



Karakterisasi Lima Isolat Cendawan Endofit Tanaman Padi Sebagai Agen Antagonis *Pyricularia Oryzae*



Ika Nurfatimah^{*1}, Tunjung Pamekas², Hartal³

^{1,2,3}Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu

Email^{*1} : ikanurfatimah16@gmail.com

ABSTRACT

Endophytic fungi are microorganisms that live in plant tissues or plant organs, such as seeds, leaves, flowers, stems and roots which are able to induce plant resistance to diseases. Local isolate of endophytic fungi are expected more effective to control diseases. Blast disease, that caused by *Pyricularia oryzae*, is a limited factor on rice paddy production. This study aim was to characterize dan select endophytic fungi isolates isolated from rice paddy as antagonistic agents to control *P. oryzae*. The research methods were survey rice paddy in the field, isolation and characterization of endophytic fungi isolates, isolation and characterization of *P. oryzae*, and testing the mechanism of antagonism of endophytic fungi isolates and *P. oryzae* in vitro by dual culture test. The results showed that there were five endophytic fungi isolated from rice paddy, that were *Aspergillus candidus*, *Gliocladium* sp, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium* sp, and *Nigrospora* sp. The eight isolates of endophytic fungi were isolated from various sites having different micro environment. Endophytic fungi isolated from rice paddy at the district of Central Bengkulu demonstrated highest inhibition percentage, which was 85.60% with competition for space, nutrition, and oxygen, antibiosis, and hyperparasitism.

Keywords: Bengkulu; Endophytic fungi; in vitro; rice paddy.

ABSTRAK

Cendawan endofit merupakan mikroorganisme yang berada dalam jaringan tanaman atau organ tanaman, seperti biji, daun, bunga, batang dan akar yang mampu menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit. Cendawan endofit isolat lokal diharapkan memiliki efektivitas kerja yang lebih baik. Penyakit blas pada tanaman padi yang disebabkan oleh *Pyricularia oryzae* merupakan salah satu faktor pembatas produksi tanaman padi. Penelitian ini bertujuan untuk karakterisasi dan seleksi isolat cendawan endofit dari tanaman padi sebagai agen antagonis dalam pengendalian *P. oryzae*. Metode penelitian meliputi : pengambilan sampel tanaman padi di lapangan, isolasi dan karakterisasi isolat cendawan endofit, isolasi dan karakterisasi *P. oryzae* dari tanaman padi sakit, dan pengujian mekanisme antagonisme isolat cendawan endofit dan *P. oryzae* secara in vitro dengan metode biakan ganda. Dari hasil penelitian diperoleh lima isolat cendawan endofit dari batang dan daun tanaman padi sehat. Kelima isolat cendawan endofit tersebut berasal dari lokasi yang memiliki karakterisasi lingkungan yang berbeda-beda. Lima isolat cendawan endofit tersebut adalah *Aspergillus candidus*, *Gliocladium* sp, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium* sp, dan *Nigrospora* sp. Isolat cendawan endofit tanaman padi asal Bengkulu Tengah memiliki daya penghambatan tertinggi, yakni 85,60% dengan mekanisme penghambatan berupa kompetisi ruang, nutrisi dan oksigen, antibiosis, dan hiperparasitme.

Kata kunci: Bengkulu; Cendawan endofit; in vitro; tanaman padi.

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu jenis tanaman pangan yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (Saragih, 2001). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2018), produktivitas padi di Indonesia pada tahun 2018 mengalami peningkatan 0,52 Ku/Ha yaitu dari tahun 2017 sebesar 51,65Ku/Ha menjadi 51,92Ku/Ha. Produksi padi pada tahun 2017 sebesar 81,148 ton menjadi 83,037 ton pada tahun 2018. Disisi lain produktivitas padi di Provinsi Bengkulu mengalami peningkatan sebesar 2,96Ku/Ha, pada tahun 2017 produksinya menurun dari 731,169 ton menjadi 699,531 ton. Menurut Kasijadi *et al.* (2007), rendahnya produksi tanaman padi ini terjadi karena ketidakefisienan penggunaan faktor produksi, iklim, degradasi lahan akibat penggunaan pestisida berlebihan, rendahnya kualitas benih yang digunakan, kesuburan tanah, serta serangan oleh organisme pengganggu tanaman (OPT).

Penyakit blas adalah penyakit utama yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas produksi padi. Penyakit ini menyerang pada awal pertumbuhan tanaman fase vegetatif sampai generatif dan patogen ini mampu menyebar melalui udara (*air borne*) sehingga sangat sulit untuk dikendalikan bahkan dapat menyebabkan gagal panen. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mendapatkan jenis mikroorganisme cendawan endofit yang berpotensi sebagai agen antagonis *Pyricularia oryzae*.

Menurut Utami *et al.* (2005), faktor produktivitas pertanian terutama pada bibit padi menurun akibat adanya serangan serangga, tungau, burung, cendawan, dan bakteri. Salah satu cendawan patogen padi yaitu *Pyricularia oryzae* yang mampu menurunkan produksi padi sebanyak 90%. Menurut Wang *et al.* (2014), penyakit blas yang disebabkan oleh cendawan *Pyricularia oryzae* Cav. [sinonim *Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr] merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi di seluruh dunia. Di Indonesia, penyakit blas sudah menyebar di hampir semua sentra produksi padi (Sudir dkk., 2014).

Cendawan patogen *Pyricularia oryzae* mampu menyerang tanaman padi pada berbagai stadia pertumbuhan dari benih sampai fase pertumbuhan malai (generatif). Pada tanaman stadium vegetatif biasanya patogen menginfeksi bagian daun disebut blas daun (*leaf blast*). Pada stadium generatif selain menginfeksi daun juga menginfeksi leher malai disebut blas leher (*neck blast*). Infeksi patogen juga dapat terjadi pada bagian buku tanaman padi yang menyebabkan batang patah dan kematian yang menyeluruh pada batang atas dari buku yang terinfeksi. Kerugian hasil akibat penyakit blas sangat bervariasi tergantung kepada varietas yang ditanam, lokasi, musim, dan teknik budidaya yang menyebabkan nilai ekonomi padi baik secara kualitas maupun kuantitas menjadi menurun. Pada stadium vegetatif dan stadium generatif dapat menyebabkan kegagalan panen hingga 100% (Sobrizal *et al.*, 2007).

Menurut (Sugandi dkk., 2010), keanekaragaman hayati adalah berbagai jenis makhluk hidup yang ada di muka bumi ini, maupun yang ada di daratan, dan terdiri dari hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme, serta ekosistem yang telah dibentuknya. Keanekaragaman mikroorganisme sangat penting untuk dikaji lebih dalam, salah satunya yaitu keanekaragaman cendawan endofit pada daun dan batang tanaman padi.

Cendawan endofit adalah mikroorganisme yang berada dalam jaringan tanaman atau organ tanaman seperti benih, daun, bunga, batang dan akar. Cendawan endofit memiliki kemampuan menghasilkan beberapa senyawa yang dapat berfungsi sebagai anti bakteri, anti cendawan, hormon pemacu pertumbuhan, dan insektisida (Strobel, 2004; Noverita *et al.*, 2009). Cendawan endofit sangat potensial dikembangkan sebagai agen pengendalian hayati. Penggunaan cendawan endofit yang di isolasi dari tanaman padi diharapkan dapat lebih efektif untuk menekan perkembangan cendawan patogen padi. Dengan demikian belum ada yang meneliti akan pentingnya karakterisasi lima isolat cendawan endofit tanaman padi sebagai agen antagonis *Pyricularia oryzae*, oleh karena itu penelitian ini perlu diteliti lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jenis mikroorganisme cendawan endofit yang berpotensi sebagai agen antagonis *Pyricularia oryzae*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu. Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Oktober 2018 sampai Januari 2019 di Laboratorium Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.

Alat dan Bahan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, gunting, erlenmeyer, gelas piala, *cork borer*, gelas objek, jarum ent, mikroskop, plastik bening, penggaris atau meteran, gelas ukur, pipet tetes, pisau, termometer tanah dan udara, hygrometer, ph meter (*soil tester*), dan ATK. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanaman padi sehat, sampel tanaman padi bergejala penyakit blas, PDA (*Potato Dextro Agar*), kapas, etanol 70%, FeCl₃ 1%, NaOCl 3%, alkohol, kertas saring, dan aquades.

Rancangan Penelitian. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu : Survei lokasi tanaman padi dilapangan tepatnya di desa Pekik Nyaring, Kabupaten Bengkulu Selatan.

Tahapan Penelitian.

1. Isolasi Cendawan Endofit

Isolasi cendawan endofit dengan cara mengambil sampel tanaman padi yang sehat, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi. Bagian yang akan di isolasi yaitu bagian daun dan batang tanaman padi dengan menggunakan metode Rodriques (1994) yang dimodifikasi. Tahapan awal sterilisasi dimulai dengan mencuci batang dan daun padi dengan air mengalir, ditiriskan, lalu dipotong kecil-kecil dengan ukuran (1cm x 1cm). Kemudian sterilisasi bagian permukaan secara bertahap dengan merendam sampel tanaman (batang dan daun) selama 60 detik, dalam etanol 70% selama 30 detik dan NaOCl 3% selama 60 detik, lalu dibilas sebanyak 4 kali dengan akuades steril dan dikeringkan diatas kertas saring steril, selanjutnya ditumbuhkan dalam media PDA dan diinkubasi selama ± 5 hari.

2. Isolasi *Pyricularia oryzae*

Isolasi cendawan *Pyricularia oryzae* padi dilakukan menggunakan metode monokonia (Agrios, 1988; Bonman et al., 1986). Sampel daun tanaman padi bergejala blas dipotong kecil (± 1 cm) lalu direndam FeCl₃ 1% selama satu menit. Potongan daun bergejala tersebut kemudian direndam dalam air steril selama satu menit untuk membilas lalu ditiriskan. Setelah itu 4 potongan sampel disusun pada cawan petri yang telah berisi media PDA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 5-7 hari.

3. Mekanisme Antagonisme

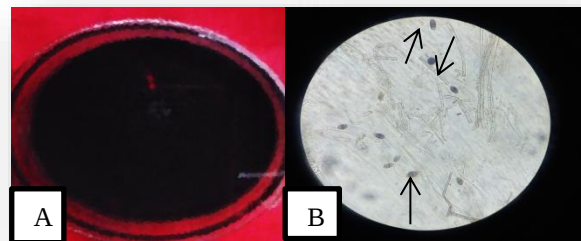
Mekanisme antagonisme dilakukan dengan cara mengambil masing-masing biakan murni yaitu : biakan murni cendawan endofit dan biakan murni *Pyricularia oryzae* dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 7 mm, kemudian diinokulasikan ke media yang berisi PDA secara berhadapan dengan jarak 30 mm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Lima Isolat Cendawan Endofit Tanaman padi Sebagai Agen Antagonis *Pyricularia oryzae*

1. Cendawan *Pyricularia oryzae*

Cendawan *Pyricularia oryzae* secara makroskopis memiliki koloni yang melingkar dan menyebar ke segala arah. Pada awal pertumbuhan di medium PDA koloni berwarna keabu-abuan, kemudian semakin bertambahnya umur inkubasi warna koloni berubah menjadi hitam. Pola pertumbuhan berkoloni dan memiliki bentuk koloni bulat dengan permukaan melingkar (Gambar 1 A).



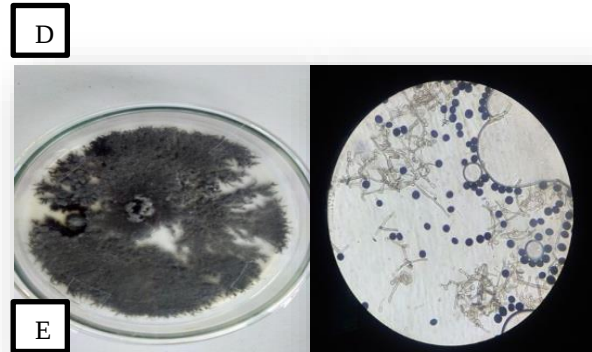
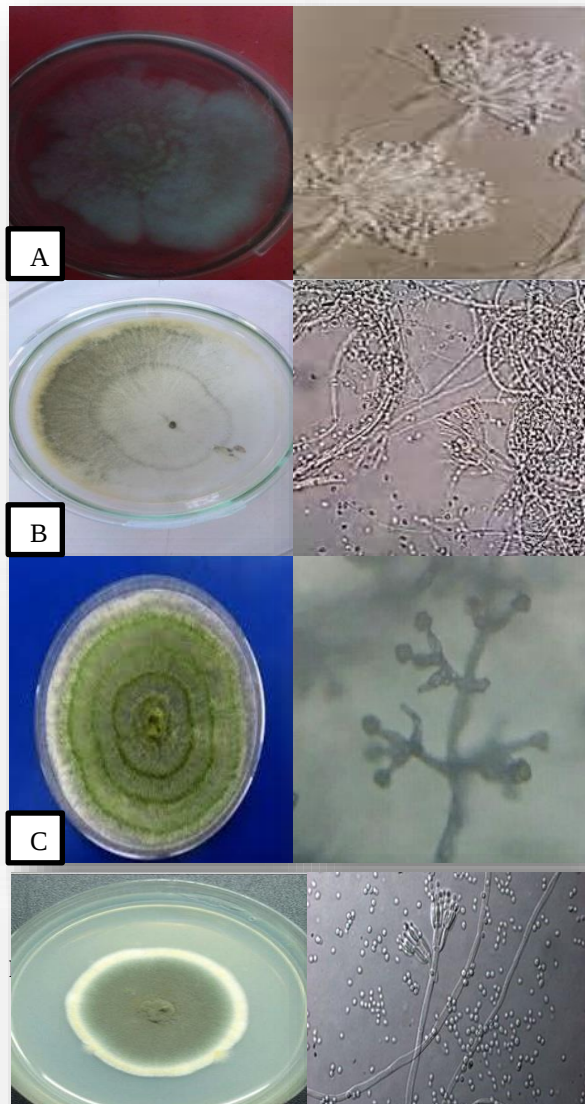
Gambar 1. (A) Koloni *Pyricularia oryzae* (B) Mikroskopis *Pyricularia oryzae* = (1) Hifa *Pyricularia oryzae*, (2) Makrokonidia *Pyricularia oryzae*, (3) Mikrokonidia *Pyricularia oryzae*

Dari pengamatan cendawan *Pyricularia oryzae* secara mikroskopik dapat dilihat bahwa hifa cendawan *Pyricularia oryzae* bersekat (Gambar 1B1). Makrokonidia berbentuk lonjong dan memiliki sekat 1 sampai 2 (Gambar 1B2). Mikrokonidia bersel satu yang berbentuk bulat telur yang merupakan ciri khas cendawan *Pyricularia oryzae* (Gambar 1B3).

2. Karakterisasi Lima Cendawan Endofit

Berdasarkan ciri-ciri yang ada pada (Gambar 2), maka selanjutnya setiap isolat diidentifikasi berdasarkan buku identifikasi Barnett (1960) dan (Domsch dkk.,1980). Hasil identifikasi cendawan endofit berdasarkan buku identifikasi cendawan oleh Barnett (1960) dan (Domsch dkk.,1980) menunjukkan lima isolat cendawan endofit yang berasal dari Kabupaten Bengkulu Tengah di Provinsi Bengkulu yang dikarakterisasi berdasarkan morfologinya menunjukkan perkembangan warna koloni yang berbeda.

Karakter lima isolat cendawan endofit secara mikroskopis yakni bentuk konidiofor, fialid dan konidia disajikan pada (Gambar 2), sebagai berikut :



Gambar 2. Koloni, konidiofor, fialid dan konidia isolat cendawan endofit (A) Isolat CE1 *Aspergillus candidus*. (B) Isolat CE2 *Gliocladium* sp., (C) Isolat CE3 *Trichoderma harzianum*, (D) Isolat CE4 *Penicillium* sp., (E) Isolat CE5 *Nigrospora* sp. (Sumber: Data primer).

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa, isolat kelima cendawan endofit berbeda-beda spesiesnya. Spesies *Aspergillus candidus* menunjukkan bentuk koloni berwarna putih agak kuning. Spesies *Gliocladium* sp. Bentuk koloni berwarna hijau muda. Spesies *Trichoderma harzianum* bentuk koloni berwarna hijau muda. Spesies *Penicillium* sp. bentuk koloni berwarna putih keabu-abuan. Spesies *Nigrospora* sp. bentuk koloni berwarna hitam. Pada media PDA diameter koloni CE1 sampai CE5 mencapai 8-9 cm dalam waktu 6 hari setelah inkubasi. Bentuk hifa bersekat, bentuk konidiofor tegak dan bercabang, fialid pendek ataupun panjang serta tebal dan konidia berbentuk oval.

3. Mekanisme Antagonisme

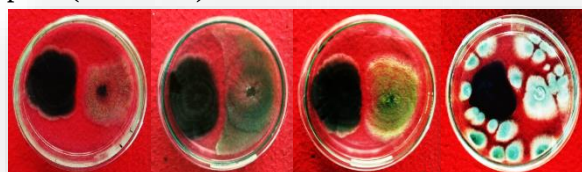
Mekanisme antagonisme merupakan cara kerja antagonis di dalam mengendalikan patogen tanaman. Interaksi antara antagonis dengan patogen dalam satu media dapat terjadi berupa kompetisi memperoleh ruang, nutrisi dan oksigen, antibiosis, serta lisis dan parasitisme. Pengamatan mekanisme antagonisme dilakukan pada hari pertama

dan kedua selama pengamatan belum terjadi mekanisme antagonisme antar kedua cendawan.

Tabel 1. Mekanisme antagonis Cendawan endofit terhadap *Pyricularia oryzae*.

Isolat	Kompetisi ruang, nutrisi, dan oksigen		Antibiosis	Lisis dan paratisme
CE1	+		+	-
CE2	+		+	-
CE3	+		+	-
CE4	+		+	-
CE5	+		+	-

Hasil pengamatan menunjukkan cendawan endofit isolat CE3 mampu tumbuh sangat cepat berkompetisi dalam memperebutkan ruang, nutrisi dan oksigen dengan cendawan *Pyricularia oryzae*. Sebagai akibatnya miselium *Pyricularia oryzae*, serta adanya kemampuan isolat CE3 yaitu *Trichoderma harzianum* dalam memproduksi metabolisme sekunder berupa antibiotik yang bersifat menghambat perkecambahan spora cendawan *Pyricularia oryzae*. Isolat CE1, CE2, CE4, dan CE5 tumbuh dengan cepat tetapi tidak secepat pertumbuhan isolat CE3. Semua isolat CE1 sampai CE5 bersifat positif didalam berkompetisi memperebutkan ruang, nutrisi dan oksigen serta antibiosis. Mekanisme antagonis cendawan endofit terhadap *Pyricularia oryzae* disajikan pada (Gambar 3).



Gambar 3. (A) Kompetisi ruang, nutrisi, dan oksigen tumbuh antara *Trichoderma* (T) dan *F.oxysporum* (F), (B) Antibiosis *Trichoderma*, (C) Lisis dan parasitisme

Pada penelitian ini didapat data lingkungan asal sampel tanaman padi di Pekik Nyaring Kabupaten Bengkulu Tengah yaitu : dari semua perlakuan memiliki rerata PH tanah, suhu tanah, kelembaban tanah, kelembaban udara, suhu udara,

dan ketinggian masing-masing adalah 5,9, 35,6°C, 30%, 69,3%, 33,3°C, dan 30 mdpl.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh 5 spesies cendawan endofit yaitu : *Aspergillus candidus*, *Gliocladium* sp., *Trichoderma harzianum*, *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp.

Isolat yang paling baik uji antagonis nya yaitu pada isolat CE3 *Trichoderma harzianum*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Ir. Tunjung Pamekas, M.Sc selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dalam penulisan dan mensupport dalam skripsi ini.

Kepada bapak Ir. Hartal, MP yang telah menjadi dosen pembimbing pendamping saya yang telah sabar dalam membimbing penulisan skripsi saya.

Terima kasih kepada segenap para dosen-dosen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu yang telah mensupport saya selama menjalani masa skripsi.

Kepada mbak Yani dan pak Zul terima kasih juga telah banyak membantu dalam penelitian saya.

Terima kasih juga kepada adik-adik Proteksi Tanaman yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini serta mas Candra Wahyudi yang selalu memberi suport dalam menyelesaikan skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, N.G. 1988. *Plant Pathology*. Academic Press, University of Florida, USA. p. 198-235.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2018. *Produktivitas Padi di Indonesia 2014-2018*. <http://www.bps.go.id/site/pilihdata>. Diakses 19 November 2019.
- Barnett, H.L. 1960. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Departement of plant pathology, bacteriology, and entomology, west virginia university, Morgantown, West Virginia: 241.

- Bonman, J.M., T.I Vergel De Dios, and M.M. Khin. 1986. *Physiologic specialization of P. oryzae in the Philippines*. Plant Dis. 70:767-769.
- Domsch, K.H., Gams W and Anderson TH. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. London: Academics press.
- Kasijadi; Ali; Yusran; Wahyunindyawati & S Balai. 2007. *Integrasi Berbasis Padi Ternak*.
<http://www.jatim.litbang.deptan.go.id>.
Diakses 14 Agustus 2019.
- Noverita, Fitria D, Sinaga E. 2009. *Isolation and antibacterial activity assay of fungal endophyte of leaves and Rhizome Zingiber ottensii. (in Indonesia)*. Jurnal Farmasi Indonesia: 4: 171 -176.
- Sobrizal, Santoso, Anggiani, and Suwarno. 2007. *Rice blast disease in Indonesia*. p. 71-80. In Yoshimichi Fukuta, Casiana M. Vera Crus and N. Kabayashi (Ed.). A Differential System for Blast Resistance for Stable Rice Production Environment. JIRCAS Working report No. 53. Tsukuba, Japan.
- Saragih, B. 2001. *Pengaruh Pemupukan N, P, K Pada Pertumbuhan Dan Hasil Padi (Oryza sativa L.) Kepras*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Strobel GA. 2004. *Natural Products from Endophyticmicroorganism*. Journal of Natural Products. 67: 257-268.
- Sudir, A Nasution, Santoso, dan B Nuryanto. 2014. *Penyakit blas Pyricularia grisea padatanaman padi dan strategi pengendaliannya Iptek Tanaman Pangan*. 9(2): 85-96.
- Sugandi, Y., B.A. Qirana., dan M.R.A. Firmansyah. 2010. *Arti Penting Keanekaragaman Hayati Bagi Kelangsungan Kehidupan Di Bumi*. (Online). Diunduh dari <http://kakgilang.multiply.com/journal/>.
Diakses 20 Agustus 2019.
- Utami DW, Moeljopawiro S, Aswidinnoor H, Setiawan A, Hanarida I. 2005. *Gen pengendali sifat ketahanan penyakit blas (Pyricularia grisea Sacc.) pada spesies padi liar Oryza rufipogon Griff. dan padi budidaya IR64*. J Agro Biogen. 1(1): 1–6.
- Wang, X, S Lee, J Wang, J Ma, T Bianco, and Y Jia. 2014. *Current advances on genetic resistance to rice blast disease*. Chapter 7 in the management of rice blast disease. Int. J.Agric. Env. Biotech. 5(3):247-251.