

Viabilitas dan Daya Hambat Bakteri Endofit *Pseudomonas fluorescens* 4RS1 terhadap *Phytophthora palmivora* dalam Formula Tepung

**Viability and Inhibition of Endophytic Bacteria
Pseudomonas fluorescens 4RS1 Against
Phytophthora palmivora in Flour Formula**

**Andi Khaeruni*, Hariyani, Waode Siti Anima Hisein, Vit Neru Satrah,
Teguh Wijayanto, Gusti Ayu Kade Sutariati, Muhammad Taufik**
Universitas Halu Oleo, Kendari, 93232

ABSTRAK

Pseudomonas fluorescens 4RS1 merupakan bakteri endofit yang memiliki daya hambat kuat terhadap *Phytophthora palmivora* sehingga potensial dikembangkan sebagai agens hayati penyakit busuk buah pada kakao. Agar aplikasi agens hayati ini dapat dilakukan oleh petani maka diperlukan suatu formula yang mampu mempertahankan viabilitas dan daya hambatnya, serta memudahkan penggunaannya. Penelitian ini bertujuan menentukan kemampuan talk dan tepung tapioka sebagai bahan dasar formula yang dilengkapi bahan tambahan nutrisi supaya mampu mempertahankan viabilitas dan daya hambat *P. fluorescens* 4RS1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan tepung tapioka sebagai bahan dasar formula *P. fluorescens* 4RS1 lebih baik dibandingkan dengan talk karena memiliki daya larut yang tinggi dan endapan yang rendah. Penambahan nutrisi berupa gula merah, pepton, dan CMC dalam formula tepung tapioka mampu mempertahankan viabilitas dan daya hambat *P. fluorescens* 4RS1 selama 12 minggu masa penyimpanan.

Kata kunci: agens hayati, medium pembawa, penyakit busuk buah kakao, umur simpan

ABSTRACT

Pseudomonas fluorescens 4RS1 is an endophytic bacterium that has good inhibition against *Phytophthora palmivora*, and it has the potential to be developed as a biological agent for black pod rot disease in cocoa. It is necessary to have a formulation that can maintain viability and inhibition and facilitate its use and application, to apply this bacterial agent at the farm level. This study aimed to determine the ability of talc and tapioca flour as the ingredients of formulations that have strong solubility and maintain the viability and inhibition of *P. fluorescens* 4RS1. The results showed that the use of tapioca flour as the basis for the formulation of *P. fluorescens* 4RS1 was better than talc because it had high solubility and low precipitation. The addition of nutrients in the form of brown sugar, peptone, and CMC in the tapioca flour formulation was able to maintain the viability and inhibition of *P. fluorescens* 4RS1 for 12 weeks of storage.

Keywords: biological agents, carrier medium, cocoa pod rot disease, shelf life

*Alamat penulis korespondensi: Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo. Jalan H.E.A Mokodompit Gedung D3 Lantai 2. Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu. Kendari, Sulawesi Tenggara 93232.

Tel: +62401-3193596, Surel: andikhaeruni.uho@gmail.com

PENDAHULUAN

Phytophthora palmivora merupakan cendawan penyebab penyakit busuk buah, kanker batang dan busuk pucuk, penyakit hawar daun, serta busuk akar di persemaian (Azis *et al.* 2013). Infeksi *P. palmivora* pada buah dapat mengakibatkan kehilangan hasil sebesar 64.1% (Adomako 2007). Secara global patogen ini menyebabkan kehilangan hasil sebesar 20% sampai 30% (ICCO 2015).

Salah satu alternatif pengendalian *P. palmivora* yang aman dan ramah lingkungan ialah menggunakan agens hayati bakteri endofit. Pratama *et al.* (2013) melaporkan bakteri endofit *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* mampu menghambat *P. palmivora* secara *in vitro* sebesar 69.5% sampai 72.8%. Filtrat bakteri endofit BC2 asal buah kakao sehat memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *P. palmivora* 95% secara *in vitro* (Sijabat *et al.* 2021). Arini *et al.* (2021) melaporkan bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 memiliki daya hambat 70% terhadap perkembangan *P. palmivora* yang diinokulasikan pada buah kakao di laboratorium. Lebih lanjut dikemukakan bahwa kemampuan daya hambat tersebut berkaitan dengan kemampuan bakteri menghasilkan protease, enzim pendegradasi sel.

Untuk memudahkan distribusi dan aplikasi bakteri endofit sebagai agens hayati secara luas maka perlu bentuk formula yang dapat menjaga viabilitas bakteri selama masa simpan. Preservasi bakteri dapat dilakukan menggunakan bahan pembawa tepung, seperti talk dan tepung tapioka. Tepung tapioka merupakan bahan pembawa terbaik untuk *P. fluorescens* dengan tingkat viabilitas cukup tinggi dan dapat disimpan selama delapan minggu (Advinda 2009). Muis *et al.* (2015) melaporkan bahwa jumlah sel bakteri *B. subtilis* TM4 pada bahan pembawa talk memiliki kerapatan cukup tinggi, yakni rata-rata 99×10^5 cfu mL⁻¹.

Formulasi dilakukan dengan menambahkan nutrisi berupa urea (Mugiaistuti *et al.* 2010), glukosa sebagai sumber makanan tambahan bagi bakteri (Hanudin *et al.* 2010), dan CMC

sebagai sumber kalsium (Alfiah *et al.* 2014). Peneliti ini bertujuan menentukan viabilitas dan daya hambat bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS serta daya larut formula produk berbahan dasar talk dan tepung tapioka dengan beberapa tambahan nutrisi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini disusun dalam rancangan acak lengkap yang terdiri atas enam perlakuan bahan pembawa produk, yaitu: T1, 50 g talk + 1.5 g gula merah; T2, 50 g talk + 1.5 g gula merah + 1 g pepton + 1 g CMC; T3, 50 g talk + 1.5 g gula merah + 0.5 g urea + 1 g CMC; T4, 50 g tepung tapioka + 1.5 g gula merah; T5, 50 g tepung tapioka + 1.5 g gula merah + 1 g pepton + 1 g CMC; dan T6, 50 g tepung tapioka + 1.5 g gula merah + 0.5 g urea + 1 g CMC. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 18 unit percobaan.

Bakteri Endofit *Pseudomonas fluorescens* dan *Phytophthora palmivora*

Bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 dan *P. palmivora* PPKT yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi Laboratorium Proteksi Tanaman, Universitas Halu Oleo. Peremajaan bakteri *P. fluorescens* 4RS1 dilakukan pada medium *triplic soy agar* (TSA) selama dua hari, sedangkan *P. palmivora* dilakukan pada medium V4 selama tujuh hari.

Uji Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap *Phytophthora palmivora* Secara *in Vitro*

Uji daya hambat bakteri *P. fluorescens* 4RS1 terhadap *P. palmivora* PPKT dilakukan menggunakan metode biakan ganda. Uji ini diulang tiga kali. *Phytophthora palmivora* diinokulasikan pada medium V4 dalam cawan petri dengan jarak 3 cm dari tepi cawan berdiameter 9 cm. Satu hari kemudian biakan bakteri endofit digoreskan melintang secara berlawanan dengan *P. palmivora* yang berjarak 3 cm dari tepi cawan petri yang sama (Gambar 1 a dan b). Cawan biakan diinkubasi selama tujuh hari untuk diamati daya hambat setelah diinokulasi bakteri endofit. Daya hambat (DH) bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 terhadap *P. palmivora* dihitung dengan rumus:

$$DH = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%, \text{ dengan}$$

R1, jari-jari pertumbuhan *P. palmivora* ke arah tepi petri (mm); R2, jari-jari pertumbuhan *P. palmivora* ke arah tepi koloni bakteri endofit (mm) (Khaeruni *et al.* 2019). Selain itu, juga diamati struktur hifa cendawan *P. palmivora*.

Bahan Pembawa Bakteri Endofit

Bahan pembawa yang digunakan ialah talk dan tepung tapioka serta bahan tambahan lainnya ialah gula merah halus, urea, pepton, dan CMC. Bahan pembawa yang dibuat ialah sebanyak enam formula produk. Semua bahan pembawa sesuai perlakuan dicampur secara merata kemudian dikemas di dalam plastik tahan panas, disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 120 °C. Formula didinginkan dalam *laminar air flow* selama 48 jam, kemudian disimpan dalam kotak plastik berukuran 25 × 15 × 10 cm³ pada suhu ruang.

Formulasi Bakteri Endofit dalam Bahan Pembawa

Bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 berumur 48 jam pada medium TSA disiapkan sebagai suspensi pada kerapatan 10⁸ cfu mL⁻¹ atau setara dengan OD 1 pada panjang gelombang 540 nm (Arini *et al.* 2021). Sebanyak 10 mL suspensi sel bakteri endofit dimasukkan ke dalam setiap kemasan bahan pembawa dan dicampur secara merata. Kemasan keenam formula bahan pembawa yang sudah diinokulasi dengan bakteri endofit diinkubasi di dalam kotak simpan pada suhu ruang selama 12 minggu. Setiap formula diulang sebanyak tiga kali. Kemasan perlakuan ini dinamakan produk T1, T2, T3, T4, T5, dan T6.

Uji Fisik Produk

Uji fisik produk T1, T2, T3, T4, T5, dan T6 merujuk pada Suwahyono dan Wahyudi (2008) yang dimodifikasi pada nutrisi tambahannya. Uji ini meliputi dua peubah pengamatan, yaitu daya kelarutan produk dalam air dan pengendapan produk. Uji kelarutan dilakukan satu minggu setelah penyimpanan produk. Sebanyak 1 g produk dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 200 mL akuades, lalu digoyang perlahan-lahan selama dua menit,

dan didiamkan untuk diamati daya kelarutan produk.

Daya larut produk dalam air diamati menggunakan empat kriteria, yaitu: 1, sediaan larut sempurna setelah digoyang selama 2 menit; 2, kriteria 1 tidak dicapai, sediaan larut sempurna setelah dilakukan pengocokan ulang selama 2 menit; 3, hanya > 50% saja produk yang larut setelah dikocok ulang selama 2 menit; dan 4, hanya sedikit atau tidak larut sama sekali setelah dilakukan pengocokan ulang selama 2 menit (Suwahyono dan Wahyudi 2008).

Pengendapan produk dilakukan dalam erlenmeyer 500 mL yang diisi 1 g produk ditambah 100 mL akuades steril (suhu 30 °C, pH 7), lalu botol digoyang perlahan-lahan selama dua menit, didiamkan untuk diamati terjadinya pengendapan secara sempurna. Endapan ditimbang dan ditentukan persentase endapan dengan rumus Suwahyono dan Wahyudi (2008):

$$\text{Endapan} = \frac{\text{Bobot endapan yang terbentuk}}{\text{Bobot produk formula yang diuji}} \times 100\%$$

Uji Viabilitas Bakteri Endofit dalam Produk T

Uji viabilitas bakteri endofit dalam enam produk T1, T2, T3, T4, T5, dan T6 dilakukan dengan menumbuhkannya pada medium TSA. Sebanyak 1 g bahan pembawa yang mengandung bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 dibiakkan pada medium TSA. Koloni bakteri yang tumbuh pada medium TSA digunakan untuk menghitung viabilitas bakteri *P. fluorescens* 4RS1 yang ada dalam produk T. Viabilitas bakteri diamati setiap 2 minggu selama 12 minggu penyimpanan dengan cara menghitung koloni bakteri dengan rumus:

$$\text{Viabilitas bakteri} = \frac{A}{(B \times C)}, \text{ dengan}$$

A, jumlah total koloni (cfu g⁻¹); B, volume yang disebar ke cawan petri; dan C, faktor pengenceran.

Uji Daya Hambat Bakteri Endofit dalam Produk T terhadap *Phytophthora palmivora*

Biakan bakteri *P. fluorescens* 4RS1 dari uji viabilitas pada setiap waktu pengamatan diuji daya hambatnya terhadap *P. palmivora* menggunakan metode biakan ganda.

Pengamatan daya hambatnya dilakukan pada umur enam hari setelah inokulasi menggunakan rumus Khaeruni *et al.* (2019). Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk melihat pengaruh bakteri endofit terhadap struktur hifa *P. palmivora*.

Data viabilitas bakteri endofit dan daya hambat bakteri endofit dianalisis menggunakan analisis ragam. Jika analisis ragam berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf α 5%.

HASIL

Daya Hambat Bakteri Endofit

Daya hambat bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 terhadap pertumbuhan miselium cendawan *P. palmivora* ialah sebesar 64.44%. Penghambatan miselium *P. palmivora* oleh bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 ditandai dengan terbentuknya zona hambatan (Gambar 1a dan b). Pembengkakan hifa *P. palmivora* dapat diamati secara mikroskopis pada koloni cendawan yang dipasangkan pada metode biakan ganda (Gambar 1c).

Daya Larut dan Endapan Produk

Produk formula endofit *P. fluorescens* 4RS1 memiliki daya larut yang lebih tinggi pada medium pembawa tepung tapioka (produk T4, T5, dan T6) dibandingkan dengan daya larut pada medium pembawa talk (produk T1, T2, dan T3). Perlakuan dengan medium pembawa tepung tapioka, daya larutnya tergolong ke dalam kategori 2, sedangkan produk dengan medium pembawa talk termasuk ke dalam kategori 3 (Tabel 1).

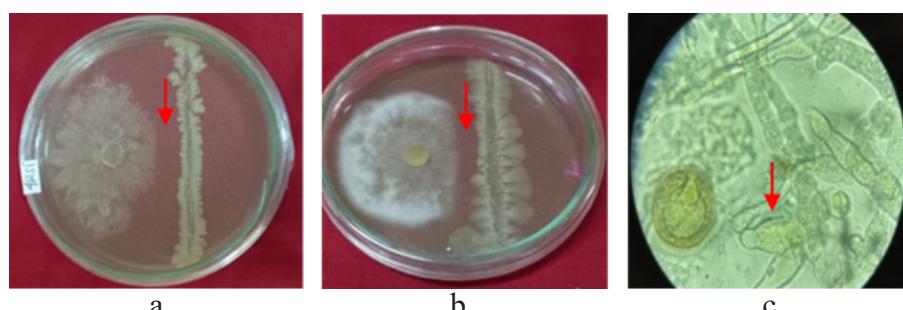
Formula bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 dengan medium pembawa tepung tapioka memiliki persentase endapan yang lebih rendah dibandingkan dengan formulasi talk. Rata-rata persentase endapan terendah ialah pada produk T5 dan T6 masing-masing sebesar 46.67%, sedangkan endapan tertinggi terdapat pada produk T2 dengan endapan sebesar 60% (Tabel 2).

Viabilitas Bakteri Endofit Produk T

Formula yang menggunakan tepung dan bahan nutrisi tambahan yang berbeda berpengaruh nyata terhadap viabilitas bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1. Populasi *P. fluorescens* 4RS1 pada produk T5 dan T6 dengan tepung tapioka meningkat sampai 6 minggu masa simpan, namun mulai pada minggu ke-8 sampai minggu ke-12 mulai menurun. Rata-rata populasi *P. fluorescens* 4RS1 pada produk T5 selalu lebih tinggi dibandingkan dengan produk lainnya. Pada masa simpan minggu ke-12, kisaran populasi *P. fluorescens* 4RS1 relatif stabil dengan populasi 1.53×10^8 cfu g⁻¹ dan berbeda nyata dengan produk lainnya (Tabel 3).

Daya Hambat Bakteri Endofit Produk T

Penggunaan bahan pembawa dan bahan tambahan dalam formula produk bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 berpengaruh nyata terhadap daya hambatnya terhadap *P. palmivora*. Daya hambat *P. fluorescens* 4RS1 pada produk T5 meningkat dari 2 minggu sampai 8 minggu masa penyimpanan dengan daya hambat di atas 60%, sementara perlakuan lain daya hambatnya berfluktuatif. Pada masa



Gambar 1 Daya hambat *Pseudomonas fluorescens* 4RS1 terhadap *Phytophthora palmivora*. a dan b, terbentuk zona bening di antara *P. palmivora* (kiri) dan *P. fluorescens* 4RS1 (kanan); dan c, pembengkakan hifa *P. palmivora*.

penyimpanan minggu ke-12 daya hambat *P. fluorescens* 4RS1 tertinggi (46.15%) juga terdapat pada produk T5 (Tabel 3). Daya hambat bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 terhadap *P. palmivora* ditandai dengan

terbentuk zona bening di antara kedua mikrob tersebut (Gambar 1a dan b) dan pembengkakan hifa *P. palmivora* yang berdekatan dengan *P. fluorescens* 4RS1 (Gambar 1c).

Tabel 1 Daya larut dan endapan enam produk komposisi bahan pembawa bakteri *Pseudomonas fluorescens* 4RS1

Produk	Daya Larut	Endapan (%)
T1 (talk + gula merah)	3	53.33
T2 (talk + gula merah + pepton + CMC)	3	60.00
T3 (talk + gula merah + urea + CMC)	3	53.33
T4 (Tepung tapioka + gula merah)	2	50.00
T5 (Tepung tapioka + gula merah + pepton + CMC)	2	46.67
T6 (Tepung tapioka + gula merah + urea + CMC)	2	46.67

Tabel 2 Viabilitas bakteri endofit *Pseudomonas fluorescens* 4RS1 selama 12 minggu masa simpan dalam enam produk formula bahan pembawa

Produk	Viabilitas bakteri endofit (cfu g^{-1}) ^a pada minggu ke-					
	2	4	6	8	10	12
T1 (talk + gula merah)	8.19 c	7.71 b	7.78 e	7.72 b	8.24 b	7.83 bc
T2 (talk + gula merah + pepton + CMC)	8.52 ab	8.38 a	8.43 c	8.36 a	8.15 b	7.96 b
T3 (talk + gula merah + urea + CMC)	8.34 bc	7.73 b	8.33 d	8.17 ab	7.86 c	7.77 cd
T4 (Tepung tapioka + gula merah)	7.89 d	7.68 b	8.33 d	8.15 ab	7.85 c	7.64 d
T5 (Tepung tapioka + gula merah + pepton + CMC)	8.64 a	8.66 a	8.77 a	8.63 a	8.55 a	8.18 a
T6 (Tepung tapioka + gula merah + urea + CMC)	8.40 abc	8.64 a	8.68 b	8.11 ab	8.29 b	7.83 bc

Keterangan: ^aData merupakan transformasi Log N.

Angka pada kolom yang sama dan diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji berganda Duncan pada taraf α 5%.

Tabel 3 Rerata persentase daya hambat *Pseudomonas fluorescens* 4RS1 terhadap pertumbuhan *P. palmivora* selama 12 minggu masa simpan dalam enam produk formula bahan pembawa

Produk	Daya hambat (%) terhadap <i>P. palmivora</i> pada minggu ke-					
	2	4	6	8	10	12
T1 (talk + gula merah)	54.44 a	63.33 a	60.69 a	62.22 a	48.33 a	39.63 a
T2 (talk + gula merah + pepton + CMC)	42.11 b	45.52 b	45.40 b	54.37 ab	38.89 ab	25.23 b
T3 (talk + gula merah + urea + CMC)	39.09 b	48.50 b	54.19 ab	48.44 b	41.38 a	38.77 a
T4 (Tepung tapioka + gula merah)	28.63 c	41.16 b	43.68 b	44.72 b	22.83 b	35.68 ab
T5 (Tepung tapioka + gula merah + pepton + CMC)	53.37 a	61.76 a	63.33 a	64.44 a	53.56 a	46.15 a
T6 (Tepung tapioka + gula merah + urea + CMC)	46.67 ab	62.22 a	65.94 a	61.11 a	37.58 ab	43.56 a

Angka pada kolom yang sama dan diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji berganda Duncan pada taraf α 5%.

PEMBAHASAN

Pseudomonas fluorescens 4RS1 merupakan bakteri endofit asal tanaman kakao sehat yang berpotensi dikembangkan sebagai agens hayati karena mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman kakao di persemaian (Khaeruni *et al.* 2020) dan menghambat perkembangan *P. palmivora* baik secara *in vitro* (Khaeruni *et al.* 2019) maupun *in vivo* (Arini *et al.* 2021). Agar agens hayati potensial tersebut dapat digunakan secara luas oleh masyarakat maka dibentuk dalam suatu formula produk yang mampu mempertahankan umur simpan, viabilitas, dan daya antagonis, serta memudahkan penggunaan dan pengaplikasiannya.

Hasil uji fisik tampilan produk menunjukkan bahwa formula tepung tapioka memiliki sifat fisik yang lebih baik jika dibandingkan dengan formula talk karena memiliki kelarutan yang lebih tinggi dan endapan yang lebih rendah. Daya larut yang tinggi dengan endapan rendah pada formula tepung tapioka disebabkan karena medium pembawa tersebut memiliki tekstur yang halus dan memiliki daya serap air yang yang lebih besar. Hal tersebut mendukung pendapat beberapa peneliti sebelumnya yang menjelaskan bahwa tepung tapioka memiliki kondisi fisik yang cenderung halus sehingga lebih mudah larut dalam air (Yanti dan Habazar 2015; Edhirej *et al.* 2017).

Formula yang menggunakan medium pembawa talk dan tepung tapioka dengan penambahan bahan nutrisi tertentu dapat mendukung pertumbuhan bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 sampai pada masa simpan 12 minggu dengan jumlah populasi berkisar 10^7 – 10^8 cfu g⁻¹. Uji viabilitas menunjukkan bahwa pertumbuhan *P. fluorescens* 4RS1 pada formula tepung tapioka dengan tambahan nutrisi gula merah, pepton, dan CMC (produk T5) dan formula tepung tapioka dengan tambahan nutrisi gula merah, urea, dan CMC (produk T6) mengalami peningkatan dari 2 minggu sampai 6 minggu masa simpan. Setelah 8 minggu populasi *P. fluorescens* 4RS1 mengalami penurunan pada semua perlakuan.

Dari dua jenis bahan pembawa formula yang diuji, populasi *P. fluorescens* 4RS1 pada produk T5 selalu tertinggi dibandingkan dengan

perlakuan lain pada setiap waktu pengamatan. Tingginya populasi *P. fluorescens* 4RS1 pada formulasi tepung tapioka disebabkan karena bakteri mampu memanfaatkan nutrisi dengan baik yang terdapat pada formula tersebut. Edhirej *et al.* (2017) melaporkan bahwa tepung tapioka memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi berupa kalori, air, protein, dan lemak yang dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya.

Selain dipengaruhi oleh bahan pembawa, pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh bahan tambahan. Bakteri *P. fluorescens* 4RS1 memiliki pertumbuhan yang cukup baik pada formula tepung tapioka yang mengandung pepton. Pepton mengandung unsur nitrogen yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Tingginya populasi bakteri pada formula yang mengandung pepton disebabkan karena bakteri menyukai sumber nitrogen tersebut dan mampu memecah ikatan-ikatan peptida yang terdapat di dalam pepton (Yustina *et al.* 2016). Pepton mengandung senyawa-senyawa peptida sehingga bakteri mampu mengonsumsi nitrogen dengan tingkat konsumsi yang lebih tinggi (Baroqah *et al.* 2017). Fachraniah *et al.* (2002) juga menyebutkan bahwa pepton merupakan salah satu unsur nutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikrob. Pepton merupakan sumber nitrogen utama yang terdiri atas beberapa senyawa polipeptida, dipeptida, dan asam amino yang berasal dari bahan yang mengandung protein dan dapat diperoleh melalui reaksi hidrolisis asam atau enzimatis.

Adapun penurunan rata-rata populasi *P. fluorescens* 4RS1 pada 8 hingga 12 minggu masa simpan dikarenakan nutrisi yang terdapat pada formulasi semakin kurang setelah lama penyimpanan. Pada formulasi produk T5 walaupun terjadi penurunan populasi bakteri endofit pada penyimpanan 8–12 minggu, tetapi tingkat populasi tetap tinggi, yaitu $> 10^8$ cfu g⁻¹ bahan formula. Hasil ini mendukung hasil penelitian Yanti *et al.* (2017) bahwa populasi bakteri *Bacillus thuringiensis* TS2 dalam berbagai formula semakin menurun seiring dengan lamanya penyimpanan.

Sejalan dengan uji viabilitas, bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 di dalam bahan pembawa tepung tapioka memiliki daya hambat lebih

tinggi dibandingkan dengan dalam formula talk. Daya hambat *P. fluorescens* 4RS1 terhadap *P. palmivora* pada formula yang menggunakan tepung tapioka dengan tambahan gula merah, pepton, dan CMC (Produk T5) secara konsisten mengalami peningkatan dari 2 sampai 8 minggu masa penyimpanan dengan daya hambat $> 60\%$, sementara produk formula lainnya daya hambatnya tidak konsisten. Pada masa simpan selanjutnya (10 dan 12 minggu), daya hambat pada produk T5 mulai menurun walaupun tetap memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, dan pada akhir penyimpanan daya hambatnya sebesar 46.15%.

Kemampuan daya hambat bakteri endofit *P. fluorescens* 4RS1 jika dibandingkan dengan daya hambat di dalam produk memiliki persentase daya hambat yang lebih tinggi. Kemampuan daya hambat yang tinggi ini dikarenakan nutrisi yang terdapat pada bahan pembawa dan tambahannya yang mampu memicu berbagai senyawa yang terdapat pada bakteri untuk aktif dalam menghambat pertumbuhan patogen. Fakhruddin dan Nurcahyanti (2020) melaporkan bakteri mampu memanfaatkan nutrisi yang terdapat pada formula produk sehingga mampu mengaktifkan senyawa metabolismik sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dengan persentase daya hambat yang cukup tinggi.

Dapat disimpulkan bahwa tepung tapioka memiliki tingkat kelarutan dan daya endapan yang lebih baik dibandingkan dengan talk sebagai bahan pembawa formula bakteri endofit *P. fluorescens* 4RSI. Pemberian bahan tambahan berupa gula merah, pepton, dan CMC dalam formula tepung tapioka mampu mempertahankan viabilitas *P. fluorescens* 4RS1 dengan populasi $> 10^8 \text{ cfu g}^{-1}$ dan daya hambat ($> 40\%$) terhadap *P. palmivora* secara *in vitro* selama 12 minggu penyimpanan. Penelitian lanjut tentang keefektifan produk bakteri endofit perlu dilakukan di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian Penelitian Terapan Kompetitif Nasional DIPA Direktorat Riset, Teknologi dan Pengabdian Masyarakat,

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi Tahun 2022, dengan Kontrak Nomor: 019/E5/PG.02.00.PT/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Adomako B. 2007. Causes and extent of yield losses in cocoa progenies. Tropical Science. 47:22–25. DOI: <https://doi.org/10.1002/ts.187>.
- Advinda L. 2009. Tanggap fisiologis tanaman pisang yang diintroduksi dengan formula *Pseudomonas fluorescens* terhadap *blood disease bacteria* (BDB) [disertasi], Padang (ID): Universitas Andalas.
- Alfiah, Majid A, Hasjim S. 2014. Efektivitas formulasi tepung biofungisida berbahan aktif *Trichoderma harzianum* terhadap serangan patogen tular tanah dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman tembakau [skripsi]. jember (ID): Universitas Jember.
- Arini R, Sutariati GAK, Khaeruni A, Wijayanto T, Putri NP, Joko T. 2021. Control activity and antibiotic gene detection of endophytic bacteria in suppressing cocoa black pod disease (*Phytophthora palmivora* butl.). Indian Jurnal of Agricultural Research. 55(6):727–732. DOI: <https://doi.org/10.18805/IJARe.A-659>.
- Azis AI, Rosmana A, Dewi VS. 2013. Control of *Phytophthora* leaf blight disease on cacao seedling using *Trichoderma asperellum*. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 9(1):15–20. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.9.1.15>.
- Baroqah GR, Ibrahim B, Nurhayati T. 2017. Karakteristik mikroenkapsul pepton ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) multispesies busuk dengan metode spray drying. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 20(2):401–412. DOI: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18108>.
- Edhirej A, Sapuan SM, Jawaid M, Zahari NI. 2017. Preparation and characterization of cassava bagasse reinforced thermoplastic cassava starch. Fibers and Polymers. 18(1):162–171. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12221-017-6251-7>.
- Fachraniah D, Fardiaz, Idiyanti T. 2002. Pembuatan pepton dari pungkil kedelai dan

- khamir dengan enzim papain untuk media pertumbuhan bakteri. *Jurnal Teknologi Industri Pangan.* 13(3):260–266.
- Fakhruddin DK, Nurcahyati SD. 2020. Viabilitas *Bacillus* sp. sebagai agen antagonis patogen tanaman dalam formulasi berbahan dasar tepung. *Jurnal Pengendalian Hayati.* 3(1):29–37. DOI: <https://doi.org/10.19184/jph.v3i1.17151>.
- Hanudin H, Nuryani W, Silvia E, Djatnika I, Marwoto B. 2010. Formulasi biopestisida berbahan aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Corynebacterium* sp. nonpatogenik untuk mengendalikan penyakit karat pada krisan. *Jurnal Hortikultura.* 20(3):247–261. <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/jhort> [diakses 15 Mei 2022].
- ICCO. 2015. Production of cocoa beans. *ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics.* Vol. 42. No. 1.
- Khaeruni A, Wijayanto T, Darmansyah, Arini R, Sutariati GAK. 2019. Antagonistic activity of indigenous endophytic bacteria from Cocoa plants against *Phytophthora palmivora* Bult the cause of black pod rot disease in Cocoa. *Bioscience Research.* 16(1):272–280.
- Khaeruni A, Nirmala T, Hisein WSA, Gusnawaty, Wijayanto T, Sutariati GAK. 2020 Potensi dan karakterisasi fisiologis bakteri endofit asal tanaman kakao sehat bagi pemacu pertumbuhan benih kakao. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia.* 25(3):390–397. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.3.388>.
- Mugiastuti E, Soesanto L, Rahayuniati RF. 2010. Pemanfaatan *Pseudomonas fluorescens* P60 dalam formula cair organik untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman tomat. *Seminar Nasional Pengelolaan OPT Ramah Lingkungan.* <https://www.researchgate.net/profile/Ruth-Rahayuniati> [diakses 10 Mei 2022]
- Muis A, Djaenuddin N, Nonci N. 2015. Evaluasi lima jenis *inner carrier* dan formulasi *Bacillus subtilis* untuk pengendalian hawar pelepas jagung (*Rhizoctonia solani* Kuhn.). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika.* 15(2):164–169. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.215164-169>.
- Pratama SW, Sukamto S, Asyiah IN, Ervina YV. 2013. Penghambatan pertumbuhan jamur patogen kakao *Phytophthora palmivora* oleh *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Pelita Perkebunan.* 29(2):120–127. <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/56240>.
- Sijabat SM, Sudarma IM, Khalimi K. 2021. Pengujian bakteri endofit indigenous dalam mengendalikan penyebab penyakit busuk buah kakao (*Phytophthora palmivora* Butler) secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika.* 10(4):456–465.
- Suwahyono U, Wahyudi P. 2008. Produksi dan formulasi bioinsektisida dari propagul aktif jamur *Baeuveria bassiana*. *Jurnal Teknologi Lingkungan.* 9(1):85–91. DOI: <https://doi.org/10.29122/jtl.v9i1.448>.
- Yanti Y, Habazar T, Resti Z. 2017. Formulasi padat rhizobakteria indigenus *Bacillus thuringiensis* Ts2 dan waktu penyimpanan untuk mengendalikan penyakit pustul bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika.* 17(1):9–18. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.1179-18>.
- Yustinah, Gozan M, Hermansyah H, Alamsyah R. 2016. Pengaruh jenis sumber nitrogen pada pembuatan polyhydroxybutyrate dari glukosa menggunakan bakteri *Bacillus cereus*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi; 2016 Nov 8. Jakarta (ID): Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta.