

## **Ekplorasi Bakteri Endofit Pemicu Pertumbuhan Tanaman Kakao pada Daerah Endemis Penyakit VSD (*Vascular Streak Dieback*)**

(Exploration of Cacao Plant Growth Promoter Bacterial Endophyte in Endemic Area of Vascular Streak Dieback)

**Giyanto<sup>1\*</sup>, Tatit Sastrini<sup>1</sup>, Dono Wahyuno<sup>2</sup>, dan Wartono<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB Dramaga Bogor 16680.

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor

<sup>3</sup>Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

Email: giyanto2@yahoo.com

### **ABSTRAK**

Tanaman kakao merupakan komoditas perkebunan unggulan Indonesia yang menjadi sumber devisa penting bagi negara dari sektor perkebunan. Salah satu penyakit penting kakao yang saat ini banyak menimbulkan kerugian besar adalah penyakit *Vascular Streak Dieback* (VSD) yang disebabkan oleh cendawan *Ceratobasidium theobromae*. Salah satu pendekatan pengendalian yang dapat dikembangkan adalah penggunaan bakteri endofit yang dapat memicu pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan tanaman kakao. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat- isolat bakteri endofit dari daerah endemis penyakit VSD. Pengambilan sampel tanaman/bagian tanaman sehat diantara tanaman sakit dilakukan pada tiga lokasi yaitu Kabupaten Cianjur, Jawa Barat; Kota Solok, Sumatera Barat; dan Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara. Isolasi bakteri endofit dilakukan pada ranting, daun dan pucuk kakao. Total bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari 3 lokasi sebanyak 751 isolat dari berbagai jenis media pertumbuhan yaitu NA, King's B, TSA dan WYE. Penumbuhan berulang dari isolat yang diperoleh terdapat 316 isolat yang dapat dikulturkan secara stabil. Sebanyak 51 isolat (11%) menunjukkan reaksi positif terhadap uji reaksi hipersensitif dan atau hemolisis. Dari 265 isolat endofit yang diuji terhadap menunjukkan 69 isolat secara konsisten memberikan efek positif terhadap daya berkecambah benih kakao dibandingkan kontrol. Pengamatan lebih jauh terhadap pertumbuhan tanaman terhadap 55 isolat menunjukkan tinggi tanaman lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol, dan 5 isolat yaitu PRBW25, PDBT14, PRBT1, PRBN23, dan PRBT34 menunjukkan berbeda nyata dengan kontrol dan isolat yang lainnya.

Kata kunci: Pengendalian hayati, *Ceratobasidium theobromae*, induksi ketahanan tanaman

### **PENDAHULUAN**

Tanaman kakao merupakan komoditas yang diperdagangkan secara internasional terbesar ketiga setelah gula dan kopi (Donald 2004). Indonesia menduduki peringkat ke 3 negara penghasil kakao terbesar di dunia (Shapiro *et al.* 2008; ICCO 2010). Salah satu

penyakit penting pada tanaman kakao adalah *Vascular Streak Dieback* (VSD) yang disebabkan oleh *Ceratobasidium theobromae* dan menyebabkan kehilangan hasil 3-60%. Di Indonesia, kerugian setiap tahun mencapai Rp 136.5 miliar. Penyebaran penyakit melalui spora (basidiospora) yang disebarkan oleh angin dan awalnya menginfeksi daun yang masih sangat muda. Setelah penetrasi melalui daun cendawan mengolonisasi jaringan xilem menyebabkan diskolorasi kecoklatan pada lamina. Perkembangan selanjutnya menuju petiol dan akhirnya menuju cabang tanaman. Gejala khas pada daun adalah klorosis diselingi bercak kehijauan dan jika daun dipetik maka pada petiol akan terlihat bercak coklat (Guest & Keane 2007).

Sejauh ini *C. theobromae* diketahui bersifat obligat (tidak bisa dikulturkan pada media buatan). Oleh karena itu penelitian secara detail tentang cendawan ini juga masih sangat sedikit. Analisis molekuler menjadi andalan dalam studi mengenai taksonomi dan epidemiologi. Pada awalnya penyebab penyakit VSD ini diidentifikasi sebagai *Oncobasidium theobromae*, namun demikian hal menarik dilaporkan oleh Samuel *et al.* (2012) bahwa berdasarkan analisis sekuen ITS (*Internal Transcribed Spacer*) dan studi filogenetik cendawan ini memiliki kedekatan yang sangat tinggi pada *Ceratobasidium* sehingga patogen penyebab VSD diajukan sebagai spesies *Ceratobasidium theobromae*.

Penyakit ini sulit dikendalikan dengan teknik konvensional karena menginfeksi jaringan xilem tanaman yang terlindung. Penggunaan fungisida dalam pengendalian penyakit dapat menimbulkan dampak negatif seperti pencemaran lingkungan, munculnya resistensi patogen, dan terbunuhnya organisme non sasaran. Sementara itu penggunaan varietas tahan dan kultur teknik disinyalir belum mampu mengendalikan penyakit VSD di lapangan.

Dalam rangka mendukung pengurangan penggunaan pestisida dan praktik pertanian ramah lingkungan, maka pengendalian hama dan penyakit banyak dikembangkan dengan pengendalian hayati (*biological control*) yang bertumpu pada penggunaan musuh alami atau agens hayati. Pengendalian hayati patogen tumbuhan bertumpukan pada mekanisme antibiosis, kompetisi, hiperparasitisme, dan induksi resistensi pada tanaman inang.

Penelitian-penelitian tentang pengembangan bakteri agens hayati terhadap penyakit tanaman berbasiskan metode konvensional yaitu membiakkan mikroba pada media buatan untuk selanjutnya dilakukan seleksi, karakterisasi, dan uji potensi telah banyak dilaporkan. Velusamy *et al.* (2006) berhasil mengisolasi *Pseudomonas fluorescens* menghasilkan senyawa antimikroba yang dikenal dengan antibiotik *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG). Senyawa ini memiliki sifat antibakteri, anticendawan, antivirus, dan antihelminthic yang berperan penting dalam pengendalian hayati penyakit pada tembakau, gandum, dan bit gula. Mekanisme atau *mode of action* dari agens hayati dalam mengendalikan patogen tumbuhan mencakup kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, dan induksi resistensi.

Informasi tersebut memberikan inspirasi bagi penulis untuk mengembangkan teknik dalam eksplorasi bakteri endofit pada tanaman kakao yang berpotensi sebagai *inducer* pertumbuhan bibit kakao sekaligus mampu mengendalikan penyakit VSD. Hasil yang

dilaporkan dalam makalah ini adalah penapisan tahap pertama sebagai pemicu pertumbuhan tanaman.

## METODE PENELITIAN

### Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Kakao

#### Pengambilan Sampel Tanaman Kakao

Bagian tanaman yang diambil meliputi daun, cabang, dan pucuk kakao yang sehat. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi masing-masing di Kabupaten Cianjur, Jawa Barat; Kota Solok, Sumatera Barat; dan Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara.

#### Isolasi dan Preservasi Isolat Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit pada bagian pucuk, daun, dan ranting tanaman kakao diawali dengan tahapan sterilisasi permukaan. Sterilisasi permukaan pada pucuk, daun, dan ranting tanaman kakao dilakukan berdasarkan metode Hallmann *et al.* (1997) dan Munif *et al.* (2012). Pembuatan kontrol pada tahapan sterilisasi penting dilakukan untuk memastikan keberhasilan proses sterilisasi permukaan. Kontrol dibuat dengan menggosokkan masing-masing sampel pada media *nutrien agar/NA* (*Beef extract* 3 g L<sup>-1</sup>, *peptone* 5 g L<sup>-1</sup>, dan *agar* 15 g L<sup>-1</sup>). Sterilisasi permukaan berhasil apabila media NA tersebut tidak ditumbuhi oleh bakteri.

Tahapan berikutnya adalah isolasi bakteri endofit dari sampel tanaman kakao. Isolasi bakteri endofit dilakukan pada berbagai media biakan menggunakan berbagai metode isolasi untuk mendapatkan beberapa kelompok bakteri endofit yang berbeda, seperti kelompok *Bacillus*, kelompok *Aktinomiset*, *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*, dan kelompok bakteri lainnya.

**Isolasi bakteri endofit kelompok *Bacillus*.** Isolasi bakteri endofit kelompok *Bacillus* yang bersifat tahan panas dilakukan menggunakan metode Nawangsih (2013) yang dimodifikasi. Pucuk, daun, dan ranting kakao yang telah disterilisasi permukaan masing-masing digerus menggunakan mortal steril mengandung 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0.85%). Masing-masing ekstrak tersebut dipanaskan pada suhu 80 °C selama 15 menit, kemudian diencerkan secara berseri. Sebanyak 0.1 mL ekstrak hasil pengenceran, masing-masing disebar pada media *Triptic Soy Broth/TSB 10%* (*Pancreatic Digest of Casein* 1.7 g L<sup>-1</sup>, *Papaic Digest of Soybean* 0.3 g L<sup>-1</sup>, *Dextrose* 0.25 g L<sup>-1</sup>, *Sodium Chloride* 0.5 g L<sup>-1</sup>, dan *Dipotassium Phosphate* 0.25 g L<sup>-1</sup>) dan diinkubasikan selama 1-7 hari.

**Isolasi bakteri endofit kelompok *Aktinomiset*.** Pucuk, daun, dan ranting kakao yang telah disterilisasi permukaan masing-masing digerus menggunakan mortal steril mengandung 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0.85%). Ekstrak tersebut diencerkan secara berseri, kemudian masing-masing sebanyak 0.1 mL ekstrak hasil pengenceran disebar pada media *water-yeast extract-agar/WYE* (*yeast extract* 0.25 g L<sup>-1</sup>, *K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>* 0.5 g L<sup>-1</sup>, dan *agar* 18 g L<sup>-1</sup>) dan *casamino acid-yeast extract-glocose-agar/YCED* (*yeast extract* 0.3 g L<sup>-1</sup>, *casamino acid*

0.3 g L<sup>-1</sup>, D-glucose 0.3 g L<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g L<sup>-1</sup>, dan agar 18 g L<sup>-1</sup>). Inkubasi dilakukan selama 7-14 hari pada suhu ruang (Kurniawati 2015).

**Isolasi bakteri endofit kelompok Fluorescent *Pseudomonas*.** Pucuk, daun, dan ranting kakao yang telah disterilisasi permukaan masing-masing digerus menggunakan mortal steril mengandung 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0.85%). Ekstrak tersebut diencerkan secara berseri, kemudian masing-masing sebanyak 0.1 mL ekstrak hasil pengenceran disebar pada media King's B agar (*pepton protease* 20 g L<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.5 g L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.5 g L<sup>-1</sup>, agar 15 g L<sup>-1</sup>, dan gliserol 15 m L<sup>-1</sup>). Inkubasi dilakukan selama 1-2 hari (Schaad et al. 2001).

**Isolasi bakteri lain.** Pucuk, daun, dan ranting kakao yang telah disterilisasi permukaan masing-masing digerus menggunakan mortal steril mengandung 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0.85%). Ekstrak tersebut diencerkan secara berseri kemudian masing-masing sebanyak 0.1 mL ekstrak hasil pengenceran disebar pada media NA yang merupakan media umum untuk pertumbuhan bakteri. Inkubasi dilakukan selama 1-2 hari pada suhu ruang.

**Preservasi Isolat Bakteri Endofit.** Isolat bakteri endofit yang diperoleh, disimpan dalam stok gliserol 40% pada suhu -20 °C. Masing-masing sebanyak 1 koloni isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada 3 mL media *nutrien broth*/NB (*Beef extract* 3 g L<sup>-1</sup> dan *peptone* 5 g L<sup>-1</sup>) selama 24 jam pada inkubator bergoyang 100 rpm. Sebanyak 0.5 mL suspensi bakteri dan 0.5 mL gliserol 80% dimasukkan ke dalam tabung mikro, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Stok bakteri tersebut kemudian disimpan di dalam freezer -20 °C.

### Seleksi Bakteri Endofit sebagai Calon Agens Hayati

#### Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan pada daun tanaman tembakau varietas *White Burley*. Masing-masing koloni tunggal bakteri dibiakkan pada 3 mL media NB selama 24 jam pada inkubator bergoyang 100 rpm. Suspensi bakteri diinokulasikan pada daun tembakau. Reaksi hipersensitif diamati pada 24-48 jam setelah inokulasi (Schaad et al. 2001). Bakteri uji yang menunjukkan reaksi hipersensitif negatif (tidak menyebabkan gejala nekrotik) digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

#### Uji Hemolisis pada Agar Darah

Satu oose biakan murni dari masing-masing isolat bakteri endofit berumur 24 jam digores pada media *blood agar*. Isolat bakteri endofit tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan terhadap aktivitas hemolisis yang ditandai dengan pembentukan zona bening disekitar isolat. Isolat dengan aktivitas hemolisis negatif digunakan untuk pengujian lebih lanjut (Yen et al. 2009; Badriyah & Ardyati 2013).

### Seleksi Bakteri Endofit sebagai Pemicu Pertumbuhan Bibit Kakao

#### Pengamatan Daya Kecambah Benih Kakao

Aplikasi bakteri endofit pada benih kakao dilakukan dengan metode perendaman. Masing-masing 1 koloni bakteri endofit ditumbuhkan pada media cair yang sesuai selama 12

jam pada inkubator bergoyang 100 rpm. Benih kakao direndam pada suspensi bakteri endofit ( $10^8$ - $10^9$  cfu mL<sup>-1</sup>) selama 2 jam. Benih yang telah diberi perlakuan ditanam pada kertas saring steril yang telah dibasahi dengan aquades steril di dalam cawan petri. Pengamatan dilakukan terhadap daya perkecambahan benih kakao pada 7 hari setelah perlakuan (HSP).

### **Pengamatan Pertumbuhan Bibit Kakao**

Benih kakao yang telah diberi perlakuan perendaman dan menunjukkan daya perkecambahan lebih dari 20% ditanam pada campuran media tanah, pasir, dan pupuk kandang dengan perbandingan 2:1:1. Pengamatan dilakukan terhadap parameter pertumbuhan bibit kakao yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, dan diameter batang bibit tanaman pada 3-7 minggu setelah tanam (MST).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Kakao**

#### **Pengambilan Sampel Tanaman Kakao**

Pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi, yaitu Desa Ciadam Kecamatan Mande (6° 45' 10.2" LS dan 107° 11' 09.4" BT), Kabupaten Cianjur, Jawa Barat; Desa Taratak, Kecamatan Lubuk Sikarah (00° 47' 48.480" LS dan 100° 37' 52.390" BT) dan Desa Transad, Kecamatan Tanjung Harapan (00° 45' 24.720" LS dan 100° 38' 20.647" BT), Kota Solok, Sumatera Barat; dan Desa Labuea, Kecamatan Moramo Utara (04° 06' 0170" LS dan 122° 33' 4033" BT) dan Desa Lebo Jaya, Kecamatan Konda (04° 05' 68.88" LS dan 122° 28' 15.06" BT), Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara.

Kondisi pertanaman di lokasi pengambilan sampel (Gambar 1) sangat beragam. Dari hasil pengamatan lapangan secara sekilas kejadian dan intensitas serangan penyakit VSD pada kakao paling berat berturut turut terjadi di Konawe Selatan, Cianjur, dan Solok. Pada pertanaman Kakao di Konawe Selatan banyak ditemui gejala khas VSD dan tanaman banyak yang merangas.

#### **Isolat Bakteri Endofit**

Sampel pucuk, daun, dan ranting tanaman kakao yang diperoleh dari 3 lokasi yang berbeda masing-masing diisolasi pada media NA, TSA, King's B, dan WYE agar untuk mendapatkan isolat bakteri yang beragam. Dari tahapan isolasi ini, secara keseluruhan diperoleh 751 isolat bakteri dengan karakter morfologi yang berbeda. Isolat tersebut sebanyak 167 berasal dari Konawe Selatan - Sulawesi Tenggara, 283 dari Cianjur-Jawa Barat, dan 301 dari Solok- Sumatera Barat. Hasil isolasi bakteri endofit menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat serangan penyakit VSD pada pertanaman, maka semakin rendah keragaman isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi. Seluruh isolat bakteri endofit yang

diperoleh disimpan dalam stok air steril dan larutan gliserol yang disimpan pada suhu  $-30^{\circ}\text{C}$ .



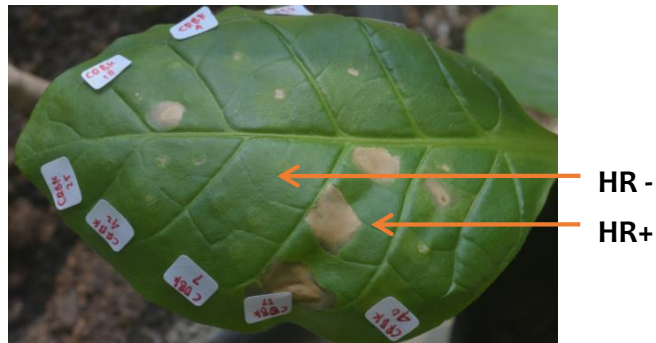
Gambar 1 Lokasi pengambilan sampel tanaman kakao. (A) Cianjur-Jawa Barat, (B) Solok-Sumatera Barat, dan (C) Konawe Selatan - Sulawesi Tenggara

### **Seleksi Bakteri Endofit sebagai Calon Agens Hayati**

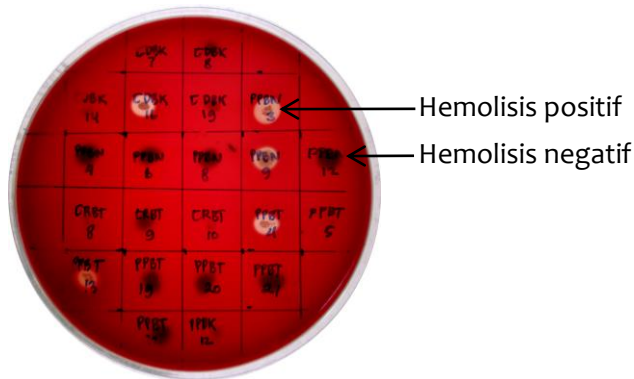
Seleksi tahap awal bakteri endofit untuk menentukan apakah berpotensi sebagai pathogen tumbuhan dan atau pathogen hewan dilakukan dengan dua metode, yaitu uji reaksi hipersensitif dan uji hemolisis. Reaksi hipersensitif pada pengujian ini terjadi sebagai reaksi ketahanan tanaman uji (tembakau) terhadap infeksi bakteri patogen tanaman. Dengan demikian uji reaksi hipersensitif ini dilakukan untuk mengeliminasi isolat bakteri yang memiliki sifat patogenik terhadap tanaman. Pengujian reaksi hipersensitif telah dilakukan pada 316 isolat bakteri endofit dan 24 diantaranya menunjukkan reaksi hipersensitif positif (HR+) pada daun tembakau (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa hanya 7.59% isolat bakteri bersifat patogenik terhadap tanaman. Hasil pengujian ini menarik untuk dikaji lebih lanjut bahwa sebagian besar populasi bakteri endofit yang berhasil diisolasi bersifat tidak patogenik terhadap tanaman.

Uji hemolisis pada agar darah dilakukan untuk mengeliminasi isolat bakteri endofit yang kemungkinan bersifat patogenik terhadap mamalia. Berdasarkan pengujian yang dilakukan, sebanyak 35 isolat dari 316 isolat yang diuji menyebabkan pembentukan zona bening disekitar isolat pada media agar darah (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas hemolisis. Dengan demikian dapat diketahui bahwa 11.076 % dari bakteri uji berpotensi sebagai patogen manusia. Sebanyak 51 isolat bakteri yang menyebabkan reaksi

hipersensitif pada daun tembakau dan atau menunjukkan aktivitas hemolisis pada media agar darah tidak digunakan dalam tahapan pengujian berikutnya.



Gambar 2 Uji reaksi hipersensitif negatif (HR-) dan reaksi hipersensitif positif (HR+)



Gambar 3 Uji aktivitas hemolisis pada media agar darah

### Seleksi Bakteri Endofit sebagai Pemicu Pertumbuhan dan Induksi Resistensi Bibit Kakao

#### Pengaruh Perlakuan Bakteri Endofit terhadap Daya Berkecambah Benih Kakao

Sebanyak 265 isolat bakteri endofit terpilih telah diuji pengaruhnya terhadap daya kecambah benih kakao. Pemberian perlakuan perendaman benih pada berbagai isolat bakteri endofit menunjukkan hasil yang beragam seperti dapat menghambat, meningkatkan perkecambahan benih, dan beberapa diantaranya memiliki persentase daya berkecambah yang sama dengan kontrol (Gambar 4).

Berdasarkan nilai rata-rata daya kecambah benih kakao, daya perkecambahan benih pada 69 perlakuan sebesar 100%, 104 perlakuan sebesar 80%, daya perkecambahan benih pada 92 perlakuan lainnya kurang dari sama dengan 66.67%, sedangkan pada perlakuan kontrol masing-masing sebesar 80%. Hal ini menunjukkan 76 isolat yang digunakan mampu

meningkatkan daya perkecambahan benih kakao sedangkan 92 isolat lainnya menghambat perkecambahan benih.



Gambar 4 Pengaruh perlakuan perendaman benih kakao dengan bakteri endofit terhadap perkecambahan benih. Perlakuan kontrol LB (a), perlakuan kontrol air (b), perlakuan bakteri endofit yang mampu meningkatkan daya kecambah (c), dan perlakuan bakteri endofit yang mampu menghambat daya kecambah benih (d)

### **Pengaruh Perlakuan Bakteri Endofit terhadap Pertumbuhan Bibit Kakao**

Perlakuan perendaman benih kakao dengan isolat bakteri endofit memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap pertumbuhan bibit. Beberapa diantaranya mampu memacu pertumbuhan sehingga tinggi bibit lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol dan yang lainnya menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat bahkan beberapa diantaranya menyebabkan pertumbuhan abnormal. Sebanyak 55 perlakuan perendaman benih oleh isolat endofit menghasilkan tinggi tanaman lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol. Sepuluh isolat terbaik secara berturut-turut adalah PRBK 12, PPBK 15, PRBW 25, PPBK 17, PDBT 14, PRBT 1, SPBN 3, PRBN 23, PRBT 34, dan SRBT 1.

Berdasarkan pengamatan jumlah daun pada bibit kakao, 46 perlakuan perendaman benih oleh isolat endofit menghasilkan daun yang lebih banyak dibandingkan perlakuan kontrol. Lima dari sepuluh isolat bakteri endofit menunjukkan hasil terbaik berdasarkan pengukuran tinggi tanaman, yaitu PRBW 25, PDBT 14, PRBT 1, PRBN 23, dan PRBT 34 juga memiliki jumlah daun lebih banyak dibandingkan perlakuan kontrol.

## **PEMBAHASAN**

Isolasi atau eksplorasi agens hayati merupakan salah-satu tahapan penting dalam studi pengendalian hayati. Pada penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan pada tanaman kakao sehat diantara hamparan tanaman kakao yang terserang luas penyakit VSD. Menurut Baker dan Cook (1974), agens hayati salah-satunya dapat diperoleh dari tanaman atau lingkungan pada area pertanaman dimana patogen tidak bisa berkembang dengan baik walaupun tanaman bersifat rentan. Ketidakberhasilan patogen untuk berkembang dan menyebabkan penyakit diduga salah-satunya terjadi karena adanya peran dari mikroba menguntungkan yang berasosiasi dengan tanaman.



Salah-satu dari kelompok mikroba menguntungkan adalah bakteri endofit, kelompok bakteri yang telah banyak dikaji dan dilaporkan memiliki potensi yang besar dalam memicu pertumbuhan tanaman dan pengendalian hayati dengan berbagai mekanisme (Ryan *et al.* 2008; Konate *et al.* 2015). Bakteri endofit merupakan bakteri yang tumbuh di dalam jaringan tanaman namun tidak menyebabkan kerusakan pada inangnya (Hallmann *et al.* 1997; Schulz dan Boyle 2006). Pemanfaatan bakteri endofit dalam pengendalian *Ceratobacidium theobromae* memiliki potensi yang besar karena menghuni sebuah relung ekologi yang sama dengan patogen sehingga pengendalian bisa lebih efektif.

Bakteri endofit, salah satu agens hayati menguntungkan yang menghuni jaringan tanaman di mana *C. theobromae* mengolonisasi dan menyebabkan penyakit pada tanaman dapat dikembangkan sebagai teknik pengendalian yang ramah lingkungan. Konate *et al.* (2015) melaporkan bahwa banyak bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar dan batang bibit kakao dengan kelimpahan sekitar  $4.8 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$  jaringan tanaman. Adapaun komposisi jenis bakteri endofit mencakup genus *Bacillus* (67%), *Clostridium* (15%), *Aktinomiset* (11%), dan *Pseudomonas* (7%). Menurut Ryan *et al.* (2007), salah-satu peran penting bakteri endofit bagi tanaman inangnya adalah dapat memacu pertumbuhan. Selain itu, dapat berperan dalam meningkatkan kesuburan tanah melalui fiksasi nitrogen, dan sebagai pelarut fosfat. Selain itu menurut Wang *et al.* (2005) dan Melnick (2010), studi berbasis *microarray* dan kuantitatif PCR (Q-PCR) menunjukkan bahwa aplikasi agens hayati memicu ekspresi gen-gen tertentu pada tanaman yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap serangan patogen.

## KESIMPULAN

Pengambilan sampel tanaman/bagian tanaman sehat diantara tanaman sakit dilakukan pada tiga lokasi yaitu Kabupaten Cianjur, Jawa Barat; Kota Solok, Sumatera Barat; dan Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara. Total bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari ranting, daun dan pucuk kakao pada 3 lokasi sebanyak 751 isolat dari berbagai jenis media pertumbuhan yaitu NA, King's B, TSA dan WYE. Penumbuhan berulang dari isolat yang diperoleh terdapat 316 isolat yang dapat dikulturkan secara stabil. Sebanyak 51 isolat (11%) menunjukkan reaksi positif terhadap uji *hypersensitive reaction* dan atau hemolisis agar darah. Uji pertumbuhan tanaman terhadap 265 isolat menunjukkan 69 isolat secara konsisten memberikan efek positif terhadap daya berkecambah benih hingga 100% dibandingkan kontrol sebesar 80%. Pengamatan lebih jauh terhadap pertumbuhan tanaman terhadap 55 isolat menunjukkan tinggi tanaman lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol, dan diantara 55 isolat tersebut 5 isolat yaitu PRBW25, PDBT14, PRBT1, PRBN23, dan PRBT34 merupakan isolat bakteri endofit potensial pemicu pertumbuhan tanaman kakao yang diharapkan juga menginduksi resistensi tanaman kakao terhadap penyakit VSD.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Indonesia, Kementerian Pertanian Indonesia, atas dukungan biaya penelitian melalui kerja sama kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional dengan nomor hibah: 54/HM.240/I.1/3/2016.K, tanggal 17 Maret 2016.

### DAFTAR PUSTAKA

- Badriyah BI, Ardyati T. 2013. Deteksi aktivitas proteolitik isolat bakteri asal ampas tahu pada substrat bekatul. *Biotropika*. 1(3): 109-113.
- Baker KF, Cook RJ. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. San Francisco (US): WH Freeman.
- Donald DF. (2004). Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. *Conservation Biology*. 18:17-38.
- Guest DI, Keane PJ. 2007. Vascular-streak dieback: a new encounter disease of cacao in Papua New Guinea and Southeast Asia caused by the obligate basidiomycete *Oncobasidium theobromae*. *Phytopathology*. 97: 1654e1657.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43(10): 895-914.
- ICCO. 2010. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. XXXVI(1). Cocoa year 2009/2010. Published: 03-03-2010.
- Konate I, Ouattara A, Coulibaly B, Guei RN, Amani K, Kouadio KI, Koffi M. 2015. Phenotypic diversity of associative bacteria isolated from roots and stems of cacao (*Theobroma cacao*) Tree in Daloa, Côte d'Ivoire. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 4(9): 560-570.
- Kurniawati S. 2015. Eksplorasi dan uji kompatibilitas bakteri agens hayati untuk mengendalikan penyakit kresek (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) pada tanaman padi [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Melnick RL. 2010. Endophytic *Bacillus* spp. of *Theobroma cacao*: ecology and potential for biological control of cacao diseases [dissertasi]. The Pennsylvania State University: The Graduate School Department of Plant Pathology.
- Munif A, Wiyono S, Suwarno. 2012. Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan. *J Fitopatol Indones*. 8(3): 57-64.
- Nawangsih AA, Widjayanti T, Anisa Y. 2015. Kelimpahan bakteri rizosfer pada sistem PHT-Biointensif serta kemampuan antagonismenya terhadap *Sclerotium rolfsii* pada kedelai. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 14(2): 110-120.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS microbiology letters*. 278(1): 1-9.

- Samuel GJ, Ismail A, Rusmana A, Junaid M, Guest D, Mcmohan P, Keane P, Purwantara A, Lambert S, Rodriguez-Carres M, Cubeta MA. 2012. Vascular streak dieback of cacao in Southeast Asia and Melanesia: in planta detection of the pathogen and a new taxonomy. *Fungal Biology*. 116: 11-23.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2000. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Minnesota (US): APS Press.
- Schulz B, Boyle C. 2006. What are endophytes? Microbial Root Endophytes. Schulz BJE, Boyle CJC, Sieber TN, editor. Berlin (DE): Springer-Verlag. Hlm 1–13.
- Shapiro LH, Scheffer SJ, Maisin N, Lambert S, Purung HB, Sulistyowati E, Vega FE, Gende P, Laup S, Rosmana A, Djam S, Hebbar PK. 2008. *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Malay Archipelago: genetic signature of a bottlenecked population. *Annals of the Entomological Society of America*. 10: 930e938.
- Velusamy P, Immanuel JE, Gnanamanickam SS, Thomashow L. 2006. Biological control of rice bacterial blight by plant-associated bacteria producing 2,4-diacetylphloroglucinol. *Can J Microbiol*. 52:56-65.
- Wang Ohara Y, Nakayashiki H, Tosa Y, Mayama S. 2005. Microarray analysis of the gene expression profile induced by the endophytic plant growth-promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens* FPT9601-T5 in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 18(5):385-396.
- Yeh E, Pinsky BA, Banaei N, EJ. Baron. 2009. Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfills all requirements of blood agar for diagnostic microbiology laboratory tests. *PLoS one*. 4(7):1-7.