

Potensi Cendawan Endofit Sebagai Pengendali Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

The Potential of Endophyte Fungus as Control of Bacterial Leaf Blight Disease in Rice

Syamsia

Email korespondensi: syamsiatayibe@unismuh.ac.id

Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar, Jl. Sultan Alauddin No. 259 Makassar

ABSTRAK

Cendawan endofit memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* untuk mendukung pertanian ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi isolate cendawan endofit yang memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap penyakit hawar daun bakteri. Penelitian ini dibagi dalam 3 tahapan yaitu: 1) isolasi dan peremajaan isolate cendawan endofit; 2) uji antagonis isolate cendawan endofit terhadap bakteri *Xoo* secara *in vitro*; 3) uji *in vivo* isolate cendawan endofit yang bersifat antagonis pada tanaman padi. Sebanyak 16 isolat cendawan endofit telah diisolasi dan diremajakan, 6 isolat cendawan endofit bersifat antagonis pada uji *in vitro*, aplikasi isolat cendawan endofit pada tanaman padi mampu meningkatkan ketahanan tanaman padi dari sangat rentan, rentan, agak rentan menjadi agak tahan, agak rentan dan rentan.

Kata kunci: antagonis; *in vitro*; *in vivo*; rentan.

ABSTRACT

*Endophytic fungi have the potential as biocontrol agents against bacterial leaf blight caused by a *Xanthomonas oryzae* pv *Oryzae* to support environmentally friendly agriculture. This study aims to select endophytic fungal isolates that have the potential as biocontrol agents against bacterial leaf blight. This research was divided into 3 stages: 1) isolation and rejuvenation of endophytic fungi isolate; 2) antagonistic test of endophytic fungi isolates against *Xoo* bacteria in vitro; 3) in vivo test of endophytic fungi isolates which are antagonistic in rice plants. As many as 16 isolates of endophytic fungi were isolated and rejuvenated, 6 isolates of endophytic fungi were antagonistic in vitro tests, the application of endophytic fungi isolates on rice plants was able to increase the resistance of rice plant highly susceptible, susceptible, moderately susceptible to moderately resistant, moderately susceptible and susceptible.*

Keywords: antagonist; *in vitro*; *in vivo*; susceptible.

I. PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (*Xoo*) merupakan penyakit utama pada tanaman padi. Luas areal tanaman padi di Indonesia yang terserang *Xanthomonas oryzae* mencapai 26.998 ha (Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, 2019);(Rahma et al., 2022). Menurut Nuyanto, 2018; Carsono et al, 2021), kehilangan hasil akibat serangan penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB) sekitar 15-24%.

Bakteri ini dapat menginfeksi tanaman padi sejak di persemai hingga panen (Aktar et al, 2011; Wahyudin et al, 2022; Jabeen et al, 2012; (Khaeruni et al., 2014). Menginfeksi daun padi melalui luka pada daun atau melalui lubang alami seperti stomata, merusak klorofil daun dan menurunkan fotosintesis tanaman dan proses pengisian gabah kurang sempurna (Puspitasari, 2014; Lili dan Syamsiah, 2018).

Upaya pengendalian yang telah digunakan selama ini umumnya menggunakan pestisida, namun belum efektif karena harganya mahal dan menimbulkan pencemaran bahan kimia pada lingkungan. Pengendalian dengan menggunakan agen hayati seperti mikroorganisme endofit yang berada pada tanam padi (Rahma et al., 2022). Cendawan endofit merupakan salah satu mikroba yang memiliki potensi sebagai agen hayati untuk pengendalian penyakit hawar daun bakteri. Cendawan endofit melindungi tanaman dari serangan patogen melalui mekanisme kompetisi, induksi, resistensi, antagonism dan mikroparasit (Radline and Carris, 1996; Wilia et al, 2012). Menurut Radji, 2004; Sunarisih et al, 2014), cendawan endofit menghasilkan metabolit yang bersifat antibiotic sebagai pelindung dari serangan mikroba lain. Menurut Renwick dan Poole (1989); Chet et al. (1990); Fravel et al. (2003); Irtwange (2006); Viterbo et al. (2007), Kaewchaei, et al. (2009) ada empat prinsip mekanisme biokontrol yaitu antibiosis, kompetisi, mycoparasitism atau lisis dan induksi resistensi.

Antibiosis merupakan perusakan mikroorganisme menghasilkan metabolit tertentu yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Benítez et.al., 2004; Irtwange, 2006; Viterbo et al., 2007; Haggag dan Mohamed, 2007; Kaewchai et al., 2009). Terjadinya persaingan antara mikroorgaisme terhadap ruang dan waktu sebagai faktor pembatas (Lewis et al., 1989; Howell, 2003; Benítez et al., 2004; Viterbo et al., 2007; Kaewchai et al., 2009). Mycoparasitism mencakup: (1) pertumbuhan chemotrophic dari antagonis menjadi inang; (2) pengenalan inang oleh mycoparasite; (3) perlekatan; (4) ekskresi enzim ekstraseluler; (5) lisis dan eksploitasi inang (Whipps, 2001; Benitez et al., 2004; Viterbo, et al., 2007).

Induksi resistensi terjadi pada sebagian besar tanaman dalam menanggapi serangan patogen (Harman et al., 2004). Induksi resistensi tanaman inang dapat dilokalisasi dan/atau sistematis, tergantung pada jenis, sumber, dan jumlah rangsangan (Pal dan Gardener, 2006). Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolate cendawan endofit yang memiliki kemampuan dalam meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri.

II. METODE PENELITIAN

1. Persiapan Isolasi Cendawan Endofit

Cendawan endofit diisolasi dari bagian akar, batang, dan daun padi menggunakan metode yang dikembangkan oleh Redriques (Wilia et al, 2012). Isolat cendawan endofit yang telah diisolasi dan dimurnikan ditumbuhkan atau diremajakan dengan cara ditumbuhkan pada media PDA.

2. Fermentasi Jamur Endofit

Koloni murni cendawan endofit yang telah berumur 7 hari di pindahkan ke media cair (PDB) sebanyak 20 mL. Selanjutnya dilakukan fermentasi goyang menggunakan rotary

shaker 130 rpm (kocokan/menit) pada suhu kamar selama 7 hari. Kultur yang telah difermentasi dimasukkan ke dalam tabung sentrifus ukuran 15 mL kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernata diambil dan disaring menggunakan kertas saring. Supernata ini kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

3. Pernyiapan Bakteri Xoo

Bakteri Xoo dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah diisi aqua steril 100 ml kemudian divoteks supaya tercampur rata. Suspensi bakteri *Xoo* sebanyak 100 μ L dengan kerapatan koloni 10^6 CPU diteteskan di atas permukaan media Potato Dextrose Agar (PDA) dan diratakan menggunakan spatula.

4. Uji in Vitro

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer (Lay, 1994). Lempangan kertas saring dicelupkan dalam suspensi cendawan endofit kemudian diletakkan pada media PDA yang telah diberi Bakteri *Xoo*. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar isolate cendawan endofit merupakan indicator bahwa isolate cendawan tersebut bersifat antagonis terhadap bakteri *Xoo*. Jumlah cakram kertas yang diletakkan cawan Petri berisi 6-7 buah, dan jarak antara cakram tidak terlalu dekat. Sebagai kontrol digunakan cakram kosong steril. Pengujian dilakukan dengan tiga ulangan. Setelah inkubasi pada suhu ruangan selama 18-24 jam. Terbentuknya zona bening di sekitar isolat cendawan merupakan indikator bahwa isolat tersebut memiliki sifat antagonis terhadap bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (*Xoo*)

5. Uji in Vivo

Isolat cendawan endofit yang bersifat antagonis diperbanyak pada media beras kemudian dihaluskan menjadi tepung cendawan. Benih padi diselubungi dengan tepung cendawan endofit dengan perbandingan 1 g tepung cendawan endofit dicampur dengan 10 gram benih padi. Benih padi yang telah diselubungi dengan tepung cendawan endofit disemai, benih yang telah tumbuh dan berumur 14 hari dipindahkan ke ember yang telah diisi dengan tanah.

Bakteri *Xoo* dinokulasikan pada tanaman padi pada umur 60 hari setelah tanam. Inokulasi bakteri dilakukan dengan metode *Leaf Clipping* (Herlina dan Silitonga, 2011; Marlina et al, 2020), menggunting daun secara melintang dengan gunting steril sepanjang 5 cm dari ujung daun, kemudian ujung daun dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *Xoo* dengan konsentrasi 10^8 cpu. ml^{-1} . Selanjutnya daun ditutup dengan plastik (Gambar 1).



Gambar 1. Tanaman sebelum (kiri) dan setelah diinokulasi bakteri *Xoo* (kanan).

Tabel 1. Kriteria ketahanan varietas padi terhadap penyakit hawar daun bakteri.

Skala	Intensitas Penyakit	Kategori Ketahanan
1	0-3%	Sangat Tahan (ST)
2	4-6%	Tahan (T)
3	7-12%	Agak Tahan (AT)
4	13-25%	Agak Rentan (AR)
5	26-75%	Rentan (R)
6	76-100%	Sangat Rentan (SR)

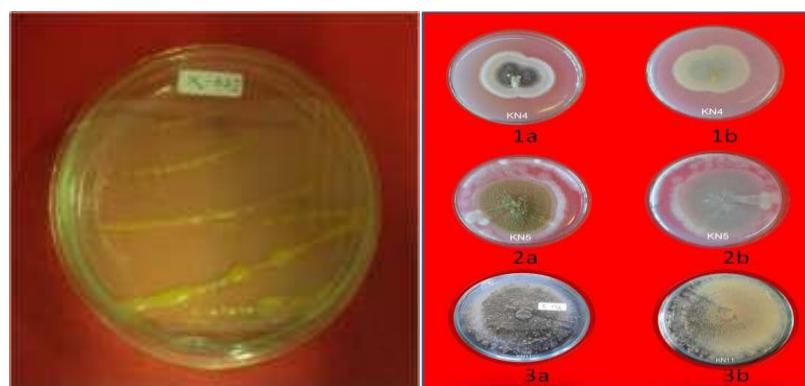
Sumber: Carsono et al (2021).

Pengamatan reaksi ketahanan dilakukan 14 hari setelah inokulasi bakteri berdasarkan nilai persentase keparahan penyakit. Cara menilai tingkat ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri mengacu pada Sistem Evaluasi Standar (SES) untuk padi (Tabel 1).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Enam belas isolat cendawan endofit yang telah diisolasi dari jaringan tanaman padi dan dimurnikan. Sepuluh isolate diperoleh dari batang dan 3 isolat dari daun dan 3 isolat dari akar. Menurut Stovall, (1987) dan Sunarisih *et al*, (2014), keberadaan isolate cendawan endofit pada setiap bagian jaringan tanaman berbeda-beda. Hal serupa dikemukakan oleh Santoso *et al* (2008), jenis dan jumlah cendawan endofit pada setiap bagian tanaman bervariasi. Hasil penelitian Irawan (2007), menunjukkan bahwa cendawan endofit pada tanaman padi bervariasi berdasarkan lokasi pengambilan sampel padi dan varietas padi.

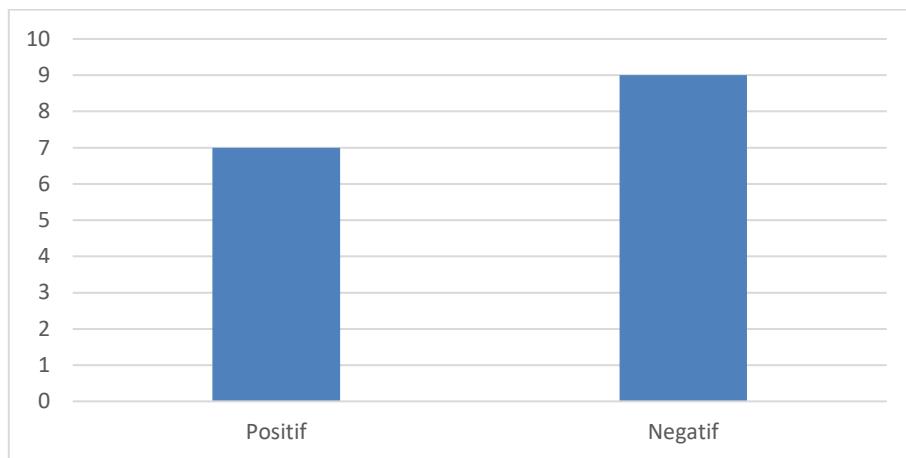
Koloni bakteri *Xoo* berbentuk bulat cembung, berwana kuning keputihan. Karakteristik tiga isolate cendawan endofit (*Penicillium* sp., *Aspergillus niger* dan *Aspergillus* sp) yang bersifat antagonis (Gambar 2) tipe pertumbuhan konsentris, warna permukaan bervariasi, ada berwarna hijau, coklat, permukaan seperti beludru dan tebal pertumbuhan lambat, permukaan tipis dan pertumbuhan cepat, warna permukaan bawah yaitu krem dan hijau.



Gambar 2. Isolat bakteri *Xoo* (kiri) dan cendawan endofit bersifat antagonis (kanan).

Uji in vitro terhadap 16 isolat cendawan endofit terhadap bakteri *Xoo*, diperoleh 7 isolat cendawan endofit memberikan reaksi positif dan 9 bersifat negatif (Gambar 3). Hal

ini menunjukkan bahwa ada 7 isolate cendawan endofit bersifat antagonis terhadap bakteri *Xoo* dan berpotensi digunakan sebagai agen biocontrol terhadap penyakit hawar daun bakteri.



Gambar 3. Isolat cendawan bersifat antagonis dan tidak.

Terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa isolate cendawan endofit tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xoo* (Gambar 4). Menurut Rayner (1991), cendawan endofit dalam jaringan tanaman menyebabkan terinduksinya metabolit sekunder yang mampu menghambat cendawan lain. Pendapat yang serupa dikemukakan oleh Azevedo et al. (2000), beberapa cendawan menghasilkan obat anti tumor. Menurut Trigiano et al (2008); Amaria et al, (2013), mekanisme antagonis cendawan endofit dapat menggunakan satu atau lebih mekanisme untuk mempengaruhi patogen tanaman dan dapat berbeda dengan patung lain.

Data hasil pengamatan persentase keparahan penyakit (%) menunjukkan bahwa dari 10 jenis padi memiliki tingkat ketahanan berbeda pada kontrol yaitu: 1 agak rentan, 7 rentan dan 2 sangat rentan (Tabel 2). Aplikasi isolate cendawan endofit pada benih padi dengan metode “*seed coating*” (penyelubungan benih) mampu meningkatkan ketahanan tanaman menjadi agak tahan, agak rentan dan rentan. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi cendawan endofit mampu menahan serangan bakteri *Xoo* yang menyebabkan penyakit hawar daun bakteri.



Gambar 4. Zona bening di sekitar cendawan endofit indikator sifat antagonis.

Tabel 2. Tingkat ketahanan padi pada perlakuan cendawan endofit.

Kategori Ketahanan	Kontrol	Aplikasi Cendawan Endofit
Sangat Tahan (ST)	0	0
Tahan (T)	0	0
Agak Tahan (AT)	0	2
Agak Rentan (AR)	1	4
Rentan (R)	7	3
Sangat Rentan (SR)	2	0

IV. KESIMPULAN

Cendawan endofit berpotensi sebagai agen biokotrol. Sebanyak 7 isolat cendawan bersifat antagois terhadap bakteri *Xoo*. Tiga isolate cendawan endofit bersifat antagonis pada uji in vitro mampu meningkatkan ketahanan padi terhadap penyakit hawar daun bakteri. Perlu penelitian lanjutan untuk mendapatkan dosis aplikasi isolate cendawan endofit terbaik dalam meningkatkan ketahanan padi terhadap penyakit hawar daun bakteri sampai pada tingkat sangat tahan dan tahan.

V. REFERENSI

- Akhtar MA, Abbasi FM, Ahmad F, Shahzad M, Shah MA, Shah AH. 2011. Evaluation of rice germplasm against *Xanthomonas oryzae* causing bacterial leaf blight. Pak J Bot. 43(6):3021–3023.
- Amaria W, Taufiq E dan Harni R. 2013. Seleksi dan Identifikasi jamur antagonis sebagai agen hayati jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) pada tanaman karet. BULETIN RISTRI: Vol 4(1): 55-64.
- Benítez, T., Rincón, M.A., Limón, M.C. and Codón, C.A. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International microbiology 7: 249-260.
- Carsono,N·A. Dewi·N. Wicaksana·S. Sari, 2021. Periode inkubasi, tingkat keparahan, dan ketahanan sepuluh genotipe padi harapan terhadap penyakit hawar daun bakteri strain III, IV,dan VIII. Jurnal Kultivasi Vol. 20 (3): 175-182.
- Chet, I., Ordentlich, A., Shapira, R. and Oppenheim, A. (1990). Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by *Rhizobacteria*. Plant and Soil 129: 85-92.
- Fravel, D., Olivain, C. and Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. New Phytologist 157: 493-502.
- Haggag, W.M. and Mohamed, H.A.A. (2007). Biotech- nological aspects of microorganisms used in plant biological control. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture 1: 7-12.
- Haggag, W.M. and Mohamed, H.A.A. (2007). Biotech- nological aspects of microorganisms used in plant biological control. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture 1: 7-12.
- Irmawan, Deni Ajar, 2007. Kelimpahan dan keragaman cendawan endofit pada beberapa jenis padi di Kuningan, Tasikmalaya dan Subang, Jawa Barat. (Skripsi) IPB.

- Irtwange, V.S. (2006). Application of biological control agents in pre- and postharvest operations. Agricultural Engineering International: the CIGR Ejurnal. Invited Overview 3: 1-12.
- Jabeen R, Iftikhar T, Batool H. 2012. Isolation, characterization, preservation and pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing BLB disease in rice. Pak J Bot. 44(1):261–265.
- Laili dan Syamsiah. M. 2018lnApplikasi Asap Cair Suren Terhadap Bakteri Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzaepenyebab Hawar Daun Bakteri Pada Padi Secara In Vitro. Jurnal Agroscience. Vol 8(2); 198-211.
- Lay, B.W. 1994. Analisis mikroba di Laboratorium. Grasindo Persada, Jakarta.
- Lewis, K., Whipps, J.M. and Cooke, R.C. (1989). Mechanisms of biological disease control with special reference to the case study of *Pytium oligandrum* as an antagonist. In: *Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth* (eds. J.M. Whipps and R.D. Lumsden). Cambridge University Press: 191-217.
- Nayak D, Bose LK, Singh UD, Singh S, Nayak P. 2008. Measurement of genetic diversity of virulence in population of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India. Comm Biometry Crop Sci. 3(1):16–28.
- Nuryanto, B. 2018. Pengendalian penyakit tanaman padi berwawasan lingkungan melalui pengelolaan komponen epidemik. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian 37 (1) : 1-12.
- Khaeruni, A., Taufik, M., Wijayanto, T., & Johan, E. (2014). Perkembangan Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tiga Varietas Padi Sawah yang Diinokulasi pada Beberapa Fase Pertumbuhan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 10(4), 119–125. <https://doi.org/10.14692/jfi.10.4.119>
- Pal, K. K., B. M.S.Gardener, 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor :1-25.
- Puspitasari, Monita. 2014. Deskripsi Sifat Khas Bakteri Xanthomonas oryzae pv. *oryzae*. Program Pasca Sarjana, Program Studi Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Andalas, Padang.
- Rahma, H., Nurbailis, Busniah, M., Kristina, N., & Larasati, Y. (2022). The potential of endophytic bacteria to suppress bacterial leaf blight in rice plants. *Biodiversitas*, 23(2), 775–782. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230223>.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. Majalah Ilmu Kefarmasian 2 (3): 113 – 126.
- Rayner, A.D.M. 1991. The challenge of the individualistic mycelium. Mycologia 83: 48-71.
- Redline, S.C., L.M. Carris. 1996. Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants Systematic, Ecology and Evolution. Minnesota: American Phytopathological Society (APS) Press.
- Renwick, A. and Poole, N. (1989). The environmental challenge to biological control of plant pathogens. In: *Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth* (eds. J.M. Whipps and R.D. Lumsden). Cambridge University Press: 277-290.
- Sunariasih, N.P.L., I.K. Suadah, N.W. Suniti, 2014. Identifikasi jamur endofit dari biji padi dan uji daya hambatnya terhadap Pyricularia oryzae Cav. Secara In Vitro E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika 3 (2) : 51-60.

Viterbo, A., Inbar, J., Hadar, Y. and Chet, I. (2007). Plant disease biocontrol and induced resistance via fungal mycoparasites. In: *Environmental and Microbial Relationships*, 2nd edn. *The Mycota IV*. (eds. C.P. Kubicek and I.S. Druzhinina). Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 127-146.

Wahyudin AT, Meliah S, Nawangsih AA. 2011. Xanthomonas oryzae pv. oryzaebakteri penyebab hawar daun bakteri pada padi: isolat, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. Makara Sain. 15:89–96.

Wilia, W., I. Hayati, D.Ristiyadi. 2011. Eksplorasi cendawan endofit dari tanaman padi sebagai agens pemacu pertumbuhan tanaman. J. Unja 1 (4):73-79.

Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany 52: 487-511.