

FORMULASI PUPUK CAIR *Pseudomonas fluorescens* SEBAGAI AGENSIA PENGENDALI HAYATI PENYAKIT MOSAIK TANAMAN KAKAO

Wiwit Probowati¹⁾, Pilar Rosatria Firyalunfah²⁾ Wahyuni Wulansari³⁾

¹Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
email: wiwitprobo@unisayogya.ac.id

²Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
email: pilarrosatria@gmail.com

³Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
email: wahyuniulansari@gmail.com

Abstract

Cocoa is a strategic commodity for plantation in Indonesia. However, pest and disease infections are inevitably common constrains for the cocoa cultivators. Cocoa mosaic disease is one of disease which is cause cocoa trees suffering. Pseudomonas fluorescens are obligate aerobic bacteria that are very valuable for agricultural technology. The bacteria also protect plants from pathogens infection by producing secondary metabolites that kill bacteria and other fungi. The bacteria can use as safe and environmentally friendly biological control agents. This study aims to determine P. fluorescens liquid fertilizer formulation and its effectiveness in suppressing mosaic disease in cocoa plants. The research method was carried out by making a liquid formula from P. fluorescens and then applying it to cocoa plants that were attacked by mosaic disease. Bacteria isolates grown in conch broth medium were incubated for 3 days. Then the fertilizer formula was applied to mosaic symptomatic cocoa plants with fertilizer concentrations of 25%, 50% and 75% compared to spraying using chemical insecticides. The results showed that the liquid formula concentration of 75% can suppress the most effective mosaic symptoms and the optimal growth of cocoa plants for 7 treatments..

Keywords: *Cocoa, Formulation, mosaic disease, Pseudomonas fluorescens*

1. PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas andalan perkebunan yang berperan penting dalam perekonomian Indonesia. Pada tahun 2013 Indonesia menjadi produsen kakao terbesar ke-2 di dunia (Rifin, 2013). Kendala yang dihadapi dalam budidaya kakao di Indonesia adalah banyaknya hama dan penyakit yang antara lain disebabkan oleh virus. Di Indonesia, penyakit mosaik pada tanaman kakao untuk pertama kalinya dilaporkan oleh Parnata pada tahun 1976. Tentang penyebab penyakitnya, Parnata (1976) menduga kuat bahwa penyakit tersebut disebabkan oleh virus. Pengendalian penyakit karena bakteri dan virus dapat dilakukan dengan menambahkan antagonis dan bahan organik ke dalam tanah (Ayed dan Tamimi, 2007).

Pengendalian menggunakan agensia hayati merupakan pilihan yang perlu dikembangkan, sebab relatif murah dan mudah dilakukan, serta bersifat ramah lingkungan. *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* merupakan bakteri antagonis yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia hayati baik untuk jamur, bakteri patogen maupun virus (Arwiyanto dkk, 2007).

Usaha pengendalian virus pada saat ini masih ditekankan pada penggunaan insektisida sintetik untuk

mengendalikan vektor virus. Penggunaan insektisida yang tidak bijaksana menimbulkan banyak masalah, antara lain kesehatan sehingga perlu dilakukan pengendalian alternatif yang efektif dan ramah lingkungan. *Pseudomonas fluorescens* merupakan salah satu bakteri antagonis karena memiliki kemampuan mengimbas ketahanan sistemik. *P. fluorescens* dilaporkan meningkatkan kandungan senyawa fenol tanaman (Azizah, 2009 dan Chairul, 2003).

P. fluorescens merupakan salah satu strain bakteri antagonis yang telah menunjukkan kemampuannya di dalam mengendalikan beberapa patogen tanaman, khususnya patogen tular tanah, baik *in vitro*, *in planta*, maupun *in vivo*. *P. fluorescens* mempunyai sifat "Plant Growth Promoting Rhizobacteria" (PGPR) (Elad *et. al*, 2007), menghasilkan antibiotika 2,4-diasetilfloroglusinol (Phl atau DAPG) (Majid & Ashna, 2013 dan Ollenu & Owusu, 2009) dan siderofor (Soesanto, 2017), mampu mengkoloni akar tanaman (Soesanto 2008, Soesanto dan Rahayuniati, 2009), serta mengimbas ketahanan tanaman (Raaijmakers & Weller, 1998 dan Soesanto, 2010). Untuk dapat menggunakan agensia pengendalian hayati secara efektif diperlukan formulasi yang tepat dalam membuat ekstrak *P. fluorescens*. Penelitian ini bertujuan menentukan formula *P.*

fluorescens untuk menekan penyakit mosaik pada tanaman kakao serta meningkatkan pertumbuhan tanaman kakao

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di perkebunan kakao milik rakyat di desa Banjaroya, Kalibawang, Kulonprogo. Analisis data laboratorium dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.

2.1. Penyiapan Lahan Tanam Bibit Kakao

Bibit tanaman kakao Klon DR (Djati Runggo) berukuran 10 cm dibibitkan dalam polibag ukuran 500 gram sampai berukuran Panjang 30 cm dan siap digunakan. Lahan dibersihkan dari gulma dan diolah dengan dicampur pupuk kandang (1 kg m^{-2}).

2.2. Pembuatan Formula Cair *P. fluorescens*

Formula cair dibuat dengan merebus 400 g daging keong dengan 1 L air dan ditambahkan 2 g terasi sampai mendidih, kemudian disaring dan kaldunya dimasukkan ke dalam jerigen steril, ditutup rapat, dan disimpan pada suhu kamar sampai dingin (Soesanto *et.al.* 2010). Isolat *P. fluorescens* (konsentrasi 10^9 upk mL^{-1}) sebanyak 1 Liter dimasukkan ke dalam kaldu keong yang dipindahkan ke erlenmeyer dan dikocok (Daiki Orbital Shaker) selama 3 hari pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Isolat bakteri *P. fluorescens* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari Laboratorium Terpadu Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.

2.3. Pengaruh Pemberian *P. fluorescens* terhadap Pertumbuhan Tanaman Kakao

Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak kelompok nonfaktorial dengan 5 perlakuan dan 7 ulangan. Perlakuan yang dicoba meliputi kontrol, insektisida (bahan aktif Sipermetrin, konsentrasi 20 mL per 17 L air), serta penyiraman dan penyemprotan *P. fluorescens* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% sebanyak 7 kali. Aplikasi *P. fluorescens* dilakukan dengan interval 1 minggu dengan dosis 20 mL tanaman-1 (untuk aplikasi 1-3) dan 40 mL tanaman-1 (untuk aplikasi ke 4–7) (Rustati dkk, 2004). Peubah yang diamati meliputi masa inkubasi, intensitas penyakit, tinggi akhir tanaman, panjang akar terpanjang (akhir penelitian), jumlah daun dan bobot kering akar, dan bobot akhir tanaman. Perhitungan intensitas penyakit menggunakan rumus:

$$IP = \frac{\sum(n \times v)}{N \times Z} \times 100\%$$

Dengan IP, intensitas penyakit (%); n, jumlah tanaman terserang pada tiap kategori; N, jumlah tanaman diamati; Z, nilai kategori serangan patogen; v, nilai setiap kategori terserang CSSV dari gejala mosaik pada daun. Penilaian gejala penyakit karena virus menggunakan skala (Dolores 1996).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bagian ini menyajikan hasil penelitian. Hasil penelitian dapat dilengkapi dengan tabel, grafik (gambar), dan/atau bagan. Bagian pembahasan memaparkan hasil pengolahan data, menginterpretasikan penemuan secara logis, mengaitkan dengan sumber rujukan yang relevan. Kemungkinan tindak lanjut kegiatan dapat juga disampaikan pada bagian ini

Pertama dilakukan survey di perkebunan kakao milik rakyat di desa Banjaroya, Kalibawang Kulonprogo Yogyakarta. Hasil survey lokasi didapatkan kebun kakao klon Djati Runggo 1 (DR1) yang sebagian besar terserang penyakit mosaik. Menurut Probowati dkk, 2019 klon DR1 yang memiliki gejala mosaik pada daunnya ini terbukti terserang Cacao swollen shoot virus (CSSV). Gejala secara jelas tampak pada daun kakao. Umur tanaman ini sekitar 15 tahun. Dari pohon-pohon inilah diandalkan produksi buah kakao yang dimanfaatkan bijinya untuk membuat makanan coklat.



Gambar 1. Identifikasi gejala penyakit mosaik pada daun kakao di perkebunan kakao

Pada Gambar 1 tampak gejala mosaik pada daun kakao yang ditandai dengan adanya alur berbentuk lingkaran dan selanjutnya membentuk alur mirip bulu ayam. Penyebaran penyakit mosaik ini diketahui dapat melalui perbanyakan teknik sambung samping maupun biji (Somowiyarjo dkk, 2014).



Gambar 2. Buah kakao yang sehat dan terinfeksi penyakit mosaik. a dan b) buah kakao yang tidak terinfeksi virus dan biji kakao yang sehat berwarna putih c, d) buah kakao yang terinfeksi virus dan biji kakao terinfeksi virus berwarna hitam.

Gejala mosaik dari tanaman kakao juga ditemukan pada buah dan biji kakao. Pada tanaman yang sehat akan memiliki buah yang sehat pula, artinya tidak ada gejala terinfeksi virus. Penampakan buah kakao memiliki kulit halus dan biji kakao berdaging buah warna putih dan antar biji tidak saling melekat. Sementara itu pada tanaman yang terinfeksi virus, kulit buah kakao terlihat berkerut dan mengalami nekrosis. Ketika buah kakao dibelah akan tampak biji kakao yang berwarna hitam dan antar biji saling melekat. Tanaman kakao yang terserang virus juga dapat dilihat dari adanya pembengkakan pada bagian batang kakao (Gambar 3). Batang tanaman kakao yang membengkak ini akibat terserang Cacao swollen shoot virus.



Gambar 3. Batang tanaman kakao yang mengalami pembengkakan (swollen) karena terinfeksi virus

Berdasarkan pengamatan kondisi lapangan di perkebunan dimana banyak tanaman terserang CSSV dan gejala dapat diamati mulai dari daun, buah dan batang. Maka dari tanaman yang terinfeksi inilah yang akan digunakan untuk menghasilkan bibit kakao pada penelitian ini. Pada penelitian ini diambil biji dari buah kakao yang memiliki gejala terserang CSSV ditumbuhkan dalam polybag. Pengamatan gejala mosaik dari bibit tanaman terinfeksi ini dilakukan ketika tanaman sudah memiliki lebih dari 3 helai daun bergejala. Sampai saat ini tanaman telah mencapai tinggi 30 cm setelah 3 bulan dilakukan penanaman.



Gambar 4. Bibit tanaman tanaman kakao yang akan diberikan perlakuan formula cair *Pseudomonas fluorescens*.

Sementara itu penelitian di laboratorium dilakukan isolasi bakteri dari tanah perkebunan untuk mencari kandidat bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dari hasil isolasi dan identifikasi didapatkan bakteri *P. fluorescens* yang diinkubasi menggunakan medium Nutrient Broth (NB).

Kultur bakteri mulai berkembang ke tahap pencarian fase logaritmik. Kultur bakteri *P. fluorescens* pada medium NB didapatkan fase logaritmik. Fase log bakteri *P. fluorescens* diperoleh pada lama inokulasi selama 0,5 hari didapatkan kerapatan pertumbuhan $38,4 \times 10^9$ CFU/bidang pandang.

Hasil optimasi fase logaritmik bakteri dijadikan dasar untuk inkubasi bakteri pada medium keong. Inkubasi medium keong dilakukan pada beberapa variabel konsentrasi bakteri diantaranya formula cair bakteri 25% (P1), 50% (P2) dan 75% (P3) yang diinkubasi selama 3 hari. Setelah inkubasi baru dilakukan aplikasi penyemprotan pada tanaman bergejala mosaik berumur 3 bulan. Aplikasi diulang sebanyak 7 kali dengan rentang waktu penyemprotan 1 minggu. Penyemprotan juga dibandingkan dengan insektisida kimia.



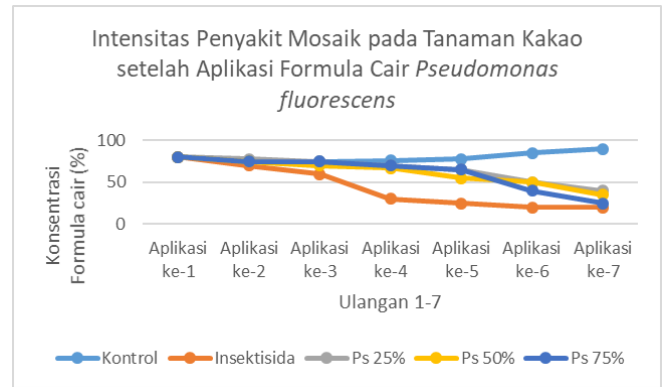
Gambar 5. Tanaman yang akan diaplikasikan pupuk formula cair *P. fluorescens*

Setelah aplikasi selama 8 minggu maka dilakukan pengamatan akhir pertumbuhan tanaman. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengukuran tinggi tanaman, panjang akar, diameter daun dan bobot kering tanaman. Hasil yang didapatkan sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil penyemprotan *P. fluorescens* terhadap pertumbuhan tanaman kakao

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah daun (helai)	Bobot kering akar (g)	Bobot kering tanaman, g/tanaman
Kontrol	52.16	33.37	10	10.35	28.67
Insektisida	56.20	34.06	16	12.70	48.84
Semprot 1x	51.45	33.53	16	11.82	52.66
Semprot 2x	57.55	32.50	16	10.70	55.41
Semprot 3x	66.40	34.29	17	12.29	74.61
Semprot 4x	67.80	35.67	19	13.48	86.06
Semprot 5x	71.12	37.78	21	13.40	84.69
Semprot 6x	72.23	37.98	21	13.87	83.76
Semprot 7x	75.37	39.73	22	15.95	85.65

Pada Tabel 1 pengamatan didapatkan hasil yang general bahwa penyemprotan yang lebih banyak cenderung akan didapatkan tinggi tanaman yang optimal, jumlah daun lebih banyak dan bobot kering lebih besar.



Gambar 6. Intensitas penyakit mosaik pada tanaman kakao setelah aplikasi ke-1 sampai aplikasi ke-7

Pada Gambar 6 dapat terpantau adanya penurunan intensitas gejala penyakit mosaik pada daun kakao yang teramati mulai dari aplikasi pertama sampai aplikasi ke-7. Grafik menunjukkan pada aplikasi ke-7 penyemprotan insektisida kimia memiliki hasil yang paling tinggi sebesar 20% penurunan intensitas penyakit mosaik. Sementara itu aplikasi formula cair konsentrasi 75% dapat menurunkan intensitas gejala penyakit sebesar 25%. Dapat dikatakan aplikasi paling optimum untuk pengendalian penyakit mosaik adalah formula cair 75%. Penggunaan formula cair *P. fluorescens* yang merupakan mikroorganisme antagonis sebagai agensia hayati dapat menurunkan intensitas penyakit mosaik. Menurut Prasetyo et al., (2017), penggunaan mikroorganisme antagonis sebagai agensia hayati berpotensi tinggi dalam menghambat serangan patogen, dan mampu beradaptasi dan berkolonisasi pada perakaran tanaman. Selain itu juga dapat berfungsi sebagai PGPR (Plant growth promoting rhizobacteria) yang dapat menginduksi ketahanan tanaman inang. Penurunan intensitas penyakit ditandai dengan semakin berkurangnya gejala mosaik yang tampak pada daun kakao kemudian tanaman dapat tumbuh dengan cepat dibandingkan tidak dilakukan penyemprotan. Sedangkan pada tanaman kontrol yang hanya disemprot air memperlihatkan peningkatan gejala mosaik seiring waktu.

4. SIMPULAN

Aplikasi formula cair *P. fluorescens* sebagai agensia hayati penyakit mosaik tanaman kakao dilakukan dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Formulasi paling optimum untuk menurunkan intensitas gejala mosaik tanaman kakao didapatkan dari aplikasi formula cair *P. fluorescens* 75%.

5. REFERENSI

- Arwiyanto, T., Maryudani, YMS., dan Azizah, NN. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluorescens*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *BIODIVERSITAS*. 8(2):147-151.
- Ayed Amr and E. Al-Tamimi. 2007. Stability of The Crude Extracts of Ranunculus Asiaticus Anthocyanins and Their Use As Food Colourants. *International Journal of Food Science & Technology* . 42 (8). 985–991.
- Azizah N. 2009. Pengimbasan Ketahanan Bibit Pisang Raja terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Ekstrak Bakteri Antagonis. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto (Tidak Dipublikasikan).
- Chairul. 2003. Identifikasi secara cepat bahan bioaktif pada tumbuhan di lapangan. *Berita Biol*.6(4):621–630.
- Dolores, LM. 1996. Management of Pepper Viruses. Di dalam: Proceeding on the AVNET II.Final Workshop Philippines; 1995 Feb 21–25. Manila (PH) AVRDC. hlm 334–342.
- Elad Y, Chet I, and Baker R. 2007. Increased growth response of plants induced by rhizobacteria antagonistic to soilborne pathogenic fungi. *Plant Soil*. 98(3):325330. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02378353>.
- Longworth, J.F. and J.M, Thresh. 2003. Field trials on the effect of a Nigerian swollen-shoot virus on the growth of different cacao types. *Ann.appl.Biol*. 52:217-224.
- Majid, A., dan Ashna, P. 2013. Keunggulan Kombinasi Agen Hayati *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* untuk Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Pisang.<http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/5080>.
- Ollenu, L.A.A. and G.K. Owusu. 2009. *Isolation and study of mild strains of cocoa swollen shoot virus for possible cross protection*. Proceedings of the 4th International plant virus epidemiology workshop. Montpellier. France. Pp. 119-122.
- Parnata, Y. 1976. Beberapa Catatan Mengenai Penyakit Virus Tanaman Coklat di Sumatra Utara. *Bull. BPP Medan* 7 (1): 5-13.
- Prasetyo, G., Suskandini., Ivayani., dan Hasriadi Mat Akin. 2017. Efektifitas *Pseudomonas fluorescens* dan *Paenibacillus polymyxa* terhadap Keparahan Penyakit Karan dan Hawar Daun Jagung Manis (*Zea mays saccharata*). *Jurnal Agrotek Tropika Unila*. Vol. 5, No.2: 102-108.
- Probowati, W. Somowiyarjo, S. dan Hartono, S. 2019. Molecular characterization of Mosaic Virus from the cocoa trees showing mosaic symptoms in Yogyakarta. *Biodiversitas* .20 (12): 3698-3704.
- Raaijmakers JM and Weller DM. 1998. Natural plant protection by 2,4-diacetyl phloroglucinolproducing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 11: 144–152.
- Rifin, A. 2013. Competitiveness of Indonesia's Cocoa Beans Export in the World Market. *International Journal of Trade, Economics and Finance*. 4 (5); October 2013.
- Rustati R, Soesanto L dan Wachjadi M. 2004. Pengendalian *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. zingiberi Trujillo pada Tanaman Jahe dengan Disinvestasi Tanah secara Hayati. Hal. 259–267. Dalam: Soesanto L, eds. Prosiding Symposium Nasional I tentang Fusarium, Purwokerto, 26-27 Agustus 2004.
- Soesanto L. 2000. Ecological and Biological Control of *Verticillium dahliae*. Ph.D. Thesis. Wageningen University, Wageningen.
- Soesanto L. 2017. Pengantar Pestisida Hayati, Adendum metabolit sekunder agenesia hayati Tanaman. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Soesanto L dan Rahayunati RF. 2009. Pengimbasan ketahanan bibit pisang Ambon Kuning terhadap penyakit layu Fusarium dengan beberapa jamur antagonis. *J. Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 9(2): 130–140.
- Soesanto L, Mugiastuti E, Rahayuniati RF. 2010. Kajian mekanisme antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici pada tanaman tomat in vivo. *J Hama Penyakit Tumbuhan Trop*. 10(2):108–115.
- Somowiyarjo, S., Sulandari, S., Hartono, S., Paradisa, Y.B., dan Aji, T.M. 2014. Etiologi Penyebab Malformasi Tunas Ranting Kakao di Kulonprogo, DIY dan Segayung, Jawa Tengah. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*.18(2): 95-102.