menyatakan bahwa mekanisme interaksi simbiosis antara tanaman dengan bakteri endofitik adalah melalui pertukaran nutrisi di mana bakteri menambat N_2 menjadi tersedia bagi tanaman dalam bentuk NH_3 serta menghasilkan fitohormon berupa IAA, Sitokinin, dan berbagai senyawa lainnya. Tanaman menyediakan karbon/gula dan asam amino, jenis gula terutama sukrosa dan glukosa untuk bakteri endofitik. Saridewi *et al.* (2020) mengemukakan bahwa bakteri endofit mampu memacu pertumbuhan terkait dengan kemampuannya menghasilkan fitohormon, seperti asam indolasetat-3 (IAA), meningkatkan ketersediaan fosfat, menghasilkan berbagai enzim, seperti amilase, selulase, dan protease. Duangpaeng *et al.* (2012) dan Lopez *et al.* (2012) menyatakan bahwa peningkatan pertumbuhan tanaman oleh perlakuan bakteri endofit diduga karena bakteri endofit dapat meningkatkan fiksasi nitrogen, aktivitas fotosintesis, dan produksi IAA.

Pada saat ini, di Laboratorium Proteksi Tanaman Unit Fitopatologi, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo telah terkoleksi sepuluh bakteri endofit asal tanaman kakao sehat yang diperoleh dari perkebunan rakyat di Kabupaten Konawe Selatan, Kolaka Timur, dan Kolaka Utara yang memiliki kemampuan menghambat perkembangan *Phytophthora palmivora* Bult penyebab penyakit busuk buah, kanker batang, dan hawar daun pada kakao secara *in vitro*, dan memiliki aktivitas enzim kitinolitik, seperti selulase, protease, dan amilase (Khaeruni *et al.* 2019).

Penggunaan agens hayati yang berperan ganda sebagai agens biokontrol patogen sekaligus sebagai pemacu pertumbuhan tanaman memiliki keunggulan dibanding agens hayati yang berperan tunggal, hanya sebagai agens hayati atau hanya sebagai agens pemacu pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi bakteri endofit asal buah kakao sehat yang memiliki potensi sebagai agens biokontrol patogen dan juga sebagai pemacu pertumbuhan benih kakao.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah benih kakao varietas forastero, 10 isolat bakteri endofit asal tanaman kakao sehat yang berpotensi sebagai agens biokontrol *P. palmivora* Bult: 2RWB2, 2RPR1, 5BRB3, 1BRB1, 3BAE, 2BWB2, 4RRB, 4RS, 1BPL, dan 2BRB (Khaeruni *et al.* 2019). Alat yang digunakan ialah *hand sprayer*, *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet*, *shaker waterbath*, sentrifugasi, spektrofotometer, dan kotak perkecambahan.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Unit Fitopatologi dan *screen house* Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara, pada bulan Januari–Maret 2019.

Metode Pelaksanaan

• Pembuatan suspensi bakteri endofit

Sebanyak sepuluh isolat bakteri endofit secara terpisah ditumbuhkan pada media TSA steril lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Isolat-isolat bakteri yang telah berumur 48 jam disuspensikan secara terpisah ke dalam 100 mL akuades steril sampai mencapai kerapatan sel 10^8 CFU/mL.

• Perlakuan dan penanaman benih

Buah kakao yang telah masak secara fisiologis dibelah, biji dikeluarkan, dan dibersihkan dari lendir lalu dipilih biji yang sehat bernas dan ukuran yang relatif sama untuk digunakan dalam penelitian ini. Sebanyak 10 benih (biji) kakao direndam dalam 150 mL suspensi bakteri endofit (10^8 CFU/mL) dalam botol Scott 250 mL sesuai perlakuan pada suhu ruang selama 8 jam. Untuk kontrol, benih direndam dalam akuades steril. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Setelah perendaman, benih langsung ditanam dalam kotak perkecambahan yang berisi sekam padi steril sebagai media tanam. Setiap kotak berisi 10 biji benih untuk masing-masing perlakuan dan kontrol. Kotak plastik perkecambahan diletakkan dalam *screen house* per-semaian. Pengamatan pengaruh bakteri endofit pada mutu fisiologis benih yang meliputi daya berkecambah benih (%), indeks vigor (%), dan keserempakan tumbuh dihitung berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Sutariati *et al.* (2013), sedangkan tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah akar dan tajuk, serta bobot kering akar dan tajuk diamati pada saat tanaman berumur satu bulan.

• Karakterisasi fisiologis bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan

Karakteristik fisiologis bakteri endofit yang diamati meliputi kemampuan kualitatif dalam melarutkan fosfat, memproduksi asam indoleasetat (IAA), dan menambat nitrogen secara bebas. Kemampuan bakteri endofit

melarutkan fosfat diuji dalam medium Pikovs yang kaya senyawa agar dengan penambahan *tri-calcium-phosphate* (TCP) sebagai sumber fosfat (Thakuria *et al.* 2004). Medium uji dituang ke dalam cawan petri dan dibuat lubang dengan pelubang gabus berdiameter 6 mm dan diisi dengan 200 μ L (10^8 CFU/mL) suspensi bakteri endofit umur 48 jam. Medium uji diinkubasi selama 3 hari pada suhu 28°C. Kemampuan melarutkan fosfat setiap isolat bakteri endofit dievaluasi secara kualitatif berdasarkan pembentukan halo (zona kering) di sekitar lubang yang berisi suspensi isolat uji. Isolat yang mampu melarutkan fosfat secara sangat kuat diberi tanda (+++) jika diameter zona bening lebih dari 2 cm, kuat (++) jika diameter zona bening lebih dari 1 cm hingga 2 cm, lemah (+) jika diameter zona bening kurang dari 1 cm, dan jika tidak mampu melarutkan fosfat diberi tanda (-).

Kemampuan bakteri endofit sebagai pemfiksasi nitrogen secara bebas dari udara dianalisis secara kualitatif dengan menggunakan media Burk sebagaimana dijelaskan dalam Ponmurugan *et al.* (2012). Isolat positif sebagai pemfiksasi nitrogen jika bakteri tersebut mampu tumbuh dalam larutan *Burk salt* yang ditandai dengan kekeruhan media dalam tabung reaksi. Isolat yang memperlihatkan media pertumbuhan yang sangat keruh diberi tanda +++ (aktivitas tinggi), media pertumbuhan keruh diberi tanda ++ (aktivitas sedang), dan media pertumbuhan yang kurang keruh diberi tanda + (aktivitas rendah), dan media yang tidak keruh diberi tanda - (negatif).

Kemampuan suatu isolat bakteri endofit memproduksi IAA dianalisis menggunakan metode Glickman dan Desaux, sesuai dengan prosedur kerja yang dikemukakan oleh Guyasa *et al.* (2018). Nilai absorbans campuran dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan kurva standar, media NB, dan standar IAA konsentrasi 0; 6,25; 12,5; 25, 50, 75, 100, 150, dan 200 ppm untuk menentukan kandungan IAA dalam sampel (μ g/ml).

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan isolat bakteri endofit ditambah kontrol. Setiap perlakuan diulang

sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 33 satuan percobaan (bak persemaian). Pengaruh bakteri endofit pada viabilitas benih dan pertumbuhan tanaman dianalisis ragam dengan menggunakan Program SAS. Perlakuan yang nyata diuji lanjut dengan uji Duncan pada taraf uji 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mutu Fisiologis Benih

Hasil pengamatan pada variabel viabilitas benih menunjukkan bahwa perlakuan isolat bakteri endofit asal tanaman kakao sehat berpengaruh sangat nyata pada daya berkecambah, indeks vigor, dan keserempakan tumbuh benih kakao (Tabel 1). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa perlakuan bakteri endofit asal tanaman hutan pada benih mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman karet (Hidayati *et al.* 2014) dan tanaman tomat (Munif *et al.* 2015).

Pengaruh perlakuan bakteri endofit pada benih pertama kali dapat dilihat pada pengamatan mutu fisiologis benih, di antaranya melalui variabel daya berkecambah, indeks vigor, dan keserempakan tumbuh. Rata-rata daya berkecambah benih kakao yang diberi perlakuan bakteri endofit berkisar 80,00–96,67%, sedangkan kontrol hanya 66,67%. Semua perlakuan bakteri endofit (kecuali isolat 2BRB) pada benih kakao memperlihatkan daya berkecambah yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Kemampuan bakteri endofit meningkatkan daya berkecambah diikuti dengan kemampuan meningkatkan keserempakan tumbuh benih kakao. Isolat bakteri endofit 2RWB2, 2RPR1, dan 5BRB3 yang menghasilkan daya berkecambah yang tinggi pada benih kakao juga memperlihatkan keserempakan tumbuh yang tinggi masing-masing dengan nilai $\geq 90,00\%$. Sementara itu, nilai indeks vigor tertinggi diperlihatkan oleh benih yang diberi perlakuan isolat 1BPL dan 1BRB1 dengan nilai 53,33% yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (40,00%).

Peningkatan mutu fisiologis benih tanaman yang diberi bakteri endofit juga dilaporkan oleh Lestari *et al.* (2015) bahwa benih padi yang diberi perlakuan bakteri

Tabel 1 Rata-rata daya berkecambah (DB) benih kakao yang diberi perlakuan bakteri endofit

Perlakuan	DB (%)	IV (%)	KST (%)
Kontrol	66,67 ^b	40,00 ^b	66,67 ^c
1BPL	93,33 ^a	53,33 ^a	86,67 ^{ab}
5BRB3	96,67 ^a	40,00 ^b	90,00 ^{ab}
4RS	90,00 ^a	33,33 ^{ab}	76,67 ^{bc}
2RPR1	96,67 ^a	33,33 ^{ab}	90,00 ^{ab}
2BWB2	86,67 ^a	26,67 ^b	73,33 ^{bc}
3BAE	86,67 ^a	23,33 ^b	83,33 ^{abc}
2RWB2	96,67 ^a	43,33 ^{ab}	96,67 ^a
2BRB	80,00 ^{ab}	30,00 ^b	66,67 ^c
1BRB1	96,67 ^a	53,33 ^a	80,00 ^{abc}
4RRB	93,33 ^a	23,33 ^b	83,33 ^{abc}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam baris yang sama berarti berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata $\alpha = 0,05$.

endofit 2KB memiliki perkecambahan dan vigor yang lebih baik dibandingkan dengan benih kontrol. Sutariati *et al.* (2013) mengemukakan invigorasi benih dengan rizobakteri dapat meningkatkan viabilitas benih kakao. Oleh karena itu, diyakini bahwa perbaikan mutu fisiologis benih kakao pada penelitian ini disebabkan oleh perlakuan bakteri endofit.

Pertumbuhan Bibit Kakao

Perlakuan bakteri endofit pada benih sebelum semai juga berpengaruh nyata pada pertumbuhan tanaman, yang ditandai dengan peningkatan secara nyata jumlah daun, tinggi tanaman, bobot basah tajuk dan akar, serta bobot kering tajuk dan akar (Tabel 2). Isolat bakteri endofit yang menunjukkan jumlah daun yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol adalah isolat 2RWB2 dan 2RPR1 dengan rata-rata jumlah daun masing-masing 3,70 dan 3,63 helai, sedangkan pada kontrol jumlah daun hanya sebanyak 2,57.

Perlakuan isolat bakteri endofit berpengaruh nyata pada tinggi tanaman dan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Tiga isolat, yaitu 2RPR1, 5BRB3, dan 2RWB2 merupakan isolat-isolat yang menunjukkan tinggi tanaman terbaik dan tidak berbeda nyata di antara ketiganya, tetapi berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Isolat 2RPR1 menghasilkan tinggi tanaman 18,59 cm, 5BRB3 menghasilkan tinggi tanaman 18,45 cm, dan isolat 2RWB2 memiliki rata-

rata tinggi tanaman 18,41 cm, sedangkan tanaman kontrol hanya memiliki tinggi rata-rata 12,11 cm sehingga ketiga isolat tersebut mampu meningkatkan tinggi tanaman 47,84–67,17%. Murthi *et al.* (2015) melaporkan bahwa tanaman tembakau yang diberi perlakuan bakteri endofit *Pseudomonas* spp. mampu meningkatkan jumlah daun tembakau 2 kali lebih banyak dibandingkan dengan tanaman kontrol, sementara Munif *et al.* (2015) melaporkan bahwa tanaman tomat yang diinokulasi dengan bakteri endofit asal tanaman hutan mampu meningkatkan tinggi tanaman tomat dan bobot kering yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol.

Perlakuan isolat-isolat bakteri endofit juga berpengaruh nyata pada peningkatan bobot basah dan bobot kering pada tajuk dan akar. Semua tanaman kakao yang diberi perlakuan bakteri endofit pada penelitian ini menghasilkan bobot basah tajuk dan akar serta bobot kering tajuk dan akar yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sebagaimana disajikan pada Tabel 3.

Sejalan dengan pengamatan jumlah daun dan tinggi tanaman, bobot basah tajuk dan akar serta bobot kering tajuk dan akar tertinggi diperoleh pada tanaman yang diberi perlakuan isolat 2RPR1 yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan 5BRB3. Perlakuan isolat 2RPR1 dan 5BRB3 menghasilkan bobot basah akar dan tajuk, yaitu masing-masing bobot basah akar 3,27 dan 3,20 g dan bobot basah tajuk 31,73 dan 29,50 g.

Tabel 2 Rata-rata jumlah daun yang terbentuk pada bibit kakao yang diberi perlakuan bakteri endofit

Perlakuan	Jumlah daun (helai)	Tinggi tanaman (cm)
Kontrol	2,57 ^c	12,11 ^d
1BPL	3,30 ^{ab}	17,26 ^{ab}
5BRB3	3,40 ^{ab}	18,45 ^a
4RS	3,43 ^{ab}	15,33 ^{bc}
2RPR1	3,63 ^a	18,59 ^a
2BWB2	3,33 ^{ab}	16,44 ^{ab}
3BAE	3,03 ^{bc}	14,95 ^{bc}
2RWB2	3,70 ^a	18,41 ^a
2BRB	2,63 ^c	13,32 ^{cd}
1BRB1	2,97 ^{bc}	15,06 ^{bc}
4RRB	3,33 ^{ab}	17,68 ^{ab}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam baris yang sama berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata $\alpha = 0,05$.

Tabel 3 Rata-rata bobot basah dan bobot kering tajuk akar asal tanaman kakao sehat yang diberi perlakuan bakteri endofit

Perlakuan isolat bakteri endofit	Bobot basah (g)		Bobot kering (g)	
	Akar	Tajuk	Akar	Tajuk
Kontrol	2,20 ^d	18,33 ^e	0,57 ^b	3,07 ^b
1BPL	3,10 ^{abc}	28,60 ^b	0,87 ^a	6,07 ^a
5BRB3	3,20 ^{ab}	29,50 ^{ab}	0,77 ^{ab}	6,17 ^a
4RS	2,63 ^{bcd}	27,46 ^b	0,77 ^{ab}	5,93 ^a
2RPR1	3,27 ^a	31,73 ^a	0,87 ^a	6,40 ^a
2BWB2	2,20 ^d	21,43 ^d	0,57 ^b	4,43 ^{ab}
3BAE	2,30 ^d	24,50 ^c	0,67 ^{ab}	5,40 ^a
2RWB2	2,67 ^{bcd}	29,00 ^b	0,80 ^a	6,07 ^a
2BRB	2,43 ^d	22,03 ^{dc}	0,67 ^{ab}	4,90 ^{ab}
1BRB1	2,53 ^{cd}	24,10 ^c	0,70 ^{ab}	5,37 ^a
4RRB	2,63 ^{bcd}	27,33 ^b	0,77 ^{ab}	5,67 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam baris yang sama berbeda tidak nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata $\alpha = 0,05$.

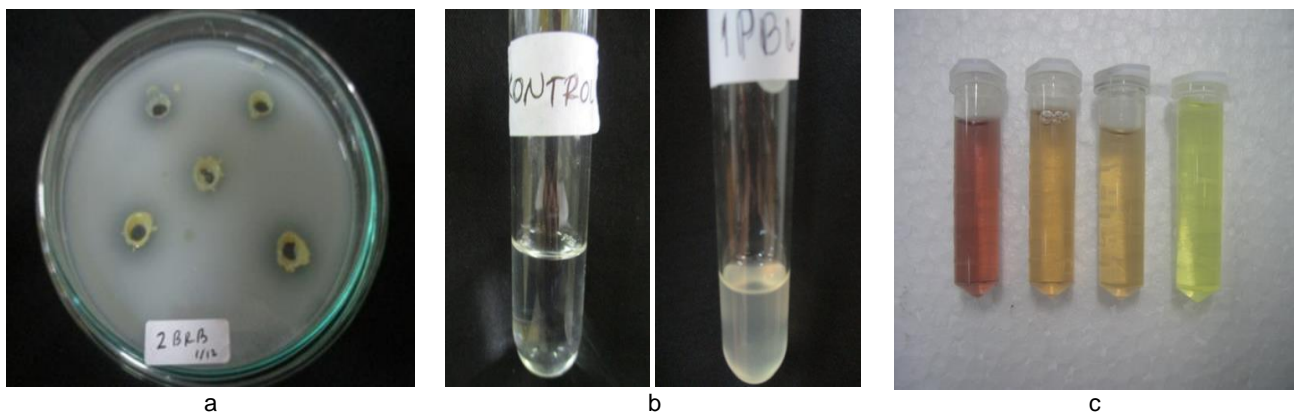
Pada pengamatan bobot kering akar dan tajuk terbaik juga diperoleh pada perlakuan isolat 2RPR1 dengan nilai bobot kering akar 0,87 g dengan bobot kering tajuk sebesar 6,40 g, disusul oleh bobot kering pada perlakuan 5BRB3 masing-masing dengan bobot kering akar dan tajuk 0,77 g dan 6,17 g, serta perlakuan 2RWB2 dengan bobot kering akar 0,80 g dan bobot kering tajuk 6,07. Jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol, ketiga isolat bakteri endofit tersebut mampu meningkatkan bobot kering akar sebesar 35,08–52,63% dan meningkatkan bobot kering tajuk 97,71–108,46% tanaman kakao di persemaian pada umur 1 bulan. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya bahwa tanaman karet yang diberi perlakuan bakteri endofit memiliki bobot basah dan kering yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (Hidayati *et al.* 2014). Oleh karena itu, diyakini pula bahwa peningkatan pertumbuhan bibit kakao yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol pada penelitian ini disebabkan oleh perlakuan bakteri endofit, khususnya perlakuan isolat 2RPR1, 2RWB2, dan 5BRB3.

Karakterisasi Fisiologis Bakteri Endofit sebagai Pemacu Pertumbuhan

Kemampuan bakteri endofit sebagai pelarut fosfat ditunjukkan dengan pembentukan zona bening (halo) di sekitar koloni bakteri uji yang ditumbuhkan pada

media yang mengandung TCP (Gambar 1A), yang merupakan indikasi kemampuan isolat-isolat bakteri dalam menambat nitrogen dari udara bebas yang ditandai dengan kekeruhan pada media uji (Gambar 1B), sedangkan indikasi kemampuan isolat bakteri dalam memproduksi IAA didasarkan pada peningkatan nilai absorbansi yang dihasilkan setelah penambahan triptofan yang ditandai dengan perubahan warna pada larutan uji (Gambar 1C). Hasil pengujian kemampuan kesepuluh isolat bakteri dalam melarutkan fosfat, memfiksasi nitrogen, dan kemampuan memproduksi IAA disajikan pada Tabel 4.

Bakteri endofit isolat 2RPR1 memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen yang sangat tinggi yang ditandai dengan media pertumbuhan yang sangat keruh (+++), mampu menghasilkan IAA 0,497 ppm, dan melarutkan fosfat dengan diameter zona bening pada media selebar 1 cm. Isolat 2RWB2 memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen yang sangat tinggi (+++), memproduksi IAA sebesar 0,497, dan melarutkan fosfat dengan diameter zona bening pada media selebar 1 cm, sedangkan isolat 5BRB3 memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen yang tinggi (++) , menghasilkan IAA 0,497 ppm, dan kemampuan melarutkan fosfat dengan diameter zona bening 0,9 cm. Oleh karena itu, dapat diduga bahwa kemampuan bakteri dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kakao di persemaian dalam penelitian ini berkaitan dengan



Gambar 1 Karakterisasi bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman kakao. Pengujian kemampuan bakteri endofit sebagai: a) Pelarut fosfat, b) Memfiksasi N, dan c) Menghasilkan IAA.

Tabel 4 Kemampuan bakteri endofit asal kakao melarutkan fosfat, memfiksasi nitrogen, dan memproduksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Kode isolat	Melarutkan fosfat		Fiksasi N		Produksi IAA (ppm)	
	Ø Øhalo (cm)	KK	KK	(-) Triptofan	(+) Triptofan	
2BRB	1,2	++	++	0,12	0,53	
1 BPL	1,1	++	+++	0,08	0,24	
2RWB2	1,0	+	++	0,08	0,45	
2BWB2	1,0	+	++	0,09	0,79	
5BRB3	0,9	+	+	0,10	0,49	
4RRB	0,6	+	+	0,08	0,36	
2RPR1	0,5	+	+++	0,08	0,49	
1BRB1	0,0	-	+	0,09	0,19	
4RS	0,0	-	++	0,08	0,22	
3BAE	0,0	-	+++	0,09	0,22	

Keterangan: KK = Kemampuan kualitatif; +++ = Kemampuan kuat; ++ = Kemampuan sedang; + = Kemampuan lemah; - = Tidak ada kemampuan; (-) = Tanpa penambahan; dan (+) = Penambahan.

kemampuannya dalam memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat, dan menghasikan IAA, walaupun terlihat bahwa faktor yang paling berkaitan adalah kemampuannya memfiksasi nitrogen karena beberapa isolat yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan produksi IAA tertinggi tetapi tidak menunjukkan pengaruh yang nyata pada pertumbuhan tanaman kakao.

Peneliti-peneliti sebelumnya telah membuktikan bahwa perbaikan fisiologis benih tanaman dan peningkatan pertumbuhan tanaman yang diberi perlakuan bakteri endofit atau kelompok mikrob lainnya berhubungan dengan kemampuan mikrob tersebut meningkatkan fiksasi nitrogen, produksi *indole acetic acid* (IAA), dan kemampuan melarutkan fosfat (Khaeruni *et al.* 2010; Munif *et al.* 2015; Guyasa *et al.* 2018). Pada penelitian ini juga terbukti bahwa ketiga isolat bakteri endofit 2RPR1, 2RWB2, dan 5BRB3 yang mampu memperbaiki mutu fisiologis benih dan meningkatkan pertumbuhan tanaman kakao di persemaian, memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat, memfiksasi nitrogen, dan menghasilkan IAA dengan tingkat kemampuan yang berbeda-beda.

Hasil yang sama dilaporkan oleh Lestari *et al.* (2015) bahwa tanaman padi yang diinokulasi dengan bakteri endofit penghasil IAA meningkatkan pertumbuhan secara nyata dibanding dengan kontrol, walaupun isolat yang menghasilkan konsentrasi IAA yang tinggi tidak selalu diikuti dengan pertumbuhan tanaman yang lebih baik. Rahman *et al.* (2007) menjelaskan bahwa konsentrasi IAA yang rendah (10^{-5} g/L) dapat merangsang pembentukan sel-sel akar sehingga dapat memperpanjang akar, sebaliknya konsentrasi IAA yang tinggi dapat menghambat pemanjangan batang karena adanya sintesis hormon tumbuh lain, seperti etilen yang memberikan pengaruh yang berlawanan pada IAA.

Mikrob pelarut fosfat mempunyai peranan yang sangat besar dalam membantu penyediaan unsur hara bagi tanaman karena mampu mengubah bentuk-bentuk fosfat yang tidak tersedia bagi tanaman menjadi bentuk tersedia. Bakteri tersebut menghasilkan vitamin dan fitohormon yang dapat memperbaiki pertumbuhan akar tanaman dan meningkatkan serapan hara (Gaiero *et al.* 2013). Menurut Rao (1994), bakteri berperan juga dalam proses transfer energi, penyusunan protein, koenzim, asam nukleat, dan senyawa-senyawa metabolik lainnya yang dapat menambah aktivitas penyerapan P pada tanaman yang kekurangan P. Bakteri pelarut fosfat merupakan satu-satunya kelompok bakteri yang dapat melarutkan P yang terserap permukaan oksida-oksida besi dan aluminium sebagai senyawa Fe-P dan Al-P (Hartono 2000). Fungsi utama P berkaitan dengan ketersediaan energi dalam pertumbuhan sehingga kekurangan P dapat memengaruhi pertumbuhan vegetatif suatu tanaman (Hodges 2013).

Tanaman membutuhkan fosfat untuk pertumbuhan dan perkembangannya, namun senyawa fosfat yang ada dalam lingkungan tanaman tidak selalu tersedia sehingga keberadaan bakteri pelarut fosfat dapat membantu penyediaan senyawa fosfat bagi tanaman,

seperti bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang dapat mengeluarkan asam-asam organik, seperti asam format, asetat, dan laktat yang bersifat melarutkan bentuk-bentuk fosfat yang sukar larut menjadi bentuk organik dan anorganik. Fosfat organik mengandung senyawa-senyawa yang berasal dari tanaman dan mikroorganisme dan tersusun dari asam nukleat, fosfolipid, dan fitin. Kemampuan isolat rizobakteri melarutkan fosfat merupakan salah satu karakter fisiologis rizobakteri yang berhubungan dengan peranannya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (Rahma *et al.* 2014).

Karakteristik biokimia yang dimiliki oleh bakteri, selain melarutkan fosfat, adalah kemampuannya dalam menambat nitrogen, yang didasarkan pada kekeruhan media yang digunakan, yaitu media *Burk salt*. Pada umumnya, sumber nitrogen berasal dari udara bebas yang difiksasi oleh mikrob tanah. Mikrob yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan mampu berperan dalam menambat nitrogen secara biologis dari udara (Akhtar *et al.* 2009; Bhattacharyya 2012). Inokulasi bakteri memberikan kontribusi yang mencapai 20–50% dari total kebutuhan nitrogen tanaman dari proses fiksasi N_2 (Mehrab *et al.* 2010).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang berasal dari tanaman kakao sehat yang mampu menghambat pertumbuhan *P. palmivora* Bult secara *in-vitro* juga dapat memacu pertumbuhan benih kakao di persemaian. Informasi ini merupakan informasi awal tentang bakteri endofit asal tanaman kakao sehat yang potensial sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan tanaman yang akan mendorong untuk dilaksanakan penelitian-penelitian selanjutnya.

KESIMPULAN

Diperoleh 3 isolat bakteri endofit, yaitu 2RPR1, 2RWB2, dan 5BRB3 yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman karena unggul dalam memperbaiki mutu fisiologis benih dan meningkatkan pertumbuhan tanaman kakao di persemaian. Ketiga isolat tersebut mampu meningkatkan daya berkecambah sampai 96,67%, keserempakan tumbuh 90–96,67%, meningkatkan tinggi tanaman 47,84–67,17%, bobot kering akar 35,08–52,63%, dan bobot kering tajuk 97,71–108,46%. Keunggulan ketiga bakteri tersebut sebagai pemacu pertumbuhan tanaman berkaitan dengan kemampuannya dalam memfiksasi N, melarutkan fosfat, dan memproduksi IAA sehingga berpotensi dikembangkan sebagai agens hayati untuk biokontrol dan biofertilizer di persemaian tanaman kakao.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas dukungan dana melalui Penelitian Dasar Berbasis

Kompetensi dengan No. Kontrak: 512/UN29.20/PPM/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar MJ, Asghar HN, Shahzad K, Arshad M, 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria applied in combination with compost and mineral fertilizer to improve growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal Botany*. 41(1): 381–390.
- [BPS] Badan Pusat Statistik Sultra. 2015. *Sulawesi Tenggara dalam Angka 2015*. Kendari (ID): Badan Pusat Statistik Sultra.
- Bhattacharyya PN, Jha DC. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) emergence in agriculture. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. 28(4): 1327–1350. doi:10.1007/S11274-011-0979-9.
- Duangpeng A, Phetcharat P, Chantapho S, Boonkantong N, Okoda N. 2012. The study and development of endophytic bacteria for enhancing organic rice growth. *The Procedia Engineering*. 32: 172–176.
- Gaiero JR, McCall CA, Thompson KA, Day NJ, Best AS, Dunfield KE. 2013. Inside the root microbiome: Bacterial root endophytes and plant growth promotion. *American Journal of Botany*. 100(9): 1738–1750. https://doi.org/10.3732/ajb.1200572
- Glickman E, Dessaux Y. 1995. A critical examination of specificity of the salkowski reagent of indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied Environment Microbiology*. 61: 793–796. https://doi.org/10.1128/AEM.61.2.793-796.1995
- Guyasa IM, Sadimantara GR, Khaeruni A, Sutariati GAK. 2018. Isolation of *Bacillus* spp and *Pseudomonas fluorescens* from upland rice rhizosphere and its potential as plant growth promoting rhizobacteria for local upland rice (*Oryza sativa* L.). *Bioscience Research*. 5(4): 3231–3239.
- Hartono A. 2000. Pengaruh pupuk fosfor, bahan organik dan kapur terhadap pertumbuhan jerapan pada tanah masam latosol Darmaga. *Jurnal Gakuryoku*. 6(1): 73–78.
- Hidayati U, Chaniago IA, Munif A, Siswanto, Santosa DA. 2014. Potensi kultur campuran bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan bibit tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet*. 32(2): 129–138. https://doi.org/10.22302/jpk.v32i2.159
- Hodges SC. 2013. *Soilfertility Basics*, Soil Science Extension North Carolina State University, *Production of cocoa beans* (Vol.XL). [internet]. Akses pada 15 Agustus 2018. Tersedia pada: http://www.plantstress.com/ articles/min_deficiency_i/soil_fertility.pdf. International Cocoa Organization. 2014.
- Kandel SL, Joubert PM, Doty SL. 2017. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms*. 5 (77): 1–26. https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077
- Khaeruni A, Sutariati GAK, Wahyuni S. 2010. Karakterisasi dan uji aktivitas bakteri rizosfer lahan ultisol sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan agensia hayati cendawan patogen tular tanah secara *in vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 10(2): 123–130.
- Khaeruni A, Wijayanto T, Darmansyah, Arini R, Sutariati GAK. 2019. Antagonistic activity of indigenous endophytic bacteria from cocoa plants against *Phytophthora palmivora* the cause of black pod rot disease in cocoa. *Bioscience Research*. 16(1): 272–280.
- Lestari P, Suryadi Y, Susilowati DN, Priyatno TP, Samudra IM. 2015. Karakterisasi bakteri penghasil asam indol asetat dan pengaruhnya terhadap vigor benih padi. *Berita Biologi*. 14(1): 19–28.
- Lopez BR, Ojanguren CT, Bacilio M, Mendoza A, Bashan Y. 2012. Endophytic bacteria of the rock-dwelling cactus *Mammillaria flaileana* affect plant growth and mobilization of elements from rock. *Environmental and Experimental Botany*. 81: 26–38. doi:10.1016/j.envexpbot.2012.02.014.
- Mehrab YHA, Rahmani G, Mohammadi N, Ayneband A. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus Vulgaris*. *Journal of Plant Nutrition*. 33(12): 1733–1743. https://doi.org/10.1080/01904167.2010.503776
- Munif A, Wibowo AR, Herliyana EN. 2015. Bakteri endofit dari tanaman kehutanan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat dan agens pengendali *Meloidogyne* spp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11(6): 179–186. https://doi.org/10.14692/jfi.11.6.179
- Murthi RS, Lisnawita, Oemry S. 2015. Potensi bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman tembakau yang terinfeksi nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.). *Jurnal Agroteknologi*. 4(1): 1881–1889.
- Ponmuration K, Sankaranarayanan A, Al-Dharbi NA. 2012. Biological activities of plant growth promotion *Azotobacter* sp. isolat from vegetable crop rhizosphere soil. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 6(4): 1–10.
- Rahma H, Zainal A, Surahman M, Sinaga MS, Giyanto. 2014. Potensi bakteri endofit dalam menekan penyakit layu Stewart (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*) pada tanaman jagung. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 14(2): 121–137

- Rahman A, Bannigan A, Sulaman W, Pechter P, Blancaflor EB, Baskin TI. 2007. Auxin, action and growth of the *Arabidopsis thaliana* primary root. *The Plant Journal*. 50: 514–528. doi:10.1111/j.1365-313x.2007.3068.x
- Rao SNS. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman* (Edisi kedua). Terjemahan Erawati Susilo. Jakarta (ID): Universitas Indonesia Press.
- Resti ZT, Habazar D, Prima P, Nasrun. 2013. Skrining dan identifikasi isolat bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada bawang merah. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 13(2): 167–178.
- Saridewi LP, Prihatiningsih N, Djatmiko HA. 2020. Karakterisasi biokimia bakteri endofit akar terung sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan pengendali penyakit layu bakteri *in planta*. *Jurnal Proteksi Tanaman Tropis*. 1(1): 1–8. <https://doi.org/10.19184/jptt.v1i1.15579>
- Sutariati GAK, Jusoff K, Sadimantara IGR, Khaeruni A, Muhidin, Meisanti. 2013. Effectiveness of bio-inovigation technologies on seed viability and vigor of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *World Applied Sciences Journal*. 26: 31–36.
- Thakuria D, Talukdar NC, Goswani C, Hazarika S, Boro RC, Khan MR. 2004. Characterization rhizosphere of bacteri from rhizosphere of rice grown in acid soils of Assam. *Curren Science*: 978–985
- Usuki F, Narisawa K. 2007. A Mutualistic Symbiosis Between A Darkseptate Endophytic Fungus, Heteroconium Ch Aetospira, and Anonmycorhizal Plant, Chinese Cabbage. *Mycologia*. 99(2): 175–184. <https://doi.org/10.3852/mycologia.99.2.175>