

STABILITAS BAKTERI ENDOFIT *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 DAN *Pseudomonas aeruginosa* 5BRB3 DALAM FORMULASI TEPUNG DENGAN BERBAGAI BAHAN TAMBAHAN

Stability of *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 and *Pseudomonas aeruginosa* 5BRB3 in Flour Formulation with Various Additives

Novita Pramahsari Putri¹, Andi Khaeruni^{2*}, Marnia Ningsi Umar², La Ode Santiaji², Muhammad Taufik², Vit Neru Satrah², Gusti Ayu Kade Sutariati³, Teguh Wijayanto³

¹Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh

²Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo

³Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo

* Corresponding author: andikaeruni.uho@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terbukti efektif mengendalikan *Phytophthora palmivora* pada persemaian. Agar aplikasi agens hayati dapat bertahan lama diperlukan suatu formula yang mampu mempertahankan viabilitas dan daya hambat serta memudahkan penggunaannya. Penelitian bertujuan untuk mengetahui jenis formulasi tepung dan bahan tambahan yang memberikan pengaruh terbaik terhadap viabilitas dan daya hambat bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap *P. palmivora*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman Unit Fitopatologi, Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo Kendari. Penelitian disusun menggunakan Rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan formula tepung dan bahan tambahan yang berbeda. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan dilaksanakan secara paralel dengan dua jenis bakteri endofit yaitu: *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3. Data dianalisis dengan sidik ragam dan apabila terdapat pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung talk dan tepung tapioka dapat berfungsi sebagai bahan dasar dalam formulasi agens hayati bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3. Formulasi tepung tapioka P6 dengan penambahan pepton memiliki kemampuan terbaik dalam meningkatkan viabilitas bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 yaitu sebesar $8,34 \times 10^8$ CFU/g pada 8 MSI, formulasi P3 memiliki kemampuan daya hambat terbaik yaitu sebesar 87,78% dengan masa simpan formulasi 10 MSI. Sedangkan tepung tapioka P5 memiliki kemampuan terbaik dalam meningkatkan viabilitas bakteri endofit *P. aeruginosa* 5BRB3 yaitu sebesar $8,14 \times 10^8$ CFU/g pada 8 MSI, formulasi P6 memiliki kemampuan daya hambat terbaik yaitu sebesar 88,89% dengan masa simpan formulasi 12 MSI.

Key word: Bakteri endofit, formulasi, *Pseudomona aeruginosa*, viabilitas

ABSTRACT

The endophytic bacteria *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 and *P. aeruginosa* 5BRB3 have proven effective in controlling *Phytophthora palmivora* in nurseries. So that the application of this biological agent can last a long time, a formula is needed that can maintain its viability and inhibitory power and make it easier to use. The research aims to determine the type of flour formulation and additional ingredients that have the best effect on the viability and inhibitory power of the endophytic bacteria *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 and *P. aeruginosa* 5BRB3 against *Phytophthora palmivora*. The research was carried out at the Plant Protection Laboratory, Phytopathology Unit, Faculty of Agriculture, Halu Oleo University,

Kendari. The research was structured using a Completely Randomized Design (CRD) with six different treatments of flour formula and additional ingredients. Each treatment was repeated three times. This treatment was carried out in parallel with two types of endophytic bacteria, namely: *P. aeruginosa* 2RWB2 and *P. aeruginosa* 5BRB3. The data was analyzed using variance and if there was a real effect, it was continued with the Duncan Multiple Distance Test (UJBD). The results showed that talcum powder and tapioca flour can function as basic ingredients in the formulation of biological agents for the endophytic bacteria *P. aeruginosa* 2RWB2 and *P. aeruginosa* 5BRB3. The P6 tapioca flour formulation with the addition of peptone has the best ability to increase the viability of the endophytic bacteria *P. aeruginosa* 2RWB2 in the amount of 8.34×10^8 CFU/g at 8 WAI, the P3 formulation has the best inhibitory ability reach 87.78% with a shelf life of the formulation 10 WAI. Meanwhile, P5 tapioca flour has the best ability to increase the viability of the endophytic bacteria *P. aeruginosa* 5BRB3, namely 8.14×10^8 CFU/g at 8 WAI, and the P6 formulation has the best inhibitory ability in the amount of 88.89% with a shelf life of 12 WAI.

Keywords: Endophytic bacteria, formulation, viability

PENDAHULUAN

Phytophthora palmivora merupakan patogen penting pada tanaman kakao yang menginfeksi akar, batang, daun dan buah. Infeksi *P. palmivora* pada buah dapat menyebabkan kehilangan hasil panen hingga mencapai 90% (Wahdania et al., 2017). Secara umum, kerugian akibat penyakit busuk buah pada pertanaman kakao di lapangan antara 20-30% pertahun (Hebbar, 2007). Penggunaan pestisida kimia umumnya dilakukan oleh petani untuk menekan perkembangan penyakit *P. palmivora* di lapangan. Mengingat dampak negatif yang ditimbulkan oleh pestisida kimia, maka perlu ada upaya alternatif untuk mengurangi penggunaan pestisida kimia tersebut, diantaranya menggunakan agens hayati berupa bakteri endofit.

Menurut Kado (1992) bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa merugikan bahkan memberikan banyak manfaat bagi tanaman inangnya. Bakteri endofit dapat melakukan kolonisasi pada relung yang sama dengan patogen tanaman, sehingga bakteri endofit lebih cocok sebagai kandidat agensia pengendali hayati (Hallmann et al., 1997).

Foeh SC et al., (2019) menyatakan bahwa bakteri endofit asal daun sehat mampu menghambat *P. palmivora* secara in vitro dengan persentase daya hambat tertinggi sebesar 92,52%. Hasil penelitian Arini et al (2021) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa*

2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 yang diisolasi dari tanaman kakao sehat efektif menekan penyakit busuk buah kakao masing-masing sebesar 56,64% dan 70,08%. Kedua bakteri endofit tersebut juga efektif menekan penyakit busuk akar di persemaian kakao sebesar 47,87% untuk *P. aeruginosa* 2RWB2 dan 76,79% untuk *P. aeruginosa* 5BRB3 (Rahmahwati et al. 2021). Bakteri endofit yang berpotensi sebagai agens hayati perlu dibuat dalam bentuk formula agar dapat disebarluaskan kepada pengguna, meningkatkan daya hidup sel bakteri selama penyimpanan, serta memudahkan aplikasinya.

Derakshan et al. (2008) mengemukakan bahwa stabilitas efikasi formulasi agens hayati dapat dipertahankan apabila bahan formula yang digunakan mengandung cukup nutrisi dan bahan pembawa. Bahan pembawa untuk formula harus mengandung komponen penting yang mendukung viabilitas dan pertumbuhan mikroba yang ada didalamnya, seperti karbohidrat, protein, air, asam amino, lemak, dan garam mineral (Putri et al., 2016). Vidhyasekaran et al., (1997) melaporkan *Pseudomonas fluoresen* yang diformula dalam talk masih tetap efektif sampai 6 bulan penyimpanan pada suhu ruang. Advinda (2009) melaporkan bahwa tepung tapioka merupakan bahan pembawa terbaik untuk formulasi *P. fluoresen* dengan viabilitas yang tinggi, Khaeruni et al. (2022) bahwa tepung tapioka memiliki tingkat kelarutan dan daya endapan yang lebih baik dibandingkan dengan talk

sebagai bahan pembawa formula bakteri endofit *P. fluorescens* 4RSI.

Penambahan nutrisi dalam formulasi sangat penting untuk meningkatkan viabilitas agens hayati dalam formula (Hanudin *et al.*, 2010; Mugiastuti *et al.*, 2010). Penelitian telah dilaksanakan untuk mengetahui jenis formulasi tepung dan bahan tambahan yang memberikan pengaruh terbaik terhadap viabilitas dan daya hambat bakteri endofit *Pseudomonas aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap *Phytophthora palmivora*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman Unit Fitopatologi, Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo Kendari.

Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 6 perlakuan. Keenam perlakuan yaitu formulasi media yang digunakan di antaranya: P1: Talk (50 g)+gula aren (1,5 g); P2: Talk (50 g)+gula aren (1,5 g)+pepton (1 g) + CMC (1 g); P3: Talk (50 g) + gula aren (1,5 g)+urea (0,5 g)+CMC (1 g); P4: Tepung tapioka (50 g)+gula aren (1,5 g); P5: Tepung tapioka (50 g)+gula aren (1,5 g)+pepton (1 g)+CMC (1 g); P6: Tepung tapioka (50 g) + gula aren (1,5 g)+urea (0,5 g)+CMC (1 g). Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 18 unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Penyegaran Bakteri Endofit dan *Phytophthora palmivora*

Masing-masing isolat *P. aeruginosa* 2RWB2 secara terpisah diambil dari stok kultur dengan menggunakan jarum ose untuk digoreskan pada media TSA (*Tryptic soy agar*) lalu diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang. Koloni tunggal yang tumbuh dan mencirikan isolat tersebut, diperbanyak pada media TSA untuk pengujian selanjutnya. Isolat *P. palmivora* PPKT01 disegarkan dengan cara mengambil satu potong kultur menggunakan *cork borer* diameter 1 cm, kemudian diinokulasi pada

media V4 lalu diinkubasi selama 7x24 jam pada suhu ruang, kultur yang tumbuh tanpa kontaminasi siap digunakan untuk pengujian antagonis dan viabilitas bakteri endofit.

Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap *P. Palmivora* secara *In-vitro* sebelum Formulasi

Sebelum bakteri antagonis diformulasi ke dalam bahan pembawa, maka terlebih dahulu dilakukan pengujian antagonis bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 terhadap *P. palmivora* menggunakan metode *dual culture*. Biakan murni *P. palmivora* diambil dengan menggunakan *cork borer* dengan diameter 1 cm untuk diinokulasikan ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm yang berisi media V4 dengan jarak 3 cm dari pinggiran cawan.

Satu hari kemudian pada cawan petri yang sama digoreskan secara melintang bakteri endofit yang diuji dengan jarak 3 cm yang berlawanan arah dengan cendawan *P. palmivora*. Cawan diinkubasi di suhu kamar untuk selanjutnya diukur daya hambatnya pada umur 6 hari setelah inokulasi bakteri endofit.

Penyiapan Media Pembawa dalam Formulasi

Penyiapan media dasar dalam formulasi yaitu tepung talk dan tepung tapioka masing-masing sebanyak 150 g dan bahan tambahan lainnya berupa gula aren, urea, pepton dan CMC. Semua bahan formulasi sesuai perlakuan kemudian dicampur secara merata ke dalam *Beaker glass*. Bahan formulasi yang telah dicampur kemudian dimasukkan ke dalam kemasan plastik tahan panas yang berukuran M kemudian disterilkan ke dalam *autoclave* selama 2 jam. Setelah disterilkan, formulasi tersebut kemudian didinginkan dalam *laminar air flow* selama 2x24 jam.

Penyiapan dan Pencampuran Suspensi Bakteri Endofit dalam Bahan Formulasi

Masing-masing isolat bakteri endofit dibiakkan pada media TSA secara terpisah selama 48 jam, kemudian disuspensikan ke dalam aquades steril dengan tingkat

kepadatan 10^8 CFU/ml (Rahmawati, 2021). Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 10 ml suspensi bakteri endofit kemudian dimasukkan ke dalam kemasan media pembawa dan dicampur secara merata. Kemasan formulasi yang telah diinokulasikan bakteri endofit kemudian ditutup rapat dan ditempatkan pada suhu ruang.

Uji Fisik Tampilan Produk Formulasi

Uji fisik tampilan produk merujuk pada Morales *et al.* (1998) dalam Suwahyono *et al.*, (2008) yang dimodifikasi. Uji ini meliputi 2 parameter yaitu:

1. Daya Kelarutan Produk dalam Air

Pengamatan daya kelarutan produk dalam air dilakukan satu minggu setelah penyimpanan produk. Sebanyak 1 g produk formulasi dimasukkan ke dalam *Beaker glass* yang berisi 200 ml aquades, lalu diputar perlahan/digojok selama 2 menit. Kemudian didiamkan untuk diamati daya kelarutan produk dalam air dengan menggunakan 4 kriteria rujukan penilaian (Suwahyono, 2008).

2. Pengendapan Produk Formulasi

Pemeriksaan endapan produk formulasi diperiksa dengan cara mengambil sebanyak 100 ml akuades steril (suhu $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 7) dimasukkan ke dalam *Erlen meyer* 500 ml. Satu gram sediaan produk dimasukkan ke dalam akuades steril tersebut, lalu di shaker atau digoyang selama 2 menit, didiamkan hingga terjadinya pengendapan, kemudian menimbang berat endapan yang terjadi setelah dikeringkan.

Uji Viabilitas Bakteri Endofit dalam Formulasi

Uji viabilitas dilakukan untuk menghitung pertumbuhan populasi bakteri endofit yang dilakukan dengan cara mengambil 1 g tepung kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi 9 ml aquades lalu memvortex sampai homogen, setelah itu dibiakkan dengan teknik pengenceran berseri sampai dengan pengenceran 10^{-5} . Suspensi bakteri endofit hasil pengenceran 10^{-5} diambil sebanyak 100 μl dibiakkan pada medium

TSA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh pada setiap perlakuan dihitung dan dikonversikan ke dalam satuan CFU g^{-1} . Beberapa koloni yang tumbuh sempurna dan terpisah dari koloni lain diisolasi dan disebarkan pada media TSA untuk digunakan pada uji daya hambat bakteri antagonis terhadap *P. palmivora*. Uji viabilitas dilakukan pada masa 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 MSI.

Uji Daya Hambat Bakteri Endofit terhadap *P. palmivora* Setelah Formulasi

Kultur bakteri endofit yang diperoleh dari uji viabilitas pada setiap perlakuan diuji daya hambatnya terhadap *P. palmivora* dengan *dual culture*. Uji daya hambat bertujuan untuk mengetahui daya hambat dan mekanisme antagonis yang terjadi pada setiap isolat. Isolat *P. palmivora* yang telah dimurnikan diambil dengan menggunakan *cork borer*, selanjutnya diinokulasikan di atas cawan petri yang berisi medium V4 dengan jarak 3 cm dari tepi cawan. Sehari setelah inokulasi patogen, dilakukan inokulasi bakteri endofit dengan jarak 3 cm dari tepi cawan berlawanan arah. Pengamatan persentase daya hambat bakteri endofit terhadap *P. palmivora* dilakukan pada umur 6 hari setelah pengujian.

Variabel Penelitian

Variabel pengamatan yang dilakukan adalah sebagai berikut :

(1) Daya Kelarutan Produk Formulasi dalam Air

Pengamatan ini dilakukan pada produk yang berumur 1 minggu setelah formulasi yang dilarutkan dalam air. Pengamatan daya larut produk dalam air menggunakan kriteria daya larut sebagai berikut: 1 = Sediaan larut sempurna setelah 2 menit, 2 = Sediaan larut, setelah digojok 2-3 kali selama 1-2 menit, 3 = >50% sebagian saja produk yang larut setelah digojok 2 menit, 4 = hanya sedikit atau tidak larut sama sekali.

(2) Pengendapan Produk Formulasi (%)

Pengamatan ini dilakukan pada produk yang berumur 1 minggu setelah formulasi yang dilarutkan dalam air. Pengamatan dilakukan setelah produk digoyang secara perlahan dalam waktu 2 menit. Lalu

didiamkan sampai terjadi pengendapan secara sempurna. Setelah itu endapan di keringkan kemudian dilakukan pengukuran berat endapan yang terjadi untuk menentukan persentase (%) endapan yang terbentuk dengan rumus :

$$\text{Endapan (\%)} = \frac{\text{Berat Endapan yang Terbentuk}}{\text{Berat Produk Formula yang Diuji}} \times 100\%$$

(3) Persentase Daya Hambat Sebelum dan Sesudah Formulasi (%)

Pengamatan dilakukan dengan mengukur panjang jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi petri (R1) dan panjang jari-jari pertumbuhan patogen ke arah bakteri endofit (R2). Pengamatan daya hambat dilakukan pada umur 6 hari setelah uji. Setelah data diperoleh, data tersebut kemudian digunakan untuk menghitung daya hambat (DH) isolat bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 terhadap cendawan *P. palmivora* yang ditentukan dengan rumus:

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

Keterangan: DH = Daya Hambat (%); R1 = Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi petri (mm); R2 = Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi isolat bakteri endofit (mm).

(4) Viabilitas bakteri (CFU/g)

diamati setiap 2 minggu sekali selama 12 minggu dengan cara menghitung koloni bakteri yang tumbuh dan diukur dengan menggunakan metode *plate count* dengan menggunakan rumus menurut sebagai berikut :

$$\text{CFU/g} = \frac{\text{Jumlah Total Koloni}}{\text{Volume yang disebar ke cawan petri} \times \text{Faktor pengenceran}}$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis menggunakan ANOVA. Jika hasil ANOVA menunjukkan hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) pada taraf kepercayaan 95% untuk melihat

Endapan Produk Formulasi

Persentase endapan produk formulasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 dapat dilihat pada Tabel 2.

perlakuan mana yang memberikan efek berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fisik tingkat kelarutan produk formulasi Bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat kelarutan produk formulasi bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3

Perlakuan	Kategori Daya Larut	
	<i>P. aeruginosa</i> 2RWB2	<i>P. aeruginosa</i> 5BRB3
P1 (Talk+gula aren)	3	3
P2 (Talk +gula aren +pepton + CMC)	3	3
P3 (Talk+gula aren+urea+CMC)	3	3
P4 (Tepung tapioka+gula aren)	2	2
P5 (Tepung tapioca+gula aren + pepton+ CMC)	2	2
P6 (Tepung tapioka+gula aren+ urea+CMC)	2	2

Keterangan: 2= Sediaan larut setelah digocok 2-3 kali selama 1-2 menit, 3= >50% sebagian saja produk yang larut setelah digocok 2 menit

Hasil tingkat kelarutan produk formulasi pada Tabel 1 menunjukkan bahwa formulasi bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 yang berbahan dasar tepung talk memiliki tingkat kelarutan kategori 3 yaitu 50% sebagian saja produk yang larut setelah digocok 2 menit. Sedangkan formulasi bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 yang berbahan dasar tepung tapioka memiliki tingkat kelarutan kategori 2 yaitu sediaan larut setelah digocok 2-3 kali selama 1-2 menit. Hal ini memberikan informasi bahwa tepung tapioka sebagai bahan dasar memberikan respon yang terbaik, dilihat dari tingkat kelarutan.

Tabel 2. Persentase Endapan Produk Formulasi Bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3

Perlakuan	Persentase Endapan (%)	
	<i>P. aeruginosa</i> 2RWB2	<i>P. aeruginosa</i> 5BRB3
P1	53,33	56,67
P2	53,33	50,00
P3	56,67	53,33
P4	40,00	43,33
P5	43,33	46,67
P6	46,67	46,67

Keterangan: P1= Talk+gula aren, P2= Talk+gula aren+ pepton+CMC, P3= Talk+gula aren+urea+CMC, P4= Tepung tapioka+gula aren, P5= Tepung tapioka+gula aren+pepton+CMC, P6= Tepung tapioka+gula aren+ urea+CMC

Berdasarkan Tabel 2 memperlihatkan bahwa rerata persentase endapan terendah pada formulasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 terdapat pada perlakuan P4 dengan

persentase endapan sebesar 40,00%, sedangkan persentase endapan tertinggi terdapat pada perlakuan P3 yaitu sebesar 56,67%. Pada formulasi bakteri endofit *P. aeruginosa* 5BRB3, persentase endapan terendah terdapat pada perlakuan P4 dan P5 yaitu sebesar 43,33%, sedangkan persentase endapan tertinggi terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 56,67%. Endapan yang terbentuk dari formulasi berbahan dasar tepung talk (P1, P2 dan P3) lebih banyak dibandingkan endapan pada formulasi berbahan dasar tepung tapioka (P4, P5 dan P6).

Viabilitas Bakteri Setelah Penyimpanan Formulasi

Rerata viabilitas dan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD_{0,05}) bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 setelah penyimpanan formulasi disajikan pada Tabel 3 dan 4.

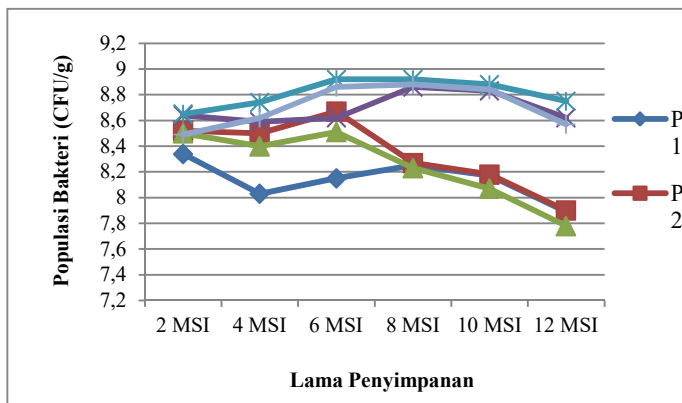
Tabel 3. Rerata Viabilitas Bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 setelah Penyimpanan Formulasi

Perlakuan	Viabilitas Bakteri Endofit <i>P. aeruginosa</i> 2RWB2 Setelah Penyimpanan Formulasi Minggu Ke-					
	2	4	6	8	10	12
P1	2,40×10 ⁸	1,07×10 ⁸	1,43×10 ⁸	1,78×10 ⁸	1,47×10 ⁸	0,80×10 ⁸
P2	3,29×10 ⁸	3,18×10 ⁸	4,74×10 ⁸	1,92×10 ⁸	1,54×10 ⁸	0,81×10 ⁸
P3	3,19×10 ⁸	2,54×10 ⁸	3,50×10 ⁸	1,74×10 ⁸	1,19×10 ⁸	0,61×10 ⁸
P4	4,33×10 ⁸	3,90×10 ⁸	4,18×10 ⁸	7,18×10 ⁸	6,73×10 ⁸	4,17×10 ⁸
P5	4,43×10 ⁸	5,49×10 ⁸	8,30×10 ⁸	8,34×10 ⁸	7,68×10 ⁸	5,69×10 ⁸
P6	3,17×10 ⁸	4,15×10 ⁸	7,21×10 ⁸	7,72×10 ⁸	7,05×10 ⁸	3,72×10 ⁸
	Log N					
P1	8,34 ^b	8,03 ^d	8,15 ^b	8,25 ^b	8,17 ^b	7,89 ^c
P2	8,52 ^{ab}	8,50 ^c	8,67 ^b	8,27 ^b	8,18 ^b	7,90 ^c
P3	8,50 ^{ab}	8,40 ^c	8,51 ^c	8,23 ^b	8,07 ^b	7,78 ^c
P4	8,64 ^a	8,59 ^{bc}	8,62 ^b	8,86 ^a	8,83 ^a	8,62 ^{ab}
P5	8,65 ^a	8,74 ^a	8,92 ^a	8,92 ^a	8,88 ^a	8,75 ^a
P6	8,49 ^{ab}	8,62 ^b	8,86 ^a	8,88 ^a	8,84 ^a	8,57 ^b
2=	0,1901	0,0949	0,1742	0,1238	0,0923	0,1120
3=	0,1990	0,0993	0,1823	0,1295	0,0967	0,1173
UJBD 4=	0,2043	0,1020	0,1873	0,1330	0,0993	0,1204
0,05 5=	0,2079	0,1038	0,1905	0,1354	0,1010	0,1225
6=	0,2104	0,1050	0,1928	0,1370	0,1022	0,1240

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata yang berdasarkan UJBD_{0,05} pada taraf kepercayaan 95%.

P1= Talk+gula aren, P2=Talk+gula aren+pepton+CMC, P3= Talk+gula aren+urea+CMC,P4=Tepung tapioka+ gula aren P5= Tepung tapioka+gula aren+pepton+ CMC, P6= Tepung tapioka+gula aren+urea+CMC.

Hasil uji lanjut UJBD_{0,05} pada Tabel 3 menunjukkan bahwa setelah formulasi disimpan selama 2 MSI populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 tertinggi yaitu pada P5 sebesar $4,43 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P1. Pengamatan 4 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu pada perlakuan P5 sebesar $5,49 \times 10^8$ CFU/g yang berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P4. Pengamatan 6 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $8,30 \times 10^8$ CFU/g yang berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P4 kecuali P6. Pengamatan 8 dan 10 MSI Populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $8,34 \times 10^8$ CFU/g dan $7,68 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan P4 dan P6, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2 dan P3. Pengamatan 12 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $5,69 \times 10^8$ CFU/g yang berbeda nyata dengan semua perlakuan. Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dalam formulasi setelah penyimpanan selama 12 MSI (minggu setelah inokulasi)

Gambar 1 menunjukkan pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dalam formulasi yang berbahan dasar tepung talk (P1, P2 dan P3) mengalami penurunan, populasi awal pada 2 MSI sebesar 8×10^8 CFU/g, setelah penyimpanan selama 12 MSI menurun menjadi 7×10^7 CFU/g. Pertumbuhan populasi bakteri P1 mengalami penurunan di 4 MSI, populasi meningkat di 6 dan 8

MSI kemudian di minggu berikutnya populasi menurun. Pertumbuhan populasi bakteri P2 dan P3 di 4 MSI menurun, populasi bakteri meningkat di 6 MSI kemudian di minggu berikutnya populasi menurun.

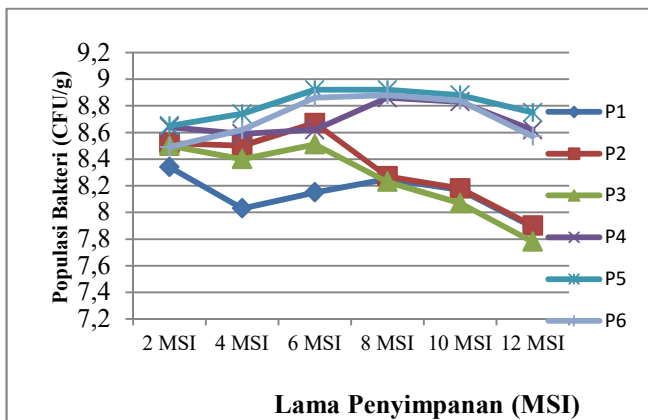
Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dalam formulasi yang berbahan dasar tepung tapioka (P4, P5 dan P6) pada perlakuan P5 dan P6 mengalami peningkatan, populasi tertinggi terjadi setelah 8 MSI kemudian di minggu berikutnya populasi menurun. Sedangkan pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 pada perlakuan 4 mengalami penurunan populasi di 4 MSI kemudian di minggu berikutnya mengalami peningkatan, populasi tertinggi terjadi pada 8 MSI yaitu $8,86 (7,18 \times 10^8)$ kemudian di minggu berikutnya populasi menurun. Pertumbuhan populasi bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 tertinggi terjadi pada perlakuan P5 setelah formulasi disimpan selama 8 MSI yaitu sebesar $8,92 (8,34 \times 10^8)$ CFU/g).

Hasil uji lanjut UJBD_{0,05} pada Tabel 4. menunjukkan bahwa setelah formulasi disimpan selama 2 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu pada P5 sebesar $4,62 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan P6 dan P4, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2 dan P3. Pengamatan 4 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu P6 sebesar $3,71 \times 10^8$ CFU/g namun tidak berbeda nyata dengan P5 dan P2, tetapi berbeda nyata dengan P1, P3 dan P4. Pengamatan 6 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $7,12 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan P4, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P6. Pengamatan 8 MSI Populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $8,14 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan P6, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P4. Pengamatan 10 dan 12 MSI populasi bakteri tertinggi yaitu P5 sebesar $7,35 \times 10^8$ CFU/g dan $5,98 \times 10^8$ CFU/g yang tidak berbeda nyata dengan P4, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P6. Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 disajikan pada Gambar 2.

Tabel 4. Rerata Viabilitas Bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 setelah Penyimpanan Formulasi

Perlakuan	Viabilitas Bakteri Endofit <i>P. aeruginosa</i> 5BRB3 Setelah Penyimpanan Formulasi Minggu Ke-					
	2	4	6	8	10	12
P1	$2,45 \times 10^8$	$1,45 \times 10^8$	$2,10 \times 10^8$	$4,41 \times 10^8$	$3,51 \times 10^8$	$3,20 \times 10^8$
P2	$1,73 \times 10^8$	$3,36 \times 10^8$	$2,09 \times 10^8$	$2,90 \times 10^8$	$2,14 \times 10^8$	$1,48 \times 10^8$
P3	$1,30 \times 10^8$	$1,81 \times 10^8$	$1,40 \times 10^8$	$1,03 \times 10^8$	$1,19 \times 10^8$	$0,87 \times 10^8$
P4	$3,62 \times 10^8$	$1,92 \times 10^8$	$5,58 \times 10^8$	$6,98 \times 10^8$	$6,60 \times 10^8$	$5,42 \times 10^8$
P5	$4,62 \times 10^8$	$3,28 \times 10^8$	$7,12 \times 10^8$	$8,14 \times 10^8$	$7,35 \times 10^8$	$5,98 \times 10^8$
P6	$4,33 \times 10^8$	$3,71 \times 10^8$	$4,43 \times 10^8$	$7,16 \times 10^8$	$5,58 \times 10^8$	$3,29 \times 10^8$
	Log N					
P1	8,35 ^{bc}	8,15 ^b	8,32 ^c	8,64 ^c	8,54 ^c	8,50 ^b
P2	8,22 ^{cd}	8,52 ^a	8,31 ^c	8,46 ^d	8,32 ^d	8,15 ^c
P3	8,11 ^d	8,24 ^b	8,12 ^d	8,01 ^c	8,07 ^c	7,94 ^d
P4	8,55 ^{ab}	8,28 ^b	8,75 ^{ab}	8,84 ^b	8,82 ^a	8,73 ^a
P5	8,67 ^a	8,52 ^a	8,85 ^a	8,91 ^a	8,87 ^a	8,78 ^a
P6	8,63 ^a	8,57 ^a	8,64 ^b	8,85 ^{ab}	8,75 ^b	8,52 ^b
	2= 0,209	0,1507	0,1493	0,05579	0,1104	0,1440
	3= 0,2193	0,1578	0,1562	0,05839	0,1155	0,1507
UJBD	4= 0,2252	0,1620	0,1605	0,05997	0,1187	0,1548
0,05	5= 0,2292	0,1648	0,1632	0,06102	0,1207	0,1575
	6= 0,2319	0,1668	0,1652	0,06174	0,1222	0,1593

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata yang berdasarkan UJBD_{0,05} pada taraf kepercayaan 95%. P1= Talk+gula aren, P2= Talk+gula aren+pepton+CMC, P3= Talk+ gula aren+urea+CMC, P4= Tepung tapioka+gula aren, P5= Tepung tapioka+gula aren+pepton+CMC, P6= Tepung tapioka+gula aren+urea+CM.



Gambar 2. Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 dalam formulasi setelah penyimpanan selama 12 MSI (minggu setelah inokulasi).

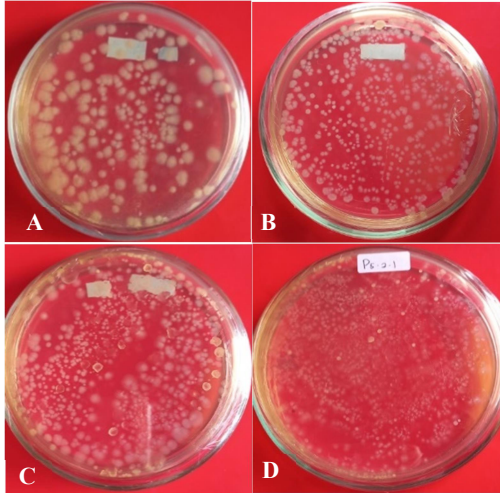
Gambar 2 menunjukkan bahwa pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa*

5BRB3 dalam formulasi yang berbahan dasar tepung talk P1 mengalami penurunan pada 4 MSI kemudian meningkat pada 6 dan 8 MSI, selanjutnya mengalami penurunan populasi di 10 dan 12 MSI namun pertumbuhan populasi bakteri lebih besar di bandingkan pada 2, 4 dan 6 MSI. Perlakuan P2 mengalami peningkatan populasi bakteri di 4 MSI sebesar $8,52 (3,36 \times 10^8 \text{ CFU/g})$ kemudian menurun di 6 MSI sebesar $8,31 (2,09 \times 10^8 \text{ CFU/g})$, selanjutnya meningkat di 8 MSI sebesar $8,46 (2,9 \times 10^8 \text{ CFU/g})$ kemudian mengalami penurunan pada 10 dan 12 MSI.

Perlakuan P3 mengalami peningkatan pada 4 MSI sebesar $8,21$ kemudian menurun hingga di 12 MSI. Pertumbuhan populasi bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 dalam formulasi yang berbahan dasar tepung tapioka (P4, P5 dan P6) mengalami penurunan pada 4 MSI, selanjutnya populasi

meningkat hingga 8 MSI, kemudian populasi menurun hingga di 12 MSI.

Pengamatan populasi koloni bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 pada 12 MSI disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pertumbuhan populasi bakteri dalam formulasi tepung setelah 12 MSI. a) *P. aeruginosa* 2RWB2 pada formulasi tepung talk, b) *P. aeruginosa* 5BRB3 pada formulasi tepung talk, c) *P. aeruginosa* 2RWB2 pada formulasi tepung tapioka, d) *P. aeruginosa* 5BRB3 pada formulasi tepung tapioka

Daya Hambat Bakteri Setelah Penyimpanan Formulasi

Persentase daya hambat *P. palmivora* oleh bakteri endofit secara in-vitro, dan hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD_{0,05}) bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 disajikan pada tabel 5 dan 6 Pengamatan miselium *P. palmivora* pada cawan petri dan pengamatan menggunakan mikroskop untuk melihat aktivitas antagonis bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap *P. palmivora* disajikan pada Gambar 4.

Tabel 5. Rerata Persentase Daya Hambat Bakteri Endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 terhadap Cendawan *P. palmivora* secara in-vitro dan Hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD_{0,05}).

Perlakuan	Daya Hambat (%) <i>P. aeruginosa</i> 2RWB2 terhadap <i>P. palmivora</i> Minggu Ke-						
	2	4	6	8	10	12	
P1	58,89 ^b	54,44 ^b	55,56 ^b	73,33 ^a	77,89 ^a	82,23 ^{ab}	
P2	67,78 ^{ab}	56,67 ^b	65,56 ^{ab}	61,11 ^{bc}	68,89 ^{ab}	84,47 ^a	
P3	68,89 ^{ab}	80,00 ^a	82,20 ^a	54,43 ^c	87,78 ^a	60,73 ^c	
P4	85,56 ^a	77,38 ^a	84,43 ^a	68,90 ^{ab}	51,11 ^b	78,88 ^{abc}	
P5	81,11 ^a	82,22 ^a	70,00 ^{ab}	72,23 ^a	86,67 ^a	86,67 ^a	
P6	83,33 ^a	66,67 ^{ab}	58,90 ^b	66,70 ^{ab}	78,89 ^a	63,33 ^{bc}	
2=	17,57	17,19	19,78	10,07	24,73	18,08	
3=	18,39	18,00	20,70	10,54	25,88	18,93	
UJBD 4=	18,89	18,48	21,26	10,83	26,58	19,44	
0,05	5=	19,22	18,81	21,63	11,01	27,04	19,78
	6=	19,44	19,03	21,89	11,15	27,37	20,01

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata yang berdasarkan UJBD_{0,05} pada taraf kepercayaan 95%. P1= Talk + gula aren, P2= Talk + gula aren + pepton + CMC, P3= Talk + gula aren + urea + CMC, P4= Tepung tapioka + gula aren, P5= Tepung tapioka + gula aren + pepton + CMC, P6= Tepung tapioka + gula aren + urea + CMC.

Hasil uji lanjut UJBD_{0,05} persentase daya hambat bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 pada Tabel 5 menunjukkan bahwa setelah formulasi disimpan selama 2 MSI daya hambat *P. aeruginosa* 2RWB2 yang tertinggi yaitu P4 sebesar 85,565% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P1. Pengamatan 4 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 82,22% yang tidak berbeda nyata pada semua perlakuan kecuali P1 dan P2. Pengamatan 6 MSI daya hambat tertinggi yaitu P4 sebesar 84,43% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P1 dan P6. Pengamatan 8 daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 72,23% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P2 dan P3. Pengamatan 10 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 86,67% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P4. Pengamatan 12 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar

86,67% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P3 dan P6.

Tabel 6. Rerata Persentase Daya Hambat Bakteri Endofit *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap Cendawan *P. palmivora* secara in-vitro dan Hasil Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD_{0,05}).

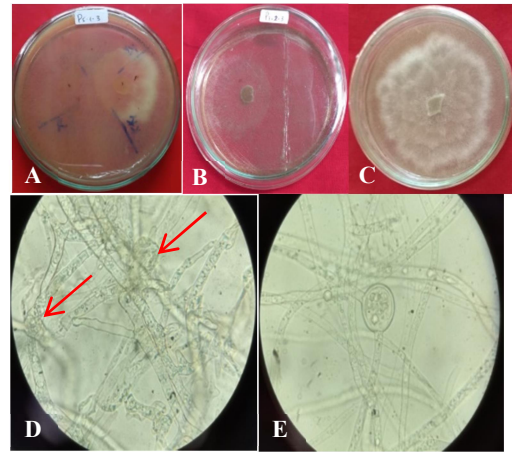
Perlakuan n	Daya Hambat (%) <i>P. aeruginosa</i> 5BRB3 terhadap <i>P. palmivora</i> Minggu Ke-						
	2	4	6	8	10	12	
P1	74.44 ^{ab}	64,45 ^{ab}	55,55 ^c	57,78 ^{bc}	66,67 ^{abc}	51,11 ^b	
P2	61.11 ^{bc}	67,78 ^a	65,55 ^{ab}	57,78 ^{bc}	57,78 ^c	50,00 ^b	
P3	55.56 ^c	65,57 ^a	64,44 ^{ab}	58,90 ^{abc}	72,23 ^{ab}	85,56 ^a	
P4	71.11 ^b	56,67 ^b	58,89 ^{bc}	54,43 ^c	62,23 ^c	57,78 ^b	
P5	86.67 ^a	70,00 ^a	87,78 ^a	61,13 ^{ab}	75,57 ^a	60,00 ^b	
P6	66.67 ^{bc}	62,23 ^{ab}	62,22 ^{abc}	64,47 ^a	71,13 ^{ab}	88,89 ^a	
2=	14,39	7,77	7,27	5,94	10,46	9,78	
3=	15,06	8,14	7,60	6,22	10,95	10,24	
UJBD 4=	15,47	8,36	7,81	6,39	11,24	10,52	
0,05	5=	15,74	8,50	7,95	6,49	11,44	10,70
6=	15,93	8,60	8,04	6,58	11,57	10,83	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata yang berdasarkan UJBD_{0,05} pada taraf kepercayaan 95%. P1= Talk + gula aren, P2= Talk + gula aren + pepton + CMC, P3= Talk + gula aren + urea + CMC, P4= Tepung tapioka + gula aren, P5= Tepung tapioka + gula aren + pepton + CMC, P6= Tepung tapioka + gula aren + urea + CMC.

Hasil uji lanjut UJBD persentase daya hambat bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 (Tabel 6.) menunjukkan bahwa setelah formulasi disimpan selama 2 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 86.67% yang berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P1. Pengamatan 4 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 70,00% yang tidak berbeda nyata pada semua perlakuan kecuali P4. Pengamatan 6 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 87,78% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P1. Pengamatan 8 daya hambat tertinggi yaitu P6 sebesar 64,47% yang tidak berbeda nyata dengan P3 dan P5, tetapi berbeda nyata dengan P1, P2 dan P4. Pengamatan 10 MSI daya hambat tertinggi yaitu P5 sebesar 75,57% yang tidak berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P2

dan P4. Pengamatan 12 MSI daya hambat tertinggi yaitu P6 sebesar 88,89% yang berbeda nyata dengan semua perlakuan kecuali P3 dan P6.

Uji daya hambat bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap *P. palmivora* secara *In-vitro* dilakukan untuk melihat aktivitas antagonis bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 terhadap *P. palmivora* pada cawan petri dan dengan menggunakan mikroskop. Aktivitas antagonis kedua isolat bakteri endofit terhadap *P. palmivora* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. a) Penghambatan miselium *P. palmivora* oleh bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2; b) Penghambatan miselium *P. palmivora* oleh bakteri endofit *P. aeruginosa* 5BRB3; c) Koloni *P. palmivora*; d) ketidaknormalan hifa *P. palmivora* setelah uji daya hambat (perbesaran 10×100); e) Hifa *P. palmivora* keadaan normal (perbesaran 10×100).

Gambar 4 menunjukkan bahwa terjadi penghambatan miselium *P. palmivora* akibat adanya aktivitas antagonis dari bakteri endofit. Hasil pengamatan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop (perbesaran 10×100) menunjukkan bahwa hifa *P. palmivora* pada kontrol tumbuh dengan normal, sedangkan perlakuan bakteri endofit, penampakan hifa mengalami ketidaknormalan morfologi akibat adanya aktivitas antagonis dari bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3.

PEMBAHASAN

Formulasi tepung tapioka dengan bahan tambahan berupa pepton memiliki kemampuan terbaik dalam meningkatkan viabilitas bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 yaitu sebesar $8,34 \times 10^8$ CFU/g dan $8,14 \times 10^8$ CFU/g pada 8 MSI. Hal ini karena tepung tapioka terbuat dari sari pati singkong yang mengandung kalori, karbohidrat, protein dan lemak yang merupakan nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhan. Tapioka pada dasarnya merupakan pati dari ketela pohon, dengan kandungan karbohidrat (86,9 g), protein (0,5 g) dan lemak (0,3 g) (Wahdania *et al.*, 2017). Banyaknya kandungan karbohidrat pada tepung tapioka memungkinkan untuk digunakan sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri. Media yang di gunakan untuk menumbuhkan bakteri cukup memenuhi nutrisi untuk menumbuhkan bakteri seperti karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Mn, Mg, Fe, dan lain-lain. Nutrisi media yang paling di butuhkan yaitu karbohidrat dan protein (Juariah dan Sari, 2018).

Menurut Radji (2011) karbohidrat sangat dibutuhkan oleh bakteri karena karbohidrat merupakan substrat utama untuk metabolisme bakteri. Hampir setengah berat kering suatu bakteri adalah unsur karbon. Karbon dapat ditemukan dalam senyawa karbohidrat sehingga karbohidrat sangat berperan penting untuk pertumbuhan bakteri. Selain dipengaruhi oleh bahan dasar, pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh bahan pengisi yang menyediakan nutrisi tambahan pada formulasi tersebut. Bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 memiliki pertumbuhan yang cukup baik pada formulasi yang mengandung pepton. Pepton merupakan derivat sekunder dari protein yang berfungsi sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan bakteri. Pepton digunakan sebagai sumber nutrisi media untuk mikroorganisme (Vasquez *et al.*, 2004). Pepton merupakan produk dari hidrolisis protein yang larut air dan tidak mengalami koagulasi jika dipanaskan (Saputra dan Nurhayati, 2013). Selain itu,

pepton mengandung nitrogen dan protein yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini mampu mengasalkan enzim protease yang dapat mengubah serta memecah protein menjadi asam amino untuk dapat digunakan sebagai sumber energi bagi bakteri.

Daya hambat bakteri *P. aeruginosa* 2RWB2 sebelum formulasi sebesar 85,6% sedangkan daya hambat tertinggi setelah formulasi sebesar 87,78%. Daya hambat bakteri *P. aeruginosa* 5BRB3 sebelum formulasi sebesar 77,8%, sedangkan daya hambat tertinggi setelah formulasi sebesar 88,89%. Perbedaan kemampuan penghambatan sebelum dan sesudah formulasi diduga karena bakteri endofit mampu memanfaatkan suatu nutrisi yang terkandung dalam formulasi sehingga dapat mengaktifkan suatu senyawa support (senyawa antimikroba) yang dapat digunakan untuk menghambat patogen *P. palmivora*.

Mekanisme pengendalian hayati menurut Lo (1998) dan Junaid *et al.*, (2013) dapat berupa antibiosis, kompetisi, mikoparasitisme, enzim pendegradasi dinding sel, penginduksi ketahanan dan pemacu pertumbuhan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini mampu menghasilkan enzim litik berupa selulase dan protease (Khaeruni *et al.*, 2019).

Gambar 4 menunjukkan bahwa miselium *P. palmivora* mengalami lisis yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna miselium *P. palmivora*. Hal ini karena bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasi dinding sel *P. palmivora* karena dinding sel *P. palmivora* yang merupakan kelas Oomycetes terdiri dari β -glukan dan selulosa.

Selain itu, kemungkinan penghambatan *P. palmivora* karena kedua isolat tersebut berpotensi menghasilkan tiga senyawa antibiotik yaitu *phenazine-1-carboxylic acid*, *pyrrolnitrin* dan *2,4-diacetylphloroglucinol* (Arini *et al.*, 2021). Hal ini sesuai dengan penelitian Hasanuddin (2011) yang

mengatakan bahwa *Pseudomonas* spp. mengeluarkan antibiotik 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) yang dapat menekan aneka patogen terbawa tanah, dan dipercayai telah berkontribusi pada beberapa kasus penyakit tanaman yang gagal berkembang pada jenis tanaman tertentu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Tepung talk dan tepung tapioka dapat berfungsi sebagai bahan dasar dalam formulasi agens hayati bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3.
2. Penambahan nutrisi yaitu pepton, urea dan gula aren dalam bahan formulasi berbahan dasar tepung talk dan tepung tapioka berpengaruh nyata dalam meningkatkan viabilitas dan daya hambat bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3.
3. Perlakuan P5 (tepung tapioka, gula aren, CMC dan pepton) memiliki kemampuan terbaik dalam meningkatkan viabilitas bakteri endofit *P. aeruginosa* 2RWB2 dan *P. aeruginosa* 5BRB3 yaitu sebesar $8,34 \times 10^8$ CFU/g $8,14 \times 10^8$ CFU/g pada 8 MSI, perlakuan P3 (tepung talk, gula aren, CMC, pepton) memiliki kemampuan daya hambat terbaik yaitu sebesar 87,78% dengan masa simpan formulasi 10 MSI. Perlakuan P6 (tepung talk, gula aren, CMC, urea) memiliki kemampuan daya hambat terbaik yaitu sebesar 88,89% dengan masa simpan formulasi 12 MSI.

DAFTAR PUSTAKA

- Advinda L. 2009. Tanggap Fisiologis Tanaman Pisang yang Diintroduksi dengan *Pseudomonas fluorescens* terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB). *Disertasi*. Program Pascasarjana Univ. Andalas. Padang
- Alfiah. 2014. Efektivitas formulasi tepung biofungisida berbahan aktif *Trichoderma harzianum* terhadap serangan patogen tular tanah dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman tembakau. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Jember.
- Anugrah DS, Umrah, Asrul. 2017. Metode Inokulasi dan Pengamatan Perkembangan *Phutophthora palmivora* serta Gejala sebagai Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Biocelebes*. 12(2): 42-51.
- 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 Journal of Agricultural Research*. 55(6): 727-732
- Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil*. 378(1): 1–33.
- Derakshan A, Rabindra RJ, Ramanujam B, Rahimi M. 2008. Evaluation of Different Media and Methods of Cultivation on The Production and Viability of Entomopathogenic Fungi *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. *Pak. J. of Biol. Sci*. 11(11): 1-4.
- Djojosumarto P. 2000. Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian. Yogyakarta (ID). Kanisius. 46 hal.
- Foeh SC, Temaja IGRM dan Khalimi K. 2019. Potensi Bakteri Endofit Dalam Menekan Pertumbuhan *Phytophthora palmivora* (Butler) Secara in Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 8(4): 388-398
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial

- endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol.* 4(3): 895-914.
- Hanudin W, Nuryani E, Silvia I, Djatnika dan Marwoto B. 2010. Formulasi Biopestisida berbahan Aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Corynebacterium* sp. Nonpatogenik untuk Mengendalikan Penyakit Karat Pada Krisan. *J. Hort.* 20(3): 247-261.
- Hasyim A, Setiawati W, Lukman L. 2015. Inovasi Teknologi Pengendalian Opt Ramah Lingkungan pada Cabai: Upaya Alternatif Menuju Ekosistem Harmonis. *Pengembangan Inovasi Pertanian.* 8(1): 1-10
- Hebbar PK. 2007. Cacao Diseases: a Global Perspective from an Industry Point of View. *Phytopathology.* 97:1658–1663.
- Juariah S dan Sari WP. 2018. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp. *Analisis Kesehatan Sains.* 6(1): 24-29.
- Junaid JM, Dar NA, Bhat TA, Bhat AH, & Bhat MA. 2013. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. *Int. J. Modern Plant & Anim. Sci.* 1(2): 39-57.
- Kado CI. 1992. *Plant Pathogenic Bacteria.* p. 659– 674. In : Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH. (ed.). *The prokaryotes*, vol. I. New York Springer-Verlag.
- 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.
- Kloepper JW. 1993. Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. p. 255-274. In F.B. Meeting, Jr. (Ed.). *Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management.* Inc. New York Marcel Dekker
- Lo CT. 1998. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. *Plant Pathol. Bull.* 7: 155– 166.
- Marwan H, Sinaga MS, Giyanto, Nawangsih AA. 2011. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit untuk Pengendalian Penyakit Darah pada Tanaman Pisang. *J. HPT Tropika.* 11(2): 112–119.
- McMahon P and Purwantara A. 2004. *Phytophthora* on cocoa. In Drenth A. & D.I. Guest (eds.). *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia.* ACIAR Monograph. 114: 104–115.
- Mugiastuti, Endangg L, Soesanto, dan 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. Purwokerto. 10-11 November 2010.
- Munif A, Wiyono S, Suwarno. 2012. Isolasi Bakteri endofit asal tanaman padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan tanaman. *J Fitopatol Indones.* 8(3):57-64.
- Ploetz RC. 2007. Cacao diseases: Important Threats to Chocolate Production World Wide. *Phytopathology.* 97(12): 1634-1639.



- Putri D, Munif A, Mutaqin KM. 2016. Lama Penyimpanan, Karakterisasi Fisiologi, dan Viabilitas Bakteri Endofit *Bacillus* sp. dalam Formula Tepung. *Jurnal Fitopatol Indonesia*. 12(1): 19–26.
- Radji M. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiwa Farmasi dan Kedokteran. Penerbit Buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Rahmawati R, Khaeruni A, Bande LOS. 2021. Virulensi Isolat *Phytophthora palmivora* dalam Menimbulkan Penyakit Busuk Akar pada Pembibitan Kakao. *J. Berkala Penelitian Agroomi*. 9(2): 1-7.
- Saputra. D dan T. Nurhayati. 2013. Produksi dan Aplikasi Pepton Ikan Selar Untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *JPHPI*. 16(3).
- Suwahyono U dan Wahyudi P. 2008. Produksi dan Formulasi Bioinsektisida dari Propagul Aktif Jamur *Beauveria bassiana*. *J. Tek. Ling*. 9(1): 85-91.
- Vasquez JA, Gonzalez MP, Murado MA. 2004. A New Marine Medium Use of Different Fish Peptones and Comparative Study of the Growth of Selected Species of Marine Bacteria. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*. 3(5): 385-392.
- Vidhyasekaran P, Sethuraman K, Rajappan K, Vasumathi K. 1997. Powder Formulations of *Pseudomonas fluorescens* Control Pigeonpea Wilt. *J. Biological Control*. 8(3):166-171.
- Wahdania I, Asrul, dan Rosmini. 2017. Uji daya hambat *Aspregillus niger* pada Berbagai Bahan Pembawah terhadap *Phytophthora Palmivora* Penyebab Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *e-J. Agrotekbis*. 5 (1): 18 – 26.