

Karakterisasi Bakteri dan Jamur yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit Asal Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi-2

(Characterization of Potential Bacteria and Fungi As Endophytic Microbes on Superior Clone of Sulawesi-2 Cacao (*Theobroma cacao* L.))

Noviani^{1*}, Meryany Ananda¹, I Nengah Suwastika¹

¹ Laboratorium Biologi Sel dan Molekul Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako, Palu 94111 Sulawesi Tengah.

Keywords: characterization, bacteria, fungi, endophytes, cacao

Kata kunci: karakterisasi, bakteri, fungi, endofit, kakao

* Corresponding Author :
novianiidris07@gmail.com

Abstract

Cacao (*Theobroma cacao* L.) has potential to symbiosis with endophytic microbes. These microorganisms have a symbiotic mutualism with host plants. The group of endophytic bacteria are produce antibiotics, anti-cancer, anti-fungal, anti-viral, volatile compounds, even insecticides, while endophytic fungi is a biological control agents. This study were aimed to isolate and characterize bacteria and fungi that have the potential as endophytic microbes from Sulawesi's superior cacao (*T. cacao* L.). The method used in this study was descriptive method to determine the characterization of bacteria and fungi that have the potential as endophytic microbes, the results showed that there were 2 bacterial isolates who has a different morphology and 1 fungal isolate suspected genus *Aspergillus*.

Abstrak

Kakao (*Theobroma cacao* L.) mempunyai potensi bersimbiosis dengan mikroba endofit. Mikroorganisme ini memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan tanaman inang. Kelompok bakteri endofit menghasilkan antibiotik, anti kanker, anti jamur, anti virus, senyawa volatil, bahkan insektisida, sedangkan jamur endofit dapat berperan sebagai agen pengendali hayati. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri dan jamur yang berpotensi sebagai mikroba endofit dari kakao (*T. cacao* L.) unggul Sulawesi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif untuk mengetahui karakterisasi dari bakteri dan jamur yang berpotensi sebagai mikroba endofit, hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat bakteri yang memiliki morfologi berbeda dan 1 isolat jamur yang diduga genus *Aspergillus*.

Latar Belakang

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang berasosiasi dengan jaringan tanaman. Mikroorganisme ini mempunyai hubungan simbiosis mutualisme yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidup

dari tumbuhan inang, begitu juga dengan tumbuhan inang memperoleh proteksi terhadap patogen tumbuhan dari senyawa yang dihasilkan adalah mikroba endofit. Mikroba endofit yang berperan sebagai agen pengendali hayati terdiri atas golongan bakteri, jamur dan aktinomisetes (Ariyono dkk., 2014).

Kelompok bakteri endofit antara lain dari genus *Burkholderia*, genus *Bacillus*, dan genus *Pseudomonas*. Bakteri-bakteri tersebut dikenal dapat menghasilkan antibiotik, anti kanker, anti jamur, anti virus, senyawa volatil, bahkan insektisida (Lodewyckx et al., 2002). Kelompok jamur endofit yang berperan sebagai agen pengendali hayati antara lain adalah *Fusarium solani*, *Acromonium zeae*, *Verticillium* sp., *Phomopsis cassiae*, *Muscodor albus*, *Periconia* sp., *Ampelomyces* sp., *Neotyphodium lolii* dan lain-lain (Geo et al., 2010).

Menurut (Radji, 2005), tumbuhan kakao (*Theobroma cacao* L.) mempunyai potensi bersimbiosis dengan mikroba endofit. Mikroba endofit bersifat kompetisi langsung dengan patogen di dalam jaringan tanaman dan dapat bersifat mikroparasit secara langsung pada tumbuhan kakao. Mikroba endofit juga memproduksi metabolit yang dapat menghambat perkembangan patogen penyebab penyakit. Menurut (Rifka dkk, 2014), kakao jenis klon Sulawesi 2 ketika matang akan berwarna merah dan bentuk buahnya runcing.

Banyaknya laporan mengenai mikroba endofit (antara lain Nursanty dan Suhartono, 2012) melaporkan tentang isolasi, karakterisasi bakteri endofit asal tumbuhan johar (*Cassia siamea* Lamk.), (Simarmata dkk, 2014) tentang isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba, (Kumala dkk, 2006) tentang aktivitas antimikroba metabolit bioaktif mikroba endofitik tanaman trengguli (*Cassia fistula* L.). Dari laporan tersebut belum pernah dilaporkan mengenai isolasi dan karakterisasi mikroba endofit asal kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) unggul klon Sulawesi 2. Berdasarkan hal tersebut sehingga dilakukan penelitian tentang mikroba endofit pada cacao unggul Sulawesi 2.

Bahan dan Metode

Bagian tumbuhan yang diambil yaitu buah kakao (*T. cacao* L.) unggul Sulawesi 2 yang berada di Desa Sidondo, Kecamatan Sigi Biromaru, Sulawesi Tengah. Buah yang diambil yaitu buah masak yang telah berwarna merah. Selanjutnya, dimasukkan kedalam plastik steril dan disimpan dalam *ice box*.

Sterilisasi sampel

Organ buah kakao (*T. cacao* L.) unggul Sulawesi 2 dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, kemudian disterilisasi dengan etanol 75% selama lebih kurang 3 menit serta Na hipoklorit selama lebih kurang 20 menit dan kembali disterilkan dengan etanol 75% kemudian dibilas dengan air mengalir (Nursanty dan Suhartono, 2012).

Penanaman Bakteri dan Jamur yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit

Penanaman bakteri dan jamur dilakukan dengan metode tanam langsung dengan memotong buah cacao yang sudah disterilisasi sepanjang 1 cm. Pada proses pertumbuhan bakteri, sampel buah yang sudah disterilisasi diletakkan dalam media LBA (*Luria Bertani Agar*), cawan petri yang sudah mengandung sampel tanaman kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pada pertumbuhan jamur, sampel buah yang sudah disterilisasi diletakkan dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*), cawan petri yang sudah mengandung sampel tanaman kemudian diinkubasi dalam inkubator, pada suhu 37°C selama 7 hari. (Simarmata dkk., 2014).

Purifikasi Bakteri dan Jamur yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit

Isolat bakteri dan jamur yang didapatkan pada tahap isolasi selanjutnya dipurifikasi. Koloni isolat yang menandakan adanya morfologi berbeda dari isolat satu dengan isolat lainnya, dipurifikasi dengan menggunakan metode goresan pada cawan petri yang berisi media LBA untuk purifikasi bakteri inkubasi selama 24 jam dan menggunakan media PDA untuk pertumbuhan jamur pada proses purifikasi, inkubasi selama 7 hari. Purifikasi ini dilakukan untuk mendapatkan isolat murni (Rosana, 2001).

Pemurnian dilakukan berdasarkan kenampakan morfologi secara makroskopik yang meliputi warna dan bentuk koloni jamur (Kumala dkk, 2007).

Karakterisasi Bakteri dan Jamur yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit

Pengamatan morfologi bakteri secara makroskopik dilakukan setelah tahap pemurnian meliputi pertumbuhan koloni pada cawan petri yaitu bentuk koloni, elevasi, dan bentuk tepian koloni, pertumbuhan koloni bakteri pada medium agar tegak yaitu bentuk pertumbuhan pada bekas tusukan dan pertumbuhan koloni bakteri pada medium agar lempeng yaitu bentuk pertumbuhan pada bekas goresan (Kumala dkk., 2006). Pengamatan morfologi bakteri secara mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk mengetahui jenis gram dan bentuk sel bakteri (Kumala dkk., 2006). Karakterisasi isolat jamur endofit dilakukan dengan cara pengamatan makroskopik berupa warna, permukaan, pinggiran koloni, tepian, reserve dari koloni isolat jamur endofit (Kumala dkk., 2014). Karakterisasi isolat jamur endofit secara mikroskopik menggunakan metode *slide chultur* (Kumala dkk., 2014). Pengamatan

mikroskopik meliputi hifa dan konidia. Pengamatan dilakukan pada hari ke 7 dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000 x.

Hasil dan Pembahasan

Sampel kulit buah cacao (*T. cacao* L.) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sampel kulit buah yang diambil dari wilayah Desa Sidondo, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. Sampel buah cacao yang digunakan yaitu cacao unggul Sulawesi 2. Menurut (Rifka dkk, 2014), cacao jenis ini ketika matang akan berwarna merah dan bentuk buahnya runcing (Nursanty dan Suhartono, 2012). Dari hasil Isolasi bakteri diperoleh 2 Isolat bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit. Pengamatan morfologi bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit adanya morfologi berbeda (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopik bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit pada cawan petri.

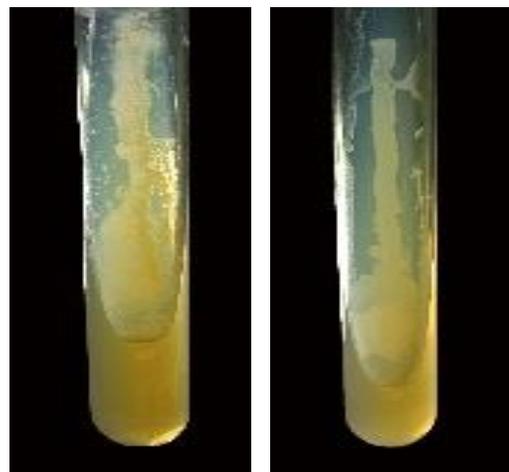
No	Kode isolat	Bentuk koloni	Bentuk tepian koloni	Elevasi koloni	Warna koloni
1.	BEC 1	Circular	Erose	Flat	Putih
2.	BEC 2	Irregular	Lobate	Raised	Putih



Gambar 1: Morfologi koloni bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit pada medium LBA menggunakan metode gores kuadran pada tahap purifikasi. Keterangan : BEC 1 : Bentuk koloni circular (Bulat, bertepi), BEC 2 : Bentuk koloni irregular (Tidak beraturan, bertepi).

Morfologi bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit diamati dengan mengacu pada (Cappucino and Sherman, 1996).

Morfologi bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit pada medium agar miring.

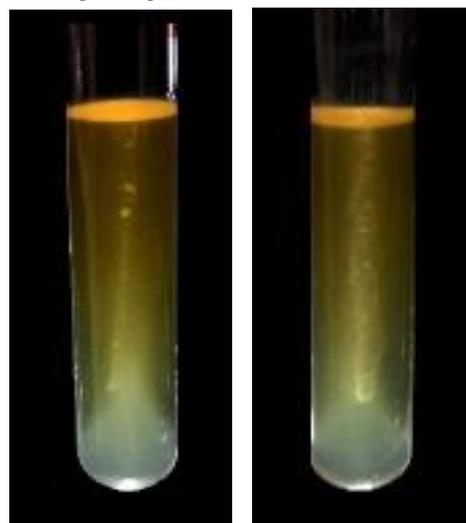


(BEC 1)

(BEC 1)

Gambar 2. Morfologi Koloni bakteri pada agak miring. Keterangan: BEC 1 : bentuk filiform (pertumbuhan sepanjang inokulasi rata) berwarna putih, BEC 2 : bentuk filiform (pertumbuhan sepanjang inokulasi rata) berwarna putih

Morfologi bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit pada agar tegak.



(BEC 1)

(BEC 2)

Gambar 3. Morfologi Koloni bakteri pada agak tegak. Keterangan : BEC 1 :Bentuk filiform (pertumbuhan sepanjang inokulasi rata), berwarna putih, BEC 2: Bentuk echinulate (pertumbuhan sepanjang inokulasi bergerigi, berwarna putih).

Karakterisasi bakteri secara mikroskopik menggunakan pewarnaan Gram untuk melihat jenis Gram dan bentuk selnya.

Tabel 2. Hasil pengamatan mikroskopik bakteri yang berpotensi sebagai mikroba endofit.

No	Kode isolat	Sifat gram	Bentuk sel
1.	BEC 1	-	<i>Bacil</i>
2.	BEC 2	+	<i>Bacil</i>

Keterangan: kode isolate BEC 1 memiliki sifat gram negatif (-), dan kode isolate BEC 2 memiliki sifat gram positif (+).

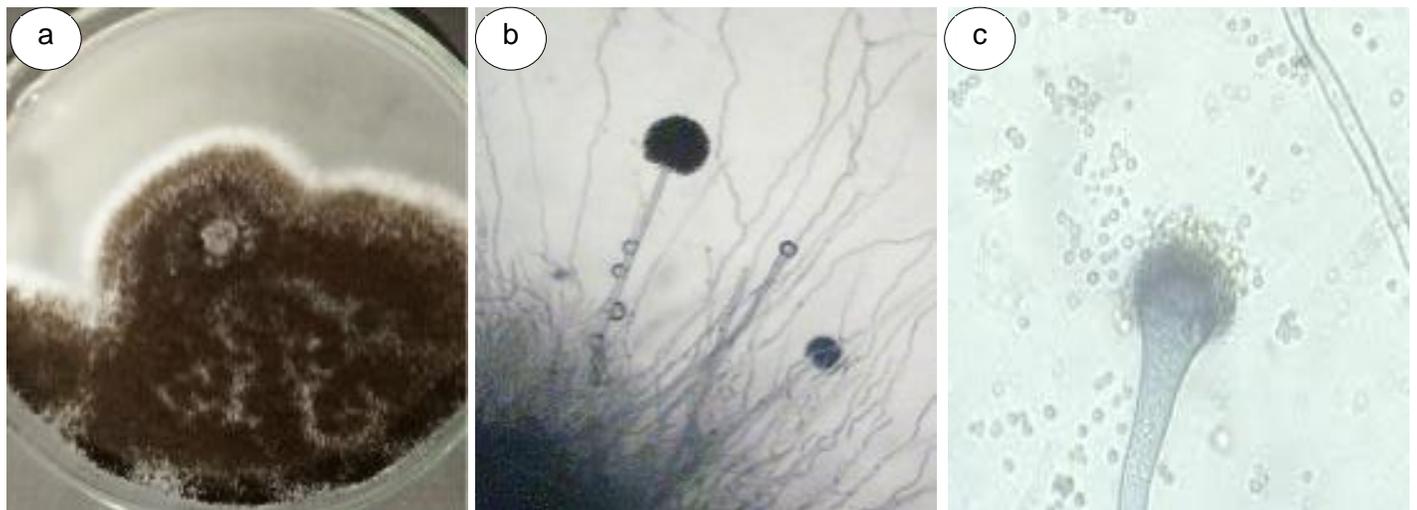
Hasil pengamatan mikroskopik dengan menggunakan metode pewarnaan Gram didapatkan ada sebagian bakteri bersifat Gram negatif dengan kode isolat BEC 1. Hal ini dikarenakan bakteri yang bersifat Gram negatif akan kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan

alkohol dan ketika diberi safranin tampak berwarna merah. Sedangkan bakteri yang bersifat Gram positif yaitu bakteri dengan kode isolat BEC 2. Hal ini dikarenakan bakteri Gram positif akan mempertahankan zat pewarna ungu kristal. Menurut Kumala dkk (2006), Bakteri yang bersifat Gram negatif ditandai dengan adanya warna merah sedangkan bakteri yang bersifat Gram positif ditandai dengan adanya warna ungu.

Terdapat 2 isolat bakteri dengan kode isolat BEC 1, BEC 2 yang dapat diperoleh. Isolat bakteri dengan kode isolat BEC menunjukkan Gram negatif, kode isolat BEC 2 menunjukkan Gram positif.

Jamur Yang Berpotensi Sebagai Mikroba Endofit

Dari hasil isolasi jamur didapatkan 1 isolat jamur yang berpotensi sebagai mikroba endofit asal kulit buah cacao (*T. cacao* L.) unggul Sulawesi 2, kemudian diberi simbol isolat JEC (Jamur Endofit Cacao).



Gambar 4. Mikroba endofit pada medium PDA yang telah melalui tahap purifikasi. (a) Morfologi pada media PDA. (b) pengamatan mikroskopik jamur perbesaran 10 x. (c) pengamatan mikroskopik jamur perbesaran 100 x.

Jamur yang berpotensi sebagai mikroba endofit dengan kode isolat JEC bentuknya tidak beraturan dan tepinya tidak rata pada cawan yang berisi media PDA. Pada awal pengamatan, miselium jamur ini berwarna putih tetapi pada hari ke-3 warna miseliumnya berubah menjadi warna kehitaman. Ciri mikroskopis jamur JEC 1 adalah hifa bersekat. Konidiofor tegak, panjang, dan tidak berwarna. Menurut Barnett and Hunter (1998), jamur dengan ciri tersebut adalah genus *Aspergillus*. Barnett and Hunter (1998) menyatakan genus *Aspergillus* memiliki konidia yang tegak ke atas, membentuk globus. Fardiaz (1989) menyatakan konidia dari jamur genus *Aspergillus* memiliki warna hitam, hitam kecoklatan, dan coklat violet, bagian atas konidia membesar dan membentuk globus, konidiofor tidak berwarna.

Terdapat 1 jamur dengan kode isolat JEC yang diperoleh berdasarkan hasil identifikasi diduga genus *Aspergillus*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada ibu Sami Bukang S.P yang telah membantu selama penelitian di Laboratorium Biologi Sel dan Molekul Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako.

Daftar Pustaka

Ariyono, Qadiani, R., Djauhari, S., dan Sulistyowati, L. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit Daun Kangkung Darat (*Ipomoea Reptans* Poir.) Pada Lahan Pertanian Organik Dan Konvensional.

- Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan. 2: 19–28.
- Barnet, H. L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Cappucino, J. G., and Sherman, N. 1996. Microbiology: a laboratory manual. pp 50-51
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. IPB: PAU Pangan dan Gizi. Bogor.
- Geo. FK., Dai. CC., and Liu. XZ. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens, African Journal of Microbiology Research 4:1346-1351.
- Kumala, S. dan Ainun, A.P. 2014. Efek Antimikroba dari Kapang dan Ranting Tanaman Biduri. Jurnal Farmasi Indonesia. 7(2).
- Kumala, S., Shanny. F., dan Wahyudi. P. 2006. Aktivitas Antimikroba Metabolit Bioaktif Mikroba Endofitik Tanaman Trengguli (*Cassia Fistula* L.).” Jurnal Farmasi Indonesia 3(2): 97–102.
- Kumala, S. dan Siswanto, E.B., 2007. Isolation and Screening of endophytic microbes from morinda citrifolia and their ability to produce anti-microbial substances. Microbiology Indonesian . 1 (3):145-148
- Lodewyckx. C., Vangronsveld. J., Porteous. F., Moore. ERB., Taghavi. S., Mezgeay. M ., and van der lie. D. 2002. Endophytic bacteria and their potential applications, Critical Reviews in Plant Sciences 21:583–606.
- Nursanty., R. dan Suhartono. 2012. Isolasi Karakterisasi Dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johar (*Cassia Siamea* Lamk.). Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi. Biologi Edukasi. Vol.4(1): 7-10.
- Radji, Maksun. 2005. Peranan bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan obat herbal. Jurnal Farmasi Indonesia. (2)3:113-126.
-