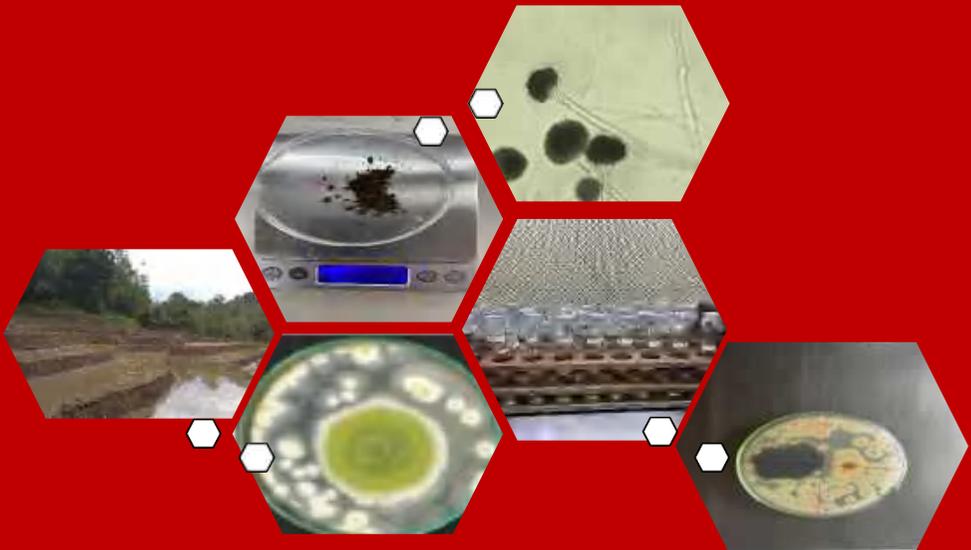


**ISOLASI CENDAWAN RHIZOSFER PADA TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa* L.) SERTA UJI ANTAGONISME TERHADAP PATOGEN  
*PYRICULARIA ORYZAE* SECARA *IN VITRO***



**ALIYA NAFISA DARWIS  
G011181394**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



**Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)**

**ISOLASI CENDAWAN RHIZOSFER PADA TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa L.*) SERTA UJI ANTAGONISME TERHADAP PATOGEN  
*PYRICULARIA ORYZAE* SECARA *IN VITRO***

**ALIYA NAFISA DARWIS**

**G011181394**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
DEPARTEMEN ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



ISOLASI CENDAWAN RHIZOSFER PADA TANAMAN PADI  
(*Oryza sativa* L.) SERTA UJI ANTAGONISME TERHADAP PATOGEN  
PYRICULARIA ORYZAE SECARA IN VITRO

Aliya Nsfisa Darwis

G011181394

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Pertanian

Pada

Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan

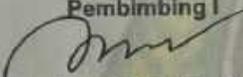
Fakultas Pertanian

Universitas Hasanuddin

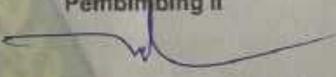
Makassar

Menyetujui :

Pembimbing I

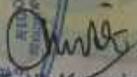
  
Dr. Muh. Junaid SP.MP.,Ph.D  
NIP. 19761231 200812 1 004

Pembimbing II

  
Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana M. Sc  
NIP. 19570706 198130 1 009

Mengetahui :

Ketua Departemen Hama dan Penyakit  
Tumbuhan,

  
Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc  
NIP. 19650316198903 2 002

Makassar, Juni 2024



**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Isolasi Cendawan Rhizosfer Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Serta Uji Antagonisme Terhadap Patogen *Pyricularia oryzae* Secara In Vitro**

Disusun dan dijabarkan oleh

**AliyaNafisa Darwis**

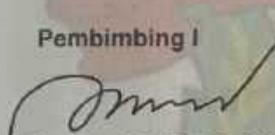
**G011181394**

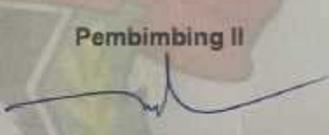
Telah Dipertahankan Di hadapan Panitia Yang Dibentuk Dalam Rangka Penyelesaian Masa Studi Program Sarjana, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin Makassar 2024 Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat Kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing I

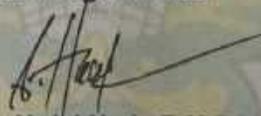
Pembimbing II

  
Dr. Muh. Junaid SP.MP.,Ph.D  
NIP. 19761231 200812 1 004

  
Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana M. Sc  
NIP. 19570706 198130 1 009

Diketahui oleh:

Ketua Program Studi

  
Dr. Ir. Abdul Haris B.M.S.i  
NIP. 19670811 199403 1 003

us: Juni 2024



**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI  
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini, saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul "**Isolasi Cendawan Rhizosfer Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Serta Uji Antagonisme Terhadap Patogen *Pyricularia oryzae* Secara *In Vitro***" merupakan karya saya dengan arahan tim pembimbing, belum pernah serta tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Saya menyatakan bahwa, semua sumber informasi yang digunakan telah disebutkan di dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

Makassar Juni 2024



Aliya Nafisa Darwis



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kita panjatkan atas kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, atas berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul "**Isolasi Cendawan Rhizosfer Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Serta Uji Antagonisme Terhadap Patogen *Pyricularia oryzae* Secara *In Vitro***". Shalawat dan salam kepada Rasulullah Shallallahu Alaihi Wasallam yang senantiasa menjadi sumber inspirasi dan teladan terbaik untuk umat manusia. Penyusunan skripsi ini merupakan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan meraih gelar sarjana.

Ucapan terima kasih kepada bapak Dr. Muh. Junaid SP.MP.,Ph.D dan bapak Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan ilmu, arahan dan waktu selama penelitian hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih juga kepada bapak Prof. Dr. Ir. Andi Nasruddin, M. Sc., bapak Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin, dan ibu Prof. Dr. Ir. Itji Diana Daud, M. S sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat bermanfaat.

Terima kasih kepada staf Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, dan karyawan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Bapak Ardan, Bapak Kamaruddin, dan Pak Ahmad, Ibu Rahmatiah dan Ibu Nurul yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan, membantu dalam bidang administrasi serta akademik. Terima kasih juga kepada teman-teman seperjuangan Andi Sartika Indah, Radhiya Tzabitah Rusdi, Dzahra Amalia Bogra, Arifah Fitriani Indra Ramadhani, Munirah, Azizah Mukhlisa, Tasya Saphira Trimulya, Nur Alifah Sabna Muhras, Elvira Ananda Harun, Fakhira Anistari Utami, Fitriyana yang selalu ada dan telah berjuang dari awal hingga akhir perkuliahan. Teman-teman sesama pembimbing Renaldy Maripi, Arina, Siti Nurhalisa, atas bantuan kerja sama selama proses penelitian dan tak hentinya memberikan semangat dan motivasi. Teman-teman angkatan H18BRIDA (Agroteknologi 2018) dan Diagnos18 (HPT 2018) yang telah membantu selama masa kuliah serta terima kasih atas kebersamaannya dari awalkuliah hingga sarjana.

Terima kasih juga kepada semua pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebut satu persatu. Akhir kata, semoga segala bantuan dari kebaikan yang diberikan oleh berbagai alasan yang terbaik dari Tuhan Yang Maha Esa dan ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak serta dunia pendidikan, khususnya dalambidang Pertanian

Aliya Nafisa Darwis



**Isolasi Cendawan Rhizosfer Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Serta Uji Antagonisme Terhadap Patogen *Pyricularia oryzae* Secara *In Vitro***  
**Aliya Nafisa Darwis, Muhammad Junaid, Ade Rosmana**

( ayyadarwis11@gmail.com )

**Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan,  
 Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin**

**ABSTRAK**

Penyakit blas adalah penyakit utama yang menurunkan kualitas dan kuantitas produksi padi yang dapat menyerang pada awal pertumbuhan tanaman fase vegetatif sampai generatif. Pengendalian penyakit blas dapat dilakukan dengan berbagai cara di antaranya dengan teknik budidaya, penanaman varietas tahan, dan penggunaan fungisida. Pengendalian penyakit secara kimiawi yang sering dilakukan petani dengan menggunakan fungisida dapat berdampak buruk bagi keberlangsungan produksi padi karena akan memengaruhi tingginya kadar toksisitas di lingkungan sekitar areal pertanaman. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui berapa persentase hambatan mikroba rhizosfer terhadap patogen *Pyricularia oryzae* dan mengetahui teknik isolasi mikroba rhizosfer dari jaringan tanaman padi dan cara uji daya antagonismenya terhadap patogen *P. oryzae* serta mengetahui mekanisme antagonis dari beberapa mikroba rhizosfer asal tanaman padi terhadap patogen *P. oryzae*. Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu perlakuan mikroba rhizofer pada tanaman padi masing-masing terdiri dari tiga ulangan dengan tingkat pengenceran  $10^4$ ,  $10^3$ , dan  $10^2$ . Tahapan penelitian ini terdiri dari pemurnian, pengujian antagonisme, pengujian daya hambat, pengamatan mekanisme antagonis meliputi (kompetisi, antibiosis, parasitisme) dan analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh cendawan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan E02 dan E09 teridentifikasi sebagai *Trichoderma* sp., isolat E05 teridentifikasi sebagai *Aspergillus niger*, dan E08 teridentifikasi sebagai *Penicillium* sp. Persentase daya hambat mikroba sebesar 83% yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *P. oryzae*. Mekanisme antagonis yang terjadi yaitu kompetisi pada perlakuan E02, E08, dan E09 serta parasitisme terjadi pada perlakuan E05.

*Aspergillus niger*., Kompetisi, Parasitisme, *Penicillium* sp.,

**ALIYA NAFISA DARWIS / G011181394**



# Isolation of Rhizospheric Fungi in Rice (*Oryza Sativa* L.) and In Vitro Tests for Antagonism Against Pathogen *Pyluclaria Oryzae*

Aliya Nafisa Darwis, Muhammad Junaid, Ade Rosmana

( ayyadarwis11@gmail.com )

Department of Plant Pests and Diseases  
Faculty of Agriculture, Universitas Hasanuddin

## ABSTRACT

Blast disease is the main disease that reduces the quality and quantity of rice production and can attack at the beginning of plant growth in the vegetative to generative phases. Control of blast disease can be done in various ways, including cultivation techniques, planting resistant varieties, and the use of fungicides. Chemical control of the disease which is often carried out by farmers using fungicides can have a negative impact on the sustainability of rice production because it will affect the high levels of toxicity in the environment around the planting area. The aim of this research is to find out the percentage of resistance of rhizosphere microbes to the pathogen *Pyricularia oryzae* and to know the technique for isolating rhizosphere microbes from rice plant tissue and how to test their antagonism against the *P. oryzae* pathogen and to find out the antagonistic mechanism of several rhizosphere microbes from rice plants against the *P. oryzae* pathogen. This research method uses a Completely Randomized Design (CRD), namely the treatment of rhizofer microbes in rice plants, each consisting of three replications with dilution levels of 10<sup>4</sup>, 10<sup>3</sup>, and 10<sup>2</sup>. The stages of this research consist of purification, antagonism testing, microbial identification, inhibition testing, observation of antagonistic mechanisms including (competition, antibiosis, parasitism) and data analysis using *Analysis of Variance* (ANOVA) to determine whether there is an influence of fungi. The results showed that in treatments E02 and E09 were identified as *Trichoderma* sp., isolate E05 was identified as *Aspergillus niger*., and E08 was identified as *Penicillium* sp. The percentage of microbial inhibitory power is 83% which can inhibit the growth of the pathogen *P. oryzae*. The antagonistic mechanisms that occurred were competition in treatments E02, E08 and E09 and parasitism occurred in treatment E05.

**Keywords:** : *Aspergillus niger*, Competition, Parasitism, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp.



ALIYA NAFISA DARWIS/ G011181394

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....	iv
<b>DEKLARASI</b> .....	iii
<b>PERSANTUNAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian .....	3
1.6 Landasan Teori .....	3
1.6.1 Tanaman Padi .....	3
1.6.2 Morfologi Tanaman Padi .....	4
1.6.2.1 Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman Padi .....	5
1.6.2.2 Penyakit Hama dan Penyakit Tanaman Padi .....	5
1.6.2.3 Penyakit Blast (Pyricularia oryzae) .....	5
1.6.2.4 Penyakit Tungro (Mycovirus) .....	5
1.6.2.5 Penyakit Busuk Batang (Pyricularia oryzae).....	8



1.7.2	Gejala Serangan <i>Pyricularia oryzae</i> .....	8
1.7.3	Pengendalian Penyakit Blas .....	10
1.8	Rhizosfer .....	10
<b>BAB II METODE PENELITIAN .....</b>		<b>12</b>
2.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
2.2	Alat dan Bahan.....	12
2.3	Prosedur Penelitian .....	12
2.3.1	Pembuatan media <i>potato dextrosa agar</i> (PDA). .....	12
2.3.2	Isolasi cendawan rizosfer padi.....	12
2.3.3	Pemurnian isolat cendawan rizosfer padi. ....	13
2.3.4	Identifikasi cendawan rizosfer padi. ....	13
2.3.5	Uji Antagonis .....	13
2.4	Parameter Pengamatan.....	14
2.5	Analisis Data .....	15
<b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>16</b>
3.1	Hasil .....	16
3.1.1	Isolasi dan Identifikasi Cendawan <i>Pyricularia oryzae</i> .....	16
3.1.2	Pengujian Daya Hambat.....	21
3.1.3	Pengamatan Mekanisme Antagonis .....	22
3.2	Pembahasan .....	25
<b>BAB IV KESIMPULAN .....</b>		<b>32</b>
4.1	Kesimpulan .....	32
	.....	32
	<b>STAKA .....</b>	<b>33</b>
	<b>GAMBAR .....</b>	<b>36</b>



LAMPIRAN UJI STATISTIK ..... 38



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Cendawan Endofit yang diisolasi dari Rhizosfer Tanaman Padi .....	16
Tabel 2. Daya hambat (%) cendawan rizosfer terhadap <i>Pyricularia oryzae</i> 19	
Tabel 3. Tipe interaksi antagonis cendawan rizosfer padi terhadap <i>Pyricularia oryzae</i> .....	22



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kerangka Pikir Penelitian .....	3
Gambar 2. <i>Prycularia oryzae</i> ; (a) conidia, (b) conidiophores.....	7
Gambar 3. <i>Pyricularia oryzae</i> ; (a, b, c) conidiophores, (d, e) conidia (skala perbesaran mikroskop a, b, c, d, e: 10 $\mu$ m).....	8
Gambar 4. Gejala <i>Pyricularia oryzae</i> pada tanaman padi berupa bercak pada; (a) buku batang, (b) daun, (c) leher malai, (d) bulir, (e) kolar daun (Manzanilla <i>et al.</i> , 2014). .....	8
Gambar 5. Skema penempatan isolat untuk uji antagonis in vitro dengan metododual kultur (Safitri <i>et al.</i> , 2019). .....	12
Gambar 6. Matriks interaksi antara cendawan (A) antagonis dan (P) patogen (Kuswinanti <i>et al.</i> , 2022).....	13
Gambar 7. <i>Pyricularia oryzae</i> (a) makroskopis; (b) mikroskopis (i) konidia yang masih menempel dikonidiophore dengan dua septa, (ii) konidia dengan dua septa, perbesaran mikroskop 40x10 .....	15
Gambar 8. <i>Pyricularia oryzae</i> haplotype (a) makroskopis; (b) mikroskopis (i) hifa berseptata, (ii) konidia dengan dua septa, (iii) klamidospora, perbesaran mikroskop 40x.....	15
Gambar 9. <i>Dual culture</i> cendawan rizosfer dan <i>Pyricularia oryzae</i> 12 hsi, (ii) 12 hsi, (K) kontrol, (P) patogen, (E) cendawan antagonis, (E09) <i>Trichoderma</i> sp., (E04) <i>Paecilomyces</i> sp., (E08) <i>Penicillium</i> sp. 1, (E05) <i>Aspergillus niger</i> , (E011) <i>A. flavus</i> , (E012) <i>Penicillium</i> sp. ....	21
Gambar 10. Pengamatan mekanisme antagonis secara mikroskopis perbesaran mikroskop 40x, (E) hifa antagonis; (P) hifa <i>Prycularia oryzae</i> ; (E09, E08) hifa antagonis melilit hifa patogen dan hifa patogen membengkak; (E04, E05, E011, E012) hifa patogen membengkak dan lisis.....	22



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran tabel 1a. Data daya hambat cendawan endofit setelah inokulasi.....	35
Lampiran tabel 2a. Sidik ragam daya hambat cendawan endofit setelah inokulasi .....	36
Lampiran tabel 3a. Uji Duncan data daya hambat cendawan endofit 4 hsi (harisetelah inokulasi) .....	37
Lampiran tabel 3b. Uji Duncan data daya hambat cendawan endofit 8 hsi (harisetelah inokulas i).....	37



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Padi merupakan salah satu komoditas yang termasuk dalam subsektor tanaman pangan. Budidaya padi menjadi salah satu tanaman yang mengandung karbohidrat dan dikonsumsi oleh sebagian besar penduduk di dunia (Mirta *et al.*, 2022). Padi yang telah menjadi beras memiliki kandungan gizi yang tinggi sehingga kebutuhan beras disetiap tahunnya mengalami peningkatan seiring dengan laju pertumbuhan penduduk. Berdasarkan data Pusat Statistik (2022), produksi padi di Indonesia pada tahun 2021 sebesar 54,42 juta ton gabah kering giling (GKG) dan mengalami penurunan sebesar 233,91 ribu ton atau 0,43 % dibandingkan produksi pada tahun 2020 sebesar 54,65 juta ton gabah kering giling (GKG). Penurunan hasil tersebut diakibatkan oleh beberapa faktor dan salah satunya adalah adanya serangan hama dan penyakit.

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 sehingga sangat sulit untuk dikendalikan bahkan dapat menyebabkan gagal panen (Tasliyah *et al.*, 2015). 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 *P. oryzae* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi di seluruh dunia. Di Indonesia, penyakit blas sudah menyebar di hampir semua sentra produksi padi.

Gejala penyakit blas pada daun padi dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, umur tanaman, dan tingkat ketahanan tanaman (Wicaksono *et al.*, 2017). Gejala terdeteksi pertama kali pada fase *medium tillering* Gejala awal dari penyakit ini adalah bintik putih atau hijau-keabu-abuan dengan tepi berwarna gelap kehijauan. Dalam perkembangannya gejala bintik tersebut berubah menjadi putih-kehijauan dengan tepi menunjukkan nekrotik berwarna coklat-kemerahan. Selain pada daun, gejala blas padi juga terjadi pada batang. Gejala penyakit blas padi pada batang dan malai berupa nekrotik berwarna coklat tua yang kadang dapat menghambat pertumbuhan pada ruas batang lebih sering terjadi dan lebih berbahaya pada bagian antar ruas.

Manajemen penyakit blas dapat dilakukan dengan berbagai cara di antaranya teknik budidaya, penanaman varietas tahan, dan penggunaan fungisida. Pengendalian penyakit secara kimiawi yang sering



dilakukan petani dengan menggunakan fungisida dapat berdampak buruk bagi keberlangsungan produksi padi karena akan mempengaruhi tingginya kadar toksisitas di lingkungan sekitar areal pertanaman (Suriani *et al.*, 2018). Aplikasi fungisida secara nyata dapat menurunkan kelimpahan mikroorganisme tanah yang berperan sebagai dekomposer. Hal ini disebabkan oleh akumulasi residu yang tertinggal di dalam tanah. Penggunaan fungisida yang berlebihan akan berdampak negatif terhadap lingkungan dan manusia, sehingga perlu upaya pengendalian hama dan penyakit pada tanaman padi yang ramah lingkungan. Teknologi pengendalian hama penyakit yang ramah lingkungan pada tanaman padi yaitu pemanfaatan mikroba mikroba lokal.

Rhizosfer merupakan bagian pertemuan antara akar dan tanah yang relatif kaya akan nutrisi atau unsur hara dan banyak terdapat mikroorganisme lainnya. Mikroba antagonis sangat potensial dikembangkan sebagai agen pengendalian hayati (Meiniwati *et al.*, 2014). Salah satu upaya pengendalian penyakit blas adalah menggunakan agen hayati sebagai pengganti fungisida sintetik. Agen hayati tersebut dapat berupa mikroba rhizosfer yang terdapat di sekitar perakaran tanaman padi. Keanekaragaman mikroba pada rhizosfer tanaman dapat dimanfaatkan sebagai upaya pengendalian hama dan penyakit secara biologi. Mikroba yang hidup di sekitar akar tanaman memiliki kemampuan mengendalikan populasi patogen dengan mengeluarkan senyawa yang bersifat racun. Penggunaan mikroba rhizosfer lokal diharapkan dapat lebih efektif untuk mengendalikan penyakit pada tanaman padi di wilayah setempat.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai uji antagonisme mikroba rhizosfer yang diisolasi dari jaringan tanaman padi terhadap patogen *P. oryzae* di Kecamatan Kajang Kabupaten Bulukumba Sulawesi Selatan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa persentase hambatan mikroba rhizosfer terhadap patogen *P. oryzae*?
2. Bagaimana mengisolasi mikroba rhizosfer dari tanaman padi dan cara menguji daya antagonismenya terhadap patogen *P. oryzae*?
3. Bagaimana mekanisme antagonis dari beberapa mikroba rhizosfer tanaman padi terhadap patogen *P. oryzae*?

### Penelitian

Penelitian ini adalah sebagai berikut:

Uji berapa persentase hambatan mikroba rhizosfer terhadap *P. oryzae*.



2. Mengetahui bagaimana mengisolasi mikroba rhizosfer dari jaringan tanaman padi dan cara menguji daya antagonismenya terhadap patogen *P. oryzae*.
3. Mengetahui bagaimana mekanisme antagonis dari beberapa mikroba rhizosfer asal tanaman padi terhadap patogen *P. oryzae*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai bahan informasi kepada peneliti dan masyarakat mengenai keragaman mikroba rhizosfer pada tanaman padi yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati patogen *P. oryzae*.

#### 1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat satu atau lebih isolat mikroba rhizosfer dari tanaman padi yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan patogen *P. oryzae*.

#### 1.6 Landasan Teori

##### 1.6.1 Tanaman Padi

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu komoditas tanaman pangan yang utama di Indonesia. Padi termasuk dalam suku padi-padian, tanaman semusim, berakar serabut, batang sangat pendek, buah tipe bulir atau kariopsis yang tidak dapat dibedakan mana buah dan bijinya, bentuk hampir bulat hingga lonjong, tertutup oleh palea. Padi menjadi salah satu tanaman yang mengandung karbohidrat dan dikonsumsi oleh sebagian besar penduduk di dunia, dikarenakan padi termasuk tanaman yang menghasilkan bahan pangan (Mirta *et al.*, 2022). Padi yang sudah menjadi beras memiliki kandungan gizi yang tinggi sehingga kebutuhan beras disetiap tahunnya mengalami kenaikan seiring dengan laju pertumbuhan penduduk, sehingga padi menjadi tanaman yang sangat di galakan di wilayah Indonesia

Menurut Rosadi (2013), klasifikasi tanaman padi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Monotyledonae
Famili	: Gramineae (Poaceae)
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.

Tanaman padi termasuk golongan gramineae, yaitu sejenis rumput. Dalam 1 bibit dapat tumbuh anakan hingga 20 lebih anakan. Masyarakat Indonesia menjadikan tanaman padi menjadi pokok. Genus *Oryza sp.* terdiri tidak kurang dari 25 spesies daerah tropik dan sub tropik. *Oryza sativa* merupakan yang banyak dibudidayakan di dunia karena memiliki nilai



ekonomis tinggi serta kandungan gizi yang dibutuhkan oleh tubuh khususnya karbohidrat (Utama *et al.*, 2009).

### 1.6.2 Morfologi Tanaman Padi

Padi merupakan tanaman semusim dengan sistem perakaran serabut. Terdapat dua macam perakaran padi yaitu akar seminal yang tumbuh dari radikula pada saat berkecambah, dan akar adventif yang bercabang dan tumbuh dari buku batang muda bagian bawah. Radikula (akar primer) yaitu akar yang tumbuh pada saat benih berkecambah. Apabila pada akar primer terganggu, maka akar seminal akan tumbuh dengan cepat. Akar-akar seminal akan digantikan oleh akar-akar sekunder yang tumbuh dari 7 batang bagian bawah. Bagian akar yang telah dewasa dan telah mengalami perkembangan berwarna coklat, sedangkan akar yang masih muda berwarna putih (Mirta *et al.*, 2022).

Batang padi berbentuk bulat, berongga, dan beruas. Antar ruas pada batang padi dipisahkan oleh buku. Panjangnya tiap-tiap ruas tidak sama. Ruas yang terpendek terdapat pada pangkal batang dan ruas kedua, ketiga, dan seterusnya lebih panjang dari pada ruas yang didahuluinya. Pada buku bagian bawah ruas terdapat daun pelepah yang membalut ruas sampai buku bagian atas. Pada buku bagian ujung dari daun pelepah memperlihatkan percabangan dimana cabang yang terpendek menjadi ligula (lidah daun) dan bagian yang terpanjang dan terbesar menjadi daun kelopak yang memiliki bagian auricle pada sebelah kiri dan kanan (Fatmawaty, 2013).

Daun tanaman padi memiliki ciri khas, yaitu terdapat sisik dan telinga daun. Daun padi memiliki tulang daun yang sejajar. Daun padi tumbuh pada batang dan 8 tersusun berselang-seling pada tiap buku. Tiap daun terdiri atas helaian daun, pelepah daun yang membungkus ruas, telinga daun dan lidah daun. Daun teratas disebut daun bendera yang posisi dan ukurannya tampak berbeda dari daun yang lain. Satu daun pada awal fase tumbuh memerlukan waktu 4-5 hari untuk tumbuh secara penuh, sedangkan pada fase tumbuh selanjutnya diperlukan waktu yang lebih lama, yaitu 8 - 9 hari. Jumlah daun pada tiap tanaman bergantung pada varietas. Varietas-varietas baru di daerah tropis memiliki 14-18 daun pada batang utama (Fatmawaty, 2013).

Bunga padi adalah bunga telanjang artinya mempunyai perhiasan bunga. Dalam satu tanaman memiliki dua kelamin, dengan bakal buah yang bersebelahan. Bagian bunga padi terdiri dari tangkai, bakal buah, lemma, dan benang sari. Jumlah benang sari ada 6 buah, tangkai sarinya bersebelahan dengan kepala sari besar serta mempunyai dua kantung serbuk. Terdapat dua tangkai putik dengan dua buah kepala putik yang bersebelahan dengan warna pada umumnya putih atau ungu (Rosadi,



Buah padi yang sehari-hari kita sebut biji padi atau bulir/gabah, sebenarnya bukan biji melainkan buah padi yang tertutup oleh lemma dan palea. Lemma dan palea serta bagian lain akan membentuk sekam atau kulit gabah, lemma selalu lebih 9 besar dari palea dan menutupi hampir 2/3 permukaan beras, sedangkan sisi palea tepat bertemu pada bagian sisi lemma. Gabah terdiri atas biji yang terbungkus sekam. Sekam terdiri atas gluma rudimenter dan sebagian dari tangkai gabah (Rosadi, 2013).

### 1.6.3 Syarat Tumbuh Tanaman Padi

Tanaman padi dapat tumbuh pada daerah mulai dari daratan rendah sampai daratan tinggi. Tumbuh di daerah tropis/subtropis pada 450 LU sampai 450 LS dengan cuaca panas dan kelembaban tinggi. Rata-rata curah hujan yang baik adalah 200 mm/bulan selama 3 bulan berturut-turut atau 1500-2000 mm/tahun. Di dataran rendah padi dapat tumbuh pada ketinggian 0 – 650 m dpl dengan temperatur 22,5°C – 26,5°C sedangkan di dataran tinggi padi dapat tumbuh baik pada ketinggian antara 650 – 1.500 m dpl dan membutuhkan temperatur berkisar 18,7°C – 22,5°C. Temperatur yang rendah dan kelembaban yang tinggi pada waktu pembungaan akan mengganggu proses pembuahan yang mengakibatkan gabah menjadi hampa. Hal ini terjadi akibat tidak membukanya bakal biji. Temperatur yang rendah pada waktu bunting juga dapat menyebabkan rusaknya pollen dan menunda pembukaan tepung sari (Mirta *et al.*, 2022).

Padi di lahan yang berhumus, struktur remah dan cukup mengandung air dan udara, tanah yang cocok bervariasi mulai dari yang berliat, berdebu halus, berlempung halus sampai tanah kasar dan air yang tersedia diperlukan cukup banyak. Sebaiknya tanah tidak berbatu, jika ada harus < 50%. Sebaiknya tanah cukup mengandung udara, agar respirasi perakaran berjalan dengan baik. Udara akan mengisi pori-pori tanah bersama dengan air yang siap dimanfaatkan oleh akar tanaman. Keseimbangan antara udara dan air sangat diperlukan bagi tanah pertanian, sebab tanah yang kekurangan air atau udara tidak baik bagi pertumbuhan tanaman padi (Utama *et al.*, 2009).

### 1.7 Penyakit Blas (*Pyricularia oryzae*)

Klasifikasi dari cendawan *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas sebagai berikut (CABI, 2021):

Domain : Eukaryota

Kerajaan : Fungi

Filum : Basidiomycota

Subfilum : Basidiomycotina

Classis : Basidiomycetes

Ordo : Basidiomycetidae

Familia : Marasmiaceae

Genus : *Pyricularia*

Spesies : *Pyricularia oryzae*



Genus : Magnaporthe  
 Species : *Magnaporthe oryzae*  
 Sinonim : *Pyricularia grisea* Sacc., (1880)  
           *Pyricularia oryzae* Cavara, (1891)

Penyakit blas disebabkan oleh cendawan *Pyricularia oryzae* Cav. [teleomorph *Magnaporthe oryzae* (Hebert Barr)] merupakan salah satu penyakit penting yang menyerang pertanaman padi di seluruh dunia (Suprpta *et al.*, 2014). Patogen ini selain menginfeksi pertanaman padi juga dapat merusak pertanaman serealia lain seperti gandum, sorgum dan lebih dari 40 spesies Gramineae (Santoso dan Nasution, 2012). *P. oryzae* dapat menginfeksi tanaman padi di semua tahap pertumbuhan dalam lingkungan yang kondusif. Wang *et al.* (2014), melaporkan penurunan hasil padi di Jepang akibat penyakit blas sekitar 60%, di Brasil pernah mencapai 100%, India 7,5%, Korea 8%, Cina 14%, Filipina 67%, Vietnam 60%, Italia 24% dan Iran 50%. Pertanian pertanaman padi di Indonesia pada tahun 2015 terserang penyakit blas mencapai 46.924 ha atau 9,25% dari total luas areal pertanaman padi (DITJEN TP, 2015).

Awalnya penyakit blas di Indonesia hanya diketahui menyerang padi gogo tetapi saat ini sudah ditemukan menginfeksi pertanaman padi sawah. Penyakit blas dilaporkan banyak ditemukan pada padi sawah irigasi, terutama di Jawa Barat, Jawa Tengah serta Jawa Timur (Zulaika *et al.*, 2018). Di Sulawesi Selatan, total luas serangan penyakit blas pada 24 kabupaten/kota dari tahun 2004–2013 mencapai 12.056 ha. Total luas serangan blas tertinggi terdapat pada 3 kabupaten yaitu Kabupaten Sinjai (5.993 ha), Kabupaten Maros (1.814 ha) dan Kabupaten Bone (1.023 ha) (Rusinqe, 2021).

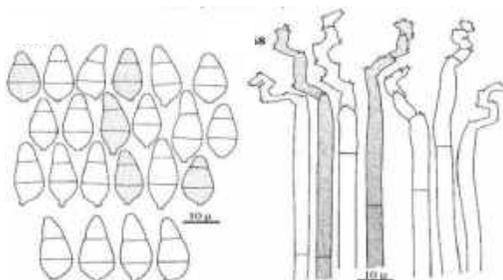
Blas merupakan salah satu penyakit penting tanaman padi di Indonesia yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia grisea* (Tasliyah *et al.*, 2015). Penyakit ini dapat ditemukan pada beberapa bagian tanaman padi seperti daun, leher daun, batang, malai dan biji. Selain itu, penyakit blas biasanya menyerang pada semua fase pertumbuhan tanaman padi mulai dari persemaian sampai menjelang panen. Di Indonesia penyakit blas yang disebabkan oleh *P. oryzae* sudah menyebar hampir di semua sentra produksi padi. Meskipun awalnya lebih dominan pada padi lahan kering, namun untuk saat ini penyakit blas juga mulai menyerang tanaman padi didataran rendah dan dataran tinggi di seluruh Indonesia. Hampir setiap negara penghasil padi memiliki laporan tentang taksiran kehilangan hasil padi oleh penyakit blas (Santoso dan Nasution, 2012). Penyakit blas menyerang tanaman padi mulai dari persemaian sampai panen. Cendawan *P. oryzae* dapat membentuk bercak pada batang, leher malai, cabang malai, bulir padi, dan kolar daun.



Bercak pada pelepah daun padi jarang ditemukan. Penyakit blas menimbulkan dua gejala khas, yaitu blas daun yang menyerang tanaman padi pada fase vegetatif dan blas leher yang menyerang pada awal pembungaan (Suganda *et al.*, 2016). Penyakit blas dapat menyebabkan kerugian hasil yang bervariasi tergantung pada varietas yang ditanam, lokasi, musim, dan teknik budidaya. Pada stadium vegetatif penyakit blas dapat menyebabkan tanaman mati dan pada stadium generatif dapat menyebabkan kegagalan panen hingga 100% (Lestari *et al.*, 2011).

Bentuk khas dari bercak blas daun adalah belah ketupat dengan dua ujungnya kurang lebih runcing. Awalnya bercak berukuran kecil berwarna hijau gelap, abu-abu sedikit kebiru-biruan. Bercak ini terus membesar pada varietas yang rentan, khususnya bila dalam keadaan lembab. Bercak yang telah berkembang terlihat pada bagian tepi berwarna coklat dan bagian tengah berwarna putih keabu-abuan. Bercak yang telah berkembang penuh mencapai panjang 1–1,5 cm dan lebar 0,3–0,5 cm dengan tepi berwarna coklat (Wang *et al.*, 2014).

*P. oryzae* menghasilkan spora seksual (askospora) dalam struktur yang disebut asci dan diklasifikasikan kedalam *Family* Magnaporthaceae. Asci ditemukan dalam struktur khusus disebut *perithecia*. Miselium dari *P. oryzae* bersepta dan spora bersifat haploid. Reproduksi secara seksual atau teleomorph dari cendawan *P.oryzae* dapat diproduksi di Laboratorium jika isolat dari jenis yang berbeda dipasangkan. Cendawan ini bersifat heterotalik dengan sistem reproduksi bipolar (dikendalikan oleh dua alel yang berbeda pada lokus tunggal) dengan gen tambahan mengendalikan siklus seksual (Tebeest *et al.*, 2007).



**Gambar 2.** *Pyricularia oryzae*; (a) conidia, (b) conidiophores





**Gambar 3.** *Pyricularia oryzae*; (a, b, c) *conidiophores*, (d, e) *conidia* (skala perbesaran mikroskop a, b, c, d, e: 10µm).

### 1.7.1 Patogen *Pyricularia oryzae*

Patogen jamur *P. oryzae* mampu menyerang tanaman padi dalam berbagai stadia pertumbuhan mulai dari benih sampai pada fase pertumbuhan malai (generatif). Pada stadium vegetatif bagian yang terserang biasanya bagian daun atau biasa disebut dengan blas daun (*leaf blast*). Pada stadium generatif selain menginfeksi daun juga menginfeksi leher malai atau disebut dengan bla leher (*neck blast*). Patogen juga menginfeksi pada bagian buku tanaman padi yang biasanya menyebabkan batang patah dan kematian yang menyeluruh pada batang atas akibat dari buku yang terinfeksi (Kesuma, 2016). Selain menyerang tanaman padi patogen *P. oryzae* juga dapat menyerang jenis serealia yang lain seperti gandum, sorgum dan lebih dari 40 spesies gramineae. Kerugian yang dihasilkan akibat penyakit blas sangat bervariasi, tergantung pada varietas yang ditanam, musim, lokasi dan teknik budidaya. Pada stadium vegetatif penyakit blas dapat menyebabkan tanaman mati dan pada stadium generatif dapat menyebabkan kegagalan panen hingga 100% (Wang *et al.*, 2014).

### 1.7.2 Gejala Serangan *Pyricularia oryzae*

Gejala serangan *P. oryzae* dapat membentuk bercak pada daun padi, buku batang, leher malai, cabang malai, bulir padi, dan kolar daun. Gejala bercak daun blas mulai terlihat pada saat tanaman padi berumur 40 hari setelah tabur benih. Penyakit blas menimbulkan dua gejala khas, yaitu blas pada bagian tanaman padi pada fase vegetatif dan blas leher yang muncul pada fase awal pembungaan. Serangan serius pada fase vegetatif dapat menyebabkan gagal panen dan pada fase generatif dapat menyebabkan kematian pada lehernya leher malai dan hampunya bulir padi (Yuliani dan



Bentuk khas dari bercak blas daun adalah belah ketupat dengan dua ujungnya kurang lebih runcing. Awalnya bercak berukuran kecil berwarna hijau gelap, abu-abu sedikit kebiru-biruan. Bercak ini terus membesar pada varietas yang rentan, khususnya bila dalam keadaan lembab. Bercak yang telah berkembang terlihat pada bagian tepi berwarna coklat dan bagian tengah berwarna putih keabu-abuan. Bercak yang telah berkembang penuh mencapai panjang 1–1,5 cm dan lebar 0,3–0,5 cm dengan tepi berwarna coklat (Santoso *et al.*, 2007).



**Gambar 4.** Gejala *P. oryzae* pada tanaman padi berupa bercak pada; (a) buku batang, (b) daun, (c) leher malai, (d) bulir, (e) kolar daun (Manzanilla *et al.*, 2014).

Bercak pada daun yang rentan tidak membentuk tepi yang jelas. Bercak tersebut dikelilingi oleh warna kuning pucat, terutama pada lingkungan yang kondusif seperti keadaan lembab dan ternaungi. Selain itu, perkembangan bercak juga dipengaruhi oleh kerentanan varietas dan umur bercak itu sendiri. Bercak tidak akan berkembang dan tetap seperti titik kecil pada varietas yang tahan. Hal ini disebabkan oleh proses perkembangan konidia dari cendawan *P. oryzae* dalam jaringan inangnya terhambat (Sudir *et al.*, 2014). Pada lingkungan yang kondusif, bercak-bercak tersebut dapat menyatu dan menyebabkan rusaknya sebagian besar daun. Blas daun dapat menyebabkan kematian keseluruhan tanaman pada varietas rentan yang masih muda sampai stadia anakan.

Penyebaran spora *P. oryzae* dapat terjadi melalui angin, benih, sisa gabah, jerami tanaman sakit, sisa tanaman padi di lapangan dan tanaman inang lainnya, terutama dari golongan gramineae/ rerumputan (Santoso dan Nasution, 2012). Walaupun dalam suatu periode tidak ada pertanaman padi, namun apabila di sekitar lahan tersebut terdapat gulma yang merupakan inang menjadi sumber inokulum pada padi sawah musim berikutnya itu sumber spora juga banyak yang berasal dari sisa-sisa tanaman yang terinfeksi penyakit blas (Ulate *et al.*, 2020).



### 1.7.3 Pengendalian Penyakit Blas

Beberapa cara pengendalian yang dapat dilakukan adalah dengan cara penggunaan teknik budidaya yang tepat, kemudian penggunaan varietas tahan, serta penggunaan fungisida. Cara yang paling efektif, ekonomis dan mudah dilakukan yaitu dengan penggunaan varietas tahan. Namun kendala yang terjadi jika melakukan cara ini adalah teknologi ini berhadapan langsung dengan patogen penyakit blas yang memiliki keanekaragaman genetik dan kemampuan beradaptasi yang tinggi serta cepat membentuk ras baru dapat mematahkan ketahanan varietas yang baru diperkenalkan (Suriani *et al.*, 2018). Penyebab terbentuknya populasi bersifat dinamis ini antara lain adalah adanya kemampuan dalam melakukan rekombinasi baik secara seksual maupun aseksual. Beberapa varietas unggul yang ditargetkan untuk mengendalikan penyakit blas dalam suatu lingkungan hanya mampu bertahan hingga tiga musim saja, oleh karena itu pengendalian yang dianjurkan untuk penyakit blas adalah dengan pengendalian secara terpadu dengan memadukan pengendalian yang kompatibel atau yang bekerja sesuai dengan keserasian, kemudian dilakukannya monitoring keberadaan dan dominasi ras patogen sebagai dasar rekomendasi penanaman varietas tahan sesuai ras yang ada.

Pengendalian menggunakan agen hayati dapat dijadikan solusi untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen ataupun bakteri penyebab penyakit pada tanaman padi. Adapun keuntungan dalam penggunaan agen hayati yaitu: mengalami degradasi atau penguraian yang cepat oleh sinar matahari, memiliki spektrum pengendalian yang luas (racun lambung dan syaraf) dan bersifat selektif, tingkat kerusakan zat atau toksisitas umumnya rendah terhadap hewan dan pada manusia lebih relatif aman, dapat diandalkan untuk mengatasi OPT yang telah kebal pada pestisida sintetik, fitotoksitas rendah (tidak meracuni dan merusak tanaman). Selain keunggulan, agen hayati juga mempunyai beberapa kelemahan, diantaranya adalah cepat terurai dan aplikasinya harus lebih sering, daya racunnya rendah (tidak langsung mematikan serangga atau memiliki efek lambat), kapasitas produksinya masih rendah dan belum dapat dilakukan dalam jumlah masal dan ketersediaannya di toko toko pertanian masih terbatas (Suganda *et al.*, 2016).

#### 4.8 Rhizosfer



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

merupakan tempat pertemuan antara tanah dengan akar h mikrobia di daerah perakaran lebih banyak dibanding terdapat perakaran, karena di daerah perakaran terdapat

Bakteri tanah pada daerah rhizosfer tanaman yang berasal dari tanah dan jenis tanaman yang berbeda, tentu saja memiliki jumlah populasi bakteri yang berbeda pula, karena keberadaan suatu bakteri dalam tanah terutama pada daerah rhizosfer dipengaruhi oleh kelembaban tanah dan juga dipengaruhi oleh akar tanaman itu sendiri. Populasi bakteri tanah dengan jumlah yang banyak, menunjukkan bahwa pada suatu daerah rhizosfer tanaman terdapat suplai makanan atau energi yang cukup, temperatur yang sesuai untuk keberlangsungan hidup bakteri dan ketersediaan air yang cukup serta keadaan lingkungan lainnya yang menyokong pertumbuhan bakteri tanah (Sahara *et al.*, 2019). Karakter suatu bakteri adalah suatu sifat khas yang dimiliki oleh suatu jenis bakteri tertentu untuk membedakannya dengan jenis bakteri lainnya (Pambudi *et al.*, 2016).

Mikroba Rhizosfer yang berada di dalam tanah dekat perakaran dapat bersifat menguntungkan dan ada juga yang merugikan, netral atau variabel terhadap tanaman. Pengaruh menguntungkan antara lain dalam stabilitas tanah, penyerapan air dan nutrien, memacu pertumbuhan, fiksasi N<sub>2</sub>, pengendalian hayati, antibiosis dan simbiosis. Peran mikroba rhizosfer dalam penyediaan nutrien apda tanaman adalah dengan cara mengubah sifat morfologi dan fisiologi akar serta sistem tanaman, mengubah fase keseimbangan nutrien sehingga mudah ditransport ke permukaan akar dan atau diabsorpsi, mengubah komposisi kimia tanah, melakukan transfer nutrien langsung dari mikroba simbion ke inang melalui proses simbiotik, dan menghambat area penyerapan pada akar tumbuhan (Sari, 2015). Menurut Fatmawaty (2013), jumlah rizosfer meningkat pada tanah-tanah yang kering dibandingkan pada tanah-tanah basah. Temperatur dan kelembaban secara langsung berpengaruh terhadap mikroorganisme, dan secara tidak langsung terhadap tanaman.



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Proses isolasi dan identifikasi cendawan rizosfer, uji antagonis secara *in vitro*, dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Departemen Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Oktober 2022 Sampai Selesai.

#### 2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet* (L AFC), *autoclave*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan Petri, pipet Eppendorf, jarum preparat, jarum ose, spatula, bunsen, pematik api, tube, *cork borer*, *hot plate*, Erlenmeyer, batang pengaduk, mikroskop, pipet ukur, *hand sprayer*, timbangan digital analitik, kamera, laptop dan alat tulis menulis, micropestle, vortex, inkubator, tabung centrifugasi ukuran 1,5 mL, tabung microcentrifugasi 1,5 mL.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah rizosfer padi, *object glass*, *deck glass*, *aluminium foil*, *plastic wrap*, aquadest steril, kertas label, spirtus, *tissue*, kentang, *dextrose*, *chloramphenicol*, agar, alkohol 70%.

#### 2.3 Prosedur Penelitian

##### 2.3.1 Pembuatan media *potato dextrosa agar* (PDA).

Media *potato dextrosa agar* (PDA) terdiri dari 200 g kentang yang direbus dalam 1000 ml aquadest hingga sari kentang larut. Sari kentang disaring kedalam erlenmeyer 1000 ml lalu ditambahkan 200 gr dextrose dan 200 g agar kemudian dihomogenkan, selanjutnya erlenmeyer ditutup menggunakan *aluminium foil* untuk menjaga kesterilan larutan media PDA. Larutan media PDA disterilkan menggunakan *autoclave* selama  $\pm 2$  jam pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  lalu dipindahkan kedalam *Laminar air flow* (LAF) dan ditambahkan *chloramphenicol*. Larutan media PDA dituang kedalam cawan petri secara aseptik, selama pengerjaan tetap dilakukan dalam LAF untuk menghindari kontaminasi pada larutan media PDA, selanjutnya media PDA akan memadat dan siap untuk digunakan.

##### 2.3.2 Isolasi cendawan rizosfer padi.

Metode yang digunakan dalam isolasi cendawan rizosfer ini adalah metode (*spread plate*). Sampel rizosfer diambil sebanyak 1 gram dalam 9 ml akuadest lalu dihomogenkan, kemudian diambil 1 pipet eppendorf lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi aquades steril, selanjutnya memberi label pada tabung dengan kode  $10^{-1}$ . Pengenceran berseri dilakukan hingga



mendapatkan pengenceran  $10^{-4}$ . Hasil dari tiap-tiap pengenceran diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan secara merata ke dalam cawan berisi media PDA. Selanjutnya, diinkubasi selama 3–7 hari pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ , setiap pengenceran dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Setelah masa inkubasi, dilakukan pemisahan dan pemurnian isolat cendawan rizosfer yang berhasil diisolasi dengan memindahkan setiap isolat yang berbeda karakteristik morfologinya ke medium PDA yang baru (Tangapo dan Mambu, 2021; Larekeng *et al.*, 2019).

### 2.3.3 Pemurnian isolat cendawan rizosfer padi.

Cendawan rizosfer yang telah tumbuh selama proses propagasi koloni untuk dimurnikan memindahkan bagian miselium cendawan ke dalam media kultur baru secara aseptik. Cendawan yang tumbuh diambil dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 5 mm yang sebelumnya dipijarkan di atas api kemudian dipindahkan dalam media PDA yang baru selanjutnya diinkubasi kembali selama 3–7 hari (Ristiari *et al.*, 2018).

### 2.3.4 Identifikasi cendawan rizosfer padi.

Identifikasi cendawan rizosfer dilakukan dengan mengamati karakter morfologi makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis cendawan meliputi warna dan permukaan koloni, garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni dan lingkaran-lingkaran konsentris. Identifikasi cendawan mengacu pada buku identifikasi *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 1998).

Pengamatan morfologi mikroskopis dilakukan dengan membuat preparat untuk pengamatan yaitu *object glass* dibersihkan dengan alkohol selanjutnya ditetesi aquadest steril pada bagian tengah kemudian biakan cendawan diambil secara aseptik menggunakan jarum ose. Preparat ditutup dengan *deck glass* kemudian mengamati dibawah mikroskop perbesaran 40x. Adapun ciri-ciri mikroskopis yang diamati yaitu struktur reproduksi (ada atau tidaknya rhizoid, konidia dan spora) serta struktur hifa.

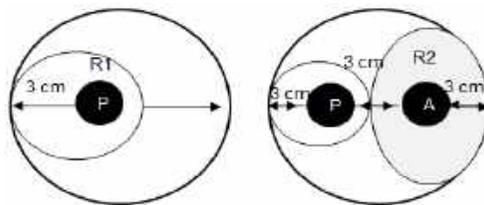
### 2.3.5 Uji Antagonis

#### 1. Pengujian Antagonisme Pada Media PDA

Pengujian antagonisme cendawan endofit terhadap *P.oryzae* secara *in vitro* dilakukan dengan metode biakan ganda (*Dual Culture Method*) dalam cawanpetri berisi media PDA. Pengujian ini terdiri dari 1 kontrol dan 12 diperoleh dari hasil isolasi *P.oryzae*, cendawan endofit dari an padi dengan setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan, eh 39 unit pengamatan. Biakan cendawan endofit dan dengan *cork borer* lalu ditumbuhkan berdampingan dengan gkan jarak setiap isolat dari tepi cawan petri adalah 3 cm.



Semua cawan petri yang berisi biakan cendawan endofit dan *Pyricularia oryzae* tersebut ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu ruang selama tujuh hari.



**Gambar 5.** Skema penempatan isolat untuk uji antagonis in vitro dengan metodedual kultur (Safitri *et al.*, 2019).

Keterangan:

R1 = jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah berlawanan dari cendawan endofit

R2 = jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah cendawan endofit

A = Isolat cendawan antagonis

P = Isolat cendawan patogen

## 2.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang digunakan pada penelitian ini sebagai berikut :

### 1. Pengujian Daya Hambat

Pengaruh antagonisme cendawan endofit terhadap cendawan patogen pada media PDA dapat diketahui dengan menghitung PIRG (*Percentage Inhibition of Radial Growth*) berdasarkan rumus yang digunakan oleh Safitri *et al.* (2019):

$$\text{PIRG} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100 \%$$

Keterangan:

PIRG = *Percentage Inhibition of Radial Growth* (Persentase penghambatan)

R1 = jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah berlawanan dari cendawan endofit

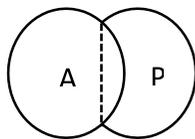
R2 = jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah cendawan endofit



## 2. Pengamatan Mekanisme Antagonis

Pengamatan mekanisme antagonis dilakukan secara makroskopis melalui pengamatan langsung pada biakan ganda (*dual culture*). Mekanisme interaksi yang terjadi antara cendawan patogen dengan cendawan antagonis didasarkan pada kriteria yang dikemukakan oleh Porter (1942) dalam Armila *et al.* (2019) yaitu:

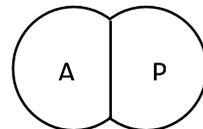
- a. Kompetisi, apabila koloni cendawan antagonis menutupi koloni patogen dan pertumbuhan cendawan antagonis lebih cepat untuk memenuhi cawan petri berdiameter 9 cm. Pada daerah kontak, hifa patogen mengalami lisis.
- b. Antibiosis, apabila terbentuk zona kosong di antara cendawan patogen dengan cendawan antagonis, terdapat perubahan bentuk hifa patogen, dan dihasilkan pigmen di permukaan bawah koloni cendawan antagonis.
- c. Parasitisme, apabila hifa cendawan antagonis tumbuh di atas hifa patogen, pada daerah kontak ditemukan hifa cendawan antagonis melilit hifa patogen, serta mengalami lisis.



a. Kompetis



b. Antibiosis



c. Parasitisme

**Gambar 6.** Matriks interaksi antara cendawan (A) antagonis dan (P)patogen (Kuswinanti *et al.*, 2022).

Cendawan endofit yang menunjukkan mekanisme antagonis terbaik pada pengamatan makroskopis, akan diamati kembali secara mikroskopis dengan cara mengambil potongan hifa 1 cm x 1 cm di daerah kontak kedua cendawan, kemudiandiletakkan pada *object glass* dan diamati di bawah mikroskop.

### 2.5 Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh diuji secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh cendawan endofit terhadap cendawan patogen pada uji terdapat pengaruh, maka dilanjutkan uji lanjut Duncan pada uji (5%) untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan.

