

**INDUKSI KETAHANAN TANAMAN OLEH
BAKTERI RIZOSFER DAN ASAM SALISILAT TERHADAP
PENYAKIT BULAI PADA JAGUNG**

***INDUCTION OF RESISTANCE BY RHIZOSFER BACTERIA
AND SALICYLIC ACID TO DOWNY MILDEW ON MAIZE***

NURASIAH DJAENUDDIN



**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**INDUKSI KETAHANAN TANAMAN OLEH
BAKTERI RIZOSFER DAN ASAM SALISILAT TERHADAP
PENYAKIT BULAI PADA JAGUNG**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan

Disusun dan diajukan oleh

NURASIAH DJAENUDDIN

kepada

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



LEMBAR PENGESAHAN TESIS

INDUKSI KETAHANAN TANAMAN OLEH BAKTERI RIZOSFER DAN ASAM
SALISILAT TERHADAP PENYAKIT BULAI PADA JAGUNG

Disusun dan diajukan oleh

NURASIAH DJAENUDDIN

Nomor Pokok G022191004

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 21 Oktober 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasihat,



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin

Ketua



Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc

Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan,

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin



Amin, Dipl. Ing. Agr



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : NURASIAH DJAENUDDIN

Nomor Mahasiswa : G022191004

Program Studi : ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,

Yang menyatakan



NURASIAH DJAENUDDIN



PRAKATA

Puji Syukur senantiasa dipanjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul "Induksi Ketahanan Tanaman oleh Bakteri Rizosfer dan Asam Salisilat terhadap Penyakit Bulai pada Jagung".

Penyusunan tesis merupakan bagian persyaratan untuk mendapatkan gelar Magister Pertanian Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.

Tesis ini dapat terselesaikan berkat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini secara tulus penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada semua pihak, terutama kepada : Prof.Dr.Sc.Agr.Ir. Baharuddin sebagai Ketua Komisi Penasihat dan Prof.Dr.Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc sebagai Anggota Komisi Penasihat yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini. Kepala Balai Penelitian Tanaman Serealia beserta staf yang telah memberikan izin dan dukungan demi terlaksananya penelitian dalam rangka penulisan tesis ini. Prof.Dr.Ir. Nur Amin, Dipl.Ing.Agr, Ketua Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin yang telah memberikan arahan kepada penulis selama menempuh



... an di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
pan terima kasih juga disampaikan kepada pihak yang tidak dapat

kami sebutkan namanya satu per satu tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini tidaklah sempurna, oleh karena itu kritik dan saran penulis terima dengan senang hati. Penulis sangat berharap tesis ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu, khususnya dalam bidang pertanian. Akhir kata semoga semua bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak menjadi amal kebaikan dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Amin.

Makassar, Oktober 2020

Nurasiah Djaenuddin



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ABSTRAK

NURASIAH DJAENUDDIN. Induksi Ketahanan Tanaman oleh Bakteri Rizosfer dan Asam Salisilat terhadap Penyakit Bulai pada Jagung (dibimbing oleh Baharuddin Patandjengi dan Tutik Kuswinanti).

Pengendalian penyakit bulai menggunakan fungisida sintetik kurang efektif di lapangan, alternatif pengendalian yang berkembang saat ini adalah induksi ketahanan tanaman. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat bakteri rizosfer dan atau asam salisilat terhadap penyakit bulai *Peronosclerospora philipinensis* melalui induksi ketahanan tanaman. Manfaat dari penelitian adalah menyediakan teknologi induksi resistensi dalam menginduksi ketahanan tiga varietas jagung terhadap *P. philipinensis*.

Penelitian dilaksanakan di rumah kawat, laboratorium penyakit tanaman, dan laboratorium biomolekuler Balai Penelitian Tanaman Sealia (Balitsereal) sejak bulan Maret hingga Juli 2020. Isolat bakteri rizosfer yang digunakan adalah *Bacillus paramycoides* Ga3 dan *B. cereus* Si4 yang merupakan koleksi Balitsereal. Penelitian dilakukan dengan menguji potensi kombinasi isolat bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam menekan perkembangan bulai pada jagung di rumah kawat, lalu menganalisis kandungan asam salisilat dari ketiga varietas jagung dilanjutkan dengan menganalisis ekspresi gen *Pathogenesis Related protein*. Ketiga rangkaian penelitian ini dirancang menggunakan percobaan acak lengkap dan diulang sebanyak 6 kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan bakteri rizosfer *B. paramycoides* Ga3 maupun *B. cereus* Si4 yang dikombinasikan dengan asam salisilat secara sinergis efektif menginduksi ketahanan tanaman jagung terhadap bulai pada varietas Bima20 dan memacu peningkatan produksi pada varietas Bima3. Induksi kombinasi bakteri *B. cereus* Si4 dan asam salisilat berpengaruh positif dalam memacu ketahanan varietas Bima3 terhadap penyakit bulai. Sedangkan bakteri rizosfer *B. paramycoides* Ga3 secara tunggal maupun kombinasi dengan asam salisilat efektif menginduksi ketahanan tanaman jagung terhadap bulai dan memacu pertumbuhan tinggi tanaman varietas Anoman.

Kata kunci: agens penginduksi, aktivator kimia, mekanisme terinduksi, *Peronosclerospora philipinensis*.



ABSTRACT

NURASIAH DJAENUDDIN. Induction of Resistance by Rhizosphere Bacteria and Salicylic Acid to Downy Mildew on Maize. (Supervised by Baharuddin Patandjengi dan Tutik Kuswinanti).

Downy mildew disease control using synthetic fungicide is no longer effective in the field. The alternative control that is currently being developed is the induction of resistance. Based on this, this study aimed to determine the potential of rhizosphere bacteria isolates and/or salicylic acid against downy mildew disease *Peronosclerospora philipinensis* through induction of plant resistance. The benefit of this research is to provide resistance induction technology to induce resistance of three maize varieties to *P. philipinensis*.

The research was carried out at the screen house, plant pathology laboratory, and biomolecular laboratory of the Indonesian Cereals Research Institute (ICERI) from March to July 2020. The rhizosphere bacterial isolates used were *Bacillus paramycoides* Ga3 and *B. cereus* Si4 which are a collection of ICERI. The research was conducted by examining the potential combination of rhizosphere bacterial isolates and salicylic acid in suppressing the development of downy mildew in maize at the screen house, then analyzing the salicylic acid content of the three varieties of corn followed by analyzing the pathogenesis-related protein gene expression. The three research series were designed using a completely randomized design with six replicates.

The results showed that the combination treatment of the rhizosphere bacteria *B. paramycoides* Ga3 and *B. cereus* Si4 combined with salicylic acid was synergistically effective in inducing resistance of Bima 20 variety to downy mildew and spur increased production of the Bima3 variety. Induction of the combination of *B. cereus* Si4 bacteria and salicylic acid has a positive effect in spurring the resistance of Bima3 variety to downy mildew. While the rhizosphere bacterium *B. paramycoides* Ga3 singly or in combination with salicylic acid was effective in inducing resistance of maize to downy mildew and spurring the growth of Anoman variety.

Keywords: inducing agents, chemical activators, induced mechanisms, *Peronosclerospora philipinensis*



DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	7
E. Ruang Lingkup Penelitian	8
F. Sistematika Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Penyakit Bulai Pada Tanaman Jagung	9
B. Pengendalian Penyakit Bulai Pada Jagung	10
C. Induksi Ketahanan Tanaman	12
D. Peran Bakteri Rizosfer Sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman	14
E. Peranan Sinyal Asam Salisilat Dalam Induksi Resistensi	16



F. Peran Bakteri Rizosfer Dan Asam Salisilat Dalam Pertumbuhan Tanaman	18
G. Kerangka Konseptual	22
H. Hipotesis	23
III. METODE PENELITIAN	24
A. Rancangan Penelitian	24
B. Lokasi Dan Waktu	24
C. Prosedur Pelaksanaan	25
D. Variabel Pengamatan	30
E. Analisis data	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Hasil Penelitian	32
1. Pengaruh Bakteri Rizosfer dan Asam Salisilat terhadap Perkembangan Penyakit Bulai	33
2. Analisis Kandungan Asam Salisilat pada Tiga Varietas Jagung yang Diinduksi Ketahanannya oleh Bakteri Rizosfer	40
3. Pengaruh Bakteri Rizosfer dan Asam Salisilat Terhadap Ekspresi Gen PR1 dalam Menekan Penyakit Bulai pada Jagung	43
4. Hubungan Antara Karakter Agronomi dengan Perkembangan Bulai	44
B. Pembahasan	46
V. PENUTUP	57
A. Kesimpulan	57
B. Saran	57
C. PUSTAKA	58



DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Kriteria ketahanan varietas jagung terhadap infeksi bulai	31
2. Uji beda pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam menginduksi ketahanan varietas Anoman berdasarkan masa inkubasi, keparahan, dan penekanan penyakit	34
3. Pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam memacu peningkatan pertumbuhan dan pencapaian produksi jagung varietas Anoman terhadap <i>P. philipinensis</i>	35
4. Uji beda pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam menginduksi ketahanan varietas Bima20 berdasarkan masa inkubasi, keparahan, dan penekanan penyakit	36
5. Pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam memacu peningkatan pertumbuhan dan pencapaian produksi jagung varietas Bima20 terhadap <i>P. philipinensis</i>	37
6. Uji beda pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam menginduksi ketahanan varietas Bima3 berdasarkan masa inkubasi, keparahan, dan penekanan penyakit	38
7. Pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam memacu peningkatan pertumbuhan dan pencapaian produksi jagung varietas Bima3 terhadap <i>P. philipinensis</i>	39
8. Hubungan antara karakter agronomi dengan perkembangan penyakit bulai pada tiga varietas jagung yang diinduksi ketahanannya dengan bakteri rizosfer dan asam salisilat	45



DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Bagan alur penelitian pengendalian penyakit bulai melalui induksi ketahanan dengan bakteri rizosfer dan asam salisilat	8
2. Gejala penyakit bulai pada tanaman jagung dan morfologi konidia <i>P. philipinensis</i>	10
3. Faktor-faktor yang mempengaruhi ketahanan terinduksi menurut Walters et al. 2013	13
4. Regulasi akumulasi SA dengan pensinyalan kalsium menurut Seyffert and Tsuda 2014	17
5. Model deskriptif fungsi asam salisilat dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman menurut Rivas-San Vicente and Plasencia 2011	21
6. Kerangka teori pengendalian penyakit bulai melalui induksi ketahanan dengan bakteri rizosfer dan asam salisilat	22
7. Pengaruh bakteri rizosfer terhadap aktivitas asam salisilat pada tiga varietas jagung sebelum dan setelah inokulasi <i>P. Philipinensis</i>	41
8. Pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat terhadap aktivitas asam salisilat pada tiga varietas jagung sebelum dan setelah inokulasi <i>P. Philipinensis</i>	42
9. Ekspresi gen PR1 pada varietas jagung yang diinduksi ketahanannya oleh bakteri rizosfer dan asam salisilat sebelum inokulasi <i>P. philipinensis</i>	44
10. Ekspresi gen PR1 pada varietas jagung yang diinduksi ketahanannya oleh bakteri rizosfer dan asam salisilat setelah inokulasi <i>P. philipinensis</i>	44



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Nilai F hitung dalam analisis ragam pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam menginduksi ketahanan tanaman 3 varietas jagung terhadap <i>P. philipinensis</i>	70
2. Nilai F hitung dalam analisis ragam pengaruh bakteri rizosfer dan asam salisilat dalam memacu pertumbuhan dan produksi 3 varietas tanaman jagung	70
3. Sterilisasi benih jagung varietas Anoman, Bima20, dan Bima3	71
4. Tata letak tanaman jagung pada polibag umur 7 hari setelah tanam	71
5. Analisis kandungan asam salisilat pada tanaman menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	72
6. Analisis ekspresi gen PR1 dengan metode one step RT-PCR	72
7. Penampakan gejala penyakit bulai tanaman jagung pada beberapa perlakuan umur 28 hari setelah inokulasi	75
8. Deskripsi Jagung Varietas Anoman, Bima 20, dan Bima 3	76
9. Curriculum vitae	78



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit bulai yang disebabkan oleh *Peronosclerospora* spp, adalah salah satu penyakit utama pada jagung. Di Indonesia, telah diketahui bahwa terdapat 3 spesies patogen penyebab penyakit bulai dengan tingkat virulensi yang berbeda (Muis dkk 2012; Burhanuddin dkk 2015; Pakki dan Burhanuddin 2015). Telah teridentifikasi spesies *Peronosclerospora maydis* di wilayah barat Indonesia, *P. philippinensis* di wilayah Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Gorontalo dan Sulawesi Utara, namun di wilayah Sulawesi Tenggara ditemukan spesies *P. sorghi* (Muis *et al.* 2016; Muis *et al.* 2017; Muis *et al.* 2018).

Spesies *Peronosclerospora* pada jagung, menyebabkan kehilangan hasil yang parah dan telah menyebar di banyak daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia (Kim *et al.* 2020). Penyakit bulai saat ini dikendalikan dengan perlakuan benih menggunakan fungisida berbahan aktif metalaksil. Namun, masalah terkait pencemaran lingkungan akibat penggunaan fungisida dan pengembangan resistensi dalam populasi *clerospora* spp. terhadap fungisida tersebut menjadi perhatian (Sireesha and Velazhahan 2016). Pada wilayah endemi spesies



P. maydis, perlakuan fungisida sintetik dalam dosis sesuai anjuran (2 g/kg) sudah tidak efektif mengendalikan penyakit bulai (Pakki 2014; Pakki 2016)

Penggunaan varietas tahan terhadap penyakit bulai diantaranya Bima 3, Bima 17, Bima 14_Batara, dan Bima 20 merupakan salah satu metode pengendalian yang murah dan mudah, namun penggunaannya secara terus menerus dapat memicu patogen membentuk strain baru yang lebih virulen terhadap penyakit tersebut. Oleh karena itu, berkembang alternatif pengendalian yang lebih aman yaitu induksi ketahanan tanaman. Induksi ketahanan adalah mekanisme aktivasi ketahanan tanaman terhadap patogen menggunakan metode elisitasi yaitu dengan perlakuan sebelum inokulasi menggunakan elisitor seperti mikroorganisme nonpatogenik, perlakuan fisik, dan bahan kimia tertentu. Mikroba antagonis dapat berfungsi sebagai agens pengendali patogen melalui mekanisme kompetisi, antibiosis, parasitisme atau ketahanan yang terinduksi (Kuswinanti dkk 2014).

Induksi ketahanan sistemik menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif dan atau menstimulasi mekanisme resistensi alami yang dimiliki oleh inang dengan pengaplikasian bahan penginduksi eksternal (Hoerussalam dkk 2013).

Ketahanan terimbas sebagai hasil induksi ketahanan dicirikan oleh

si asam salisilat dan *pathogenesis related-protein* (PR-protein).



Hasil analisis pola pita protein terlihat pada tanaman cabai yang diberi perlakuan ekstrak tanaman dan diinfeksi virus kuning keriting mempunyai pita protein yang lebih tebal yang berarti memiliki konsentrasi PR-protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang hanya diberi ekstrak saja (Gunaeni dkk 2015). Wijayanti dkk (2017) melaporkan aplikasi rizobakteri *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Azotobacter* sp secara tunggal dan konsorsium mampu meningkatkan kandungan total fenol dan asam salisilat secara signifikan masing-masing sebesar 513,45% dan 235,99% sehingga mempengaruhi penurunan intensitas penyakit puru akar dan juga dapat meningkatkan bobot kering tanaman.

Umumnya bakteri dapat berasosiasi dengan tanaman melalui kolonisasi dalam jaringan tanaman (endofit), pada bagian akar (rhizosfer), dan epifit (filosfer) (Leiwakabessy 2016). *Plant-Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) diketahui mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme seperti fiksasi nitrogen, produksi senyawa organik volatil dan enzim, serta berpotensi sebagai bioremediasi pada lingkungan (Osman and Yin 2018).

Hasil penelitian sebelumnya telah menyeleksi 40 isolat bakteri yang diisolasi dari berbagai habitat tanah pertanian maupun perkebunan di Indonesia (sebagian besar di Sulawesi Selatan), dan selanjutnya telah



erisasi kemampuan setiap isolat bakteri tersebut dalam an fosfat, kalium, dan menambat nitrogen. Dari pengujian

tersebut terpilih 24 isolat bakteri yang diuji aktifitas kitinolitik, proteolitik, dan selulolitiknya untuk mengetahui keberadaan enzim kitinase, protease, dan selulase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Syafuruddin dan Djaenuddin 2018). Tahun berikutnya, 24 isolat bakteri tersebut diuji kemampuan daya hambatnya terhadap beberapa penyakit utama jagung, diantaranya patogen *Rhizoctonia solani* dan *Curvularia* sp. pada skala *in vitro* dan penyakit bulai *in vivo*. Hasil penelitian menunjukkan pada pengujian bulai di rumah kawat umur pertanaman 42 hari dari 24 isolat yang digunakan terdapat 6 perlakuan isolat bakteri yang tidak terinfeksi bulai (0%) yaitu isolat Bg-1, Ga-2, Ga-3, Si-4, Tp-2, dan Tp-3.1 dalam kondisi keparahan penyakit pada kontrol positif 90% dan kontrol negatif (sintetik) sebesar 60%. Dari data pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman dan bobot segar), enam isolat yang berpotensi menekan perkembangan penyakit bulai tersebut, menunjukkan isolat Ga-3 dan Si-4 memberikan respon relatif lebih baik dibandingkan dengan isolat lainnya (Djaenuddin et al. 2020).

Tahap selanjutnya identifikasi molekuler terhadap 24 isolat bakteri uji yang kemudian diketahui isolat Ga-3 memiliki kemiripan genetik 99,8% dengan *Bacillus paramycooides* strain MCCC 1A04098 (Genetika Science 2020) dan isolat Si-4 memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* strain IAM 12605 sebesar 99,65%. Spesies *Bacillus* adalah bakteri Gram-positif,



ak batang dan bersifat aerob atau anaerob fakultatif yang
tunik endospora tahan panas. Lanjut dikemukakan oleh Kim *et al.*

(2018) berdasarkan kesamaan urutan gen 16S rRNA, strain isolat bakteri yang diisolasi dari tanah yang menunjukkan sifat resisten terhadap radiasi UV salah satunya diidentifikasi sebagai *B. paramycoides*. Sejalan dengan hasil penelitian Osman dan Yin (2018) *B. paramycoides* menunjukkan respon pertumbuhan tanaman yang baik pada jumlah perkecambahan maupun bobot segar dan bobot kering kacang kapri. Bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari tanah teridentifikasi sebagai *B. paramycoides* (Susilowati dkk 2018). Lanjut Susilowati dkk (2019) mengkombinasikan bakteri *Pseudomonas azotoformans*, *Acinetobacter baumannii* dan *B. paramycoides* yang memberikan potensi terbaik untuk melarutkan P-anorganik. Pada penelitian lain, Rochaddi *et al.* (2019) melaporkan strain bakteri *B. paramycoides* memiliki potensi yang besar untuk bioremediasi kelompok pestisida organofosfat *Chlorpyrifos*. Sedangkan isolat PSB 5 diakui oleh Nader *et al.* (2019) dalam penelitiannya sebagai *B. paramycoides*, bakteri ini dapat digunakan sebagai pupuk hayati karena kemampuannya dalam melarutkan fosfor dan menambat nitrogen. Sehingga beberapa penelitian sebelumnya menguatkan temuan penelitian ini, di mana spesies Bacillus, khususnya *B. paramycoides* dan *B. cereus* dapat menjadi PGPR.

Hasil penelitian terkait induksi ketahanan tanaman diantaranya penggunaan cendawan endofit sebagai agensi penginduksi biologis telah an oleh Soenartiningasih (2013), aplikasi *Trichoderma* pada i jagung dapat menurunkan kejadian penyakit busuk pelepah.



Pada pengujian lain, aplikasi bakteri endofit *Bacillus subtilis* pada tanaman jagung dengan bahan pembawa talc mampu menekan perkembangan cendawan patogen hawar pelepah dan upih daun *R. solani* (Muis dkk 2015). Sedangkan aplikasi agens kimia untuk menginduksi ketahanan tanaman sudah dilaporkan Hoerussalam dkk (2013) dimana aplikasi elisitor Bio1, Bio2, Abio1, dan Abio2 dapat menginduksi ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai.

Data-data penelitian ini mengindikasikan bahwa induksi biotik dan abiotik berpotensi dilakukan guna menekan penyakit utama yang tergolong obligat parasit seperti bulai. Upaya pemanfaatan dan pengembangan bakteri indigenus sebagai agens penginduksi ketahanan tanaman pada jagung masih perlu dikaji lebih lanjut, karena masih jarang dilakukan di Indonesia.

Fenomena data-data tersebut di atas, menunjukkan bahwa penyakit bulai masih sangat potensial menyebar secara eksplosif pada beberapa wilayah pertanaman jagung di Indonesia. Oleh karena itu, sangat diperlukan informasi teknologi pengelolaannya, khususnya di daerah endemi pada sentra produksi jagung di Indonesia. Selain itu Informasi ilmiah terkini tentang pengendalian penyakit bulai dengan menggunakan induksi resistensi dari kedua jenis induser (biotik dan abiotik) di Indonesia masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini



in untuk melihat aktifitas dari kedua jenis agens penginduksi ini pengendalian penyakit bulai pada jagung.

B. Rumusan Masalah

Pengendalian penyakit bulai pada jagung secara kultur teknis, penggunaan agens hayati, varietas tahan dan pestisida sintetis belum menunjukkan hasil yang memuaskan. Aplikasi pestisida sintetis secara luas untuk mengatasi penyakit bulai pada jagung, mempunyai dampak negatif dalam hal peningkatan resistensi patogen. Sehingga diperlukan alternatif pengendalian potensial lainnya seperti pemanfaatan induksi resistensi tanaman. Teknik induksi resistensi sebagai salah satu alternatif dalam pengendalian penyakit ini dapat diaplikasikan menggunakan agens biotik (mikroba) maupun abiotik. Sampai saat ini, kombinasi induksi ketahanan secara biotik (bakteri) dan abiotik (asam salisilat) dalam pengendalian penyakit bulai di Indonesia masih jarang dilakukan.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yaitu mengetahui pengaruh bakteri rizosfer dan atau asam salisilat dalam menginduksi ketahanan varietas Bima3, Bima20, dan Anoman terhadap penyakit bulai *Peronosclerospora philippinensis* pada jagung.

D. Manfaat Penelitian

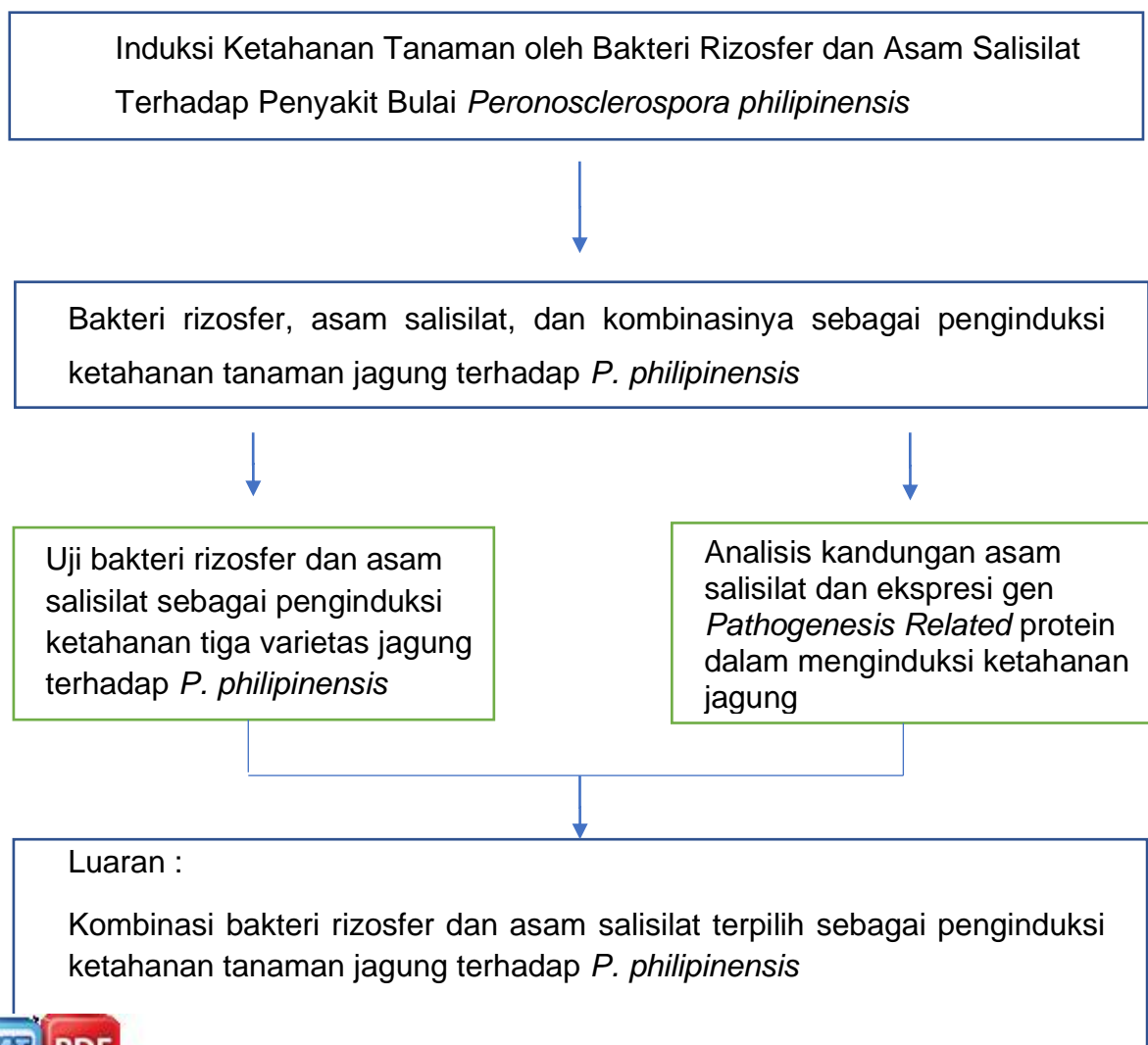
Penelitian ini diharapkan dapat menyediakan teknologi induksi ketahanan varietas jagung oleh bakteri rizosfer dan asam salisilat terhadap penyakit bulai *Peronosclerospora philippinensis* pada jagung.



E. Ruang Lingkup Penelitian

1. Uji bakteri rizosfer, asam salisilat dan kombinasinya sebagai penginduksi ketahanan tiga varietas jagung terhadap *P. philipinensis*
2. Analisis kandungan asam salisilat dengan HPLC
3. Analisis gen PR1 dengan teknik *One Step* RT-PCR

F. Sistematika Penelitian



ir 1. Bagan penelitian pengendalian penyakit bulai melalui induksi ketahanan dengan bakteri rizosfer dan asam salisilat

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Penyakit Bulai Pada Tanaman Jagung

Peronosclerospora spp. telah menyebar hampir di seluruh pulau dengan wilayah yang luas di Indonesia, dalam satu wilayah dapat ditemukan lebih dari satu spesies, sementara satu spesies ditemukan pada beberapa daerah endemik bulai. *P. philippinensis* hanya ditemukan di pulau Sulawesi, sementara *P. maydis* dan *P. sorghi* ditemukan pada seluruh pulau (Muis dkk 2016). Identifikasi patogen bulai pada jagung berbasis morfologi sulit dilakukan. Oleh karena itu perlu konfirmasi menggunakan metode molekuler diantaranya PCR. Penggunaan marka SSR tersebut di Indonesia digunakan untuk membedakan spesies *P. maydis*, *P. sorghi*, dan *P. philippinensis*. Keragaman genetik menggunakan marka SSR menunjukkan bahwa spesies cendawan penyebab bulai di Indonesia berbeda-beda tergantung dari lokasi berkembangnya penyakit tersebut (Rustiani dkk 2015).

Patogen bulai *P. philippinensis* bersifat biotrofik yaitu menyebar dalam jaringan tanaman hidup dan umumnya akibat infeksi tidak menyebabkan nekrosis, jenis patogen ini menggunakan berbagai cara, produksi haustoria, untuk mengekstrak nutrisi dari sel inang (Rathjen and Rathjen 2010). Gejala awal penyakit bulai adalah klorosis



yang berkembang di seluruh permukaan daun (Gambar 2), bagian bawah permukaan daun tersebut terdapat massa spora berwarna putih (Sekarsari dkk 2013).



Gambar 2. Gejala penyakit bulai pada tanaman jagung (kiri) dan morfologi konidia *P. philipinensis* (kanan) Sumber foto: Pribadi (2019) dan Muis (2019)

B. Pengendalian Penyakit Bulai Pada Jagung

Pengendalian penyakit bulai sudah banyak dilakukan diantaranya kultur teknis, penggunaan agens hayati, pestisida nabati, dan bahan sintetik. Perlakuan pestisida nabati menggunakan ekstrak daun tapak liman, mimba, sirih, dan seraiwangi dilaporkan efektif dalam menekan keterjadian penyakit bulai dengan persentase penekanan penyakit mencapai 62% pada ekstrak daun seraiwangi (Sekarsari dkk 2013). Pada alternatif lain, penekanan intensitas penyakit bulai oleh agens alami hayati bakteri antagonis berkaitan dengan kemampuan bakteri



dalam berkolonisasi dengan daun dan menghasilkan senyawa metabolisme sekunder yang dapat melindungi daun dari infeksi patogen (Jatnika dkk 2013).

Beberapa laporan terkait aplikasi agens hayati *B. subtilis* yang berpotensi menekan serangan penyakit bulai pada tanaman jagung, diantaranya formula *B. subtilis* TM4 memiliki potensi penekanan penyakit bulai hingga 63% (Djaenuddin *et al.* 2018). Demikian juga dilaporkan penggunaan PGPR (*Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*) dapat mengendalikan penyakit bulai yang diakibatkan oleh spora *Peronosclerospora* spp. (Zainudin dkk 2014). Sadoma *et al.* (2011) menyebutkan efek positif dari kombinasi agens biologi yang dikaitkan dengan induksi resistensi tanaman inang oleh *Trichoderma* spp. dan produksi beberapa antibiotik oleh *B. subtilis* seperti subillin, basillin, abasillomisin yang dapat mempengaruhi pertumbuhan patogen. Sedangkan hasil penelitian Amin *et al.* (2013) pemanfaatan cendawan *Beauveria* sp. menunjukkan intensitas penyakit bulai pada plot perlakuan lebih rendah dari plot kontrol.

Pencegahan penyakit bulai menggunakan pestisida berbahan aktif metalaksil menurut hasil penelitian Pakki *et al.* (2017; 2018) untuk spesies *P. philippinensis* dengan dosis 3 g/kg benih efektif mengendalikan bulai. Namun, kombinasi varietas peka dan metaksil pada dosis 2-7 g / kg benih



aktif dalam pengendalian penyakit bulai akibat *P. maydis* (Pakki enuddin 2019). Keadaan tersebut mendorong upaya-upaya lain,

berupa alternatif penanggulangan penyakit bulai melalui aplikasi penyemprotan. Menurut Pakki dan Adriani (2015) perlakuan dengan fungisida sistemik pada umur 10 – 22 hari melalui daun diduga berpotensi menurunkan rendahnya peluang konidia *Peronosclerospora* spp. untuk melakukan penetrasi awal. Keadaan ini menyebabkan jumlah tanaman terinfeksi pada fase awal pertumbuhan dapat ditekan sehingga peluang menyebarnya penyakit bulai secara explosif di lapangan dapat dikurangi.

Pemberian *pyraclostrobin*, yang merupakan fungisida dari kelompok strobiluri, efektif mengendalikan penyakit bulai dan berpengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman jagung (Asputri dkk 2013).

C. Induksi Ketahanan Tanaman

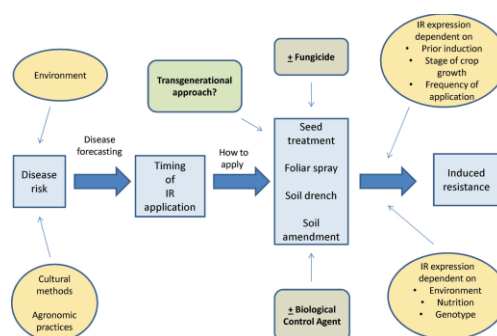
Ketahanan yang diinduksi telah diakui sebagai metode yang potensial dikembangkan untuk manajemen penyakit tanaman di pertanian modern seperti saat ini. Selama dua dekade terakhir, penelitian tentang resistensi yang diinduksi secara kimia dan biologis telah mengungkapkan respons pertahanan tanaman yang sebelumnya tidak diketahui termasuk pertahanan utama (Yi *et al.* 2013). Secara alami, semua tanaman diperkaya dengan gen pertahanan, namun gen-gen ini bersifat pasif dan membutuhkan stimulasi sinyal yang tepat untuk mengaktifkannya. Strategi



alternatif baru dalam manajemen penyakit tanaman yaitu mendorong mekanisme pertahanan tanaman itu sendiri dengan perlakuan zat kimia dan biokontrol (Ojha and Chaterjee 2012).

Ketika tanaman diserang oleh mikro-organisme atau rusak oleh luka mekanis, perubahan fisiologis utama terinduksi dan enzim pertahanan tanaman umumnya diaktifkan (Liang *et al.* 2011). Mekanisme penghambatan berkembangnya patogen pada tanaman oleh bakteri mikroorganisme antagonis secara tidak langsung tetapi lebih meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen tersebut dikenal dengan istilah ketahanan terinduksi secara sistemik (*induced systemic resistance*) (Rustam dkk 2011).

Ketahanan sistemik terjadi ketika tanaman mengaktifkan mekanisme pertahanannya akibat induksi beberapa molekul atau senyawa kimia pada tanaman inang tersebut (Ali and Nadarajah 2013). Jika ketahanan terinduksi akan digunakan dalam manajemen pengelolaan penyakit maka perlu dirancang pemilihan waktu aplikasi yang tepat, frekuensi aplikasi yang tepat, untuk genotipe tanaman yang responsif, yang dipadukan dengan metode pengendalian lainnya (Gambar 3). Genotip inang turut memengaruhi ekspresi induksi resistensi terhadap suatu patogen.



Gambar 3. Faktor-faktor yang mempengaruhi ketahanan terinduksi (Walters *et al.* 2013)



D. Peran Bakteri Rizosfer Sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman

Nitrogen dan fosfor adalah penentu penting untuk pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Beberapa bakteri tanah dapat menyediakannya dalam bentuk yang tersedia bagi tanaman (Nader *et al.* 2019). Indikasi adanya mekanisme yang mendukung pertumbuhan oleh PGPR (*Plant growth Promoting Rhizobacteria*) adalah pada saat bakteri PGPR meningkatkan pertumbuhan tanaman dan ketahanan tanaman melalui kemampuan memproduksi ZPT (Zat pengatur Tumbuh), kemampuan produksi antibiotik, memproduksi siderofor, yang berperan dalam induksi resistensi atau peningkatan ketahanan tanaman terhadap OPT (Jatnika dkk 2013). Yi *et al.* (2013) melaporkan sebagai agens biologis untuk ketahanan yang diinduksi, kelompok rizobakteria (PGPR) yang berasosiasi dengan akar tanaman dapat mengurangi keparahan dan insiden penyakit, dan meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman. Akar jagung mengandung senyawa pertahanan basal yang tinggi seperti flavonoid, yang dapat menjadi target perlakuan untuk program peningkatan ketahanan dan produktivitas tanaman di masa depan (Balmer *et al.* 2013).

Tanaman yang diberi perlakuan PGPR memiliki keadaan metabolisme yang lebih baik, sehingga adanya inokulasi patogen tidak akan tanaman berada dalam keadaan stres atau tercekam. Pada tanaman yang tidak diberi perlakuan PGPR menjadi sangat rentan pada saat diinokulasi patogen, sehingga tanaman



meresponsnya secara cepat dengan memobilisasi metabolit sekunder seperti SA untuk melawan infeksi patogen (Taufik dkk 2010). Akumulasi enzim dapat terlibat tidak hanya dalam respon pertahanan tanaman, tetapi juga dapat dikaitkan dengan resistensi yang diinduksi oleh PGPR. Peningkatan pola ekspresi enzim oleh PGPR menjelaskan kemampuan tanaman yang diinduksi resistensi terhadap patogen adalah sistemik (Liang *et al.* 2011).

Tanaman jagung memberikan reaksi ketahanannya terhadap infeksi patogen hawar pelepah dan upih daun *Rhizoctonia solani* akibat adanya bakteri antagonis *Bacillus subtilis* TM4 yang juga berperan dalam meningkatkan mekanisme ketahanan jaringan tanaman (Muis dkk 2015). Mekanisme *B. subtilis* strain SR/B-16 sebagai agens pengendali biologi terhadap fitopatogen adalah stimulasi mekanisme resistensi yang diinduksi pada tanaman inang (Orbera *et al.* 2014).

Kemampuan bakteri antagonis *B. subtilis* dan cendawan endofit *Trichoderma viride* dalam menghasilkan fitohormon, vitamin, pelarut mineral lainnya merupakan mekanisme penghambatan secara tidak langsung dari agens hayati tersebut terhadap pertumbuhan patogen (Morsy *et al.* 2009). Cendawan lainnya yang bertindak sebagai agens pengendali hayati yaitu *Beauveria bassiana* terbukti efektif mengendalikan penggerek batang pada tanaman jagung *Ostrinia furnacalis* (Daud *et al.*



2020a). Selain dapat mengurangi kerusakan akibat hama, *B. bassiana* juga menghambat perkembangan dan reproduksi serangga (Daud *et al.* 2020b) dan diduga dapat menjadi antagonis terhadap patogen tanaman.

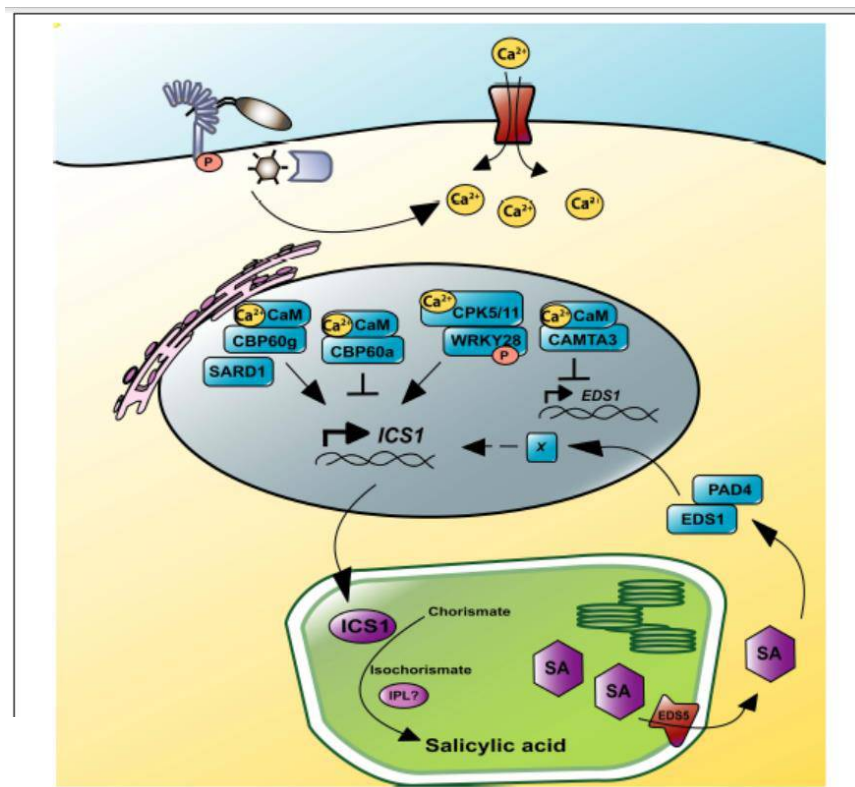
E. Peranan Sinyal Asam Salisilat Dalam Induksi Resistensi

Senyawa fitohormon asam salisilat (SA) memegang peran penting dalam mentransduksi aktivasi sistem pertahanan tanaman terhadap serangan patogen. SA menginduksi mekanisme resistensi yang aktif terhadap patogen biotropik dan hemibiotropik (Tamaoki *et al.* 2013). Siderofor berperan dalam mekanisme *Induced Systemic Resistance* (ISR), siderofor menginduksi tanaman untuk menghasilkan asam salisilat yang berperan sebagai transduksi signal yang mengaktifkan gen-gen penginduksi pembentukan *systemic acquired resistant* (SAR) (Jatnika dkk 2013). Akumulasi SA sebaiknya terjadi sebelum inokulasi patogen, sehingga tanaman mampu mengaktifkan gen-gen ketahanan sebelum infeksi patogen berlangsung. Tetapi konsentrasi SA yang terjadi setelah inokulasi patogen nampaknya tidak mampu melawan infeksi patogen, sehingga tanaman menjadi lebih rentan. Nampaknya bahwa konsentrasi SA menentukan aktivasi gen-gen ketahanan tanaman (Taufik dkk 2010).

MAMP atau peningkatan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler sehingga ir protein sensor kalsium, seperti CaM dan CDPK. Faktor osi yang mengikat CaM, CBP 60g dan CBP60a, masing-masing regulator positif dan negatif dari transkripsi ICS1. Homolog



CBP60a/g, SARD1, bukan merupakan protein pengikat CaM tetapi berfungsi secara berlebihan dengan CBP60g untuk transkripsi ICS1. WRKY28, yang aktivitas pengikatan DNANYa diatur oleh CDPKsCPK5 dan CPK11, juga berkontribusi pada ekspresi ICS1. ICS1 memediasi produksi SA dalam kloroplas, dengan konversi chorismate menjadi isochorismate prekursor SA. SA mungkin diangkut melalui MATE-transporter EDS5 ke dalam sitosol. Kompleks EDS1/PAD4 berkontribusi pada umpan balik positif akumulasi SA. Represi transkripsi EDS1 oleh Ca²⁺/CaM-binding transcription factor CAMTA3 merupakan mekanisme untuk akumulasi SA (Gambar 4).



r 4. Regulasi akumulasi SA dengan pensinyalan kalsium (Seyffert and Tsuda 2014)



Tanaman merespons invasi patogen dengan mengaktifkan respons pertahanan yang terkait dengan akumulasi beberapa enzim dan senyawa inhibitor yang mencegah infeksi patogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fenilalanin ammonia liase (PAL), polifenoloksidase (PPO), peroksidase (POD), asam klorogenat, dan fenol total yang dapat larut berperan dalam memberikan resistensi terhadap infeksi busuk kentang (Ngadze *et al.* 2012) dan penyakit layu bakteri pada tomat (Seleim *et al.* 2014). Kobeasy *et al.* (2011) melaporkan perlakuan *Sodium nitroprusside* (SNP) dan SA yang disemprotkan sebelum inokulasi dengan *Peanut Mottle Virus* (PeMV) mampu menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen PeMV, semua perlakuan yang diuji memberikan peningkatan yang signifikan dalam pigmen fotosintesis dan aktivitas POD, askorbat peroksidase (APX), katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD) dan PAL. Selanjutnya hasil penelitian Veladi *et al.* (2013) menunjukkan penggunaan elisitor SA memiliki efek signifikan pada reduksi gejala penyakit layu pada buncis.

F. Peran Bakteri Rizosfer Dan Asam Salisilat Terhadap Pertumbuhan Tanaman

Pertumbuhan adalah proses kompleks yang terorganisir dan terkoordinasi dengan baik di mana metabolisme menyediakan energi dan lainnya berupa hormon untuk menghasilkan dan mengatur laju pertumbuhan suatu tanaman. Sebelumnya, hanya dikenal lima kelompok (auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat, dan etilen) yang



ditetapkan sebagai pengatur pertumbuhan tanaman (Hayat *et al.* 2010). Pertumbuhan dan perkembangan tanaman dapat terhambat oleh berbagai faktor cekaman biotik dan abiotik. Hormon tanaman memainkan peran penting dalam proses perkembangan, dan beberapa di antaranya memiliki peran penting dalam mekanisme yang mengarah pada aklimasi terhadap perubahan lingkungan. Asam salisilat (SA), yang dikenal sebagai senyawa yang mengirimkan sinyal ke molekul dalam mekanisme ketahanan terinduksi pada tanaman berpotensi untuk mengurangi sensitivitas cekaman (Szalai *et al.* 2011).

Dalam kondisi cekaman air, inokulasi PGPR plus K silikat berhasil mengurangi cekaman kekeringan pada tanaman sorgum. Aplikasi silikat K pada daun secara individual atau ditambah inokulasi bakteri pada tanaman sorgum dapat mengurangi stres kekeringan dan meningkatkan pertumbuhan dan hasil sorgum, selain itu karakteristik fisiologis, pigmen fotosintesis, tingkat klorofil daun serta peningkatan aktivitas biologis tanah, dan aktivitas antioksidan bisa menjadi indikasi toleransi stress (Saad and Abo-Koura 2018). Aplikasi formula spora *B. subtilis* B12 melalui perlakuan benih mampu menginduksi ketahanan tanaman padi terhadap hawar daun bakteri dan meningkatkan pertumbuhan dan produktifitas tanaman, karena *B. subtilis* mampu menghasilkan zat pengatur tumbuh yang mampu memicu pertumbuhan tanaman (Wartono dkk 2015). Lebih lanjut

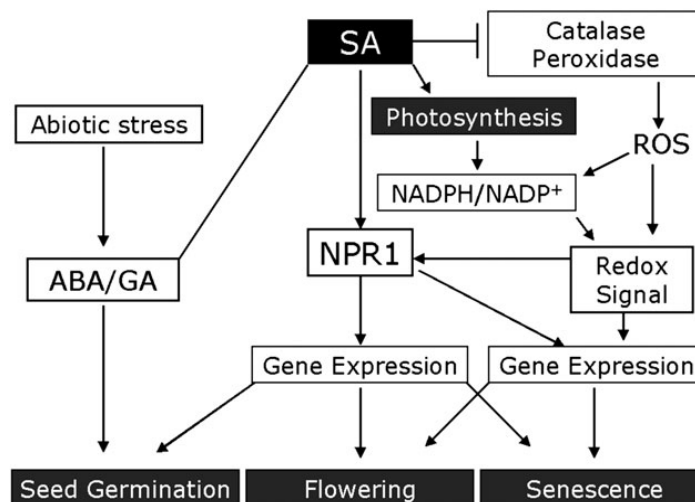


akan Pas *et al.* (2015) keberadaan bakteri PGPR dalam akar sebagai penambat biologi juga dapat memproduksi hormon

tanaman IAA dan GA yang mampu meningkatkan kekuatan tumbuh tanaman, efisiensi penyerapan fosfat, meningkatkan respirasi akar, dan meningkatkan ketahanan terhadap cekaman lingkungan dan infeksi patogen.

Asam salisilat (SA) bertindak sebagai molekul sinyal endogen yang bertanggung jawab untuk menginduksi toleransi cekaman abiotik pada tanaman. Perlakuan awal dengan SA selanjutnya meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan konsentrasi antioksidan non-enzimatik dalam varietas toleran dibandingkan dengan varietas rentan. Hasil penelitian Saruhan *et al.* (2012) menunjukkan bahwa SA eksogen dapat membantu mengurangi efek buruk dari cekaman kekeringan dan diduga memiliki peran kunci dalam memberikan toleransi terhadap cekaman dengan mengurangi kehilangan air dan menginduksi sistem antioksidan pada tanaman. Sejalan dengan hasil penelitian Zamaninejad *et al.* (2013) efek interaksi dari kekeringan dan asam salisilat pada tinggi tanaman adalah signifikan, dalam stres kekeringan, penggunaan asam salisilat dapat memodifikasi efek kekeringan tanaman jagung pada 10-12 helai daun dengan konsentrasi SA 1 Mm.





Gambar 5. Model deskriptif fungsi asam salisilat dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rivas-San Vicente and Plasencia 2011)

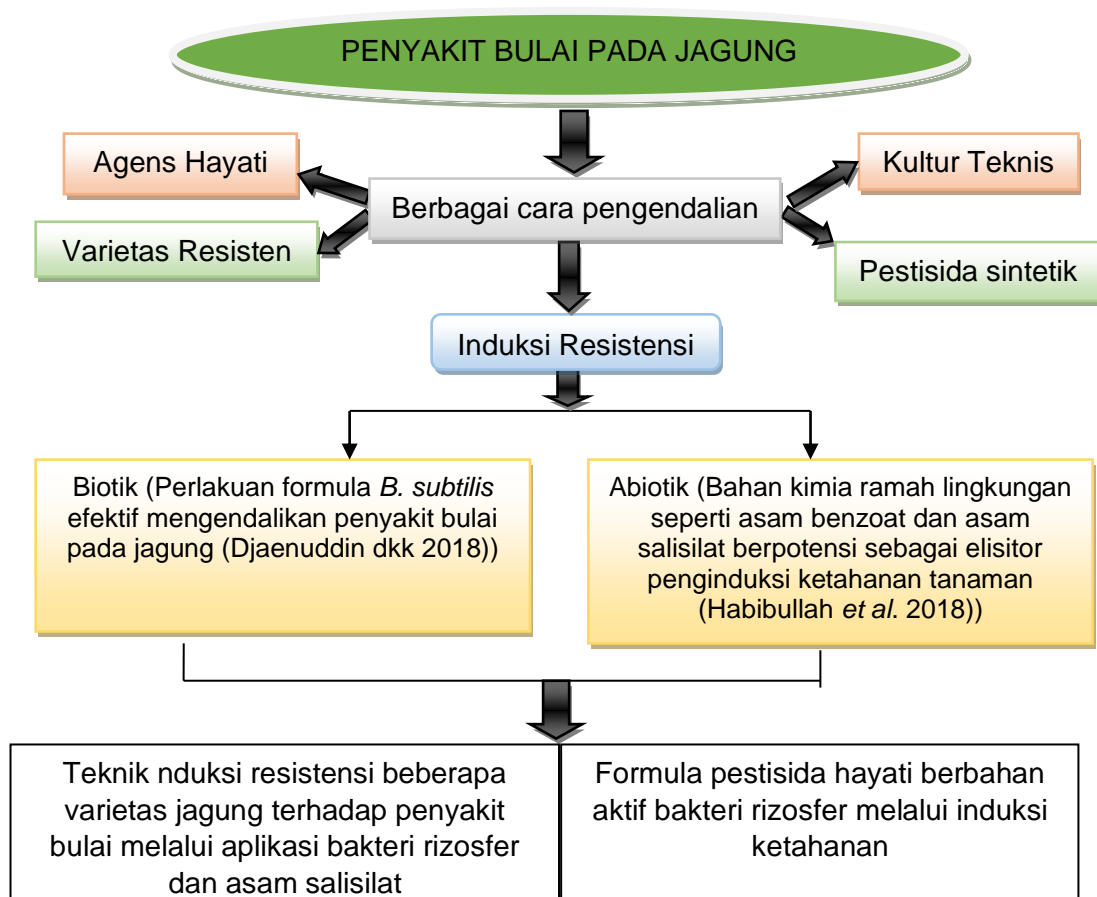
Pada Gambar 5. SA dipersepsikan oleh NPR1, aktivator transkripsional yang mengatur ekspresi gen yang mungkin berpartisipasi dalam perkecambahan biji, pembungaan, dan/atau regulasi penuaan. Selain itu, SA adalah pengatur utama status redoks sel tanaman dengan menghambat aktivitas katalase dan peroksidase, dan dengan demikian memodulasi tingkat spesies oksigen reaktif (ROS). Efek positif SA pada fotosintesis berkontribusi terhadap ketersediaan akseptor elektron dan status redoks. Oligomisasi NPR1 dimodulasi redoks. Lanjut dikemukakan Rivas-San Vicente dan Plasencia (2011) SA adalah hormon tanaman yang melampaui reaksi pertahanan dalam kekebalan tanaman dan respons terhadap cekaman abiotik. Jika terjadi interaksi antara hormon tanaman lainnya (asam absisat, asam jasmonik, giberelin, etilen, steroids, auksin, dan sitokinin), maka SA berkontribusi penting pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Analisis lebih lanjut



tentang peran ganda SA dalam respons cekaman akan memungkinkan identifikasi mekanisme tanaman yang ditujukan untuk menjaga keseimbangan yang tepat antara pertumbuhan dan ketahanan tanaman.

Perlakuan SA dalam kondisi tanah salin dapat mengatasi penghambatan panjang akar tanaman, bobot segar maupun bobot kering akar yang disebabkan oleh garam (Fahad and Bano 2012).

G. Kerangka Konseptual



ar 6. Kerangka teori pengendalian penyakit bulai melalui induksi ketahanan dengan bakteri rizosfer dan asam salisilat



H. Hipotesis

1. Bakteri rizosfer mampu menginduksi ketahanan varietas jagung Anoman, Bima20, dan Bima3 dalam menekan patogen bulai melalui akumulasi asam salisilat dan ekspresi gen PR-1.
2. Kombinasi antara bakteri rizosfer dan asam salisilat akan memberikan respons yang optimal dalam menginduksi ketahanan tiga varietas jagung terhadap *P. philipinensis* melalui akumulasi asam salisilat dan ekspresi gen PR-1.

