

Research Article

Respons Awal Ketahanan Jagung terhadap *Peronosclerospora maydis* dan Induksi Bahan Kimia

Early Response of Maize Resistance to Peronosclerospora maydis and Chemical Induction

Muhammad Habibullah¹⁾, Ani Widiastuti^{1)*}, & Christanti Sumardiyono¹⁾

¹⁾Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora No. 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: aniwidiastuti@ugm.ac.id

Diterima 25 Juli 2017; diterima untuk diterbitkan 20 Desember 2017

ABSTRACT

Downy mildew is an important disease in maize cultivation in the world. Induced resistance is one of the methods used to control plant diseases. Reactive oxygen species (ROS) and lignification are plant defense responses. This study aims to determine the potential of chemicals as an inducer by observing ROS responses and lignification of mycelium. The materials used are benzoic acid, sodium benzoate, salicylic acid, thiamine, saccharin and aspirin with concentration 2 g L^{-1} of distilled water. The ROS reaction is indicated by all treatments induced and inoculated by pathogens. Lignification of mycelium occurred in the treatment of aspirin at 6 hours observation after inoculation and saccharin treatment on observation 12 hours after inoculation. Based on the observation of ROS and lignification of the mycelium, it is suspected that the material tested has the potential to be further tested as an inducer because it has the ability to activate an early marker of plant resistance in the form of ROS reaction and lignification of mycelium.

Keywords: induced resistance, lignification of mycelium, maize downy mildew, ROS

INTISARI

Bulai merupakan penyakit penting dalam budidaya jagung di dunia. Induksi ketahanan adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman. Spesies oksigen reaktif (ROS) dan lignifikasi adalah respons pertahanan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bahan kimia sebagai bahan penginduksi dengan mengamati respons ROS dan lignifikasi miselium. Bahan yang digunakan adalah asam benzoat, natrium benzoat, asam salisilat, tiamin, sakarin, dan aspirin dengan konsentrasi $2 \text{ g akuades L}^{-1}$. Reaksi ROS ditunjukkan oleh semua perlakuan yang diinduksi dan diinokulasi oleh patogen. Lignifikasi miselium terjadi pada perlakuan aspirin pada pengamatan 6 jam setelah inokulasi dan perlakuan sakarin pada pengamatan 12 jam setelah inokulasi. Berdasarkan pengamatan ROS dan lignifikasi miselium, diduga bahwa bahan yang diuji memiliki potensi untuk diuji lebih lanjut sebagai bahan penginduksi karena memiliki kemampuan untuk mengaktifkan penanda awal ketahanan tanaman dalam bentuk reaksi ROS dan lignifikasi miselium.

Kata kunci: induksi ketahanan, lignifikasi miselium, penyakit bulai jagung, ROS

PENDAHULUAN

Penyakit bulai merupakan penyakit penting dalam budidaya jagung. Pengendalian menggunakan pestisida memberi dampak negatif terhadap lingkungan karena sulit terdegradasi oleh alam. Penggunaan pestisida anorganik telah menginduksi strain tahan terhadap pestisida yang digunakan (Sumardiyono, 2008). Oleh karena itu berkembang metode pengendalian yang lebih aman yaitu mekanisme induksi ketahanan tanaman. Induksi ketahanan adalah metode aktivasi ketahanan tanaman terhadap patogen menggunakan metode elisitasi yaitu dengan perlakuan sebelum inokulasi menggunakan elisitor seperti mikro-

organisme nonpatogenik (Sumardiyono *et al.*, 2015), perlakuan fisik (Widiastuti *et al.*, 2011; Widiastuti *et al.*, 2013a; Widiastuti *et al.*, 2013b) dan bahan kimia tertentu (Abdel-Monaim, 2011; Aleandri *et al.*, 2010; Boubakri *et al.*, 2012; Mandal *et al.*, 2009; Okubara & Paulitz, 2005).

Respons awal pertahanan tumbuhan secara alami ataupun diinduksi, melibatkan produksi spesies oksigen reaktif atau yang dikenal dengan ROS (Daudi *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2012). ROS merupakan ketahanan tumbuhan atau perlawanan tumbuhan terhadap infeksi patogen (Chisholm *et al.*, 2006). Menurut Sharma *et al.* (2012), ROS termasuk radikal

bebas seperti anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal hidroksil ($\cdot OH$) dan juga molekul non-radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), oksigen tunggal (1O_2). Selain respons ROS, ketahanan tanaman juga dapat diamati dari kemampuan lignifikasi pada jaringan tanaman (Agrios, 2005) dan miselium patogen (Sumardiyono, 1991). Lignifikasi akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan infeksi patogen terhadap tanaman. Beberapa bahan kimia ramah lingkungan dilaporkan mampu menginduksi ketahanan tanaman yaitu asam salisilat, asam benzoat, natrium benzoat, aspirin, sakarin dan tiamin (Boubakri *et al.*, 2012; Fadel *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2003; Mandal *et al.*, 2009; White, 1979).

Penelitian tentang induksi ketahanan tanaman jagung menggunakan bahan kimia ramah lingkungan belum dilakukan di Indonesia. Penelitian ini merupakan langkah awal untuk mengetahui potensi beberapa bahan kimia sebagai elisitor pada benih dalam mengaktifkan respons ketahanan tanaman jagung. ROS dan lignifikasi miselium digunakan sebagai parameter awal untuk potensi tersebut sebelum selanjutnya diuji sebagai elisitor penginduksi ketahanan.

BAHAN DAN METODE

Persiapan dan Inokulasi

Benih yang digunakan adalah benih jagung manis yang berasal dari produsen benih yang belum diaplikasikan fungisida. Benih direndam dalam asam benzoat, natrium benzoat, asam salisilat, tiamin, sakarin dan aspirin dengan konsentrasi 2 gL^{-1} akuades selama 60 menit kemudian ditanam 5 benih dengan 5 ulangan. Sebagai kontrol digunakan benih yang hanya direndam dalam akuades. Inokulasi dilakukan 10 hari setelah tanam menggunakan metode yang digunakan Yuniasih (2014).

Pengamatan ROS dan Lignifikasi Miselium

Pengamatan ROS dilakukan 15 jam setelah inokulasi dengan metode Daudi & O'Brien (2012). Hasil uji ROS diamati secara mikroskopis dan difoto menggunakan kamera (Optilab®). Pengamatan lignifikasi miselium *P. maydis* dilakukan dua kali yakni pada 6 dan 12 jam setelah inokulasi. Pengamatan lignifikasi miselium dilakukan dengan metode Sass (1958) dengan modifikasi. Daun tanaman dipotong lebih kurang 1 cm, selanjutnya potongan daun direndam menggunakan larutan floroglusinol 1% dalam alkohol 96% selama 15 menit, kemudian direndam larutan HCl 10% selama 5 menit dan dipanaskan dalam larutan alkohol

50% selama 30–60 detik. Selanjutnya daun diamati secara mikroskopis. Jaringan miselium yang berwarna merah keunguan menunjukkan bahwa miselium terlignifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

ROS Tanaman Jagung

Hasil uji ROS menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberi bahan penginduksi dan diinokulasi memicu akumulasi ROS ditunjukkan dengan timbulnya warna coklat jaringan daun yang diuji (Gambar 1). Hasil ini sesuai dengan penelitian Asmawati (2016) yang menunjukkan pemberian elisitor memicu akumulasi ROS pada tanaman jagung. Warna ROS yang menunjukkan kepekatan warna paling gelap adalah asam benzoat diikuti oleh sakarin, aspirin, asam salisilat, tiamin, inokulasi *P. maydis*, dan natrium benzoat. Pengamatan terhadap tanaman yang tidak diberi bahan kimia dan tidak diinokulasi tidak menunjukkan reaksi ROS.

ROS muncul pada tanaman yang diinokulasi tanpa pemberian bahan kimia sebagai penanda adanya respons tanaman terhadap infeksi patogen. Menurut Daudi *et al.* (2012), hal ini terjadi karena adanya proses pengenalan inang dan patogen melalui pola molekul terkait elisitor atau yang dikenal dengan PAMPs. Hal ini menyebabkan aktivasi reseptor pengenalan pola daerah permukaan sel (PRRs) memicu sinyal intraselular, pemrograman ulang transkripsi, dan biosintesis yang membatasi kolonisasi patogen (Li *et al.*, 2016).

Berdasarkan luas area (Tabel 1), ROS pada perlakuan asam benzoat memiliki area terluas yaitu $1,533\text{ mm}^2$ kemudian diikuti oleh bahan kimia lainnya yaitu aspirin, sakarin, natrium benzoat, tiamin, asam salisilat, dan inokulasi *P. maydis*. ROS pada tanaman yang hanya diinokulasi *P. maydis* memiliki luas area terkecil karena reaktif oksigen hanya dihasilkan sebagai respons ketahanan terhadap infeksi patogen. Perlakuan bahan kimia memiliki area ROS yang lebih luas karena telah terinduksi oleh elisitor yang mengaktifkan sinyal ketahanan tanaman. Menurut Van Loon & Van Strien (1999), elisitor akan mengaktifkan jalur transduksi sinyal umum sehingga menyebabkan produksi ROS.

*Lignifikasi Miselium *P. maydis**

Hasil uji 6 jam setelah inokulasi menunjukkan bahwa terjadi lignifikasi miselium pada perlakuan menggunakan aspirin yang ditandai dengan adanya



Gambar 1. Reaksi ROS pada jaringan daun yang diinduksi bahan kimia dan diinokulasi dengan *Peronosclerospora maydis* dan tanaman kontrol; tanpa inokulasi *P. maydis* dan tanpa perlakuan bahan kimia (a), inokulasi *P. maydis* (b), asam benzoat (c), natrium benzoat (d), asam salisilat (e), tiamin (f), sakarin (g), dan aspirin (h)

Tabel 1. Rerata luas ROS pada daun tanaman jagung setelah diberi perlakuan induksi menggunakan bahan kimia ramah lingkungan dan inokulasi *Peronosclerospora maydis*

Perlakuan	Rerata luas area (mm ²)
Tanpa inokulasi <i>P. maydis</i> dan tanpa perlakuan bahan kimia	0,00 f
Inokulasi <i>P. maydis</i>	0,04 f
Asam benzoat	1,55 a
Natrium benzoat	0,77 d
Asam salisilat	0,31 e
Tiamin	0,70 d
Sakarin	1,02 c
Aspirin	1,24 b

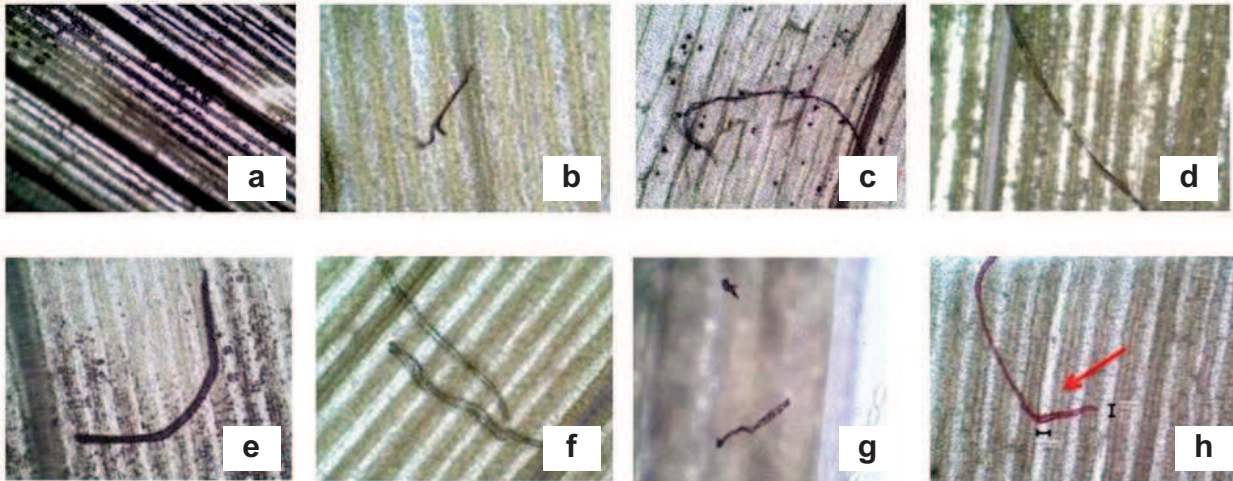
Keterangan: angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT dengan taraf kepercayaan 95%.

miselium yang berwarna merah keunguan (Gambar 2). Perlakuan bahan kimia lain tidak menunjukkan proses lignifikasi miselium. Hasil uji pada 12 jam setelah inokulasi menunjukkan terjadi lignifikasi miselium pada perlakuan sakarin yang ditandai dengan adanya perubahan warna miselium menjadi merah keunguan (Gambar 3). Namun demikian perlakuan menggunakan bahan selain sakarin tidak menunjukkan terjadi proses lignifikasi miselium.

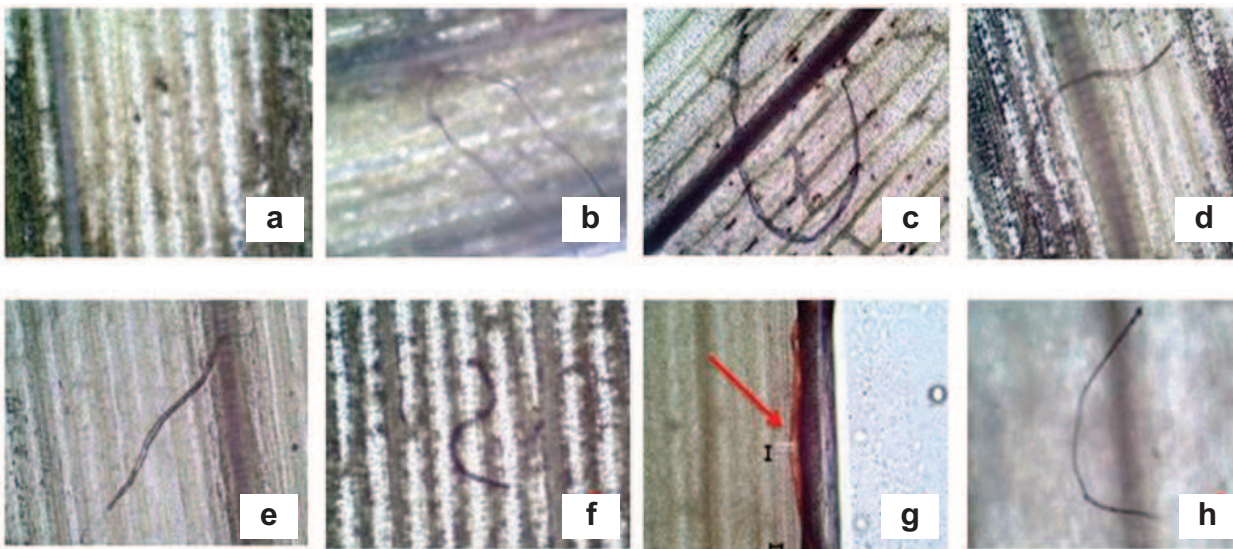
Hasil uji lignifikasi miselium menunjukkan bahwa pemberian bahan kimia yakni aspirin (asetil salisilat) dapat memberikan reaksi ketahanan bagi tanaman terhadap patogen 6 jam setelah inokulasi. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa perlakuan aspirin dapat memicu ketahanan tanaman yang lebih baik (White, 1979; Senaratna *et al.*, 2000). Berdasarkan pengamatan pada 12 jam setelah inokulasi, perlakuan aspirin tidak menunjukkan terjadi lignifikasi miselium. Hal ini diduga karena penghambatan patogen melalui lignifikasi miselium hanya terjadi sampai enam jam setelah inokulasi sehingga tidak seluruh miselium terlignifikasi yang menyebabkan miselium dapat tumbuh. Terjadinya lignifikasi pada 12 jam setelah inokulasi pada perlakuan sakarin menunjukkan bahwa sakarin memicu respons ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen. Beberapa penelitian sejenis menunjukkan bahwa sakarin yang merupakan metabolit dari probenazol mampu memicu ketahanan pada tanaman (Siegrist *et al.*, 1997; Oostendorp *et al.*, 2001; Boyle & Dale, 2005).

Penelitian ini memperlihatkan bahwa beberapa bahan kimia ramah lingkungan berpotensi sebagai elisitor penginduksi ketahanan. Sumardiyono (1991) melaporkan bahwa tanaman yang tahan dapat menimbulkan reaksi ketahanan berupa lignifikasi pada miselium patogen yang menyerang tanaman. Lignifikasi merupakan pertahanan tumbuhan terhadap infeksi dari patogen yang menyerang tanaman tersebut (Nicholson & Hammer, 1992; He *et al.*, 2002). Hal ini sejalan dengan penelitian Asmawati (2016) yang menunjukkan pemberian elisitor berupa *Trichoderma* spp. menyebabkan terjadinya lignifikasi pada tanaman jagung.



Gambar 2. Lignifikasi miselium *Peronosclerospora maydis* pada daun tanaman jagung yang diinduksi bahan kimia 6 jam setelah inokulasi; tanpa inokulasi *P. maydis* dan tanpa perlakuan bahan kimia (a), inokulasi *P. maydis* (b), asam benzoat (c), natrium benzoat (d), asam salisilat (e), tiamin (f), sakarin (g), dan aspirin (h)



Gambar 3. Lignifikasi miselium *Peronosclerospora maydis* pada daun tanaman jagung yang induksi bahan kimia 12 jam setelah inokulasi; tanpa inokulasi *P. maydis* dan tanpa perlakuan bahan kimia (a), inokulasi *P. maydis* (b), asam benzoat (c), natrium benzoat (d), asam salisilat (e), tiamin (f), sakarin (g), dan aspirin (h)

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan ROS dan lignifikasi miselium, bahan-bahan kimia yang digunakan memiliki potensi untuk diuji lebih lanjut sebagai bahan penginduksi ketahanan karena memiliki kemampuan untuk mengaktifkan penanda awal ketahanan tanaman berupa reaksi ROS pada semua bahan kimia dan lignifikasi miselium pada perlakuan aspirin dan sakarin. Pengujian ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai dengan induksi menggunakan bahan kimia perlu dilakukan lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Monaim, M. F. 2011. Role of Riboflavin and Tiamin in Induce Resistance against Charcoal Rot Disease of Soybean. *African Journal of Biotechnology* 10: 10842–10855.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5th edition. Academic Press, San Diego. 629 p.
- Aleandri, M.P., R. Reda., V. Tagliavento., P. Magro, & G. Chilosi. 2010. Effect of Chemical Resistance Inducers on the Control of *Monosporascus* Root Rot and Vine Decline of Melon. *Phytopathologia Mediterranea* 49: 18–26.

- Amawati, L. 2016. *Induksi Ketahanan Jagung terhadap Penyakit Bulai Dengan Jamur Trichoderma spp.*. Tesis. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 62 hlm.
- Boubakri, H., M.A. Wahab., J. Chong., C. Bertsch., A. Mliki, & I. Soustre-Gacougnolle. 2012. Tiamine Induced Resistance to *Plasmopara viticola* in Grapevine and Elicited Host-Defense Responses, Including HR Like-cell Death. *Plant Physiology and Biochemistry* 57: 120–133.
- Boyle, C., & D. Walters. 2005. Induction of Systemic Protection against Rust Infection in Broad Bean by Saccharin: Effects on Plant Growth and Development. *New Phytologist* 167: 607–612.
- Chisholm, S.T., G. Coaker., B. Day, & B.J. Staskawicz. 2006. Host-Microbe Interactions: Shaping the Evolution of the Plant Immune Response. *Cell* 124: 803–814.
- Daudi, A., & J.A. O'Brien. 2012. Detetion of Hydrogen Peroxidase by DAB Staining in Arabidopsis Leaves. *Bio-protocol* 2: 1–4.
- Daudi, A., Z. Cheng., J. A. O'Brien., N. Mammarella., S. Khan., F. M. Ausubel, & G. P. Bolwell. 2012. The Apoplastic Oxidative Burst Peroxidase in Arabidopsis is a Major Component of Pattern-Triggered Immunity. *The Plant Cell* 24: 275–287.
- Fadel, F., M. El-Naggar., S. Tolba, & G. Farahat. 2006. Induction of Disease Resistance by Salicylic Acid, Sodium Benzoat and Potassium Monophosphate against *Ustilago maydis* in Maize Plants, p. 240–250. In G.J. Kövics & I. Dávid, *Proceeding of 4th International Plant Protection Symposium at Debrecen University*. Debrecen, Hungary, October 18–19, 2006.
- He, C.Y., T. Hsiang, & D.J. Wolyn. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in Asparagus officinalis Inoculated with Nonpathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 51: 225–230.
- Jonathan, D., G. Jones, & J.L. Dangl. 2006. The Plant Immune System. *Nature* 444: 323–329.
- Kumar, A., R. Singh, & B.L. Jalali. 2012. Management of Stem Rot of Rice with Resistance Inducing Chemicals and Fungicides. *Indian Phytopathology* 56: 226–269.
- Li, B., X. Meng., L. Shan, & P. He. 2016. Transcriptional Regulation of Pattern-Triggered Immunity in Plants. *Cell Host Microbe* 19: 641–650.
- Mandal, S., N. Mallick, & A. Mitra. 2009. Salicylic Acid-induced Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Tomato. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 642–649.
- Nicholson, R.L. & R. Hammerschmidt. 1992. Phenolic Compound and their Role in Disease Resistance. *Annual Review of Phytopathology* 30: 369–389.
- Okubara, P.A & T.C. Paulitz, 2005. Root Defense Responses to Fungal Pathogens: A Molecular Perspective. *Plant and Soil* 274: 215–226.
- Oostendorp, M., W. Kunz., B. Dietrich, & T. Staub. 2001. Induced Resistance in Plants by Chemicals. *European Journal Plant Pathology* 107: 19–28.
- Sass, J. 1958. *Botanical Microtechnique*. 3rd Edition. The Iowa State College Press, Ames, Iowa. 228 p.
- Senaratna, T., D. Touchell., E. Bunn, & K. Dixon. 2000. Acetyl Salicylic Acid (Aspirin) and Salicylic Acid Induce Multiple Stress Tolerance in Bean and Tomato Plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157–161.
- Sharma, P., A.B. Jha., R.S. Dubey, & M. Pessaraki. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany* 2012: 1–27.
- Siegrist, J., D. Glenewinkel, C. Kolle, & M. Schmidke. 1997. Chemically Induced Resistance in Green Bean against Bacterial and Fungal Pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection* 104: 599–610.
- Sumardiyono, C. 1991. Mekanisme Ketahanan Kopi Arabika terhadap Penyakit Karat Daun (*Hemileia vastatrix*). Disertasi. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 179 hlm.
- Sumardiyono, C. 2008. Ketahanan Jamur terhadap Fungisida di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 14: 1–5.
- Sumardiyono, C., Suharyanto, Suryanti, P. Rositasari, & Y.D. Chinta. 2015. Deteksi Penginduksian Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Asam Fusarat. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 19: 40–44.
- Van Loon, L.C. & E.A. Van Strien. 1999. The Families of Pathogenesis-Related Proteins, Their Activities, and Comparative Analysis of Pr-1 Type Proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55: 85–97.
- White, R.F. 1979. Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Induces Resistance to *Tobacco mosaic virus* in Tobacco. *Virology* 99: 410–412.

- Widiastuti, A., M. Yoshino., H. Saito., K. Maejima., S. Zhou, H. Odani, K. Narisawa, M. Hasegawa, Y. Nitta, & T. Sato. 2013a. Heat Shock-induced Resistance in Strawberry against Crown Rot Fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 84: 86–91.
- Widiastuti, A., M. Yoshino, H. Saito, K. Maejima, S. Zhou, H. Odani, K. Narisawa, M. Hasegawa, Y. Nitta, & T. Sato. 2011. Induction of Disease Resistance against *Botrytis cinerea* by Heat Shock Treatment in Melon (*Cucumis melo* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 75: 157–162.
- Widiastuti, A., M. Yoshino, M. Hasegawa, Y. Nitta, & T. Sato. 2013b. Heat Shock-induced Resistance Increases Chitinase-1 Gene Expression and Stimulates Salicylic Acid Production in Melon (*Cucumis melo* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 82: 51–55.
- Yuniasih, D.A. 2014. *Ketahanan Peronosclerospora maydis terhadap Fungisida*. Tesis. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 64 hlm.