

**PENAPISAN AKTINOBAKTERIA RHIZOSFER PADI SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN
BAKTERI**

**RICE RHIZOSPHERE ACTINOBACTERIA SCREENING AS BIO-CONTROL AGENT AGAINST
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* THE PATHOGEN OF BACTERIAL LEAF BLIGHT**

Muhammad Fadil, Yulmira Yanti*, Ujang Khairul

Prodi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang
Kampus Unand, Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang 25163 Indonesia

*Korespondensi: yy.anthie79@gmail.com

Diterima : 11 Agustus 2022 / Disetujui : 29 Maret 2023

ABSTRAK

Penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan penyakit penting tanaman padi. Aktinobakteria memiliki potensi sebagai agens hayati untuk mengendalikan *X. oryzae* pv. *oryzae* karena memiliki kemampuan dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi isolat aktinobakteria yang dapat menekan perkembangan *X. oryzae* pv. *oryzae* dan memiliki potensi dalam memacu pertumbuhan tanaman padi secara *in-planta*, serta mengetahui kemampuan aktinobakteria dalam menghasilkan enzim penghambat perkembangan *X. oryzae* pv. *oryzae*. Penelitian terdiri dari empat tahap, yaitu: isolasi, seleksi, karakterisasi, dan potensi daya hambat isolat aktinobakteria. Sebanyak 30 isolat berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman padi di tiga Kabupaten Sumatera Barat, dan sebanyak 25 isolat berhasil diseleksi berdasarkan uji keamanan hayati. Hasil uji *in-planta* menunjukkan 10 isolat memiliki kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan dan menekan perkembangan hawar daun bakteri. Hasil uji antagonis menunjukkan 5 isolat menghasilkan penghambatan terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* sebesar 11,66-29,66%. Lima isolat terpilih yaitu: APRD 3I211, APRD 1I122, APRP 2S121, APRP 1I121, APRP 3I212 terbukti mampu menghasilkan enzim protease, selulase, amilase, metabolit sekunder.

Kata kunci: Aktinobakteria, metabolit sekunder, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, zona hambat

ABSTRACT

Bacterial leaf blight caused by *X.o. pv. oryzae* is an important disease of rice plants. Actinobacteria has potential as biological agents to control *X.o. pv. oryzae* because it has the ability to produce bioactive compounds. This study aimed to select actinobacteria isolates that can suppress the development of *X.o. pv. oryzae* and has the potential to stimulate the growth of rice plants *in-planta*, as well as to determine the ability of actinobacteria in producing enzymes that inhibit the development of *X. oryzae* pv. *oryzae*. The research consisted of four

stages, namely: isolation, selection, characterization, and potential inhibition of actinobacterial isolates. A total of 30 isolates were successfully isolated from the rhizosphere of rice plants in three districts of West Sumatra, and as many as 25 isolates were successfully selected based on biosafety tests. The results of the *in-planta* test showed that 10 isolates had the ability to increase the growth and suppressed the development of bacterial leaf blight. The results of the antagonist test showed that 5 isolates inhibited of *X.o. pv. oryzae* by 11.66-29.66%. Five isolates were selected, namely: APRD 3I211, APRD 1I122APRP 2S121, APRP 1I121, APRP 3I212 which capable of produce protease enzymes, cellulases, amylase, and secondary metabolites.

Keywords: Actinobacteria, secondary metabolites, resistor zone, *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan *X. oryzae pv. oryzae* (*Xoo*) merupakan penyakit penting pada tanaman padi (Wang *et al.*, 2021). HDB menyebabkan kehilangan hasil mencapai 74-80% apabila kondisi lingkungan untuk perkembangan penyakit optimal dan tanaman padi rentan (Prihatiningsih *et al.*, 2020). Gejala awal dari penyakit HDB dimulai pada ujung daun, kemudian bertambah lebar sampai menyebabkan pinggir daun menguning, layu, keriput, dan kemudian mati. Penyakit ini ditemukan menginfeksi padi pada fase vegetatif maupun fase generatif (Triny, 2011). Serangan pada fase vegetatif disebut kresek, apabila serangan bakteri terjadi pada fase generatif disebut hawar, perkembangan penyakit pada fase vegetatif lebih cepat dibandingkan fase generatif, karena pada fase vegetatif struktur jaringan padi belum sempurna dibandingkan fase generatif (Fatimah & Prasetyono, 2020).

Beberapa upaya pengendalian HDB telah dilakukan diantaranya penggunaan varietas tahan, fungisida sintetik, sanitasi lahan dan pergiliran tanaman dengan tanaman yang bukan inang patogen, namun upaya pengendalian tersebut belum

memberikan hasil yang memuaskan (Yanti *et al.*, 2018). Upaya pengendalian yang diharapkan memperoleh hasil yang lebih optimal dan mulai banyak mendapat perhatian peneliti adalah pengendalian menggunakan agens hayati (Djaenuddin & Muis, 2017). Pengendalian hayati dapat memanfaatkan agens hayati *indigenous*. Agens hayati *indigenous* merupakan agens yang didapatkan dari bagian tanaman tertentu seperti pada daerah rizosfer atau filosfer lalu diaplikasikan kembali pada tanaman asal. Hal ini didasarkan bahwa ketika agens hayati *indigenous* diaplikasikan pada lingkungan asal, agens hayati sudah mengenal kondisi lingkungan tersebut, karena berasal dari lingkungan yang sama (Cabanás *et al.*, 2018).

Salah satu agens hayati yang dapat dimanfaatkan dalam pengendalian hayati yaitu aktinobakteria (Inayah, 2020). Aktinobakteria termasuk ke dalam kelompok bakteri gram positif, berbentuk filamen, umumnya bersifat aerob dan beberapa bersifat aerob fakultatif (Suhartono & Artika, 2017). Aktinobakteria mudah untuk beradaptasi, dapat ditemukan di berbagai habitat termasuk habitat ekstrim karena memiliki plastisitas fisiologis dan ekologis yang tinggi (Nafis *et al.*, 2019).

Aktinobakteria telah dilaporkan sebagai agens pengendali *Sclerotium rolfsii* patogen penyebab rebah kecambah pada tanaman kedelai (Wibowo *et al.*, 2020), selain itu Aktinobakteria juga dilaporkan sebagai agens pengendali *Agrobacterium tumefaciens*, patogen penyebab *crown gall* (Bhatti *et al.*, 2017). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* dan *Burkholderia cepacia*, patogen penyebab busuk lunak bawang (Abdallah *et al.*, 2013). Menurut Liotti *et al.* (2019), aktinobakteria mampu meningkatkan pertumbuhan serta menekan penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum gloeosporioides* pada tanaman cabai. Adanya potensi aktinobakteria sebagai agens pengendali hayati penyakit tumbuhan perlu dilakukan eksplorasi berkelanjutan terhadap bakteri aktinobakteria. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi isolat aktinobakteria yang dapat menekan perkembangan dari *Xoo* dan memiliki potensi dalam memacu pertumbuhan tanaman padi secara *in-planta*, serta mengetahui kemampuan aktinobakteria dalam menghasilkan metabolit sekunder dan enzim penghambat *Xoo*.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Aktinobakteria dari Rizosfer Tanaman Padi

Sampel tanah diambil dari perakaran tanaman padi yang tumbuh sehat di antara tanaman padi yang bergejala penyakit hawar daun bakteri di Kabupaten Solok, Kabupaten Tanah Datar dan Kabupaten Padang Pariaman Provinsi Sumatera Barat masing-masing sebanyak 100 g menggunakan metode *Purposive Sampling* (Yanti *et al.*, 2019). Sampel kemudian

diisolasi menggunakan pengenceran berseri. Suspensi dari pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media *ISP2 (International Streptomyces Project 2)* dan *SCA (Strach Casein Agar)* dan diinkubasi selama 14 hari. Koloni yang tumbuh kemudian dipisahkan sehingga diperoleh biakan murni.

Uji Keamanan Hayati

Reaksi Hipersensitif

Reaksi hipersensitif bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang diuji merupakan bakteri patogen tanaman atau bukan. Suspensi bakteri aktinobakteria 10^8 sel ml^{-1} diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). Reaksi hipersensitif dinyatakan negatif apabila tidak terjadi nekrotik pada daun tembakau dalam waktu 24-48 jam setelah inokulasi (Klement, 1990).

Uji Hemolisis

Uji hemolisis bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri yang tergolong patogen pada manusia dan hewan. Uji hemolisis menggunakan medium agar darah dengan cara kertas cakram (diameter 5 mm) dicelupkan ke dalam suspensi aktinobakteria dan diletakkan pada medium agar darah tersebut. Sebagai kontrol, kertas cakram (diameter 5 mm) dicelupkan ke dalam akuades steril lalu diletakkan pada medium tersebut, dan diinkubasi 2 x 24 jam pada suhu ruang. Adanya zona bening di sekitar kertas cakram menandakan isolat berpotensi sebagai patogen pada manusia (Yanti *et al.*, 2021).

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan pada tanaman padi yang berumur 2 minggu. Daun diinokulasi dengan cara dilukai

menggunakan gunting terlebih dahulu kemudian dicelupkan ke dalam suspensi aktinobakteria dengan kepadatan koloni minimal 108 sel ml⁻¹ selama 10 detik. Tanaman padi yang telah diinokulasi diinkubasikan selama 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan mengamati ada atau tidaknya gejala nekrosis pada bagian ujung daun sampai bagian bawah daun yang mendekati tanah. Adanya gejala nekrosis yang timbul menandakan aktinobakteria tersebut memiliki potensi sebagai patogen pada tanaman.

Uji *In-planta*.

Seleksi Isolat Aktinobakteria untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Padi.

Seleksi dilakukan pada bibit padi secara *in planta* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data dianalisis dengan sidik ragam, apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf nyata 5%. Media tanam disiapkan dengan campuran tanah dengan pupuk kandang (2:1 v/v) kemudian ditindalisasi (Yanti *et al.*, 2013).

Benih padi direndam terlebih dahulu dengan isolat aktinobakteria selama 15 menit dengan kepadatan 108 spora ml⁻¹ kemudian disemai sebanyak 50 benih tiap bak kecambah, setelah benih berumur 21 hari setelah semai (HSS) kemudian dipindahkan ke dalam *polybag* sebanyak 2 bibit padi tiap *polybag*, lalu dilakukan pemeliharaan yang meliputi penambahan air apabila air dalam *polybag* sudah kurang dari kapasitas lapang, penyulaman yang dilakukan apabila ada tanaman tidak tumbuh serta dilakukan penyiangan gulma dan pemupukan tanaman padi pada umur 7 hari setelah tanam (HST) dengan pupuk urea, SP-36 dan KCl masing-masing sebanyak 0,78; 0,625 dan 0,78 g *polybag*⁻¹

(masing-masing setara dengan 125, 100 dan 125 kg ha⁻¹); pemupukan kedua pada umur 25 HST dengan urea 0,625 g *polybag*⁻¹, dan pemupukan ketiga pada umur 40 HST dengan pupuk ZA 0,625 g *polybag*⁻¹ (Wangiyana *et al.*, 2009).

Seleksi Isolat Aktinobakteria untuk Mengendalikan Hawar Daun Bakteri secara *in Planta*

Pada tahap ini dilakukan pengamatan pertumbuhan tanaman padi fase vegetatif dan pengamatan perkembangan penyakit. Seleksi dilakukan pada tanaman padi secara *in planta* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data dianalisis dengan sidik ragam, apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf nyata 5%. Inokulasi *Xoo* dilakukan pada saat tanaman padi berumur 2 MST dengan menggunting daun tanaman padi sepanjang 3 cm dari ujung daun sebanyak 5 sampel daun setiap 1 rumpun, kemudian dicelupkan pada suspensi *Xoo* dengan kepadatan populasi 107 cfu ml⁻¹ (Khaeruni *et al.*, 2014). Pada pengamatan perkembangan penyakit diamati masa inkubasi, insidensi dan intensitas serangan HDB pada tanaman padi. Pada tahap pertumbuhan tanaman yang diamati yaitu tinggi tanaman, jumlah daun, dan jumlah anakan tanaman padi.

Rumus untuk mengukur severitas penyakit adalah:

$$S = \frac{\sum(n_i \times v_i)}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan:

S : severitas penyakit

n : jumlah daun dari tiap kategori serangan

v : Nilai Skala Tiap Kategori Serangan

N : Jumlah daun yang diamati

V: Nilai numerik tertinggi pada kategori serangan
 Rumus untuk mengukur insidensi penyakit adalah:

$$I = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:
 I: Insidensi penyakit
 n: Jumlah daun tanaman terinfeksi
 N: Total jumlah daun tanaman yang diamati.

Tabel 1. Nilai kategori serangan untuk penyakit Hawar pada daun padi (IRRI, 1996).

Skala	Luasan Gejala	Tingkat Ketahanan
0	Tidak ada serangan	Sangat Tahan (ST)
1	Serangan 1-5%	Tahan (T)
3	Serangan 6-12%	Agak Tahan (AT)
5	Serangan 13-25%	Sedang (S)
7	Serangan 26-50%	Rentan (R)
9	Serangan 51-100%	Sangat Rentan (SR)

Uji Antagonisme Isolat Aktinobakteria terhadap *Xoo*

Uji antagonisme aktinobakteria terhadap *Xoo* dilakukan menggunakan metode *cross-streak* (Velho-Pereira & Kamt, 2011) yang dimodifikasi, yaitu dengan menggoreskan agens hayati uji secara menyeluruh pada sepertiga bagian dari diameter cawan selebar ± 3 cm. Selanjutnya cawan diinkubasikan selama 3 hari. Selanjutnya *Xoo* digoreskan secara tegak lurus terhadap goresan agens hayati dengan jarak ± 0,5 cm dari tepi goresan agens hayati. Goresan berbentuk garis tunggal dan dibuat sebanyak empat goresan dengan panjang goresan ± 3 cm dan lebar ± 0,2 cm. Modifikasi dari metode Velho-Pereire & Kamat (2011), yaitu dari aspek cara dan posisi inokulasi agens hayati. Metode inokulasi ini dilakukan pada bagian tengah berupa goresan tunggal sepanjang 7 cm dan lebar 0,5 cm. Persentase penghambatan terhadap bakteri (PPb) patogen dihitung dengan rumus:

$$PPb (\%) = AWG/TSA \times 100$$

AWG adalah panjang daerah goresan yang tidak ditumbuhi bakteri, dan TSA adalah panjang total goresan (Velho-Pereira & Kamat 2011).

Uji Kemampuan Aktinobakteria dalam Menghasilkan Enzim dan Metabolit Sekunder terhadap *Xoo*

Uji Kualitatif Protease.

Sebanyak lima isolat aktinobakteria diremajakan pada media SCB (*Strach Casein Broth*) dan ISP 2 Broth selama 14x24 jam. Uji aktivitas enzim protease dilakukan dengan cara mencelupkan kertas saring steril yang berdiameter 5 mm ke dalam masing-masing biakan cair isolat Aktinobakteria dengan kepadatan koloni 10⁻⁷ kemudian diletakkan di atas *Petri dish* yang telah berisi media SMA (*Skim Milk Agar*) padat (Chu, 2006 dimodifikasi). Uji positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri pada permukaan media SMA.

Uji Kualitatif Selulase

Uji selulase menggunakan media CMC (*carboxymethyl cellulase*), sebanyak lima isolat aktinobakteria digores menggunakan jarum ose pada media CMC dan diinkubasikan selama 4x24 jam. Aktinobakteria yang telah diinkubasi ditetesi larutan Congo red 1% dan dibilas dengan larutan NaCl, zona bening yang muncul menandakan bahwa aktinobakteria mampu memproduksi enzim selulase.

Uji Kualitatif Amilase

Aktivitas amilase diuji dengan menggunakan media MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*). Isolat aktinobakteria digoreskan pada medium dengan metode gores. Lalu diinkubasikan selama 2x24 jam. Jika pertumbuhannya bagus, ditetaskan larutan Iodium pada permukaannya dan diamati zona bening di sekitar diintroduksi suspensi *Xoo*. Adanya metabolit sekunder ditandai dengan timbulnya zona bening di sekitar kertas saring.

Analisis Data

Data daya hambat Aktinobakteria terhadap *Xoo* dianalisis menggunakan sidik ragam, apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 30 isolat aktinobakteria berhasil diisolasi dari perakaran tanaman padi di tiga kabupaten di Sumatera Barat dengan rincian 16 isolat dari Kabupaten Padang Pariaman, 8 isolat dari Kabupaten Solok, dan 6 isolat dari kabupaten tanah datar. Aktinobakteria merupakan agens pengendali hayati potensial terhadap *Xoo*.

Aktinobakteria dilaporkan memiliki kemampuan dalam menghambat patogen tanaman seperti *Rizhoctonia solani* penyebab hawar pelepah tanaman padi (Suryawanshi *et al.*, 2020). *Ralstonia solanacearum* penyebab layu bakteri pada tanaman tomat (Lee *et al.*, 2021), *Xoo* penyebab hawar daun bakteri pada tanaman padi (Shi *et al.*, 2021).

Uji Keamanan Hayati

Berdasarkan uji keamanan hayati dari 30 isolat Aktinobakteria, diperoleh 25 isolat yang menunjukkan hasil hipersensitif negatif dan 5 isolat menunjukkan hasil hipersensitif positif. Pada uji hemolisis dan uji patogenisitas seluruh isolat menunjukkan hasil negatif. Oleh karena itu ke 25 isolat Aktinobakteria yang menunjukkan hasil pengujian negatif (Tabel 2) dapat digunakan untuk pengujian secara *in planta*.

Seleksi Isolat Aktinobakteria untuk Mengendalikan Hawar Daun Bakteri secara *in Planta*

Sebanyak 18 isolat Aktinobakteria hasil seleksi tahap pertumbuhan bibit diuji kemampuannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi fase vegetatif dan menekan perkembangan HDB pada tanaman padi. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh 10 isolat terbaik yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman padi dan menekan perkembangan HDB pada tanaman padi, isolat-isolat tersebut adalah APRD 3I211, APRD 1I122, APRP 1I121, APRP 3I212, APRP 2S121, APRP 1I213, APRD 1I121, APRS 3I111, APRS 3I214, dan APRD 2I312. Isolat APRD 3I211 menunjukkan hasil rekapitulasi tertinggi pada pengamatan perkembangan penyakit (masa inkubasi, insidensi, severitas) (Tabel

3). Isolat APRP 3I212 menunjukkan kemampuan terbaik pada pengamatan pertumbuhan tanaman padi fase vegetatif (tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah

anakan) (Tabel 5). Sebanyak 10 isolat terpilih tersebut digunakan untuk tahap selanjutnya.

Tabel 2. Uji keamanan hayati isolat Aktinobakteria

Kode Isolat	Reaksi Hipersensitivitas	Uji Hemolisis	Uji Patogenisitas
APRP 2S122	-	-	-
APRP 3I313	-	-	-
APRS 3I211	-	-	-
APRS 3I212	-	-	-
APRP 2I312	+	-	-
APRD 3I222	-	-	-
APRP 3I322	-	-	-
APRP 2I121	-	-	-
APRP 2S121	-	-	-
APRP 1I211	-	-	-
APRD 3I213	-	-	-
APRP 1I212	-	-	-
APRP 1S111	-	-	-
APRP 3I323	-	-	-
APRP 1I121	-	-	-
APRP 1I213	-	-	-
APRD 1I122	-	-	-
APRD 1I121	-	-	-
APRP 3I311	-	-	-
APRS 3I214	-	-	-
APRP 3I221	-	-	-
APRP 1S211	-	-	-
APRS 3I112	+	-	-
APRS 3I221	+	-	-
APRS 3I111	-	-	-
APRS 2I111	+	-	-
APRD 3I211	-	-	-
APRS 1S111	+	-	-
APRD 2I312	-	-	-
APRP 3I212	-	-	-

Keterangan: (+) Patogen, (-) Bukan patogen

Isolat Aktinobakteria yang diintroduksi pada tanaman padi mampu memperlambat masa inkubasi, menurunkan insidensi, dan severitas hawar daun bakteri dibandingkan kontrol, isolat terbaik dalam menekan perkembangan penyakit yaitu isolat dengan kode APRD 3I211. Hasil penelitian ini diduga karena aktinobakteria berperan sebagai agens

pengendali hayati dengan mekanisme pengendalian secara tidak langsung karena kemampuannya sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dan sebagai ISR (*Induce Systemic Resistance*) yang berperan sebagai pemberi sinyal pertahanan bagi tanaman. Hal ini sesuai dengan pendapat Purwantisari *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa aplikasi PGPR

sangat menguntungkan bagi tanaman karena selain memacu terbentuknya fitohormon

juga berperan dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap pathogen.

Tabel 3. Kemampuan Aktinobakteria dalam menghambat perkembangan hawar daun bakteri

Perlakuan	Masa inkubasi		Insidensi		Severitas	
	Hari	Efektivitas	%	Efektivitas	%	Efektivitas
APRD 3I211	6,00 a	100,00	9,40 a	83,09	8,29 a	83,51
APRP 1I121	5,66 ab	88,86	10,21 a	81,63	9,61 a	80,89
APRP 3I212	5,33 abc	77,76	9,71 a	82,53	8,62 a	82,86
APRP 1S211	5,33 abc	77,76	11,40 a	79,49	10,42 a	79,28
APRP 2S121	5,00 abcd	66,66	9,13 a	83,57	7,86 a	84,37
APRP 1I213	5,00 abcd	66,66	9,49 a	82,92	8,84 a	82,42
APRS 3I211	4,66 abcde	55,53	11,10 a	80,03	9,56 a	80,99
APRD 1I122	4,66 abcde	55,53	10,43 a	81,23	9,35 a	81,41
APRD 1I121	4,66 abcde	55,53	9,63 a	82,67	8,80 a	82,50
APRS 3I214	4,66 abcde	55,53	8,95 a	83,89	7,76 a	84,57
APRD 2I312	4,66 abcde	55,53	11,49 a	79,33	10,65 a	78,82
APRP 3I322	4,33 abcde	44,43	9,43 a	83,03	8,44 a	83,22
APRP 3I311	4,33 abcde	44,43	10,0 a	82,01	8,95 a	82,20
APRS 3I111	4,33 abcde	44,43	8,90 a	83,98	8,29 a	83,51
APRS 3I212	4,00 bcde	33,33	10,40 a	81,29	9,47 a	81,17
APRP 3I313	3,66 cde	22,20	12,12 a	78,19	11,11 a	77,91
APRP 3I221	3,66 cde	22,20	8,17 a	85,30	7,34 a	85,40
Streptomisin	3,66 cde	22,20	17,43 b	68,64	15,53 b	69,12
APRD 3I222	3,33 de	11,10	8,98 a	83,84	8,02 a	84,05
Kontrol -	3,00 e	0,00	55,59 c	0,00	50,30 c	0,00

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut LSD pada taraf 5%.

Seleksi Isolat Aktinobakteria untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Padi

Tabel 4. Kemampuan Aktinobakteria dalam meningkatkan pertumbuhan bibit padi yang berumur 21 hari setelah semai

Perlakuan	Tinggi Bibit		Jumlah Daun		Panjang Akar		Berat Segar		Berat Kering	
	cm	Efektivitas (%)	Helai	Efektivitas (%)	cm	Efektivitas (%)	g	Efektivitas (%)	g	Efektivitas (%)
APRP 3I313	27,81 def	0,48	4,50 a	22,74	3,98 efghijk	59,32	0,26 abcd	77,33	0,07 cdefgh	70,73
APRP 3I322	30,33 abc	9,57	4,66 a	27,19	3,05 ijk	22,00	0,21 efgh	43,33	0,07 cdefgh	70,73
APRP 2I121	26,25 efgh	-5,17	3,50 b	-4,52	4,65 efghi	86,00	0,27 abc	84,00	0,08 abcd	102,43
APRP 2S121	29,88 abcd	7,94	4,83 a	31,83	7,60 ab	204,00	0,30 a	100,00	0,06 defgh	58,53
APRP 1I211	25,25 gh	-8,78	3,33 b	-9,08	3,33 hijk	33,32	0,17 ghi	17,33	0,05 ghi	34,14
APRP 1I212	27,61 defg	-0,23	3,33 b	-9,08	8,88 a	255,32	0,23 cdef	56,66	0,09 abc	121,95
APRP 1S111	24,61 h	-11,07	3,66 b	0,00	7,48 ab	199,32	0,17 fghi	14,00	0,06 efghi	53,65
APRP 3I323	24,91 h	-9,99	3,50 b	-4,52	6,30 bcd	152,00	0,24 bcde	62,00	0,06 efghi	53,65
APRP 1I121	29,85 abcd	7,82	4,33 a	18,19	5,36 cde	114,64	0,23 cdef	57,33	0,07 cdefgh	73,17
APRD 1I122	30,41 abc	9,87	4,83 a	31,83	6,71 bc	168,64	0,30 a	100,66	0,10 a	151,21
APRD 1I121	29,50 abcd	6,56	4,50 a	22,74	4,10 efghijk	64,00	0,27 abc	82,00	0,09 ab	139,02
APRS 3I214	31,68 a	14,44	4,83 a	31,83	5,11 cdefg	104,64	0,27 abcd	83,33	0,07 bcdef	85,36
APRD 3I222	29,50 abcd	6,56	4,66 a	27,19	2,83 jk	13,32	0,25 abcde	70,66	0,06 defgh	53,65
APRD 3I213	25,30 gh	-8,60	3,50 b	-4,52	5,33 cdef	113,32	0,21 efgh	42,00	0,07 cdefgh	78,04
APRP 1I213	30,83 abc	11,37	4,33 a	18,19	4,35 efghij	74,00	0,23 cdef	58,66	0,07 bcdef	90,24
APRS 3I111	29,20 bcd	5,47	4,66 a	27,19	4,33 efghij	73,32	0,20 efgh	38,66	0,07 bcdefg	85,36
APRS 3I211	30,30 abc	9,45	4,83 a	31,83	3,70 fghijk	48,00	0,18 fghi	24,00	0,06 defgh	65,85
APRS 3I212	31,52 ab	13,87	4,83 a	31,83	3,53 ghijk	41,32	0,23 cdef	54,00	0,06 defgh	65,85
APRD 3I211	30,93 abc	11,74	4,50 a	22,74	5,25 cdef	110,00	0,26 abcd	77,33	0,09 ab	134,14
APRP 3I212	29,70 abcd	7,28	4,33 a	18,19	3,56 ghijk	42,64	0,22 defg	50,00	0,06 defgh	65,85
APRP 3I311	28,51 cde	3,01	4,33 a	18,19	4,48 efghi	79,32	0,24 cde	60,00	0,05 fghi	41,46
Streptomisin	29,75 abcd	7,46	4,33 a	18,19	3,60 ghijk	44,00	0,20 efgh	38,66	0,06 defgh	58,53
APRD 2I312	28,60 cde	3,31	4,50 a	22,74	4,73 defgh	89,32	0,29 ab	95,33	0,08 abcd	109,75
APRP 1S211	30,50 abc	10,17	4,66 a	27,19	2,78 jk	11,32	0,20 efgh	37,33	0,05 fghi	36,58
Kontrol	27,68 defg	0,00	3,66 b	0,00	2,50 k	0,00	0,15 i	0,00	0,04 i	0,00
APRP 3I221	30,46 abc	10,05	4,83 a	31,83	4,66 defghi	86,64	0,23 cdef	55,33	0,05 fghi	36,58
APRP 2S122	25,65 fgh	-7,34	3,33 b	-9,08	3,28 hijk	31,32	0,20 efgh	37,33	0,05 hi	29,26

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut LSD pada taraf 5%

Tabel 5. Kemampuan aktinobakteria dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi fase vegetatif

Perlakuan	Tinggi Tanaman		Jumlah Daun		Jumlah Anakan	
	cm	Efektivitas %	cm	Efektivitas	Jumlah anakan	Efektivitas
APRP 3I212	88,16 a	11,18	134,00 ab	39,58	22,66 abc	35,99
APRS 3I211	87,50 ab	10,34	119,00 abcd	23,95	18,66 abcde	11,99
APRP 3I221	87,26 ab	10,04	111,67 abcd	16,32	20,66 abcd	23,99
APRD 3I222	86,00 abc	8,44	108,33 abcd	12,84	17,33 cde	3,99
APRS 3I212	83,83 abcd	5,71	120,67 abc	25,69	21,00 abcd	25,99
APRP 1I121	83,83 abcd	5,71	137,00 a	42,70	23,00 ab	37,99
APRS 3I111	83,76 abcde	5,63	113,33 abcd	18,05	24,00 a	43,99
APRD 3I211	83,50 abcde	5,29	108,33 abcd	12,84	18,66 abcde	11,99
APRP 2S121	82,50 bcde	4,03	110,67 abcd	15,28	19,33 abcde	15,99
APRD 1I122	81,50 cde	2,77	105,67 abcd	10,07	19,66 abcde	17,99
APRD 2I312	81,50 cde	2,77	99,66 bcd	3,81	18,33 bcde	9,99
APRP 3I322	81,33 cde	2,56	107,00 abcd	11,45	17,33 cde	3,99
Streptomisin	81,30 cde	2,52	100,33 abcd	4,51	19,00 abcde	13,99
APRS 3I214	80,83 cde	1,93	102,67 abcd	6,94	16,33 de	-2,00
APRP 1S211	80,66 cde	1,72	107,67 abcd	12,15	19,66 abcde	17,99
APRP 3I311	80,50 de	1,51	114,67 abcd	19,44	21,00 abcd	25,99
APRP 1I213	80,16 de	1,09	122,67 abc	27,78	20,00 abcde	19,99
APRP 3I313	79,40 de	0,12	110,00 abcd	14,58	21,66 abcd	29,99
Kontrol +	79,30 de	0,00	96,00 cd	0,00	16,66 de	0,00
APRD 1I121	79,00 de	-0,37	121,33 abc	26,38	16,33 de	-2,00
Kontrol -	78,33 e	-1,21	83,00 d	-13,54	15,00 e	-10,00

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut LSD pada taraf 5%.

Uji Antagonisme Isolat Aktinobakteria terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*

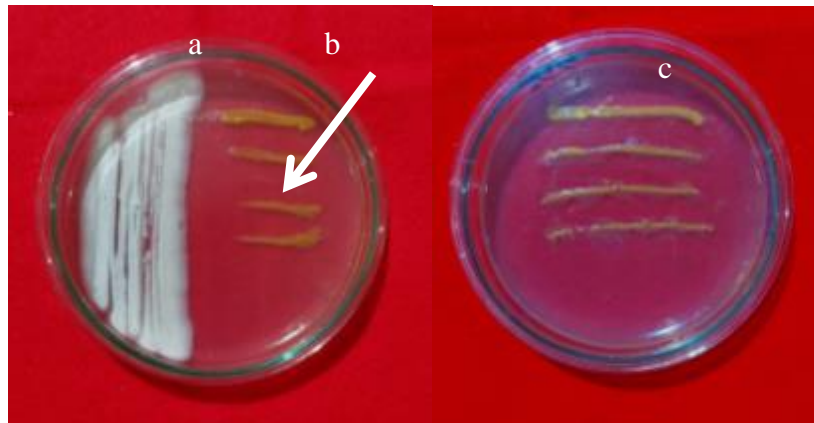
Hasil uji antagonis 10 isolat Aktinobakteria terhadap *Xoo* menunjukkan seluruh isolat mampu menghambat perkembangan *Xoo* dengan persentase daya hambat dapat dilihat pada Tabel 6.

Isolat dengan kode APRD 3I211 menunjukkan persentase daya hambat paling tinggi yaitu 29,66%. Sebanyak 5 isolat Aktinobakteria yang menunjukkan hasil uji daya hambat tertinggi digunakan untuk pengujian tahap selanjutnya.

Tabel 6. Persentase daya hambat uji biakan ganda isolat aktinobakteria

Kode Isolat	Daya Hambat (%)
APRD 3I211	29,66 a
APRD 1I122	23,33 b
APRP 1I121	20,66 c
APRP 3I212	19,66 c
APRP 2S121	13,33 d
APRP 1I213	13,00 de
APRD 1I121	12,00 de
APRS 3I111	12,00 de
APRS 3I214	12,00 de
APRD 2I312	11,66 e
Kontrol	00,00 f

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut LSD pada taraf 5%.



Gambar 1. Hasil uji antagonis isolat aktinobakteria. (a) Isolat Aktinobakteria APRD 3I211 (b) Isolat *Xoo* (c) Isolat *Xoo* kontrol.

Sebanyak 10 isolat Aktinobakteria pada penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan *Xoo* yang ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar koloni aktinobakteria pada media agar (Gambar 1). Zona hambat dari aktinobakteria terhadap *Xoo* yang muncul pada uji antagonis menandakan Aktinobakteria memiliki mekanisme pengendalian secara langsung dengan menghasilkan senyawa yang mampu menekan pertumbuhan dari *Xoo* pada media agar, hal ini sesuai dengan pendapat Dewi *et al.* (2020), yang menyatakan bahwa kemampuan aktinobakteria secara langsung ialah antibiosis dengan menghasilkan senyawa antibiotik dan volatil, juga mekanisme lisis sel dengan menghasilkan enzim pendegradasi (*lytic enzymes*), senyawa antibiotik dapat bersifat membunuh atau memberikan efek penghambatan

pertumbuhan mikroba dengan mempengaruhi pembentukan dinding sel, menghambat sintesis protein, merusak fungsi membran plasma, menghambat sintesis DNA, dan menghambat pembentukan molekul esensial.

Uji Kemampuan Aktinobakteria dalam Menghasilkan Enzim dan Penghambatan Metabolit Sekunder

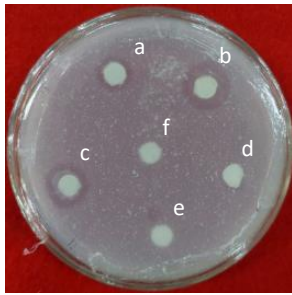
Uji Kualitatif Enzim Aktinobakteria

Pengujian enzim protease menunjukkan hasil sebanyak empat isolat aktinobakteria mampu menghasilkan enzim protease (Tabel 7) yang ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar kertas cakram (Gambar 2). Isolat aktinobakteria yang mampu menghasilkan enzim protease yaitu isolat dengan kode APRD 3I211, APRP 1I121, APRP 3I212, dan APRD 1I122.

Tabel 7. Hasil uji enzim protease, enzim selulase, enzim amilase

Kode Isolat	Enzim Protease	Enzim Selulase	Enzim Amilase
APRD 3I211	+	+	+
APRD 1I122	+	+	+
APRP 1I121	+	+	+
APRP 3I212	+	+	+
APRP 2S121	-	+	+

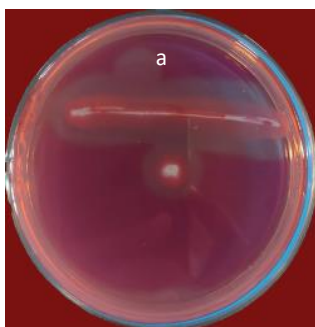
Keterangan: (+) Menghasilkan enzim, (-) Tidak menghasilkan enzim



Gambar 2. Hasil uji enzim protease

Hasil uji enzim selulase menunjukkan seluruh isolat aktinobakteria mampu menghasilkan enzim selulase (Tabel 7) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat yang diinkubasi pada media CMC (Gambar 2).

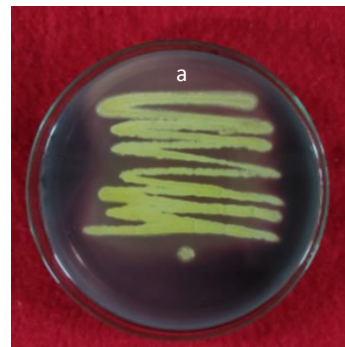
Hasil uji enzim amilase menunjukkan seluruh isolat aktinobakteria mampu menghasilkan enzim amilase (Tabel 7) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat yang diinkubasi pada media MRSA setelah ditetesi iodin (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil uji enzim amilase

Hasil uji kualitatif enzim selulase menandakan seluruh isolat Aktinobakteria yang telah diuji memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim selulase (Gambar 4). Enzim selulase merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa. Selulosa merupakan bahan penyusun dinding sel dari bakteri hal ini sesuai dengan pendapat Mellawati (2009), yang menyatakan

komposisi kimia dinding sel bakteri bermacam-macam tergantung dari spesiesnya tetapi beberapa spesies dinding selnya terdiri dari atas selulosa atau hemiselulosa. Kemampuan aktinobakteria dalam menghasilkan enzim selulase ini memungkinkan Aktinobakteria mampu menekan perkembangan *Xoo* secara langsung.



Gambar 4. Hasil uji enzim selulase

Aktinobakteria memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim protease. Enzim protease merupakan enzim yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi protein yang merupakan salah satu kandungan dari dinding sel bakteri, hal ini sesuai dengan pendapat Suhartono & Artika (2017), yang menyatakan bahwa sebanyak enam isolat Aktinobakteria yang digunakan dalam penelitian menunjukkan aktivitas proteolitik. Kemampuan proteolitik ini memungkinkan Aktinobakteria mampu menekan perkembangan dari *Xoo* secara langsung, karena kandungan protein merupakan salah satu kandungan dari dinding sel *Xoo*, hal ini sesuai dengan pendapat Pratama *et al.* (2015), yang menyatakan bakteri gram negatif memiliki membran luar yang terdiri atas tiga lapis yaitu lipoprotein, lipopolisakarida (LPS), dan fosfolipid.

Seluruh isolat Aktinobakteria yang telah diuji memiliki kemampuan dalam

menghasilkan enzim amilase. enzim amilase merupakan enzim yang mampu mendegradasi amilum. Enzim amilase adalah enzim yang dapat diperoleh dari hewan, tanaman, maupun mikroba yang berperan dalam mekanisme karbohidrat, enzim amilase juga berperan dalam meningkatkan pertahanan tanaman terhadap patogen (Prihatiningsih & Djatmiko, 2016). Pembentukan zona bening menunjukkan bahwa pati yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi senyawa yang sederhana (Ginting *et al.*, 2020). Nellawati *et al.* (2016), menyatakan kemampuan antibiosis dari agens hayati dapat terjadi melalui salah satu atau lebih dari proses berikut; melalui produksi siderophore, produksi antibiotik, produksi enzim-enzim hidrolitik yang mampu melisis sel patogen atau produksi senyawa folatil yang bersifat racun bagi patogen tanaman.

SIMPULAN

Hasil isolasi aktinobakteria dari rizosfer tanaman padi diperoleh sebanyak 30 isolat. Berdasarkan hasil uji, sebanyak 25 isolat menunjukkan hasil negatif pada uji keamanan hayati, 18 isolat mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman padi fase pembibitan, 10 isolat menunjukkan kemampuan terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi fase vegetatif serta mampu menekan perkembangan HDB secara *in planta*, 5 isolat menunjukkan indeks daya hambat terbesar pada uji antagonis aktinobakteria terhadap *Xoo*. Isolat Aktinobakteria yang telah diuji menunjukkan kemampuan dalam menghasilkan enzim protease, selulase, dan amilase, serta mampu menghasilkan metabolit sekunder.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Andalas dalam SKIM: Riset Publikasi Terindeks (RPT) Tahun 2022 dengan Kontrak Nomor: T/196/UN.16.17/PT.01.03/Pangan-RPT/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*, *111*, 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.036>
- Cabanás, C. G. L., Legarda, G., Ruano-Rosa, D., Pizarro-Tobías, P., Valverde-Corredor, A., Niqui, J. L., Triviño, J. C., Roca, A., & Mercado-Blanco, J. (2018). Indigenous *Pseudomonas* spp. strains from the olive (*Olea europaea* L.) rhizosphere as effective biocontrol agents against *Verticillium dahliae*: From the host roots to the bacterial genomes. *Frontiers in Microbiology*, *9*(FEB), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.0277>
- Dewi, R. S., Giyanto, G., Sinaga, M. S., Dadang, D., & Nuryanto, B. (2020). Bakteri agens hayati potensial terhadap patogen penting pada padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, *16*(1), 37–48. <https://doi.org/10.14692/jfi.16.1.37-48>
- Djaenuddin, N., & Muis, A. (2017). Efektivitas biopestisida *Bacillus subtilis* Bnt 8 dan pestisida nabati untuk pengendalian penyakit hawar pelepah dan upih daun jagung. *J. HPT Tropika*, *17*(1), 53–61.
- Fatimah, & Prasetyono, J. (2020). Pemanfaatan Piramida gen ketahanan

- terhadap penyakit hawar daun bakteri dalam mendukung perakitan varietas unggul padi. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 39(1), 11–20.
<https://doi.org/10.21082/jp3.v39n1.2020.p11-20>
- Ginting, L., Wijanarka, & Kusdiyantini, E. (2020). Isolasi bakteri endofit tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) Dan Uji Aktivitas Enzim Amilase. *Berkala Bioteknologi*, 3(2), 1–7.
- Inayah, MN. (2020). Komunitas Aktinobakteri Di Tanah Perkebunan Kelapa Sawit Ptpn Vi Jambi Berdasarkan Sekuens Amplikon Gen16s rRNA. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Klement, Z., Rudolph, K., & Sand, D. . (1990). *Methods in Phytobacteriology*. Academia Kiado.
- Lee, S. M., Kong, H. G., Song, G. C., & Ryu, C. M. (2021). Disruption of firmicutes and actinobacteria abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease. *The ISME Journal*, 15(1), 330–347.
<https://doi.org/10.1038/s41396-020-00785-x>
- Melliawati, R. (2009). *Escherichia coli* dalam kehidupan manusia. *Bio Trend*, 4(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/b978-012220751-8/50013-6>
- Nafis, A., Raklami, A., Bechtaoui, N., Khalloufi, F. El, Alaoui, A. El, Glick, B. R., Hafidi, M., Kouisni, L., Ouhdouch, Y., & Hassani, L. (2019). Actinobacteria from extreme niches in Morocco and their plant growth-promoting potentials. *Diversity*, 11, 1–15.
<https://doi.org/10.3390/d11080139>
- Nellawati, N. L. C. A., Kawuri, R., & Arpiwi, N. L. (2016). Uji daya hambat *Streptomyces roseoflavus* AL2 Terhadap *Xanthomonas* sp. penyebab penyakit hawar daun bakteri (HDB) pada tanaman padi (*Oryza sativa* L.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 3(1), 1–7.
<https://doi.org/10.24843/METAMORFOSA.2016.v03.i01.p01>
- Pratama, R., Yuliani, & Trimulyono, G. (2015). Efektivitas ekstrak daun dan biji jarak pagar (*Jatropha curcas*) sebagai antibakteri *Xanthomonas campestris* penyebab penyakit busuk hitam pada tanaman kubis. *Lentera Bio*, 4(1), 112–118.
<https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/10902>
- Prihatiningsih, N., & Djatmiko, H. A. (2016). Enzim amilase sebagai komponen antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* kentang. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 16(1), 10–16.
<https://doi.org/10.23960/j.hptt.11610-16>
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H. A., & Lestari, P. (2020). Mekanisme bakteri endofit akar padi sebagai pengendali patogen hawar daun bakteri padi. *Prosiding Seminar Nasional Dan Call for Papers*, 30–37.
- Purwantisari, S., Parman, S., Handayani, D., & Karnoto. (2019). Ketahanan sistemik tanaman kentang oleh aplikasi PGPR. *Bioma*, 21(2), 126–131.
- Shi, T., Guo, X., Zhu, J., Hu, L., He, Z., & Jiang, D. (2021). Inhibitory effects of carbazomycin B produced by *Streptomyces roseovorticillatus* 63 against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.616937>
- Suhartono, S., & Artika, W. (2017). Isolasi dan uji aktivitas protease dari aktinobakteri isolat lokal (AKJ-09) Aceh. *Bioleuser*, 1(3), 116–120.
- Suryawanshi, PU, K., & Suryawanshi, M.

- (2020). Evaluation of actinobacteria for biocontrol of sheath blight in rice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 371–376.
- Triny, S.K. (2011). Penyakit hawar daun bakteri dalam tonggak kemajuan teknologi produksi tanaman pangan. Bogor: Paket dan Komponen Teknologi Produksi Padi.
- Wang, C., Chen, S., Feng, A., Su, J., Wang, W., Feng, J., Chen, B., Zhang, M., Yang, J., Zeng, L., & Zhu, X. (2021). Xa7, a small orphan gene harboring promoter trap for AvrXa7, leads to the durable resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Springer Open*, 14(1), 2–16. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00490-z>
- Wibowo, R. H., Sipriyadi, S., Mubarik, N. R., Rusmana, I., & Suhartono, M. T. (2020). Isolation and screening of soil chitinolytic actinobacteria as the anti-fungal producer of plant pathogens. *Elkawnie: : Journal of Islamic Science and Technology Vol.*, 6(2), 273–286. <https://doi.org/10.22373/ekw.v6i2.7400>
- Yanti, S., Marlina, & Fikrinda. (2018). Pengendalian penyakit hawar daun bakteri pada padi sawah menggunakan fungi mikoriza. *Jurnal Agroecotania*, 1(2), 14–21.
- Yanti, Y., Habazar, T., Resti, Z., & Suhalita, D. (2013). Penapisan isolat rizobakteri dari perakaran tanaman kedelai yang sehat untuk pengendalian penyakit pustul bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 13(1), 24–34. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11324-34>
- Yanti, Y., Hamid, H., Diandinny, A., Hermeria, N., & Syarif, Z. (2021). Karakterisasi *in vitro* cyanobacteria indigenous terbaik untuk pengendalian *Ralstonia syzigii* subsp. indonesiensis pada cabai. *Prosiding Seminar Nasioanl Agroekoteknologi*, 3–9.
- Yanti, Y., Rifai, I., Pratama, Y. A., & Harahap, M. I. (2019). Penapisan isolat rizobakteri indigenos untuk pengendalian *Ganoderma boninense* di *pre nursery* kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agro*, 6(2), 110–122. <https://doi.org/10.15575/4665>