

POTENSI CENDAWAN ENDOFIT PADI LOKAL SULAWESI SELATAN SEBAGAI PENGHASIL SIDEREFOR

The Potential of Local Rice Endophytic Fungi of South Sulawesi as A Siderophore Producer

Syamsia*

Email: syamsiatayibe@unismuh.ac.id

Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar
Jl.Sultan Alauddin No. 259 Makassar, Sulawesi Selatan, 90221

Abubakar Idhan

Email: idhanabu@unismuh.ac.id

Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar
Jl.Sultan Alauddin No. 259 Makassar, Sulawesi Selatan, 90221

Amanda Patappari

Email: firmaryahamanda20@gmail.com

Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar
Jl.Sultan Alauddin No. 259 Makassar, Sulawesi Selatan, 90221

Noerfitryani

Email: noerfitryani@unismuh.ac.id

Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar
JL. Sultan Alauddin No. 259 Makassar, Sulawesi Selatan, 90221

ABSTRAK

Siderefor adalah agen pengkelat (*Chelating agent*) besi yang dihasilkan oleh tanaman dan mikroorganisme pada kondisi kekurangan besi. Salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan memproduksi siderefor adalah cendawan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi cendawan endofit dalam memproduksi siderefor. Kemampuan cendawan dalam memproduksi siderefor terutama tipe Salisilat dan Katekol menggunakan medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan Reagen Hathway. Sebanyak delapan isolat cendawan endofit asal padi lokal Sulawesi Selatan diuji kemampuan memproduksi siderefor. Delapan isolat cendawan endofit sebelum diuji diremajakan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) selama tujuh hari. Setiap isolat ditumbuhkan pada medium PDB sebelum diuji. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm dengan Na. Salisilat 700 nm dengan 2.3 DHBA sebagai standar. Hasil penelitian menunjukkan isolat E4 dan E8 yang memiliki kemampuan memproduksi siderefor terbaik. Hasil penelitian memberikan informasi terbaru terkait potensi cendawan endofit asal padi lokal Sulawesi Selatan sebagai penghasil siderefor.

Kata kunci: *siderefor; agen pengkelat; katekol; natrium salisilat.*

* Principal contact for correspondence

ABSTRACT

Siderophore is an iron-chelating agent produced by plants and microorganisms under iron deficiency conditions. One of the microorganisms that ability produce siderophore is a fungus. This study aimed to determine the potential of endophytic fungi in creating siderophore. The ability of fungi to produce siderophore, especially Salicylate and Catechol using Potato Dextrose Broth (PDB) liquid media and Hathway Reagent. Eight isolates of endophytic fungi from local rice South Sulawesi were tested their ability to produce siderophore. Eight isolates of endophytic fungi before being tested were rejuvenated by growing on Potato Dextrose Agar (PDA) medium for seven days. Each isolate was grown on a PDB medium before being tested. The absorbance is measured using a spectrophotometer at a wavelength of 560 nm with Na. Salicylate 700 nm with 2.3 DHBA as standard. The results showed that the isolates of E4 and E8 had the capability to produce siderophores. The results provide the latest information regarding endophytic fungi' potential from local rice in South Sulawesi as a siderophore producer.

Keywords: *siderophore; chelating agent; catechol; sodium salicylate.*

PENDAHULUAN

Siderefors adalah agen pengkelat besi dengan ukuran molekul kecil yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan tanaman dalam kondisi kekurangan besi (Schwyn & Neillands, 1987; Ahmed & Holmström, 2014). Siderefors merupakan senyawa dengan bobot molekul rendah yang mampu mengkelat besi (Sharma & Johri, 2003; Prihatiningsih dkk., 2017). Dengan demikian keberadaan siderefors sangat penting bagi pertumbuhan tanaman untuk mengatasi kekurangan/kelebihan unsur hara besi bagi tanaman. Siderefors dibedakan dalam tiga kelompok, yaitu hidrosamat, katekolat dan karboksilat (Ahmed & Holmström, 2014).

Beberapa tanaman dilaporkan dapat menghasilkan siderefors, seperti barley dan gandum yang dapat memperoleh Fe dari sumber yang tidak larut (Kraemer, 2004; Ahmed & Holmström, 2014), dengan cara mengeluarkan pengkelat Fe (III) yang disebut fitosidorofofor yang membentuk kompleks kuat spesifik dengan Fe (III) (Ma, 2005;

Ahmed & Holmström, 2014). Mikroorganisme juga mampu menghasilkan siderefors, seperti bakteri dan cendawan. Bakteri berhasil diisolasi dan memiliki kemampuan menghasilkan siderefors seperti *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari rizosfer kentang (Prihatiningsih dkk., 2017), *Pseudomonad fluoresen* (Pratama et al., 2018), dan isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer kentang varietas Hartapel (Kesaulya et al., 2015). Cendawan yang telah diisolasi dan mampu memproduksi siderefors, seperti *Trichoderma* (Anke et al., 1991), Cendawan pelapuk coklat *Gloeophyllum trabeum* (Ahmed & Holmström, 2014), *Aspergillus niger* dan *Penicillium oxalicum* (Aziz et al., 2016).

Bakteri sebagian besar menghasilkan siderefors tipe katekolat (*enterobaktin*) dan sebagian menghasilkan karboksilat (*rhizoabaktin*) dan hidrosamat (*ferrioksamin*) (Matzanke, 1991; Ahmed & Holmström, 2014). Sedangkan cendawan menghasilkan siderefors tipe katekolat dan hidrosamat (Fekete et al., 1989;

Fekete; 1993; Ahmed & Holmström, 2014).

Kemampuan tanaman dan mikro-organisme dalam memproduksi siderefor menjadi sangat penting karena hal ini terkait dengan permasalahan yang sering dihadapi dalam pertumbuhan dan produksi tanaman terutama terkait kelebihan dan kekurangan unsur hara besi. Fungsi utama siderefor adalah untuk mengkelat besi, membentuk senyawa kompleks dengan logam berat seperti Cd, Cu dan Zn (Johnstone & Nolan, 2015; Hussein & Joo, 2019). Menurut Kobayashi dan Nsuhizawa (2012), dan Ahmed dan Holmström (2014), besi merupakan unsur esensial untuk pertumbuhan tanaman. Sharma dan Johri (2003) yang didukung dengan Prihatiningsih dkk. (2017), bahwa keberadaan siderefor dapat menguntungkan tanaman karena dapat menghambat pertumbuhan patogen. Patogen mengalami kekurangan Fe^{3+} akibat terikatnya Fe^{3+} oleh siderefor. Hal ini menjadi peluang pemanfaatan siderefor sebagai pemacu pertumbuhan dan pengendali patogen.

Beberapa cendawan asal rhizosfer tanaman telah diteliti menunjukkan kemampuan menghasilkan siderefor. Namun penelitian terkait kemampuan isolat cendawan endofit asal padi lokal Sulawesi Selatan dalam memproduksi siderefor belum pernah dilakukan. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi cendawan endofit asal padi lokal dalam memproduksi siderefor.

METODE PENELITIAN

Peremajaan Isolat Cendawan

Isolat cendawan endofit koleksi

hasil penelitian tahun 2018 merupakan cendawan yang diisolasi dari bagian akar, batang, daun padi lokal dari Kabupaten Enrekang dan Toraja Sulawesi Selatan. Delapan isolat cendawan diremajakan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) sebelum dilakukan pengujian Siderefor. Setiap isolat diambil satu lempeng dan diletakkan di atas medium PDA dan diinkubasi selama 7 hari. Isolat cendawan endofit yang telah tumbuh dan murni selanjutnya diperbanyak pada media PDA untuk dilakukan pengujian.

Persiapan Kultur Isolat Cendawan Endofit

Setiap isolat cendawan endofit yang telah tumbuh pada medium PDA ditumbuhkan kembali pada medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Sebanyak 3 lempeng isolat cendawan endofit dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi medium PDB cair dan diinkubasi pada suhu 27°C. Kemudian dishaker dengan 150 rpm/menit selama 7 hari. Medium PDB yang telah ditumbuhi isolat cendawan endofit disaring menggunakan kertas saring dan disentrifus 10.000 g selama 20 menit. Ini digunakan sebagai larutan uji (supernata) pada pengujian siderefor.

Uji Produksi Siderefor Secara Kualitatif

Uji kemampuan produksi Siderefor tipe Salisilat dan Katekol 189solate cendawan endofit menggunakan metode yang dijelaskan oleh Sivasakthivelan dan Stella (2012), dan Kesaulya et al. (2015) yang dimodifikasi. Sebanyak 20 ml kultur supernata diambil dan pH diatur hingga

2,0 dengan menambahkan larutan HCl. Kedalam 20 ml supernata ditambahkan 20 ml etil asetat dan dilakukan ekstraksi sebanyak dua kali. Selanjutnya diambil 5 ml supernata dan dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml reagen Hathway (1 ml 0,1 M besi klorida dan 1 ml 0,1 N HCL ditambahkan ke dalam 100 ml air suling dan ditambahkan 1 ml 0,1 M *kalium ferricyanide*), selanjutnya diamati perubahan warna pada larutan supernata dan dibandingkan dengan kontrol.

Uji Produksi Siderofer Secara Kuantitatif

Pengukuran siderofor secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur absorbansi supernata dari setiap isolat cendawan endofit menggunakan spektrofometer pada panjang gelombang 560 nm, menggunakan Natrium Salisilat sebagai standar. Standar dibuat dari pengenceran dengan konsentrasi Natrium Salisilat berkisar dari 0 hingga 2 mg l⁻¹, dengan menggunakan persamaan regresi $Y = 0.179x + 0.027$, dimana $R^2 = 0.902$ untuk pengujian Na. Salisilat sedangkan untuk Katekol menggunakan absorbansi ditentukan pada 700 nm dengan 2.3 DHBA sebagai standar. Konsentrasi

dalam filtrat kultur ditentukan dan dinyatakan sebagai mg l⁻¹ dengan persamaan regresi $Y = 0.209x + 0.038$ dimana $R^2 = 0.955$ (Kesauliya, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Isolat Cendawan Endofit

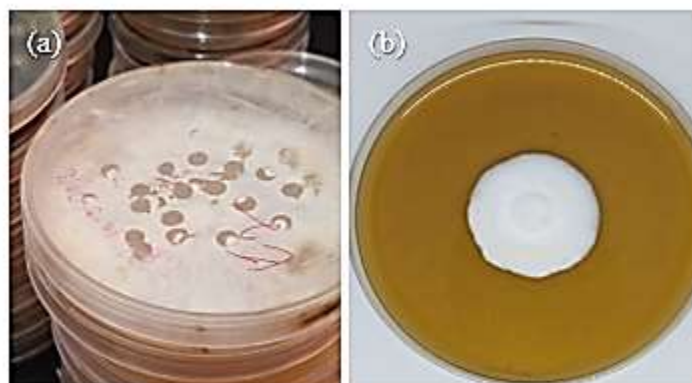
Peremajaan isolat cendawan endofit dilakukan sebelum pengujian siderofor, karena isolat yang telah lama disimpan dengan media dimana isolat cendawannya sudah kering. Peremajaan isolat cendawaan bertujuan untuk mendapatkan isolat yang masih baru dan segar (Gambar 1).

Kultur Isolat Cendawan Endofit

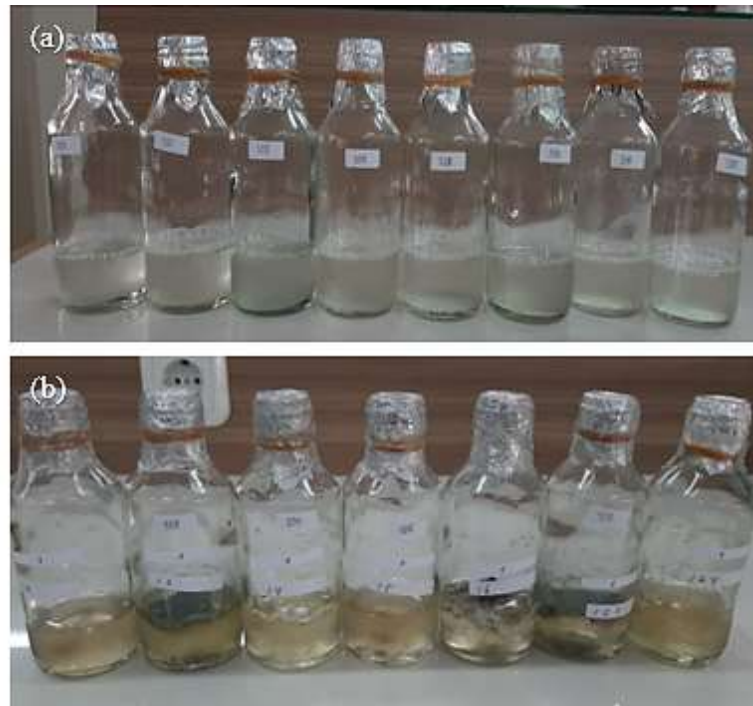
Penyiapan kultur isolat cendawan endofit diawali dengan penyiapan media PDB (Gambar 2a). Isolat cendawan endofit yang telah diremajakan ditumbuhkan pada media PDB untuk mendapatkan kultur isolat cendawan endofit yang akan digunakan pada pengujian Siderofor (Gambar 2b).

Deteksi Kemampuan Produksi Siderofor Secara Kualitatif

Delapan isolat cendawan endofit yang diuji kemampuan memproduksi



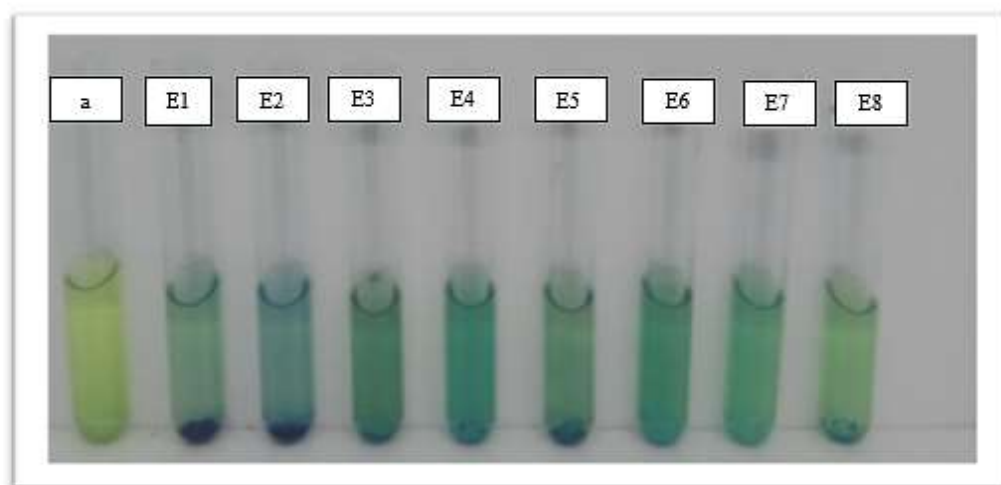
Gambar 1. Isolat cendawan endofit sebelum peremajaan (a), setelah peremajaan (b).



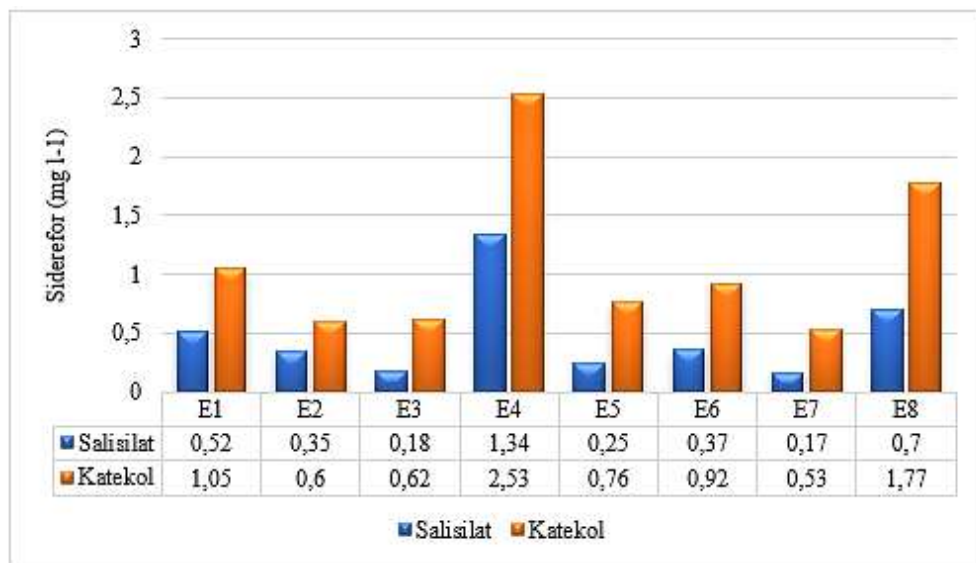
Gambar 2. Media PDB (a), dan kultur isolat cendawan pada media PDB (b).

siderefor secara kualitatif menunjukkan adanya kemampuan memproduksi siderefor yang bervariasi berdasarkan perubahan warna supernata dan dibandingkan dengan kontrol (kuning). Perubahan warna supernata setiap isolat bervariasi sesuai dengan kemampuan isolat dalam menghasilkan siderefor (Gambar 3). Berdasarkan perubahan warna, isolat E1,

E4, E5 dan E8 secara kualitatif memperlihatkan kemampuan memproduksi siderefor terbaik. Ini ditunjukkan dengan indikator warna yang lebih hijau dibandingkan isolat lain. Hasil penelitian Milagres *et al.* (1999), terhadap 11 cendawan berhasil mendeteksi 8 cendawan memiliki kemampuan produksi siderefor secara kualitatif dengan meng-



Gambar 3. Kontrol (a) dan E1 - E8 perubahan warna menjadi hijau indikator produksi siderefor isolat cendawan.



Gambar 4. Kadar siderefor yang diproduksi isolat cendawan endofit dari padi lokal Sulawesi Selatan.

gunakan media padat. Menurut Aziz *et al.* (2016), *Aspergillus niger* dan *Penicillium oxalicum* merupakan dua cendawan terbaik dalam memproduksi siderefor dari 16 cendawan yang diuji.

Deteksi Kemampuan Produksi Siderefor Secara Kuantitatif

Uji kemampuan produksi siderefor secara kuantitatif terhadap delapan isolat cendawan endofit dengan melakukan pengukuran absorbansi supernata. Setiap isolat cendawan endofit diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm dan 700 nm. Hasil pengukuran secara kuantitatif menunjukkan bahwa produksi siderefor isolat cendawan endofit dalam bervariasi yaitu 0.18 – 2.53 mg l⁻¹. Isolat cendawan endofit E4 menunjukkan kemampuan produksi siderefor terbaik untuk tipe Salisilat, yaitu 1.34 mg l⁻¹ dan Katekol sebesar 2.53 mg l⁻¹ (Gambar 4). Secara umum siderefor mikroba diklasifikasikan dalam tiga kelompok utama yaitu katekol,

hidroksamat, dan karboksilat (Winkelmann, 2002; Ghosh *et al.*, 2017).

Terdapat 3 isolat cendawan endofit yang memiliki kemampuan memproduksi siderefor tipe Katekol yang tinggi yaitu isolat E1, E4 dan E8, sedangkan untuk tipe Salisilat hanya isolate E4. Isolat E4 memiliki kemampuan produksi siderefor tipe Katekol dan Salisilat yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lain. Kemampuan isolat E4 dalam memproduksi siderefor tipe Katekol lebih tinggi dibandingkan tipe Salisilat. Hal ini sesuai dengan apa yang dikemukakan oleh Fekete *et al.* (1989), dan Fekete (1993). Ahmed dan Holmström (2014), bahwa siderefor yang dihasilkan oleh cendawan umumnya katekolat dan hidroksamat. Hal serupa dikemukakan oleh Plattner dan Diekmann (1994), serta Hussein dan Joo (2019), berpendapat bahwa struktur siderefor cendawan sebagian besar adalah hidroksamat yang mirip dengan siderefor bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kedelapan isolat cendawan endofit memiliki kemampuan produksi siderefor tipe Salisilat dan Katekol yang berbeda, yaitu 0,17 – 1,34 mg^l⁻¹ dan 0, 53-2,53 mg^l⁻¹ mg^l⁻¹. Isolat cendawan endofit E4 dan E8 merupakan isolat yang memiliki kemampuan produksi siderefor tipe Katekol terbaik. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji kemampuan konsorsium isolate cendawan endofit dalam memproduksi siderefor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kementerian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional Republik Indonesia yang telah mendanai kegiatan Penelitian ini melalui Skim Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) selama tiga tahun (2018-2020).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, E., & Holmström, S.J.M. 2014. Siderophores in Environmental Research: Roles and Applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>.
- Anke, Heidrun, Kinn, J., Bergquist, KE., & Sterner, O. (1991). Production of Siderophores by Strains of the Genus *Trichoderma*. *Biology of Metals*, 4(3), 176–80. <https://doi.org/10.1007/BF01141311>.
- Aziz, Abdel, O.A., Helal, G.A., Galal, Y.G.M., Kader, A., & Rofaida, S. (2016). Fungal Siderophores Production in Vitro as Affected by Some Abiotic Factors. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 210–22. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.025>.
- Fekete, F.A. (1993) Assays for microbial siderophores. In *Iron Chelation in Plants and Soil Microorganisms*. in Barton, L.L., & Hemming, B.C. (eds). New York: Academic Press, pp. 399–417.
- Fekete, F.A., Chandhoke, V., & Jellison, J. (1989) Iron-binding compounds produced by wood-decaying basidiomycetes. *Appl Environ Microbiol*, 55 (pg. 2720– 2722).
- Ghosh, S. K., Banerjee, S., & Sengupta, C. (2017). Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some important antagonistic Fungi. *Journal of Biopesticides*, 10(2), 105-112.
- Hussein, K. A., & Joo, J. H. (2019). Zinc Ions Affect Siderophore Production by Fungi Isolated from the Panax ginseng Rhizosphere. *Journal of microbiology and biotechnology*, 29(1), 105-113.
- Johnstone, TC., & Nolan, EM. (2015). Beyond iron: non-classical biological functions of bacterial siderophores. *Dalton Trans*, 14 (pg. 6320-6339).
- Kesaulya, H., Zakaria, B., & Syaiful, S. A. (2015). Isolation and physiological characterization of PGPR from potato plant rhizosphere in medium land of Buru Island. *Procedia Food Science*, 3, 190-199.. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.021>.
- Kobayashi, T., & Nishizawa, N.K. (2012). Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Biol*, 63, 131–152.

- Kraemer, S.M. (2004). Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquat Sci*, 66, 3–18.
- Ma, J.F. (2005). Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron. *Crit Rev Plant Sci*, 24, 267–281.
- Matzanke, B.F. (1991). *Structures, coordination chemistry and functions of microbial iron chelates*. In CRC Handbook of Microbial Iron Chelates. Winkelman, G. (ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press, pp. 15–64.
- Milagres, A. M., Machuca, A., & Napoleao, D. (1999). Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. *Journal of Microbiological Methods*, 37(1), 1–6. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1964.0123>.
- Plattner, H., & Diekmann, H. (1994). *Enzymology of siderophore biosynthesis*. In Metal Ions in Fungi (G. Winkelman & D. R. Winge, eds) pp. 99–116. Marcel Dekker, New York.
- Pratama, Ilham, Advinda, L., & Fifendy, M. (2018). Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Produksi Siderofor dari Bakteri *Pseudomonas* Fluorescence. *Bioscience*, 2(2), 50. <https://doi.org/10.24036/020182210406-0-00>.
- Prihatiningsih, Nur, Djatmiko, HA., & Lestari, P. (2017). Aktivitas Siderofor *Bacillus Subtilis* Sebagai Pemacu Pertumbuhan Dan Pengendali Patogen Tanaman Terung. *HPT Tropika*, 17(2), 170–78.
- Schwyn, B., & Neilands, J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem*, 160, 47–56.
- Sharma, A., & Johri, BN. (2003). Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9, in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions. *Microbiol. Res*, 158(3), 243–248.
- Sivasakthivelan, P., & Stella, D. (2012). Studies on the phytohormone producing potential of agriculturally beneficial microbial (ABM) isolates from different rhizosphere soils of sunflower in Tamil Nadu. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 3(5), 1150–1156.
- Winkelman, G. (2002). Microbial siderophore mediated transport. *Biochemical Society Transactions*, 30, 691–695.