



Isolasi Cendawan Rhizosfer Penghasil Hormone *Indol Acetic Acid* (IAA) Pada Padi Aromatik Tanatoraja

ABRI¹, TUTIK KUSWINANTI², ENNY LISAN SENGIN², RINALDI SJAHRIR²

¹Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin

¹Jurusan Agroteknologi, Universitas 45 Makassar

Jl. Urip Sumihardjo Km. 4 Makassar 90231

email : abri45@ymail.com

²Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin

Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10 Makassar 90245

ABSTRAK

Kualitas jenis padi akan berpengaruh pada selera makan. Jenis padi yang menghasilkan nasi pulen dan aromanya wangi merupakan keunggulan jenis padi aromatik. Namun sulit dijumpai dan harganya mahal. Sulawesi Selatan, khususnya daerah Tanah Toraja merupakan daerah pengembangan padi aromatik yang memiliki potensi untuk dikembangkan. Budidaya yang diterapkan masih bersifat tradisional dan berbasis kearifan lokal yaitu tanpa penggunaan pupuk, pestisida dan obat kimia lainnya, sehingga diharapkan terdapat keragaman biodiversitas mikroorganisme yang tinggi di dalam tanah terutama cendawan rhizosfer yang menghasilkan hormon *Indol Acetic Acid* (IAA). Rhizosfer tanaman padi aromatik diambil sebanyak 10 gram disuspensikan dalam 100 ml aquades steril. Pemurnian dilakukan dengan memindahkan satu koloni jamur pada medium PDA steril yang baru. Pengukuran produksi IAA dilakukan dengan mengkulturkan 1 lup penuh isolat cendawan rhizosfer pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dengan penambahan L-Triptofan dan selama 48 jam pada ruang gelap dengan suhu ruang. IAA dengan kertas saring kemudian disentrifus 3000 rpm selama 30 menit, tambahkan 2 tetes asam orthofosfat, lalu tambahkan lagi dengan 4 ml reagen Salkowski (50 ml, 35% asam sulfat, 1 ml 0,5 mol larutan $FeCl_3$), simpan ruang gelap selama 24 jam, perubahan warna larutan menjadi pink berarti isolat cendawan telah memproduksi IAA. Pengukuran absorbansi serapan IAA nya dengan menggunakan spektrometer (spectronic 20) pada panjang gelombang 530 nm. Hasil isolasi cendawan rhizosfer padi aromatik jenis Pare kaloko menghasilkan 19 isolat dan Pare Bau 15 isolat. Rata-rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) sebesar 0,556-2.190 mg/L dihasilkan oleh isolat pare Kaloko, sedangkan rata rata produksi IAA yang dihasilkan oleh isolat pare Bau sebesar 0,048 – 1,8101,435 mg/L

Kata Kunci: IAA, isolat cendawan, padi aromatik, rhizosfer

PENDAHULUAN

Kabupaten Tanatoraja adalah salah satu kabupaten yang ada di Sulawesi Selatan dan merupakan daerah pengembangan padi lokal mempunyai potensi untuk dikembangkan. Beberapa jenis padi aromatik yang ditanam petani antara lain, Pare Bau, Pare Tallang, Pare Laloda, Pare Kaloko, Pare Birrang, Pare Rogon, Pare Ambo, Pare Kobo, Pare Lea dan Pare Bumbungan.

Sistim budidaya yang diterapkan di daerah ini masih bersifat tradisional, dan produksi yang dihasilkan sangat rendah akan tetapi memiliki potensi yang dapat dikembangkan yaitu kearifan lokal dengan

sistim bercocok tanam tanpa menggunakan pupuk anorganik, pestisida dan obat kimia lainnya, sehingga diharapkan ekosistim alami dapat terpelihara dan kaya akan diversitas mikroorganisme terutama cendawan rhizosfer yang bersifat biofertilizer, bioaktifator dan biokontrol

Untuk mengetahui jenis Cendawan pada rhizosfer tanaman padi aromatik tersebut perlu dilakukan isolasi dan identifikasi baik secara morfologi maupun molekuler. Identifikasi merupakan suatu kegiatan yang sangat penting mengingat banyak jenis Cendawan belum diketahui jumlah dan jenisnya. Jumlah spesies cendawan yang sudah



diketahui hingga kini hanya kurang lebih 69.000 dari perkiraan 1.500.000 spesies yang ada di dunia. Dapat dipastikan bahwa Indonesia yang sangat kaya akan diversitas tumbuhan dan hewannya juga memiliki diversitas cendawan yang sangat tinggi mengingat lingkungannya yang lembab dan suhu tropik yang mendukung pertumbuhan jamur (Rifai, 1995).

Banyak jenis Cendawan dapat diisolasi dari rhizosfer tanaman budidaya seperti padi, cabai, kentang, tembakau dan jagung, Cendawan ini dapat memacu pertumbuhan tanaman sehingga termasuk dalam kelompok Plant Growth Promoting Fungi (PGPF). Terlepas dari sintesis oleh tanaman, IAA juga diproduksi oleh jamur (Ünyayar et al 2000;.. Yurekli et al 2003; Maor et al. 2004, Anjali Bosea, 2014). Jamur ini mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman pada kolonisasi akar secara fungsional (Usha S and Padmavati,2013). Isolat jamur telah terbukti menghasilkan siderophores, IAA, aktivitas enzim katalase dan memiliki kemampuan sebagai agen biokontrol.

Oleh karena itu karena Cendawan rhizosfer memiliki peranan penting dalam meningkatkan ketersediaan hormon auxin dalam tanaman sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi pada lahan pertanaman padi aromatik yang hidup pada ekosistem alami sehingga diharapkan dapat diperoleh spesies cendawan yang beragam utamanya yang bersifat *Plant Growth Promoting Fungi* (*PGPF*).

METODE

Isolasi Cendawan Tanah Rhizosfer.

Sampel tanah diambil di dekat perakaran atau yang menempel pada akar 9 jenis tanaman padi aromatik yang sehat. Setiap jenis pengambilannya secara acak pada perpotongan diagonal sehingga akan didapatkan 5 sampel tanah pada setiap lokasi penanaman padi aromatik. Sampel tersebut selanjutnya dicampur menjadi satu dan dimasukkan ke dalam kantong plastik (Gams, *et al*, 1987). Rhizosfer tanaman padi aromatik diambil sebanyak 10 gram kemudian disuspensikan dalam 100 ml aquades steril lalu dikocok selama 20 menit, setelah itu sebanyak 1 ml suspensi

dipindahkan ke dalam 9 ml aquades steril dalam tabung reaksi, lalu dikocok sampai homogen (pengenceran tahap I/ 10^{-1}), Pengenceran yang sama dilakukan sampai pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} . Hasil pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} masing-masing diambil 1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril dengan menggunakan pipet ukur secara aseptis, kemudian medium PDB yang masih encer (suhu 45° C) yang telah ditambah kloramfenikol dituangkan kedalam cawan petri, kemudian dihomogenkan dengan cara menggosyokan cawan petri sampai suspensi tersebar merata dalam media. Setelah itu diinkubasikan pada suhu kamar (22° C – 25° C) selama 5-7 hari. Untuk mendapatkan biakan murni, dilakukan pemurnian cendawan yang diperoleh (Affandi dkk, 2001). Koloni cendawan yang tumbuh pada pengenceran 10^{-1} - 10^{-2} terlalu banyak sehingga tidak dapat dipisahkan, maka yang dimurnikan adalah koloni cendawan yang tumbuh pada pengenceran 10^{-3} - 10^{-5} . Pemurnian dilakukan dengan cara memindahkan satu koloni jamur pada medium PDA steril yang baru.

Skrining Isolat Secara *in vitro*.

Pemurnian isolate cendawan pembentuk spora dilakukan dengan cara isolasi spora tunggal. Masing-masing biakan isolate cendawan, ditanam pada medium PDA miring dan diinkubasi selama 5 hari. Biakan cendawan yang telah berumur 5 hari ditambahkan 4 ml aquades steril. Spora dikerik dengan jarum tanam hingga terlepas dari agar dan divorteks untuk memperoleh suspensi spora. Suspensi spora diencerkan dengan aquades steril sampai mencapai pengenceran 10^{-3} . Sebanyak 0,1 ml suspensi disebar secara merata pada permukaan cawan petri berisi medium PDA dan diinkubasi pada suhu ruang ($26-28^{\circ}$ C). Koloni tunggal yang tumbuh kemudian dipindahkan dalam PDA miring untuk *working culture* dan *stock culture*. Pemurnian isolate cendawan yang tidak membentuk spora dilakukan dengan cara mengambil hifa tunggal yang ditumbuhkan pada medium PDA dengan bantuan mikroskop.

Pengukuran *Indole Acetic Acid* (IAA) .

Pengukuran produksi IAA dilakukan dengan menggunakan metode standar yaitu dengan mengkulturkan terlebih dahulu 1 lup penuh isolat Cendawan Rhizosfer. pada media Potato Dextrose Agara (PDA) dengan penambahan

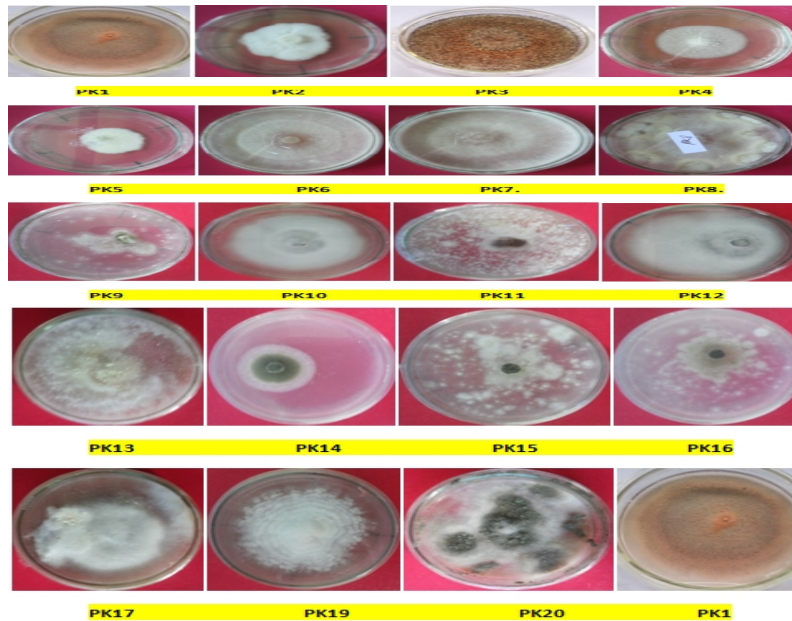
L-Triptofan (0,1 gr) dan diinkubasi (Shacer) selama 48 jam pada ruang gelap dengan suhu ruangan. IAA yang diproduksi oleh Isolat Cendawan Rhizosfer disaring dengan menggunakan kertas saring kemudian disentrifius 3000 rpm selama 30 menit, tambahkan 2 tetes asam orthofosfat, lalu tambahkan lagi dengan 4 ml reagen Salkowski

(50 ml,35% asam sulfat , 1 ml 0,5 mol larutan $FeCl_3$), simpan ruang gelap selama 24 jam, perubahan warna larutan menjadi pink berarti isolat cendawan telah memproduksi IAA. Selanjutnya pengukuran absorbansi serapan IAA nya dengan menggunakan spektrometer (spectronic 20) pada panjang gelombang 530 nm. (Gutierrez et al, 2009).

HASIL

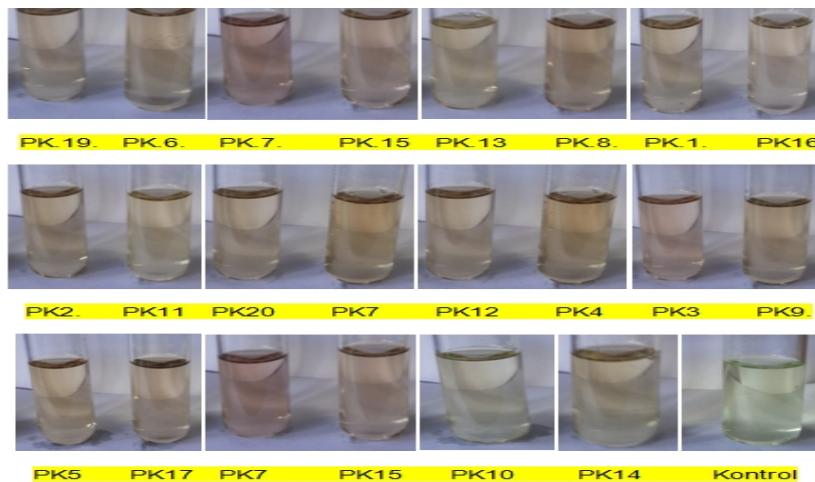
Isolasi Cendawan Rhizosfer

Gambar 1. Isolat Cendawan Hasil Isolasi Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Kaloko



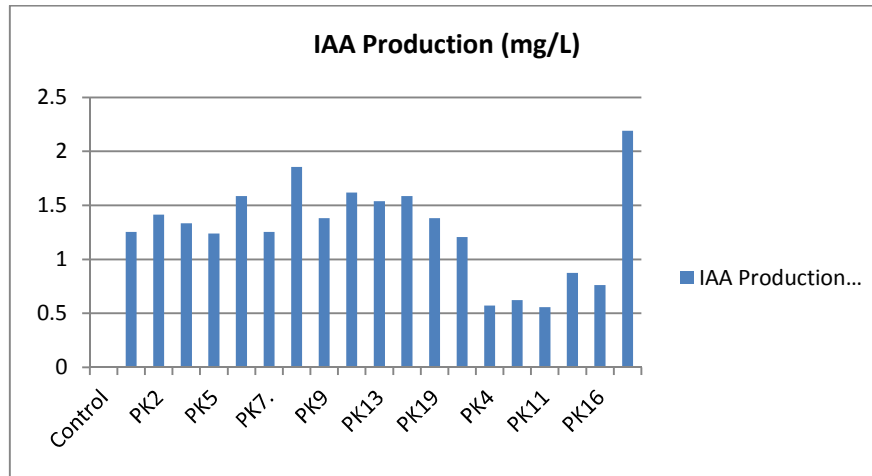
Pengujian Kualitatif IAA

Gambar 2. Hasil Pengukuran Kualitatif Produksi IAA (warna) Isolat Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Kaloko



Gambar 2. Menunjukkan bahwa terjadinya perubahan warna menjadi pink dalam proses pengujian *Indole Acetic Acid* (IAA) pada semua isolat Cendawan Rhizosfer padi Aromatik jenis Pare Kaloko setelah pemberian reagen *Salkowski* dibandingkan dengan kontrol

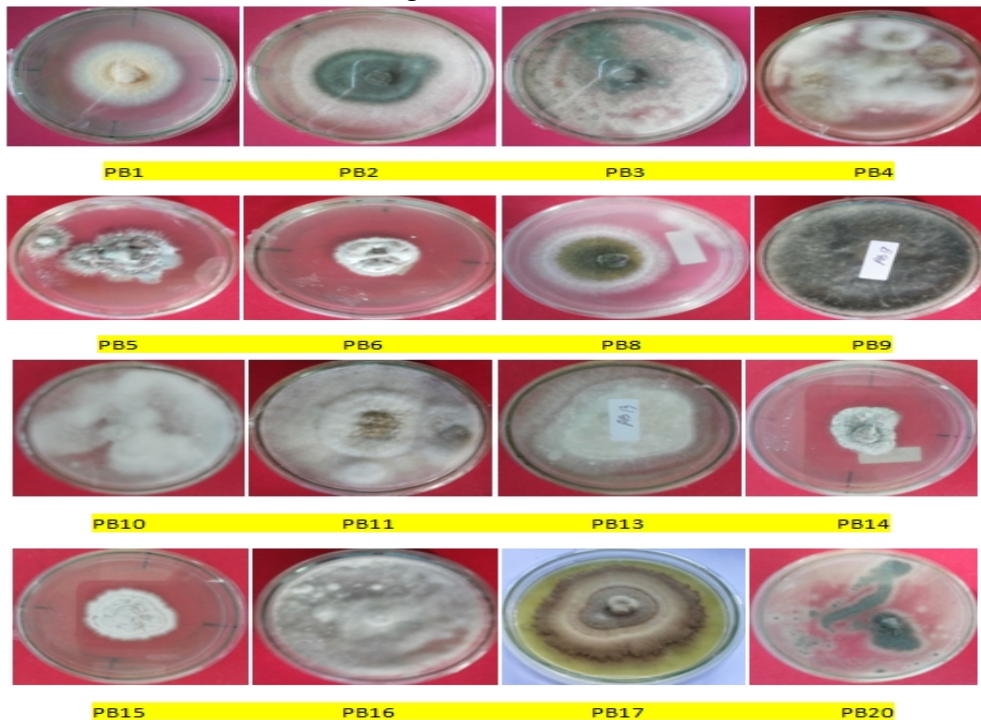
Hasil Pengujian Kuantitatif IAA



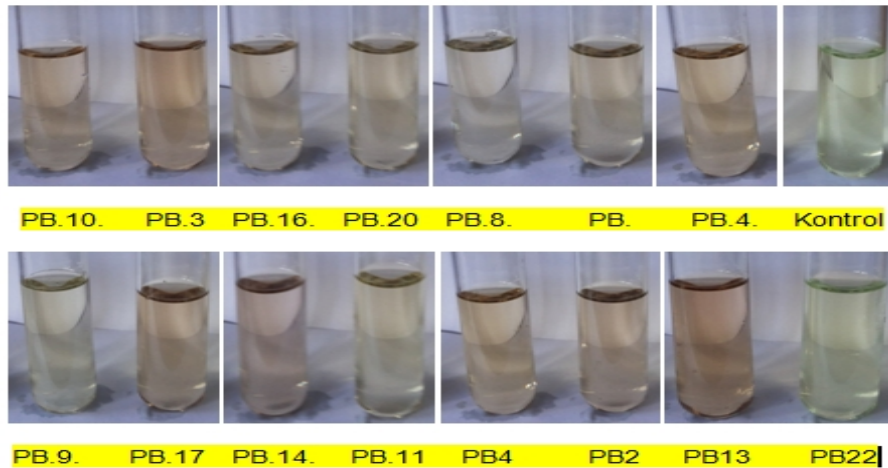
Gambar 3. Hasil Pengukuran Kuantitatif Produksi IAA (mg/l) Isolat Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Kaloko

Hasil pengujian (Gambar 3) menunjukkan bahwa rata-rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) adalah sebesar 0,556-2.190 mg/L

dihasilkan oleh 19 Isolat Cendawan Rhizosfer jenis padi aromatik Pare Kaloko (PK).



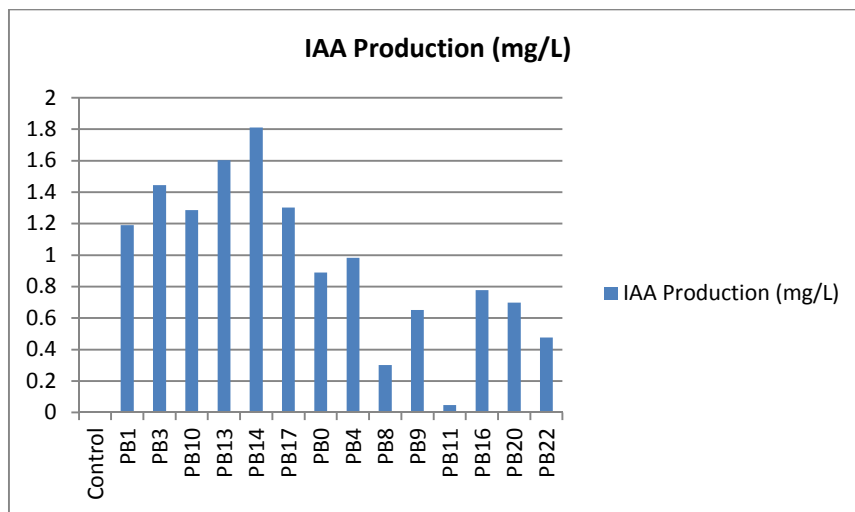
Gambar 4. Isolat Cendawan Hasil Isolasi Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Bau



Gambar 5. Hasil Pengukuran Kuantitatif Produksi IAA (ml/l) Isolat Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Bau

Gambar 5 Menunjukkan bahwa terjadinya perubahan warna menjadi pink dalam proses pengujian *Indole Acetic Acid* (IAA) pada semua isolat Cendawan Rhizosfer padi

Aromatik jenis Pare Bau setelah pemberian reagen *Salkowski* dibandingkan dengan kontrol.



Gambar 6. Hasil Pengukuran Kuantitatif Produksi IAA (ml/l) Isolat Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik Jenis Pare Bau

PEMBAHASAN

Hasil pengujian (Gambar 6) menunjukkan Hasil isolasi Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik jenis Pare kaloko menghasilkan 19 Isolat dan Pare Bau 15 Isolat. Rata-rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) sebesar 0,556-2.190 mg/L dihasilkan oleh isolat pare Kaloko, sedangkan rata rata produksi IAA yang dihasilkan oleh isolat pare Bau sebesar 0,048 – 1,8101,435 mg/L bahwa rata-rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) selama 6 hari sebesar 1,439 ml/l masing masing dihasilkan oleh Isolat Cendawan Rhizosfer

(PB1, PB3 , PB10, PB13, PB14, PB17) , sedangkan rata rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) sebesar 0,578 ml/l masing masing dihasilkan oleh Isolat (PB, PB4, PB8, PB9, PB11, PB20, PB22). Hal ini sejalan dengan Penelitian Janardan Yadav et al 2011. menunjukkan bahwa cendawan *Aspergillus niger* menghasilkan IAA sebesar (85 ug mL⁻¹) dan *T. harzianum* (68 ug mL⁻¹) dan *Penicillium citrinum* (52 ug mL⁻¹) pada 3 hari inkubasi pada 30 ° C. Laporan yang sama produksi IAA di *Aspergillus niger* dipelajari selama 5-16 hari dan produksi maksimum 128-



6,8 gL⁻¹ diamati dalam media kaldu Czapek-Dox dengan 0,1% triptofan pada 6 hari inkubasi (Bilkay et al., 2010). Dalam studi yang sama, produksi IAA ditemukan dimaksimalkan pada suhu 28 ° C (Gunasekaran, 1978; Hasan, 2002). *Trichoderma atraviride* menghasilkan tingkat tertinggi IAA (6.2, 9.8 dan 38,55 ug mL⁻¹) di hadapan 200 ug mL⁻¹ triptofan, tryptamine dan tryptophol, masing-masing (Gravel et al., 2007). IAA adalah metabolit sekunder dari jamur, diekskresikan oleh mikroorganisme dekat akhir fase pertumbuhan atau selama fase dormansi tanaman. Oleh karena itu, diharapkan bahwa waktu produksi regulator tanaman ini adalah panjang. (Isil.Seyis et al,2008).

Banyak jamur dapat menghasilkan auksin dalam kultur steril (2, 5). Sebagian besar spesies menggunakan tryptophan untuk memproduksi asam indole-3-acetic (IAA), terutama melalui asam indole-3-piruvat dan jalur tryptamine (18). Tryptophan juga meningkat biosintesis IAA 2,7 kali lipat, bahwa biosintesis IAA ditingkatkan dengan ketersediaan substrak. Aktivitas enzimatik ditingkatkan dan IAA dapat diproduksi ketika triptofan eksternal menjadi tersedia untuk jamur. Untuk produksi IAA, jamur harus dapat memanfaatkan triptofan tanaman (Rudy Maor et al, 2003). Biosintesis IAA membutuhkan triptofan eksternal. Oleh karena itu, triptofan harus diekspor dari tanaman ke jamur selama tahap biotrophic untuk mendukung IAA biosintesis, karena jamur tidak menginfeksi sel pada tahap awal ini dan tidak memiliki akses langsung ke tanaman selular metabolik. Apakah triptofan secara aktif diangkut oleh tanaman atau-triptofan spesifik transfer dengan difusi sederhana perlu diteliti lebih lanjut (Rudi Maor et al,2003). Salah satu peran yang disarankan untuk produksi IAA oleh jamur adalah untuk memediasi interaksi antara jamur dan tanaman. Konsentrasi tinggi dari IAA dapat menghambat respon hipersensitif (Robinette & Matthyse 1990; Jouanneau et al. 1991) dan dapat menekan ekspresi

pertahanan gen tanaman (Yamada et al 1985;.. Shinshi et al 1987)

KESIMPULAN

Hasil isolasi Cendawan Rhizosfer Padi Aromatik jenis Pare kaloko menghasilkan 19 Isolat dan Pare Bau 15 Isolat . Rata-rata produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) sebesar 0,556-2.190 mg/L dihasilkan oleh isolat pare Kaloko, sedangkan rata rata produksi IAA yang dihasilkan oleh isolat pare Bau sebesar 0,048 – 1,8101 mg/L

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, Moch, Ni'matuzahroh, Agus. 2001. Diversity and Fungi Character Visualization Associated Anjali Bosea, Dharti Shaha & Hareesh Kehariaa, 2014. Production of indole-3-acetic-acid (IAA) by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* under submerged condition of *Jatropha* seedcake. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology*
- Bilkay, I.S., S. Karakoc and N. Aksoz, 2010. Indole-3-acetic acid and gibberellic acid production in *Aspergillus niger*. *Turk. J. Biol.*, 34: 313-318.
- Buckley, N. G., and G. J. Pugh. 1971. Auxin production by phylloplane fungi. *Nature* 231:332.
- Gams, W., H.A. Van der Aa., A.J. Van Der Plaats- Niterink., R.A. Samson., J.A. Stalpers. 1987. *CBS Course of Mycology*. Centralbureau voor Schimmel Cultures, Belanda.
- Gravel, V., H. Antoun and R.J. Tweddell, 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of Indole Acetic Acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.*, 39: 1968-1977
- Gunasekaran, M., 1978. Physiological studies on *Phymatotrichum omnivorum* IX, Synthesis of indole acetic acid in vitro. *Microbios*, 22: 85-91
- Gutierrez CK, Matsuy GY, Lincoln DE, Lovel CR, 2009. Production of the phytohormone indole-3 acetic acid by the



- estuarine species of the genus *Vibrio*. *Appl Environ Microbiol* 75: 2253–2258
- Gruen, H. E. 1959. Auxins and fungi. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 10:405–440.
- Hasan, H.A., 2002. Gibberellin and auxin-indole production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 49: 105-118.
- Isil.Seyis Bilkay, Safak Karakoc, Nilüfer Aksozk, 2008. Indole-3-acetic acid and gibberellic acid production in *Aspergillus niger*. Yenimahalle, 06171, Ankara - Turkey
- Janardan Yadav, Jay Prakash Verma and Kavindra Nath Tiwari, 2011. Plant Growth Promoting Activities of Fungi and their Effect on Chickpea Plant Growth. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4: 291-299.
- Jouanneau JP, Lapous D, Guern J. 1991. In plant protoplasts, the spontaneous expression of defense reactions and the responsiveness to exogenous elicitors are under auxin control. *Plant Physiol.* 96:459–466.
- Maor R, Haskin S, Levi-Kedmi H, Sharon A. 2004. In planta production of indole-3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. *App Environ Microbiol.* 70:1852–1854.
- Rifai, M.A. 1995. A revision of the Genus *Trichoderma*. *Mycological papers*. P. 116 : 1-56.
- Rudy Maor, Sefi Haskin, Hagit Levi-Kedmi, and Amir Sharon, 2003. In *Planta Production of Indole-3-Acetic Acid by Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene*, Vol. 70, No. 3
- Robinette D, Matthyse AG. 1990. Inhibition by *Agrobacterium tumefaciens* and *Pseudomonas savastanoi* of development of the hypersensitive response elicited by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *J Bacteriol.* 172:5742–5749.
- Shinshi H, Mohnen D, Meins F. 1987. Regulation of a plant pathogenesis-related enzyme: inhibition of chitinase and chitinase mRNA accumulation in cultured tobacco tissues by auxin and cytokinin. *Proc Natl Acad Sci.* 84: 89–93.
- Tudzynski, B., and A. Sharon. 2002. Biosynthesis, biological role and application of fungal phytohormones, p. 183–211. In H. Osiewacz (ed.), *The Mycota. A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research*, vol. X. Industrial applications. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Usha S and Padmavati, 2013 Effect Of Plant Growth Promoting Microorganisms From Rhizosphere Of *Piper Nigrum* L. *Int J Pharm Bio Sci* 2013 Jan; 4(1): (B) 835 – 846.
- Ünyayar S, Ünyayar A., Ünal E. 2000. Production of auxin and abscisic acid by *Phanerochaete chrysosporium* ME446 immobilized on polyurethane foam. *Turk J Biol.* 24:769–774.
- Yürekli F, Geckil H, Topcuoglu F. 2003. The synthesis of indole- 3-acetic acid by the industrially important white-rot fungus *Lentinus sajor-caju* under different culture conditions. *Mycol Res.* 107:305–309.
- Yamada T, Palm CJ, Brooks B, Kosuge T. 1985. Nucleotide sequences of the *Pseudomonas savastanoi* indole acetic acid genes show homology with *Agrobacterium tumefaciens* TDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 82:6522–6526.