

Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Endofit sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Padi terhadap Hawar Daun Bakteri

Isolation, Selection, and Identification of Endophytic Bacteria as Rice Resistance Inducer to Bacterial Leaf Blight

Ida Parida, Tri Asmira Damayanti, Giyanto*
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* menjadi salah satu masalah besar dalam produksi padi di Indonesia. Salah satu upaya pengendalian yang dapat dilakukan ialah dengan pemanfaatan bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan menguji kemampuan bakteri endofit yang diisolasi dari akar, batang, dan daun padi dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit HDB. Hasil seleksi menunjukkan bahwa 370 isolat memiliki viabilitas yang baik dan morfologi koloni yang berbeda. Sebanyak 8 isolat di antaranya mampu menginduksi ketahanan dan 1 isolat mampu memacu pertumbuhan padi di pembibitan. Namun hanya 7 isolat yang tidak menyebabkan reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau. Lebih lanjut, 7 isolat bakteri endofit hasil seleksi diuji kemampuannya dalam menginduksi ketahanan padi pada percobaan rumah kaca dengan pengamatan pada peubah ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, aktivitas enzim peroksidase, periode inkubasi, dan perkembangan penyakit. Tujuh isolat bakteri endofit mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, 4 isolat mampu meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, 4 isolat mampu memperpanjang periode inkubasi, dan 2 isolat dapat menghambat perkembangan penyakit. Hanya bakteri endofit isolat EB4 451 yang secara konsisten dapat menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, memperpanjang periode inkubasi, serta menekan perkembangan penyakit. Isolat EB4 451 telah diidentifikasi berdasarkan sikuen nukleotidanya sebagai *Bacillus subtilis*.

Kata kunci: ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, enzim peroksidase, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

ABSTRACT

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is one of the major problems in rice production in Indonesia. One of the control measures for the disease is by the utilization of endophytic bacteria. This study was aimed to determine the ability of endophytic bacteria isolated from the roots, stems and leaves of rice in inducing plant resistance to bacterial leaf blight on rice. Screening of endophytic bacteria showed that 370 isolates have good viability and have different colony morphology. Among them, 7 isolates were able to induce resistance and 1 isolate was able to promote the growth of rice in the nursery. However, only 8 isolates did not cause hypersensitive reaction on tobacco plants. The selected isolates of endophytic bacteria were further examined for their ability to induce resistance of rice in greenhouse experiments. Observation involved several variables, i.e. *PR1* and *PBZ1* gene expression, peroxidase enzyme activity, incubation period, and disease progression. Seven isolates of endophytic bacteria were able to induce *PR1* and *PBZ1* gene expression, 4 isolates were able to increase peroxide enzyme activity, 4 isolates could prolong the incubation period, and 2 isolates can inhibit the development of disease. However, only EB4 451 isolate was consistently able to induce *PR1* and *PBZ1*

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Dramaga IPB, Bogor 16680
Tel: +62251-8629364, Faks:+62251-8629362, Surel: giyanto2@yahoo.com

gene expression, increased peroxide enzyme activity, prolonged incubation period, and suppressed the progression of the disease. The EB4 451 isolate was identified based on nucleotide sequence as *Bacillus subtilis*.

Key words: peroxidase, *PR1* and *PBZ1* gene expression, *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*

PENDAHULUAN

Hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* menyebabkan kehilangan hasil antara 20% dan 30%, bahkan dapat mencapai 50% (Verdier *et al.* 2011). Gejala yang ditimbulkan ialah kresak dan hawar pada daun. Patotipe III, IV, dan VIII merupakan patotipe yang mendominasi diantara 12 patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* yang ada di Indonesia (Sudir *et al.* 2009).

Bakteri endofit dapat mengkolonisasi bagian internal jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan pada inangnya (Ryan *et al.* 2007). Salah satu mekanisme bakteri endofit dalam pengendalian patogen tanaman dapat melalui *induced systemic resistance* (ISR). Kemampuan ISR bakteri endofit *Pseudomonas fluorescens* G8-4 pertama kali diketahui pada tahun 1991 menginduksi ketahanan mentimun terhadap penyakit antraknosa (Wei *et al.* 1991). *Bacillus pumilus* INR7 dapat meningkatkan ketahanan mentimun terhadap penyakit layu yang disebabkan *Erwinia tracheiphila* (Wei *et al.* 1996), *B. subtilis* meningkatkan ketahanan tomat terhadap *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Zehnder *et al.* 2000), dan beberapa bakteri endofit dapat meningkatkan ketahanan bawang merah terhadap penyakit HDB (Resti *et al.* 2013). Pada padi, induksi ketahanan tanaman terhadap HDB baru diteliti menggunakan rizobakteri sekitar perakaran (Khaeruni *et al.* 2014). Penelitian ini bertujuan menguji kemampuan bakteri endofit asal tanaman padi sehat sebagai agens penginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit HDB.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Bakteri Endofit

Sampel tanaman padi sehat diambil dari daerah Sleman (Yogyakarta), Subang (Jawa Barat), dan Barito Kuala (Kalimantan

Selatan). Isolasi bakteri endofit mengikuti metode Munif *et al.* (2012) dengan modifikasi pada tahap sterilisasi permukaan. Sebanyak 0.1 mL ekstrak dari pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} disebar pada medium *tryptic soy agar* (TSA) 5%, TSA 100%, *nutrient agar* (NA), King's B 100%, *water-yeast extract-agar* (WYE), dan *casamino acids yeast extract dextrose agar* (YCED) (Schaad *et al.* 2000). Semua isolat diuji viabilitasnya dengan cara disimpan dalam air steril selama 1 bulan dan ditumbuhkan kembali pada medium yang sama. Bakteri endofit yang tumbuh dalam air steril diamati ciri morfologi koloninya (seperti warna, bentuk, tepian, dan elevasi).

Uji Induksi Ketahanan dan Pemacu Pertumbuhan.

Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan, dan setiap ulangan terdiri atas 1 tanaman padi. Perlakuan yang diuji ialah bakteri endofit hasil uji viabilitas dan morfologi koloni diseleksi berdasarkan pengaruhnya terhadap induksi ketahanan dan pemacu pertumbuhan padi di pembibitan.

Benih padi varietas Ciherang disterilkan permukaannya dengan perendaman dalam air steril suhu 55 °C selama 20 menit. Selanjutnya benih direndam dalam suspensi bakteri endofit selama 13 jam dan ditanam pada medium pasir dan kompos (1:1 (v/v)), kemudian ditempatkan dalam ruang tumbuh. Setelah berumur 3 minggu, bagian ujung daun kedua dipotong menggunakan gunting yang telah dicelupkan dalam suspensi *X. oryzae* pv. *oryzae* patotipe IV dalam medium Wakimoto cair dengan kerapatan 10^8 sel mL⁻¹.

Uji Reaksi Hipersensitif

Isolat bakteri endofit hasil seleksi di pembibitan diuji reaksi hipersensitifnya pada daun tembakau 'White Barley' umur 2 bulan.

Pengujian mengikuti metode yang dilakukan oleh Wahyudi *et al.* (2011). Gejala diamati maksimal 24 jam setelah inokulasi.

Aplikasi Bakteri Endofit terhadap Karakter ISR

Bibit padi varietas Ciherang yang berumur 2 minggu dipindah tanam pada tanah sawah steril dalam ember berukuran 13.5 cm × 11.5 cm. Pemupukan dilakukan berdasarkan dosis anjuran (Sasmita *et al.* 2006).

Tujuh bakteri endofit yang diuji ialah isolat EA2 154, EB3 307, EB4 451, EB4 452, EB6 748, ED1 63, dan ED4 467 yang disuspensikan dalam medium *luria bertani*. Bakteri endofit diaplikasikan pada 3 waktu aplikasi yang berbeda untuk melihat pengaruhnya terhadap induksi ketahanan, yaitu aplikasi bakteri endofit pada benih (W1), aplikasi bakteri endofit pada benih dan 4 MST (W2), dan aplikasi bakteri endofit pada benih, 4, dan 6 MST (W3). Inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dilakukan pada akhir masa vegetatif (6 MST) dengan cara yang sama seperti pada percobaan di pembibitan. Jumlah anakan yang digunting untuk setiap unit tanaman ialah 5 anakan, selanjutnya tanaman disungkup selama 3 hari. Setiap perlakuan terdiri atas 1 unit tanaman dan diulang 3 kali.

Peubah yang diamati terdiri atas ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, aktivitas enzim peroksidase, periode inkubasi, dan perkembangan penyakit. Ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1* dianalisis dengan teknik RT-PCR mengacu pada metode Kurnianingsih (2008). Isolasi RNA total dilakukan dari 0.1 g bagian daun tanaman yang diberi perlakuan bakteri endofit sebelum dan setelah diinokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* menggunakan *peqGOLD Plant RNA kit* (peqlab). Amplifikasi gen *PR1* dan *PBZ1* menggunakan *TransScript™ II One-Step RT-PCR SuperMix* (TransGen Biotech). Amplifikasi gen *PR1* menggunakan primer spesifik *PR1* dengan target amplicon berukuran ± 523 pb; sedangkan amplifikasi gen *PBZ1* menggunakan primer spesifik *PBZ1* dengan target amplicon berukuran ± 900 pb (Midoh dan Iwata 1996). Intensitas DNA gen *PR1* dan *PBZ1* diukur menggunakan

perangkat lunak ImageJ (Abramoff *et al.* 2004).

Analisis aktivitas enzim peroksidase dilakukan pada 2 hari setelah inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae*. Analisis menggunakan metode yang digunakan oleh Damayanti *et al.* (2007). Lama periode inkubasi diamati setiap hari setelah inokulasi patogen. Pengamatan berhenti setelah muncul gejala pertama pada setiap unit percobaan. Perkembangan penyakit diamati dengan menghitung panjang hawar setiap hari dan berhenti setelah gejala hawar sampai pada pangkal daun. Nilai keparahan penyakit dihitung dengan skor kerusakan daun berdasarkan sistem evaluasi baku *Standard Evaluation System for Rice* (IRRI 1996). Kategori serangan *X. oryzae* pv. *oryzae* yang digunakan, yaitu skor 0, tidak ada gejala; 1, skala kerusakan 1–5%; 3, skala kerusakan 6–12%; 5, skala kerusakan 13–25%; 7, skala kerusakan 26–50% dan; 9, skala kerusakan 51–100%. Data keparahan penyakit dianalisis menggunakan formula *Area Under Disease Progress Curve* (AUDPC) (Van der Plank 1963).

$$\text{AUDPC} = \sum_i^{n-1} \left[\frac{R_i + R_{i+1}}{2} \right] \times (t_{i+1} - t_i), \text{ dengan}$$

R_i , keparahan penyakit waktu i ; t_i , waktu ke- i .

Penelitian ini disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan faktor pertama ialah 7 isolat bakteri endofit dan faktor kedua ialah waktu aplikasi bakteri endofit.

Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

Identifikasi bakteri endofit yang mampu menginduksi ketahanan tanaman dilakukan berdasarkan runutan gen 16S rRNA. Isolasi DNA total menggunakan *GeneJET Genomic DNA purification Kit* (Thermo Scientific). Amplifikasi DNA kromosom dengan teknik PCR menggunakan sepasang primer general 16S rRNA untuk prokariot, yaitu 27 F dan 1492R yang digunakan Lane (1991) dengan target amplicon ± 1500 pb. Sekuen parsial nukleotida yang diperoleh dibandingkan dengan sekuen di NCBI Genbank dengan perangkat lunak *basic local alignment search tool* (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

HASIL

Isolasi Bakteri Endofit

Hasil isolasi diperoleh sebanyak 594 isolat bakteri endofit, diantaranya dari bagian akar 225 isolat (38%), dari bagian batang 236 isolat (40%), dan dari bagian daun 133 isolat (22%). Hasil seleksi berdasarkan uji viabilitas dan morfologi koloni menyisakan 370 isolat bakteri endofit. Ciri morfologi seperti warna, bentuk, tepian, dan elevasi dari masing-masing isolat berbeda satu sama lain.

Hasil pengujian di pembibitan terhadap 370 isolat bakteri endofit diperoleh 9 isolat potensial. Delapan diantaranya mampu menginduksi ketahanan dengan cara menekan perkembangan gejala hawar (Gambar 1), dan 1 isolat, yaitu ED1 63 memengaruhi tinggi tanaman paling baik (tinggi tanaman = 26.53 cm) dibandingkan dengan semua isolat yang diujikan. Hasil uji reaksi hipersensitif terhadap 9 isolat menunjukkan bahwa 7 isolat tidak bersifat patogen tumbuhan. Ketujuh isolat tersebut adalah EA2 154, EB3 307, EB4 451, EB4 452, EB6 748, ED1 63, dan ED4 467.

Aplikasi Bakteri Endofit terhadap Karakter ISR

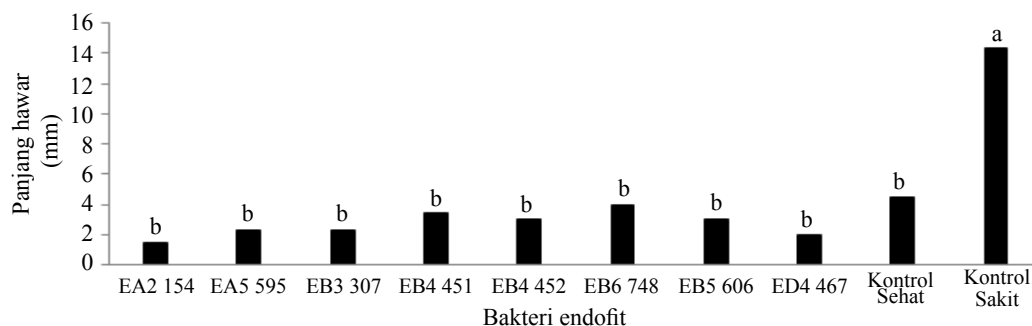
Tujuh isolat bakteri endofit mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* pada saat sebelum inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dengan intensitas ekspresi yang berbeda-beda (Gambar 2). Ketujuh isolat tersebut konsisten mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* baik pada perlakuan W1, W2, maupun W3. Intensitas ekspresi gen *PR1* pada W1 yang paling tinggi

ialah pada perlakuan EB4 452, yaitu mencapai 28% dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya. Perlakuan bakteri endofit saja sudah mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* (Gambar 2a-c). Hal ini menunjukkan bahwa rangsangan yang diberikan oleh bakteri endofit sudah mampu mengaktifkan sistem pertahanan tanaman, khususnya ekspresi gen *PR1*; sedangkan, ekspresi gen *PR1* cenderung mengalami peningkatan pada saat setelah inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* kecuali perlakuan ED1 63 pada W3 (Gambar 2d-f).

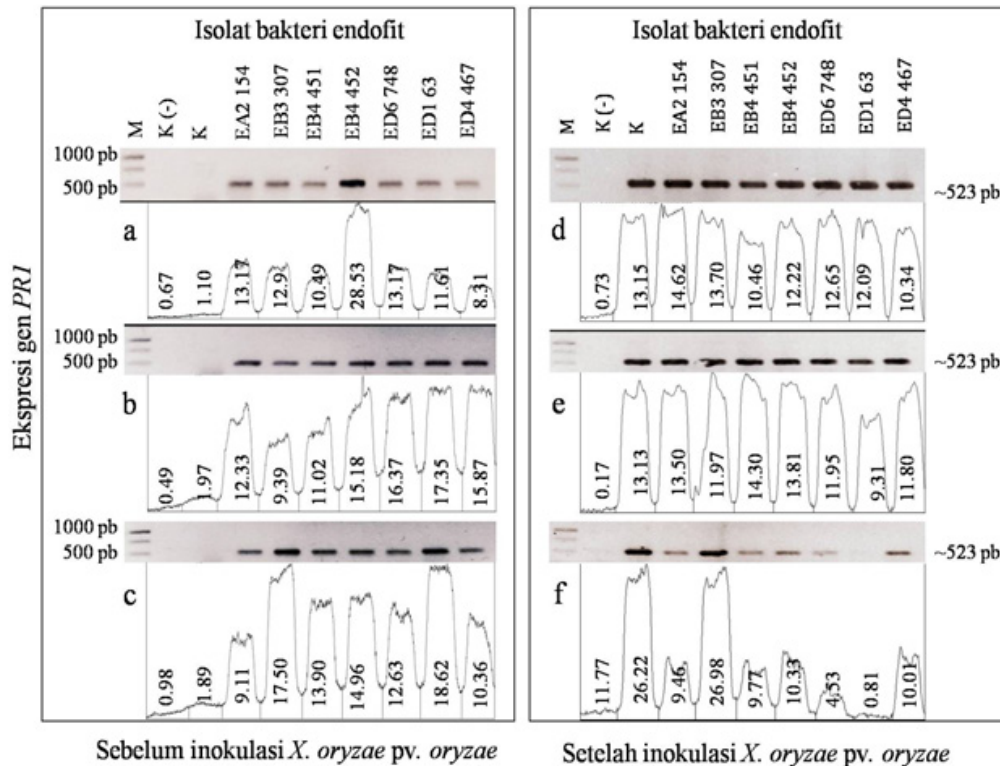
Perlakuan bakteri endofit yang mampu menginduksi ekspresi gen *PBZ1* pada saat sebelum inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* ialah EA2 154, EB3 307, EB4 451, EB4 452 pada W1, W2, dan W3, serta EB6 748, ED1 63, dan ED4 467 pada W2 dan W3 dengan intensitas ekspresi yang berbeda-beda (Gambar 3a-c). Sama halnya dengan ekspresi gen *PR1*, ekspresi gen *PBZ1* juga cenderung mengalami peningkatan setelah inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* (Gambar 3d-f). Bakteri endofit yang secara konsisten mampu menginduksi ekspresi gen *PBZ1* pada sebelum maupun setelah inokulasi adalah EA2 154, EB3 307, EB4 451, dan EB4 452.

Aktivitas enzim peroksidase

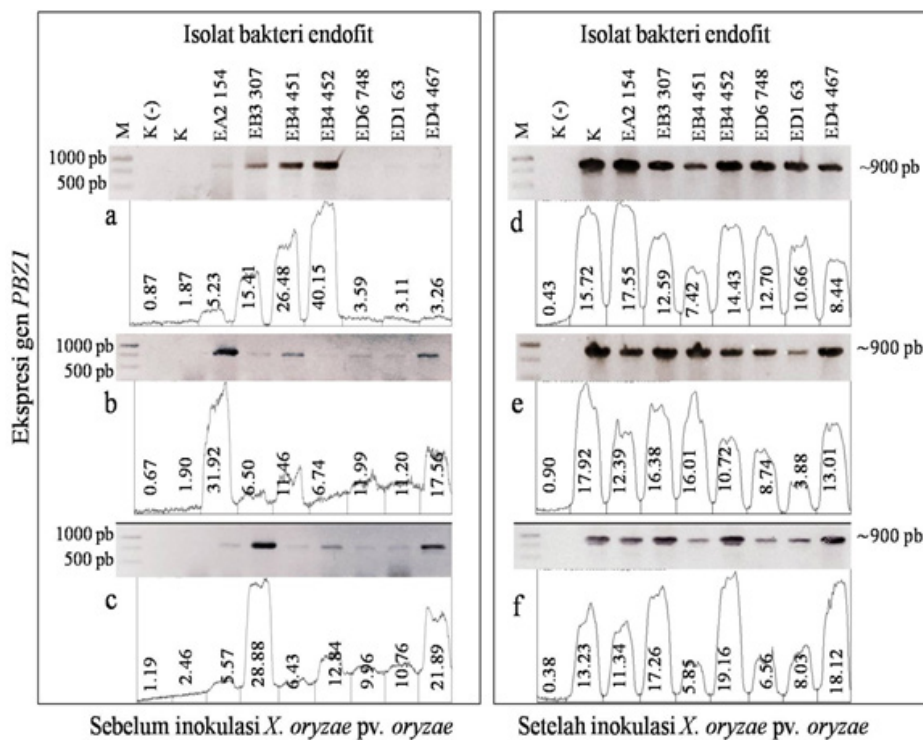
Waktu aplikasi yang berbeda cenderung memengaruhi aktivitas enzim peroksidase. Aktivitas enzim peroksidase dari awal sampai akhir pengamatan cenderung mengalami peningkatan. Perlakuan yang memengaruhi aktivitas enzim peroksidase ialah EB4 451, EB4 452, EB6 748, dan ED1 63 pada W1,



Gambar 1 Pengaruh perlakuan bakteri endofit terhadap rata-rata panjang hawar daun bakteri di pembibitan. Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.



Gambar 2 Ekspresi gen PR1 berdasarkan hasil RT-PCR pada perlakuan bakteri endofit sebelum dan setelah inokulasi *X. oryzae pv. oryzae*. a dan d, perlakuan bakteri endofit pada benih saja; b dan e, perlakuan bakteri endofit pada benih dan 4 MST; c, dan f, perlakuan bakteri endofit pada benih, 4 dan 6 MST.



Gambar 3 Ekspresi gen PBZ1 berdasarkan hasil RT-PCR pada perlakuan bakteri endofit sebelum dan setelah inokulasi *X. oryzae pv. oryzae*. a dan d, perlakuan bakteri endofit pada benih saja; b dan e, perlakuan bakteri endofit pada benih dan 4 MST; c, dan f, perlakuan bakteri endofit pada benih, 4 dan 6 MST.

serta EB4 451, EB4 452, EB6 748, dan ED4 467 pada W2. Rata-rata nilai absorbansi setiap perlakuan berkisar antara 0.15 sampai 0.3, kecuali EA2 154 dan EB3 307 (Gambar 4).

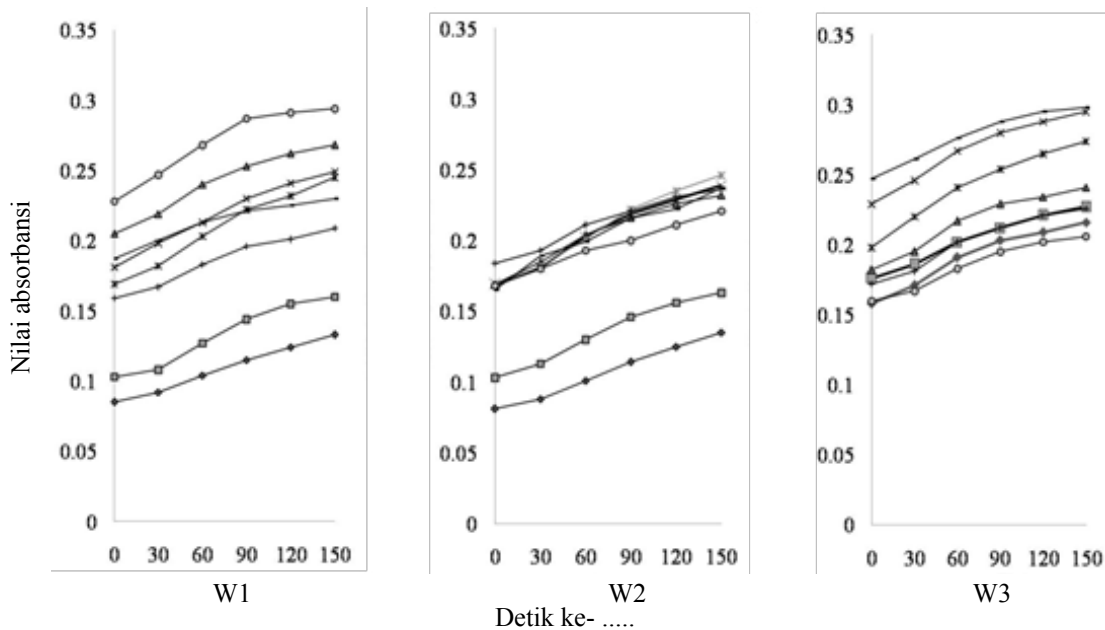
EA2 154 pada W2, EB4 451 pada W1 dan W2, serta EB6 748 pada W2 dengan rata-rata lama periode inkubasi berkisar antara 7 sampai 8 hari (Gambar 5).

Periode Inkubasi

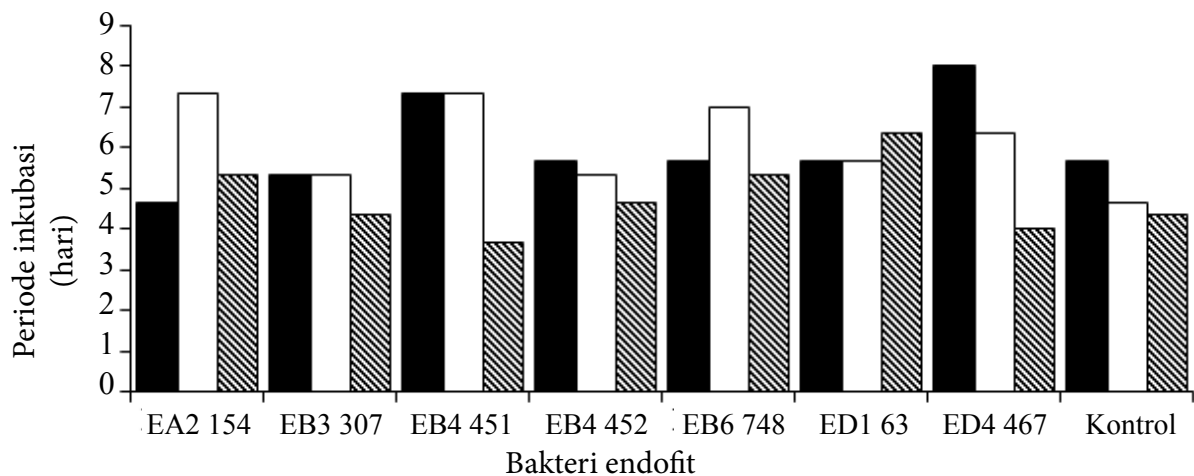
Faktor waktu aplikasi, isolat, dan interaksi antara waktu aplikasi dan isolat tidak berpengaruh nyata terhadap periode inkubasi HDB. Periode inkubasi penyakit yang lebih panjang ialah perlakuan ED4 467 pada W1,

Perkembangan Penyakit

Interaksi antara faktor waktu aplikasi dan isolat berpengaruh nyata terhadap perkembangan penyakit. Hasil uji beda nyata menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan yang memengaruhi perkembangan



Gambar 4 Aktivitas enzim peroksidase pada 3 waktu aplikasi bakteri endofit. W1, perlakuan bakteri endofit pada benih saja; W2, perlakuan bakteri endofit pada benih dan 4 MST; W3, perlakuan bakteri endofit pada benih, 4 dan 6 MST. ◆, EA2 154; ■, EB3 307; ▲, EB4 451; ✕, EB4 452; ✖, EB6 748; ○, ED1 63; +, ED4 467 dan; —, Kontrol.



Gambar 5 Pengaruh perlakuan bakteri endofit terhadap periode inkubasi hawar daun bakteri. ■ (W1), perlakuan bakteri endofit pada benih saja; □ (W2), perlakuan bakteri endofit pada benih dan 4 MST ; ▨ (W3), perlakuan bakteri endofit pada benih, 4 dan 6 MST.

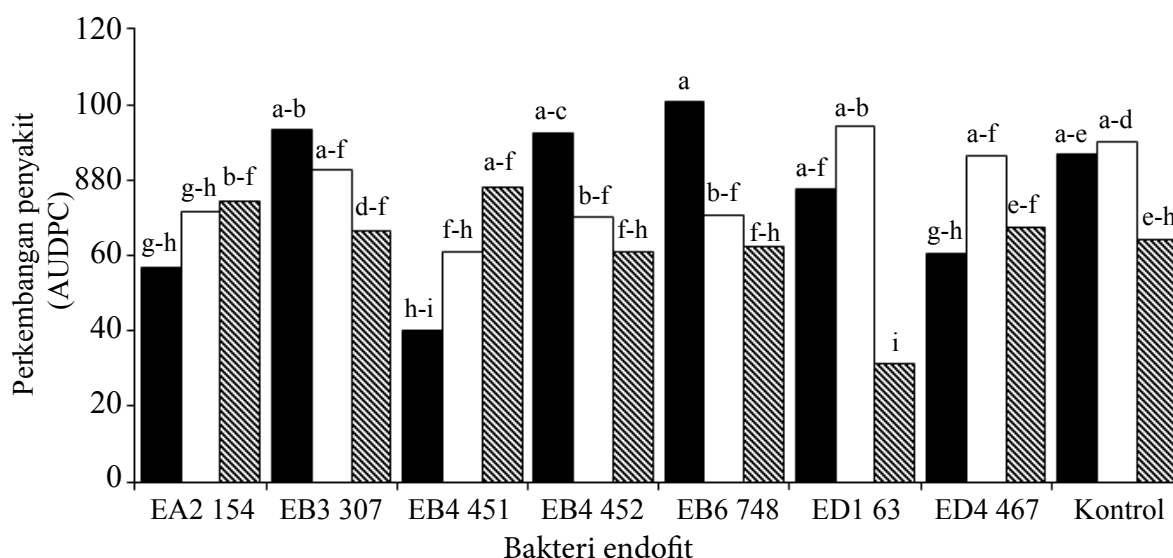
penyakit terendah ialah ED1 63 pada W3. Perkembangan penyakit pada perlakuan ini berbeda nyata dengan perlakuan lain kecuali dengan perlakuan EB4 451 pada W1 (Gambar 6).

Berdasarkan hasil seleksi dan pengujian di rumah kaca terhadap beberapa parameter induksi ketahanan seperti ekspresi gen *PRI* dan *PBZI*, aktivitas enzim peroksidase, periode inkubasi, serta perkembangan penyakit diketahui bahwa 7 isolat bakteri endofit yang diujikan mampu menginduksi ekspresi gen *PRI* dan *PBZI*, serta 4 isolat (EB4 451, EB4 452, EB6 748, dan ED1 63) diantaranya mampu meningkatkan aktivitas enzim peroksidase. Selain itu terdapat 4 isolat bakteri endofit (EA2 154, EB4 451, EB6 748, dan ED4 467) yang mampu memperpanjang

periode inkubasi, dan 2 isolat (EB4 451 dan ED1 63,) yang dapat menghambat perkembangan penyakit. Namun diantara 7 isolat yang diujikan tersebut, hanya isolat EB4 451 yang paling konsisten menginduksi ketahanan tanaman dibandingkan isolat lainnya. Isolat ini mampu menghambat gejala hawar akibat inokulasi *X. oryzae* pv *oryzae* di pembibitan, menginduksi ekspresi gen *PRI* dan *PBZI*, meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, memperlambat periode inkubasi, dan menghambat perkembangan penyakit di rumah kaca.

Identifikasi Bakteri Endofit Potensial

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa EB4 451 memiliki kemiripan 98% dengan *Bacillus subtilis* (Tabel 1).



Gambar 6 Pengaruh perlakuan bakteri endofit terhadap perkembangan penyakit hawar daun bakteri. ■ (W1), perlakuan bakteri endofit pada benih saja; □ (W2), perlakuan bakteri endofit pada benih dan 4 MST; ▨ (W3), perlakuan bakteri endofit pada benih, 4 dan 6 MST. Huruf yang sama pada diagram dengan tipe arsiran yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Tabel 1 Tingkat kemiripan basa nukleotida 16S rRNA isolat EB4 451 dengan isolat *Bacillus subtilis* yang terdaftar pada GenBank berdasarkan hasil BLAST

Spesies	Galur	Asal	Query cover (%)	Identitas (%)	No. Akses
<i>Bacillus subtilis</i>	LZHC10	Cina	100	98	GQ861469.1
<i>Bacillus subtilis</i>	j8	Cina	100	98	HQ166109.1
<i>Bacillus subtilis</i>	EB41	Cina	99	98	JX683721.1
<i>Bacillus subtilis</i> sub sp. <i>subtilis</i>	WSR-KSU310	Saudi Arabia	99	98	HM753632.1

PEMBAHASAN

Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, dan daun tanaman padi. Menurut Rosenblueth dan Martinez-Romero (2004) akar umumnya merupakan bagian yang paling banyak dikolonisasi bakteri endofit dibandingkan dengan bagian tanaman lain yang berada di atas permukaan tanah. Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit asal padi cenderung lebih banyak terisolasi dari bagian batang dibandingkan akar dan daun. Menurut Reinhold-Hurek dan Hurek (1998) batang juga merupakan bagian yang banyak dikolonisasi bakteri endofit terutama pada bagian pembuluh xilem. Bakteri endofit mengkolonisasi jaringan inang melalui celah atau luka yang terbentuk saat munculnya akar lateral atau zona pemanjangan akar serta diferensiasi akar dan selanjutnya menyebar ke bagian tanaman yang lain seperti batang dan daun.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1* pada saat sebelum terjadi infeksi patogen *X. oryzae* pv. *oryzae*. Berdasarkan informasi ini dapat diketahui bahwa perlakuan beberapa bakteri endofit pada W1, yaitu aplikasi bakteri endofit pada benih saja sudah cukup untuk menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*. Hal ini berkaitan dengan kecepatan ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*. Menurut Kurnianingsih (2008) kecepatan ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1* sangat berperan dalam sistem pertahanan padi terhadap *P. grisea*. Diduga hal yang sama juga terjadi terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae*. Aktifnya gen ketahanan yang lebih cepat bermanfaat untuk mengatasi penyakit HDB sejak awal infeksi. Bakteri endofit mampu menginduksi aktifnya kedua gen ketahanan tanaman sebelum infeksi *X. oryzae* pv. *oryzae* sehingga saat diinfeksi patogen, tanaman lebih siap mengatasinya yang ditunjukkan dengan periode inkubasi yang lebih panjang dan penghambatan perkembangan penyakit.

Menurut Heldt (2005) enzim peroksidase berperan sebagai enzim yang mereduksi H₂O₂ yang merupakan kelompok senyawa peroksida

menjadi air (H₂O) yang tidak lagi beracun bagi tanaman. Umumnya enzim peroksidase pada tanaman terdapat dalam membran tilakoid dan berfungsi sebagai antioksidan pada sel tanaman. Secara umum aktivitas enzim peroksidase pada perlakuan bakteri endofit tidak terlalu berbeda nyata dengan kontrol kecuali pada beberapa perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan ketahanan tanaman akibat perlakuan bakteri endofit tidak selalu berasosiasi dengan peningkatan aktivitas enzim peroksidase. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Syukur *et al.* (2009) pada tanaman cabai yang mengalami peningkatan ketahanan terhadap penyakit antraknosa, tetapi peningkatan ketahanan tersebut tidak berasosiasi dengan peningkatan aktivitas enzim peroksidase.

Selain mampu menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1* serta meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, perlakuan bakteri endofit juga mampu memperpanjang periode inkubasi dan menghambat perkembangan keparahan penyakit HDB. Semakin panjang periode inkubasi dan terhambatnya perkembangan keparahan penyakit menunjukkan tanaman semakin tahan terhadap penyakit HDB.

Diantara beberapa bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini, diperoleh satu isolat yang potensial sebagai penginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit HDB, yaitu EB4 451. Hasil identifikasi molekuler diketahui bahwa EB4 451 ialah *B. subtilis*. Bakteri endofit ini dapat menghambat gejala hawar di pembibitan, menginduksi ekspresi gen *PR1* dan *PBZ1*, meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, memperpanjang periode inkubasi, dan menghambat perkembangan keparahan penyakit HDB di rumah kaca. *B. subtilis* dilaporkan dapat menginduksi ketahanan *Arabidopsis thaliana* terhadap *P. syringae* (Ryu *et al.* 2003) dan tomat terhadap infeksi CMV (Zehnder *et al.* 2000). Berdasarkan penelitian ini *B. subtilis* mampu menginduksi ketahanan padi terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* dan dapat dipertimbangkan sebagai agens hayati untuk pengendalian HDB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Program KKP3N, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian atas pendanaan penelitian ini sebagai bagian dari kerjasama dengan nomor kontrak: 50/PL.220/I.1/2014. K10, serta beasiswa pendidikan dari Provinsi Jawa Barat dengan nomor kontrak: 073/08/Yansos dan 1683/IPB/DL/2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramoff MD, Magalhaes PJ, Ram SJ. 2004. Image processing with image. *J Biophoto Inter.* 11(7):36–42.
- Damayanti TA, Pardede H, Mubarik NR. 2007. Utilization of root-colonizing bacteria to protect hot-pepper against *Tobacco Mosaic Virus*. *Hayati.* 14(3):105–109.
- Heldt HW. 2005. *Plant Biochemistry*. Ed ke-3. California (US): Elsevier Academic Press.
- IRRI [International Rice Research Institut]. 1996. *Standard Evaluation System for Rice*. Ed ke-4. Manila (PH): International Rice Research Institut. hlm 52.
- Khaeruni A, Rahim A, Syair, Adriani. 2014. Induksi ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi di lapangan menggunakan rizobakteri indigenos. *J HPT Tropika.* 14(1):57–63.
- Kurnianingsih R. 2008. Ekspresi Gen *PR1* dan *PBZ1* yang terlibat dalam sistem toleransi tanaman padi terhadap penyakit blas (isolat 173) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lane DJ. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Stackebrandt E, Goodfellow M, editor. New York (US): John Wiley and Sons. hlm 115–175.
- Midoh N, Iwata M. 1996. Cloning and characterization of a probenazole inducible gene for an intraseluler *pathogenesis related* protein in rice. *Plant Cell Physiol.* 37(1):9–18. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a028918>.
- Munif A, Wiyono S, Suwarno. 2012. Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan. *J Fitopatol Indones.* 8(3):57–65.
- Reinhold-Hurek B, Hurek T. 1998. Interactions of gramineous plants with *Azoarcus* spp. and other diazotrophs: Identification, localization, and perspectives to study their function. *Crit Rev Plant Sci.* 17(1):29–54. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0735-2689\(98\)00355-4](https://doi.org/10.1016/S0735-2689(98)00355-4).
- Resti Z, Habazar T, Putra DP, Nasrun. 2013. Skrining dan identifikasi isolat bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada bawang merah. *J HPT Tropika.* 13(2):167–178.
- Rosenblueth M, Martinez-Romero E. 2004. *Rhizobium etli* maize populations and their competitiveness for root colonization. *Arch Microbiol.* 181(5):337–344. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-004-0661-9>.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. 2007. Bacterial endophytes: recent developments and application. [ulasan]. *FEMS Microbiol Lett,* 278(2008):1–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x>.
- Ryu C-M, Hu C-H, Reddy MS, Kloepper JW. 2003. Different signaling pathways of induced resistance by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana* against two pathovars of *Pseudomonas syringae*. *New Phytol.* 160:413–420. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00883.x>.
- Sasmita P, Purwoko BS, Sujiprihati S, Hanarida I, Dewi IS, Chozin MA. 2006. Evaluasi pertumbuhan dan produksi padi gogo haploid ganda toleran naungan dalam sistem tumpang sari. *Bul Agron.* 34(2):79–86.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2000. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Minnesota (US): APS Press.
- Sudir, Triny SK, Suprihanto. 2009. Identifikasi patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri padi di sentra produksi padi di Jawa. *J Litbang Tanaman Pangan.* 28(3):131–138.
- Syukur M, Sujiprihati S, Koswara J. 2009. Ketahanan terhadap Antraknosa yang

- Disebabkan oleh *Colletotrichum acutatum* pada Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum annuum* L.) dan Korelasinya dengan Kandungan Kapsaicin dan Peroksidase. J Agro Indones. 37(3):233 – 239.
- Van der Plank JE. 1963. *Plant Disease: Epidemics an Control*. London (UK): Academic Pr.
- Verdier V, Cruz CV, Leach JE. 2011. Controlling rice bacterial blight in Africa: needs and prospects. J Biotech. 159(4):320–328. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.020>.
- Wahyudi AT, Meniah S, Nawangsih AA. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. Makara Sains. 15(1):89–96.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology. 81:1508–1512. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-81-1508>.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. Phytopathology. 86:221–224. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-86-221>.
- Zehnder GW, Yao C, Murphy JF, Sikora EJ, Kloepper JW. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. BioControl. 45(1):127–137. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1009923702103>.