

Eksresi Gen PR-1 Melalui Induksi Ketahanan Tanaman Padi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Menggunakan *Lysinibacillus sphaericus* dan Asam Salisilat

PR-1 Gene Expression Through Induction Resistance of Rice Plant to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Using *Lysinibacillus sphaericus* and Salicylic Acid

Christoffol Leiwakabessy^{1*}, Giyanto², Kikin Hamzah Muttaqin², Trikoesoemaningtyas³,
Abraham Talahaturuson¹

¹Agrotechnology Study Program, Universitas Pattimura, Ambon, Indonesia

²Plant Protection Department, IPB University, Bogor, Indonesia

³Department of Agronomy and Horticulture, IPB University, Bogor, Indonesia

*Corresponding author email: chr.leiwakabessy@faperta.unpatti.ac.id

Article history: submitted: October 22, 2023; accepted: February 23, 2024; available online: March 30, 2024

Abstract. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is one of the pathogenic bacteria that attacks rice plants. Control of this disease has been widely practiced and one of the control action techniques developed today is through plant resistance induction technology that expresses the PR-1 gene. Our study to describe PR-1 gene expression in IR64 rice varieties induced resistance by association between endophytic bacteria and salicylic acid. The PR-1 gene was analyzed molecularly and its expression showed that rice plants induced by resistance alone or in combination with these two agents showed PR-1 protein expression. The expression of this protein is triggered by the activity of both inducing agents that work simultaneously to form proteins capable of suppressing the development of this disease. PR-1 works according to the mechanism of each plant resistance-inducing agent. IR64 varieties that are known to be susceptible to bacterial blight have been shown to increase their resistance to moderate. Using plant resistance induction through the activity of the two inducing agents that form the PR-1 protein needs to be continued with innovative formulations of control techniques given simultaneously as an alternative strategy for controlling bacterial blight and other diseases in the future with an environmentally friendly and sustainable approach.

Keywords: bacterial leaf blight; systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR); rice variety IR64.

Abstrak. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan salah satu bakteri patogen yang menyerang tanaman padi. Pengendalian terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan dan salah satu teknik pengendalian yang dikembangkan saat ini melalui teknologi induksi ketahanan tanaman yang mengekspresikan gen PR-1. Penelitian kami untuk mendeskripsikan ekspresi gen PR-1 pada varietas padi IR64 yang terinduksi resistensinya oleh asosiasi antara bakteri endofit dan asam salisilat. Gen PR-1 dianalisis secara molekuler dan ekspresinya menunjukkan tanaman padi yang terinduksi resistensinya secara tunggal maupun kombinasi oleh kedua agens ini memperlihatkan adanya ekspresi protein PR-1. Ekspresi protein ini dipicu oleh aktivitas kedua agens penginduksi yang bekerja secara simultan untuk membentuk protein yang mampu menekan perkembangan penyakit ini. PR-1 bekerja sesuai dengan mekanisme dari masing-masing agens penginduksi resistensi tanaman. Varietas IR64 yang diketahui rentan terhadap penyakit hawar daun bakteri terbukti dapat ditingkatkan ketahanannya menjadi moderat. Pemanfaatan induksi ketahanan tanaman melalui aktivitas kedua agens pengimbas yang membentuk protein PR-1 perlu dilanjutkan dengan inovasi formulasi teknik pengendalian yang diberikan secara simultan sebagai alternatif strategi pengendalian hawar daun bakteri maupun penyakit lainnya ke depan dengan pendekatan ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Kata kunci: ISR dan SAR; penyakit hawar daun bakteri; varietas padi IR64

PENDAHULUAN

Kerusakan tanaman padi oleh penyakit “hawar daun bakteri” (HDB) terus meningkat secara signifikan akibat dari penggunaan input pupuk nitrogen secara besar-besaran yang dilakukan di negara-negara Asia termasuk India, Filipina, Nepal, Indonesia, dan Sri Lanka. Kejadian penyakit HDB telah

dilaporkan di Australia, Amerika, dan Afrika Barat. Sampai saat ini, penyebaran HDB secara luas telah mencakup hampir semua negara penghasil padi di dunia (Jyufuku et al., 2009; CABI, 2023). Di Indonesia penyebaran HDB hampir meliputi semua wilayah Sumatera (Muflihayati & Maulina, 2021; Safrizal et al., 2020), Jawa (Sudir & Yuliani,

2016; Sari, 2019); Roza et al., 2019), Kalimantan (Sopialena et al., 2020), Sulawesi (Herawati, 2017), Bali (Suastika et al., 2021), Nusa Tenggara Timur (Eryah et al., 2022) maupun daerah lainnya di Indonesia.

Penyakit ini menyerang tanaman padi dapat menyebabkan kerusakan berat sebesar 70% dan bibit padi yang terinfeksi akan menunjukkan gejala hawar daun bakteri serta dapat merusak pertanaman (Mew, 1991; (Salzberg et al., 2008). Patogenesis dari patogen ini dengan melibatkan beberapa faktor virulensi seperti enzim ekso-polisakarida, enzim ekstraseluler, adhesin, sekresi Tipe-3, dan motilitas (Xue et al., 2018; Tang et al., 1996; Das et al., 2009; Furutani et al., 2009).

Berbagai upaya pengendalian penyakit HDB sudah banyak dilakukan diantaranya penggunaan *Pseudomonas* spp (Saylendra et al., 2017); pupuk organik cair dan asap cair (Rusli et al., 2017); aktinobakteri (Fadil et al., (2023); maupun tanaman tagetes (Chandra et al., 2022), pemanfaatan bakteriofage sebagai agens biokontrol *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*X. oryzae* pv. *oryzae*) (Widiyatmoko et al., 2022), namun dirasakan bahwa pengendalian terhadap penyakit ini belum optimal sehingga perlu dicari alternatif pengendalian lain yang lebih menekankan pada peningkatan imunitas tanaman.

Salah satu cara untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen adalah dengan menginduksi resistensi sistemik yang dipicu dengan penerapan gen promotor tertentu (gen resistensi yang didapat secara sistemik/gen SAR) atau resistensi sistemik terinduksi/ISR berupa akumulasi senyawa tertentu seperti senyawa asam salisilat dan jasmonat. Penggunaan ekstrak tumbuhan dapat mengaktifkan gen pertahanan dan komponen biokimia tanaman penyebab ketahanan penyakit pada jagung tahan (Hoerussalam & Khaeruni, 2013). Disamping itu, senyawa kitosan dapat meningkatkan kandungan capsaicin pada tanaman cabai sehingga dapat meningkatkan kemampuan tanaman dalam melawan patogen (Fitri, 2016). Namun, tidak

ditemukan informasi spesifik mengenai dampak ekspresi gen PR-1 pada ketahanan tanaman terhadap penyakit.

Menurut Chandrashekar et al., (2018), peningkatan resistensi tanaman terhadap cekaman biotik (penyakit tanaman) terjadi melalui induksi overekspresi gen PR-1 (*pathogenesis-related protein*) yang memodulasi tingkat spesies oksigen reaktif terhadap serangan patogen. Respons dimulai melalui pengenalan patogen oleh tumbuhan, selanjutnya tumbuhan mengeluarkan sinyal-sinyal ke seluruh bagian tanaman untuk melepaskan enzim-enzim yang bertindak sebagai sinyal perlawanan bagi patogen. Selanjutnya sel-sel tumbuhan akan mengeluarkan protein PR-1 yang berperan dalam proteksi tanaman terhadap serangan patogen. Gen-gen ini memainkan peran penting dalam berkomunikasi antara patogen dengan jaringan sel tanaman dalam menghambat pergerakan patogen ke dalam jaringan dinding sel tanaman (Santén et al., 2005). Adanya peran dari gen *CmPRI* terbukti sangat efektif dalam meningkatkan resistensi labu (*Cucurbita muscata* Dusch) terhadap penyakit embun tepung (Guo et al., 2022).

PR-1 adalah protein yang paling banyak diproduksi selama respons pertahanan terhadap banyak cekaman biotik dan abiotik. Adanya peran ekspresi gen MaPR-1 yang terseleksi pada tanaman pisang dapat mengatasi cekaman biotik maupun abiotik termasuk ketahanan terhadap penyakit layu fusarium (Anuradha et al., 2022). Hormon tumbuhan, asam absisat (ABA), tidak hanya penting untuk mendorong respons stres abiotik tetapi juga berperan dalam ketahanan tanaman.

Selain itu, gen NPR1 yang bertindak sebagai pengatur gen positif yang responsif terhadap ABA, sedangkan HOS15 mampu mendorong degradasi NPR1 pada proteasome (Shen et al., 2020). Menurut Murniati et al., (2022), endofit rhizosfer yang diisolasi dari perakaran padi mampu meningkatkan hormon tanaman ini dalam menghambat pertumbuhan patogen.

Ketahanan perolehan sistemik (*Systemic Acquired Resistance/SAR*) maupun ketahanan sistemik terinduksi (*Induced Resistance Systemics/ISR*) adalah salah satu mekanisme ketahanan tanaman terimbas dan memiliki spektrum yang spesifikasi lebih luas saat terjadinya infeksi awal. Pembentukan sinyal seluler ini akan mengaktifkan SAR, dimana terjadi akumulasi hormon pertahanan asam salisilat dan menghasilkan PR-protein yang bersifat antimikroba sehingga mengakibatkan terjadi kematian sel terprogram secara lokal (Fu & Dong, 2013). Mekanisme hipersensitif disebabkan oleh penggunaan bahan kimia penginduksi eksogen, seperti asam salisilat (SA), asam 2,6-dikloro isonikotinat (INA), atau asam metil acibenzolar-metil (Fu dan Dong, 2013). Menurut Fang et al., (2019), ekspresi MuPR1 menunjukkan peningkatan resistensi terhadap *Botrytis cinerea* dan Pst. DC3000 terlihat melalui indikator asam jasmonat, asam salisilat dan giberelin 3. Selain itu, peptida yang berasal dari protein C-terminus MuPR1 dengan motif PxGNxxxxxPY diduga berperan dalam mengaktifkan ketahanan tanaman.

Lesio nekrotik yang diakibatkan oleh fenomena SAR, merupakan bagian dari reaksi hipersensitif akibat respons yang non kompatibel atau sebagai tanda penyakit dalam interaksi yang kompatibel (Ryals et al., 1997). SAR disebabkan oleh penggunaan senyawa penginduksi eksogen secara kimiawi, seperti asam salisilat (SA), asam 2,6-dichloro isonicotinic (INA), atau asam metilasi acibenzolar-methyl (Fu & Dong, 2013). Salah satu sifat utama dari SAR adalah adanya akumulasi PR-Protein yang sangat cepat pada tanaman yang terinduksi dibandingkan dengan reaksi kompatibel (Figueroa et al., 2018). Tanaman seperti tembakau dan Arabidopsis, menghasilkan SAR yang berkaitan erat dengan ekspresi protein PR (Zhang & Li, 2019). Menurut (Rockenbach et al., 2018), ketahanan dari persilangan varietas rentan dengan tahan menunjukkan ada peningkatan pada gen PR-10 tetapi sebaliknya gen PR-1 tidak

mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan oleh hanya satu jenis enzim yaitu glutathione reductase yang memengaruhi ketahanan tanaman apel terhadap patogen *Colletotrichum fructicola* dibandingkan dengan enzim-enzim lainnya. Enzim glutathione reductase sangat berperan dalam memicu reaktif oksigen spesies. Aktivitas dari gen PR-1 perlu dideteksi pada berbagai tanaman termasuk padi yang terinduksi ketahanannya akibat dipicu oleh kombinasi bakteri endofit dan asam salisilat. Diharapkan hasil kajian ini menjadi pertimbangan bagi para pemulia tanaman maupun pihak terkait lainnya dalam menciptakan atau merakit varietas-varietas padi yang tahan maupun toleran terhadap patogen tanaman.

METODE

Penelitian ini berlangsung di rumah kaca dan Laboratorium Bakteri Patogen Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman dan *Centre for Life Sciences and Biotechnology* IPB, Bogor dimulai pada Januari sampai Maret, 2016. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya varietas padi IR64 (rentan terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* patotipe III dan IV), bakteri endofit (*Lysinibacillus sphaericus/L. sphaericus*), asam salisilat dengan konsentrasi 10 mM (Liwakabessy, 2016), tanah steril dan kompos (1:1), air steril, alkohol maupun alat tulis menulis.

Persiapan Tanam dan Aplikasi Endofit

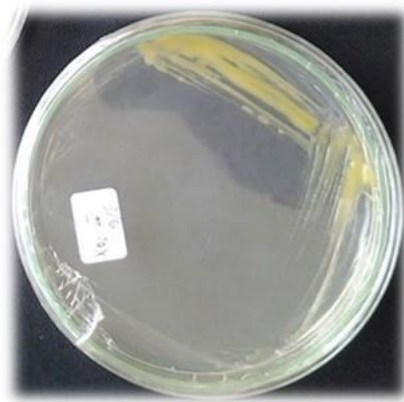
Benih padi disterilkan dengan natrium hipoklorit selama 2 menit dan dicuci 3 kali dengan air steril. Selanjutnya benih disterilkan di oven pada suhu 55°C selama 20 menit. Selanjutnya benih direndam (*seed coating*) dalam suspensi bakteri endofit selama 16 jam (semalaman). Benih ditanam pada wadah plastik berisi campuran tanah steril dan kompos, serta disiram dengan air steril. Ketika tanaman berumur 14 hari (hari setelah tanam/HST), dipindahkan ke ember plastik berisi campuran tanah steril dan pupuk kandang (1:1) dan dilanjutkan menyiram

suspensi endofit sebanyak 50 mL^{-1} tanaman dengan konsentrasi 10^8 cfu untuk menginduksi ketahanan tanaman padi pada setiap perlakuan uji. Isolat endofit *L. sphaericus* ditumbuhkan menggunakan media biakan *tryptic soy Agar* (TSA) selama 24 jam dan perbanyakannya dengan media nutrisi agar (NA).

Aplikasi Asam Salisilat (SA) dan Inokulasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Aplikasi SA maupun endofit baik secara tunggal maupun kombinasi bertujuan menginduksi ketahanan tanaman padi

dilakukan melalui penyemprotan SA dengan konsentrasi 10 mM sebanyak 20 mL^{-1} dan tanpa SA (kontrol). Aplikasi ini dilakukan pagi hari pada tanaman berumur 40 hari setelah tanam (HST). Dilanjutkan dengan inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* (patotipe IV) (Gambar 1) saat tanaman berumur 43 HST dengan teknik menggunting daun (*clip method*). Mula-mula gunting steril dicelupkan ke dalam suspensi patogen (konsentrasi 10^7 cfu) dan bagian ujung daun dipotong, serta tanaman disungkup selama 3-4 hari dengan plastik transparan.



Gambar 1. Pertumbuhan *X. oryzae* pv. *oryzae* (patotipe IV) pada media Wakimoto berumur 7 hari (Leiwakabessy, 2016)

Kombinasi Bakteri Endofit *L. sphaericus* dan SA dalam Mengimbas Ketahanan Tanaman Padi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Pemberian kedua agens pengimbas ketahanan tanaman padi yaitu SA dan endofit *L. sphaericus* diberikan pada umur tanaman yang sama 40 HST. Jumlah konsentrasi SA yang diberikan 10 mM sebanyak 20 mL^{-1} , sedangkan bakteri endofit 10^8 CFU, dilanjutkan dengan inokulasi menggunakan *X. oryzae* pv. *oryzae* patotipe IV saat umur tanaman 43 HST dan dilanjutkan dengan analisis Gen PR-1.

Eksresi Gen Protein Terkait Patogenesis (PR-1) Melalui Ketahanan Terimbas pada Tanaman padi dengan *Lysinibacillus sphaericus* dan Asam Salisilat

Analisis ekspresi gen PR-1 digunakan metode RT-PCR (Verso Hot Start kit

Thermoscientific). RNA total tanaman diekstraksi setiap sampel perlakuan *L. sphaericus* sebelum dan setelah diinokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* menggunakan prosedur *GeneJet Plant DNA Purification Mini kit* dari *Thermoscientific*.

Sampel daun padi sebanyak 0.1g digerus dengan nitrogen cair di dalam mortar, selanjutnya ditambahkan 500 μl RNA lysis buffer dan DTT 10 μl 2M. Kemudian dihomogenkan dengan jalan di vorteks selama 10–20 kali. Larutan ini dimasukkan ke dalam tabung mikro dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 3 menit. Disentrifus selama 5 menit pada kecepatan 20000 g selama 1 menit. Larutan jadi dimasukkan ke tabung mikro volume 2 mL yang sudah dipasang *DNA removing column*. Selanjutnya ditambahkan 250 μl etanol 90% dan dicampur hingga merata dengan pipet. Pisahkan campuran ini ke dalam *removing column tube*, disentrifus selama 1 menit

dengan kecepatan 10000 g. Larutannya dibuang dan diganti dengan *column tube* yang baru. Tambahkan larutan wash buffer 1 sebanyak 700 μ l, disentrifus kurang lebih 1 menit dengan kecepatan 10000 g. Larutan *column tube* dibuang dan ditukar dengan *column tube* yang baru untuk pemurnian. Larutan wash buffer 2 dimasukkan ke dalam *column tube*, disentrifus selama 1 menit. Larutan ini dibuang dan digantikan dengan *removing column tube* yang baru. Kemudian disentrifus kurang lebih 1 menit dengan kecepatan 10000 g. RNAse free water ditambahkan sebanyak 50 μ L ke bagian tengah column, disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 10000 g. Tahap final adalah disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 10000 g.

Amplifikasi gen PR-1 memakai primer forward (5'-TAACTATGGAGGTATCCAAGCTGCC-3') dan primer reverse (5'-CCAGTACGTACGCCCGTGTGTATAA-3') dengan target ampikon berukuran \pm 523 bp (Kurnianingsih, 2008). Digunakan metode RT-PCR yang mengacu pada prosedur Verso Hot Start kit, *Thermoscientific* pada temperatur 50°C selama 20 menit, pre denaturasi suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C (30 detik), dan suhu ekstensi 72 °C (1 menit), siklus denaturasi-ekstensi diulang sebanyak 39 kali, pasca PCR suhu 72°C selama 7 menit dan pendinginan pada suhu 25°C (4 menit). Hasil PCR diseparasi pada gel agarosa 1% (b/v) di dalam larutan penyangga TAE 1x [(4.84 g Tris base, 1.142 mL asam asetat glasial dan 2 mL 0.5 M EDTA (pH 8.0)]. Selanjutnya diamati dibawah sinar UV.

Pengamatan

Pengamatan hasil amplifikasi PCR maupun ekspresi gen PR-1 terhadap sampel daun padi varietas IR64 berumur 40 (kontrol) dan 43 HST yang telah terimbas ketahanannya baik secara tunggal dengan endofit *L. sphaericus*, asam salisilat 10 mM maupun kombinasi *L. sphaericus* vs SA 10

mM dilakukan sebelum dan setelah inokulasi dengan bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri endofit pada media nutrisi agar yang teridentifikasi dengan metode PCR yaitu *Lysinibacillus sphaericus* disajikan pada Gambar 2.

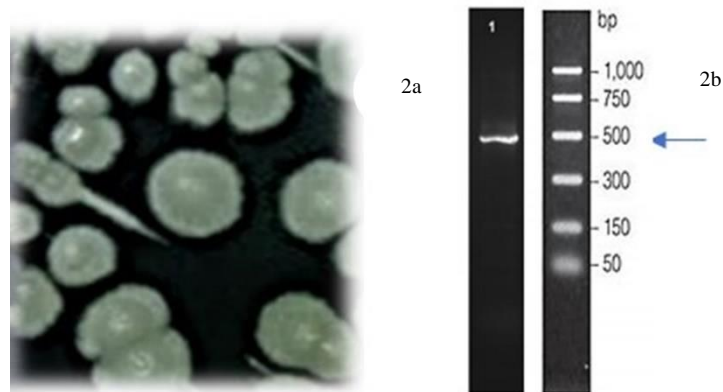
Bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* memunculkan gejala mula-mula terlihat adanya bercak-bercak pada sisi daun yang kemudian meluas dan bercorak hijau keabuan menyebabkan seluruh daun luruh dan menjadi layu seperti tersiram air panas. Hal ini mengakibatkan reaksi setiap tanaman berbeda ketika terimbas ketahanannya oleh kedua agens penginduksi. Tingkat kompetisi yang terjadi antara bakteri patogen dan inang yang menyebabkan adanya perbedaan interaksi dari setiap varietas. Disamping itu, semakin besarnya gejala kerusakan yang ditimbulkan oleh patogen ini sangat dipengaruhi oleh interaksi patogen dengan lingkungan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman padi varietas IR64 yang terinduksi ketahanannya yang semula bersifat rentan, namun mengalami perubahan tingkat ketahanan-nya setelah terinduksi ketahanannya menjadi moderat oleh kedua agens penginduksi ini (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa ada peran dari senyawa-senyawa pertahanan tanaman yang mengatur aktivitas perlawanan terhadap patogen ini.

Berdasarkan Gambar 3, terlihat bahwa agens penginduksi SA 10 mM maupun endofit *L. sphaericus* yang diberikan ke tanaman secara tunggal mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit ini. Hal yang sama juga terjadi demikian, jika kedua agens ini diaplikasikan secara bersama-sama. Namun kombinasi pemberian SA 10 mM dan endofit ini yang terbaik. Kombinasi asam salisilat 10 mM dan endofit *L. sphaericus* ternyata mampu meningkatkan ketahanan varietas IR64 dari rentan menjadi moderat dan Cihorang dari moderat menjadi tahan (Leiwakabessy et al.,

2018). SAR dan ISR mampu merangsang pertumbuhan hormon tanaman yang dapat mengatasi serangan patogen (Vlot et al., 2021). Hal ini disebabkan oleh peran dari asam salisilat maupun endofit jika diaplikasikan secara bersama-sama akan mengaktifkan pertahanan tumbuhan sistemik

terhadap patogen tanpa menimbulkan kerusakan pada jaringan tumbuhan. SAR lebih dominan dalam memicu respons pertahanan di daerah-daerah lain, sedangkan ISR mampu merangsang pertumbuhan endofit sehingga mampu mengatasi serangan patogen.



Gambar 2. 2a. Pertumbuhan koloni endofit *Lysinibacillus sphaericus* pada media nutrisi agar (NA), 2b. Hasil PCR bakteri endofit *L. sphaericus* yang teramplifikasi pada 500 bp (Leiwakabessy, 2016).



Gambar 3. Reaksi varietas padi IR64 (daun) yang terinduksi ketahanannya melalui aplikasi bakteri (a) kontrol, (b) endofit *L. sphaericus* (LS), (c) asam salisilat (SA 10 mM), dan (d) *Ls*.vs SA 10 mM (hasil penelitian)

Menurut Leiwakabessy et al., (2017), SA sebagai agens penginduksi resistensi mampu memicu peningkatan resistensi tanaman padi terhadap penyakit HDB. Hal ini disebabkan oleh aktivitas beberapa enzim pertahanan tanaman seperti peroksidase, polifenoloksidase, dan β -1,3 glukanas yang mengalami peningkatan pada varietas IR64 dan Ciherang. Menurut Hunjan et al., (2021), ekspresi beberapa enzim pertahanan tanaman pada varietas IRBB4 dan IRBB7 mampu meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, polifenoloksidase, dan fenilalanin ammonia liase. Hal menunjukkan bahwa beberapa galur padi yang tahan mampu mengaktivasi enzim-enzim pertahanan tanaman terhadap penyakit ini.

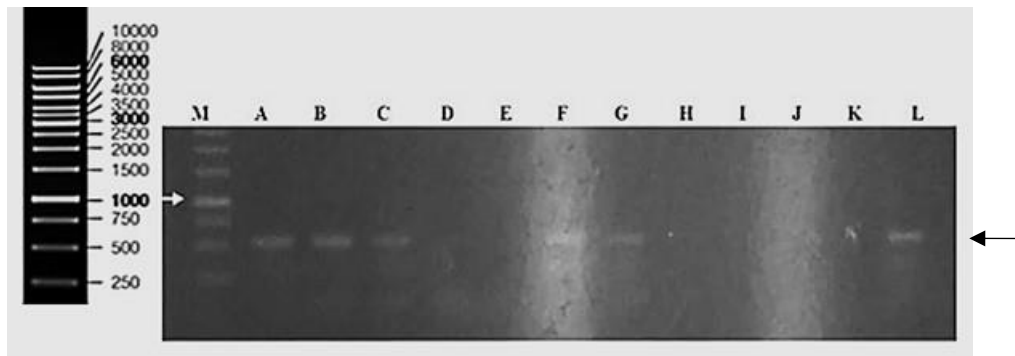
Aplikasi dari kedua agens ini secara simultan antara keduanya dapat meningkatkan hormon tanaman sehingga memacu proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Molekul sinyal tanaman SA dan JA memainkan peran penting dalam jalur induksi resistensi terhadap penyakit. *Cross-talk* ini bergantung pada lintasan SA dan JA yang mengakibatkan penghambatan respons pertahanan yang dimediasi oleh JA. SAR dan ISR efektif terhadap spektrum patogen yang luas seperti *Pseudomonas syringae pv. tomat* (*Pseudomonas*). Tanaman mampu meng-ekspresikan respons pertahanan yang bergantung pada SA, JA, dan etilen ketika diaplikasikan secara tunggal tanpa efek antagonis, tetapi jika diaplikasikan bersama akan menimbulkan perlindungan yang tinggi terhadap serangan patogen. Ekspresi gen PR-1 varietas padi IR64 menunjukkan pengaruh yang signifikan ketika diberi perlakuan induksi biotik (endofit) dan abiotik (SA) secara simultan (Gambar 4a dan 4b).

Penampilan ekspresi gen PR-1 pada varietas IR64 diduga bahwa varietas ini telah terinduksi resistensinya dengan senyawa kimia SA yang selanjutnya akan mengaktivasi senyawa-senyawa pertahanan tanaman padi. Menurut Nakashita et al., (2002), ekspresi gen Ncyanomethyl-2-chloroisonicotinamide (NCI) mampu mengimbas ketahanan terhadap beberapa

jenis patogen seperti *Magnaporthe grisea*, *X. oryzae pv. oryzae*, virus TMV, *Pseudomonas syringae pv. tabaci*, dan *Oidium lycopersici*. Respons induksi ketahanan tanaman oleh endofit dan asam jasmonat menunjukkan bahwa ada sinergisme antara asam salisilat, etilen, dan asam jasmonat dalam menekan penyakit HDB. Respons ini dikendalikan oleh seperangkat gen-gen pertahanan tanaman yang membentuk gen PR-1. Mitsuhara et al., (2008), gen OsPR1 berperan sebagai penginduksi ketahanan padi ketika dipapar oleh *X. oryzae pv. oryzae* dapat memediasi sinergisme antara asam salisilat dan asam jasmonat, etilen, dan asam jasmonat maupun salisilat dan etilen.

Hubungan antara patogen dan lingkungan dalam proses patogenesis yang terjadi secara global sebagian besar diatur oleh zat pengatur tumbuh melalui berbagai jalur sinyal. Interaksi ini dapat bersifat sinergis atau antagonistik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua agens penginduksi baik bakteri endofit *L. sphaericus* vs SA 10 mM mempunyai efek sinergis dalam mengaktifkan ekspresi gen PR-1. Varietas IR64 bersifat rentan yang digunakan dalam penelitian ini terbukti terjadi pengimbasan resistensi melalui kedua induser tersebut dimana terlihat pada ketahanan varietas ini dari rentan meningkat menjadi moderat.

Perlakuan tunggal dengan bakteri nonpatogenik *L. sphaericus* tidak menunjukkan ekspresi gen ini, sedangkan agens pengimbas dengan konsentrasi 10 mM SA ternyata mampu mengaktivasi ekspresi gen tersebut. Hal ini memungkinkan bahwa kedua penginduksi ini bekerja sama untuk memicu aktivasi gen PR-1 untuk menghambat perkembangan penyakit HDB. Jika keduanya digabungkan dalam strategi pengendalian penyakit HDB, maka agens pengimbas ini akan mempunyai efek ganda dengan bertindak secara sinergis dan berpotensi menimbulkan resistensi pada tanaman padi terhadap penyakit ini dan penyakit lainnya.



Gambar 4a. Ekspresi gen PR-1 pada varietas padi IR64 yang diimbab ketahanannya oleh *L. sphaericus*, SA, dan *L. sphaericus* vs SA sebelum inokulasi *X. oryzae* pv. *oryzae* (M= marker 1 kb, A= kontrol SA, B= 5 mM SA, C=10 mM SA, D=15 mM SA, E = kontrol ED, F=EA2 154, G=EB4451, H=ED163, I =kontrol, J= 10 mM SA, K=*L. sphaericus*, L= *L. sphaericus* dan 10 mM SA) (Leiwakabessy, 2016).



Gambar 4b. Ekspresi gen PR-1 pada varietas padi IR64 yang diimbab ketahanannya oleh *L. sphaericus*, SA, dan *L. sphaericus* vs SA sesudah inokulasi *X. oryzae* 500 bp (M= marker 1 kb, A= kontrol SA, B= 5 mM SA, C=10 mM SA, D=15 mM SA, E = kontrol ED, F=EA2 154, G=EB4451, H=ED163; I =kontrol, J= 10 mM SA, K=*L. sphaericus*, L= *L. sphaericus* dan 10 mM SA (anak panah) (Leiwakabessy, 2016).

Berdasarkan penampilan hasil analisis ekspresi gen PR-1 (Gambar 4a dan 4b) maka pemberian perlakuan isolat endofit *L. sphaericus* dan SA 10 mM dalam penelitian ini terbukti mampu mengimbab ketahanan varietas padi terhadap penyakit HDB. Keuntungan penggunaan kedua agens penginduksi ini adalah pendekatan pengendalian OPT berbasis ramah lingkungan karena di dalam pemberiannya menggunakan mikroba yang berasal dari perakaran tanaman padi dan SA dalam konsentrasi yang rendah. Aplikasi pemberian endofit saat *seed coating*, pindah tanam berumur 14 HST dan pemberian SA pada umur 40 HST memberikan kontribusi dalam meningkatkan ketahanan tanaman padi. Prospek dalam pengendalian penyakit tanaman ketika diberikan secara simultan akan meningkatkan hormon tanaman

melalui aktivasi etilen dan asam jasmonat dalam menekan perkembangan penyakit ini. Masih perlu dikaji lebih lanjut ekspresi induksi resistensi tanaman dengan menggunakan bakterisida sebagai kontrol positif dan pembuatan formulasi agens pengendali hayati yang menggabungkan kedua agens penginduksi ini untuk diuji di lapangan. Aplikasi teknologi ini bisa diuji lebih lanjut dengan agens hayati lain melalui uji kompatibilitas sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif pengendalian penyakit tanaman pangan, hortikultura, dan perkebunan. Ke depan teknologi induksi ketahanan tanaman yang mengombinasikan agens penginduksi ketahanan tanaman secara biotik maupun abiotik merupakan hal menarik yang perlu dikaji pada berbagai patogen tanaman.

SIMPULAN

Aplikasi pemberian bakteri endofit *L. sphaericus* dan asam salisilat 10 mM melalui induksi ketahanan tanaman secara simultan dapat memicu ekspresi gen PR-1 baik secara tunggal maupun kombinasi. Varietas padi IR64 terbukti dapat ditingkatkan ketahanannya dari rentan menjadi moderat yang dicirikan oleh penampilan ekspresi gen PR-1. Diharapkan aplikasi kedua agens penginduksi ketahanan tanaman dapat digunakan dalam pengendalian patogen ini yang berimplikasi pada peningkatan produktivitas tanaman pangan, hortikultura, dan perkebunan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anuradha, C., Chandrasekar, A., Backiyarani, S., & ... (2022). Genome-wide analysis of pathogenesis-related protein 1 (PR-1) gene family from *Musa* spp. and its role in defense response during stresses. *Gene*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111922001536>
- CABI. (2023). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (rice leaf blight). Technical Fact Sheet. <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/full/10.1079/pwkb.species.56956?src=getftr>
- Chandra, S., Noer, Z., & Suswati, &. (2022). Uji Toksisitas Ekstrak Methanol *Tagetes erecta* L Terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi Sawah (*Oryza sativa* L) Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Magister Agribisnis*, 4(2).
- Chandrashekar, N., Ali, S., & Grover, A. (2018). Exploring expression patterns of PR-1, PR-2, PR-3, and PR-12 like genes in *Arabidopsis thaliana* upon *Alternaria brassicae* inoculation. *3 Biotech*. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1259-2>
- Das, A., Rangaraj, N., & Sonti, R. V. (2009). Multiple adhesin-like functions of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* are involved in promoting leaf attachment, entry, and virulence on rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(1). <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0073>
- Eryah, H. P., Telsoni, S. P., & Costa, Y. Da. (2022). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penyakit Hawar Daun Di Desa Naibonat Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. *Flobamora Biological*, 1(2).
- Fadil, M., Yanti, Y., & Khairul, U. (2023). Penapisan aktinobakteria rhizosfer padi sebagai agens pengendali hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pathogen penyebab penyakit hawar daun bakteri. *Jurnal AGRO*, 10(1). <https://doi.org/10.15575/19798>
- Fang, L.-J., Qin, R.-L., Liu, Z., Liu, C.-R., Gai, Y.-P., & Ji, X.-L. (2019). Expression and functional analysis of a PR-1 Gene, MuPR1, involved in disease resistance response in mulberry (*Morus multicaulis*). *Journal of Plant Interactions*, 14(1), 376–385. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1640295>
- Figuroa, M., Hammond-Kosack, K. E., & ... (2018). A review of wheat diseases—a field perspective. *Molecular Plant* <https://doi.org/10.1111/mpp.12618>
- FITRI, D. (2016). Uji ketahanan tanaman cabai keriting (*Capsicum annum* L.) hasil induksi mutasi dengan ethyl methane sulphonate (EMS) pada generasi kedua terhadap penyakit *Sainstek: Jurnal Sains Dan Teknologi*. <http://ojs.iainbatu.sangkarak.ac.id/ojs/index.php/sainstek/article/view/2>
- Fu, Z. Q., & Dong, X. (2013). Systemic acquired resistance: Turning local infection into global defense. In

- Annual Review of Plant Biology*.
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606>
- Furutani, A., Takaoka, M., Sanada, H., Noguchi, Y., Oku, T., Tsuno, K., Ochiai, H., & Tsuge, S. (2009). Identification of novel type III secretion effectors in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(1). <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-1-0096>
- Guo, W. L., Yang, H. L., Zhao, J. P., Bian, S. J., Li, Q. F., Guo, Y. Y., & ... (2022). *A Pathogenesis-Related Protein 1 of Cucurbita moschata responds to powdery mildew infection*. [researchsquare.com](https://www.researchsquare.com).
<https://www.researchsquare.com/article/rs-1782621/latest>
- Herawati, A. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* L.) pada Tanaman Padi di Wilayah Sulawesi Selatan. *Perbal: Jurnal Pertanian Berkelanjutan*, 4(3).
- Hoerussalam, A. P., & Khaeruni, A. (2013). Induksi ketahanan tanaman jagung (*Zea mays* L.) terhadap penyakit bulai melalui seed treatment serta pewarisannya pada generasi S1. *Ilmu Pertanian (Agricultural ...)*.
<https://journal.ugm.ac.id/jip/article/view/2532>
- Hunjan, M. S., Kamboj, I., Lore, J. S., Bhatia, G., & Pannu, P. P. S. (2021). Expression of defense related enzymes in rice near isogenic lines IRBB4 and IRBB7 challenged with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* at elevated temperature. *Indian Phytopathology*, 74(1).
<https://doi.org/10.1007/s42360-020-00304-0>
- Jyufuku, S., Furuya, N., Goto, T., Tsuchiya, K., & Yoshimura, A. (2009). Pathogenic and genetic diversity in asian strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 54(1). <https://doi.org/10.5109/14031>
- Kurnianingsih, R. (2008). *Eksresi Gen PR-1 dan PBZ1 yang terlibat dalam Sistem Toleransi Tanaman Padi terhadap Penyakit Blas (isolat 173)* [Tesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Leiwakabessy, C. (2016). *Potensi Bakteri Endofit dan Asam Salisilat Sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Tanaman Padi Terhadap Xanthomonas oryzae pv. oryzae* [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Leiwakabessy, C., Sinaga, M. S., Mutaqien, K. H., Trikoesoemaningtyas, & Giyanto. (2018). The endophytic bacteria, salicylic acid, and their combination as inducers of rice resistance against *Xanthomonas oryzae* Pv. *Oryzae. Agrivita*, 40(1), 25–35.
<https://doi.org/10.17503/agrivita.v40i1.1029>
- Leiwakabessy, C., Sinaga, M. S., Mutaqin, K. H., Trikoesoemaningtyas, T., & Giyanto, G. (2018). Asam Salisilat sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman Padi terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 13(6), 207.
<https://doi.org/10.14692/jfi.13.6.207>
- Mew, T. W. (1991). Rice Diseases. In *Rice* (pp. 187–236). Springer US.
https://doi.org/10.1007/978-1-4899-3754-4_5
- Mitsuhara, I., Iwai, T., Seo, S., Yanagawa, Y., Kawahigasi, H., Hirose, S., Ohkawa, Y., & Ohashi, Y. (2008). Characteristic expression of twelve rice PR1 family genes in response to pathogen infection, wounding, and defense-related signal compounds (121/180). *Molecular Genetics and Genomics*, 279(4).
<https://doi.org/10.1007/s00438-008-0322-9>

- Muflihayati, M., & Maulina, F. (2021). Inventarisasi Penyakit Tanaman Padi Di Sekitar Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh. *LUMBUNG*, 20(2). <https://doi.org/10.32530/lumbung.v20i2.377>
- Murniati, A., Tahir, D., & Tahir, R. (2022). Identifikasi Mikroba Rizosfer Penghasil Hormon Pertumbuhan pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *Agro Bali : Agricultural Journal*, 5(3). <https://doi.org/10.37637/ab.v5i3.1040>
- Nakashita, H., Yoshioka, K., Yasuda, M., Nitta, T., & ... (2002). Probenazole induces systemic acquired resistance in tobacco through salicylic acid accumulation. ... *and Molecular Plant* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576502904261>
- Rockenbach, M. F., Velho, A. C., Alaniz, S. M., & Stadnik, M. J. (2018). Resistance of apple leaves to infection by *Colletotrichum fructicola* acts independently of hypersensitive reaction and PR-1 and PR-10 gene expression. *Tropical Plant Pathology*, 43(4), 360–370. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0217-1>
- Roza, C., Usyati, N., & Gunarsih, C. (2019). Keragaman Ketahanan Padi Lokal Jawa, Sumatra, dan Sulawesi terhadap Patogen Hawar Daun Bakteri Patotipe III, IV, dan VIII. *Buletin Plasma Nutfah*, 25(2). <https://doi.org/10.21082/blpn.v25n2.2019.p37-46>
- Rusli, I. K., Soesanto, L., & Rahayuniati, R. F. (2017). Pengaruh Pupuk Organik Cair Dan Asap Cair Dalam Pengendalian *Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae* Dan *Pyricularia Grisea* Pada Padi Gogo Galur G136 Potency Of Liquid Organic Fertilizer And Liquid Smoke To Control (*Xanthomonas oryzae pv. oryzae* and *Pyricularia grisea* In Upland Rice G136 LINE). *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 20(2). <https://doi.org/10.22146/jpti.17690>
- Ryals, J. A., Friedrich, L. B., Uknes, S. J., & Ward, E. R. (1997). Chemically inducible promoter of a plant PR-1 gene. *US Patent 5,689,044*. <https://patents.google.com/patent/US5689044A/en>
- Safrizal, Lisnawita, Lubis, K., Maathuis, F. J. M., & Safni, I. (2020). Mapping bacterial leaf blight disease of rice (*Xanthomonas oryzae pv oryzae*) in North Sumatra. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 454(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/454/1/012160>
- Salzberg, S. L., Sommer, D. D., Schatz, M. C., Phillippy, A. M., Rabinowicz, P. D., Tsuge, S., Furutani, A., Ochiai, H., Delcher, A. L., Kelley, D., Madupu, R., Puiu, D., Radune, D., Shumway, M., Trapnell, C., Aparna, G., Jha, G., Pandey, A., Patil, P. B., ... Bogdanove, A. J. (2008). Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* PXO99A. *BMC Genomics*, 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-204>
- Santén, K., Marttila, S., Liljeroth, E., & ... (2005). Immunocytochemical localization of the pathogenesis-related PR-1 protein in barley leaves after infection by *Bipolaris sorokiniana*. ... *and Molecular Plant* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576505000780>
- Sari, W. (2019). Inventarisasi Penyakit Tanaman Padi Pandanwangi (*Oryza Sativa* Var. Aromatic) Di Beberapa Sentra Penanaman Padi Pandanwangi Kabupaten Cianjur. *AGROSCIENCE (AGSCI)*, 9(2). <https://doi.org/10.35194/agsci.v9i2.777>

- Saylendra, A., Nurmayulis, N., & Ahdiani, P. (2017). Potensi *Pseudomonas* sp. untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*) Secara In Vitro. *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, 1(1). <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v1i1.5>
- Shen, M., Lim, C. J., Park, J., Kim, J. E., & ... (2020). HOS15 is a transcriptional corepressor of NPR1-mediated gene activation of plant immunity. *Proceedings of the ...* <https://doi.org/10.1073/pnas.2016049117>
- Sopialena, S., SOFIAN, S., & NURDIANA, J. (2020). Diversity of diseases of rice (*Oryza sativa*) in Kutai Kartanegara, Indonesia. *Asian Journal of Agriculture*, 3(2). <https://doi.org/10.13057/asianjagric/g030204>
- Suastika, I. B. K., Yasa, I. M. R., Kamandalu, Darmawati, I. A. P., Sutami, N. P., Aryawati, & Sunanjaya, I. W. (2021). Keragaan Agronomi dan Ketahanan Beberapa Varietas Unggul Padi (*Oryza Sativa* L.) terhadap Serangan Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) di Bali. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(4).
- Sudir, S., & Yuliani, D. (2016). Composition and distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pathotypes, the pathogen of rice bacterial leaf blight in Indonesia. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*. <https://agrivita.ub.ac.id/index.php/agrivita/article/view/588>
- Tang, J. L., Feng, J. X., Li, Q. Q., Wen, H. X., Zhou, D. L., Wilson, T. J. G., Dow, J. M., Ma, Q. S., & Daniels, M. J. (1996). Cloning and characterization of the *rpfC* gene of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*: Involvement in exopolysaccharide production and virulence to rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 9(7). <https://doi.org/10.1094/MPMI-9-0664>
- Vlot, A. C., Sales, J. H., Lenk, M., Bauer, K., Brambilla, A., Sommer, A., Chen, Y., Wenig, M., & Nayem, S. (2021). Systemic propagation of immunity in plants. In *New Phytologist* (Vol. 229, Issue 3). <https://doi.org/10.1111/nph.16953>
- Widiyatmoko, E. W., Setiawan, A. W., & Handoko, Y. A. (2022). Evaluasi Kestabilan *Xanthomonas oryzae* phages Hasil Isolasi dari Lahan Sawah Kelurahan Pulutan Kecamatan Sidorejo Salatiga pada Berbagai Kondisi pH. *Agro Bali : Agricultural Journal*, 5(2). <https://doi.org/10.37637/ab.v5i2.952>
- Xue, D., Tian, F., Yang, F., Chen, H., Yuan, X., & ... (2018). Phosphodiesterase EdpX1 promotes *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* virulence, exopolysaccharide production, and biofilm formation. *Applied and ...* <https://doi.org/10.1128/AEM.01717-18>
- Zhang, Y., & Li, X. (2019). Salicylic acid: biosynthesis, perception, and contributions to plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136952661830116X>