

DETEKSI PENGIMBASAN KETAHANAN PISANG TERHADAP PENYAKIT LAYU FUSARIUM DENGAN ASAM FUSARAT

INDUCED RESISTANCE DETECTION OF BANANA AGAINST FUSARIUM WILT USING FUSARIC ACID

Christanti Sumardiyono^{1)*}, Suharyanto¹⁾, Suryanti¹⁾, Putri Rositasari¹⁾, & Yufita Dwi Chinta¹⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: csumardiyono@yahoo.com

ABSTRACT

Fusarium wilt caused by Fusarium oxysporum f. sp. cubense (Foc) is the most destructive disease of banana. Until today this disease has not been successfully controlled. Fusaric acid is a toxin produced by Foc. Tyloses produced in xylem that caused wilting and yellowing of banana plants, inhibit soil nutrition and water stream. The study carried out previously showed that enriched fusaric acid in banana culture induced the resistance of banana seedlings against Foc. The signal of induced resistance increased the phenolic compounds. One of the phenolic compounds is salicylic acid. The aim of this study was to detect induced resistance of banana plant from tissue cultured enriched with fusaric acid. The experiment was done in the field highly infected with Foc. Observation of resistance was done by measuring disease percentage of yellowing and wilting leaves. Tyloses produced in xylem was observed microscopically from cross section of root. Root damage intensity was counted using tyloses score. Salicylic acid content of root was analyzed with phenolic compounds method using HPLC. The results showed that banana plants from enriched tissues culture with 1.165 ppm of fusaric acid increased the resistance against Foc, but salicylic acid was not detected. Salicylic acid was only detected at low concentration (2 ppb) in moderate resistant banana roots from induced plants with 9.32 ppm of fusaric acid. The chromatogram showed three peaks of unknown phenolic compounds. Tyloses intensity was not related with induced resistance of banana against fusarium wilt. Advanced research is needed with more plants samples. It was suggested to identify the phenolic compounds which were detected in induced resistant plant.

Keywords: banana, fusaric acid, fusarium wilt, induced resistance, salicylic acid

INTISARI

Layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (Foc) adalah penyakit yang sangat merusak pada pisang dan belum dapat dikendalikan secara tuntas. Gejala berupa kelayuan daun karena tersumbatnya xilem karena pembentukan tilosis yaitu pertumbuhan sel dalam jaringan xilem. Pengimbasan ketahanan diharapkan dapat menjadi salah satu cara pengendalian penyakit layu fusarium. Penelitian sebelumnya menunjukkan penambahan asam fusarat dalam kultur jaringan dapat mengimbas ketahanan bibit pisang terhadap penyakit layu fusarium. Asam salisilat adalah salah satu signal ketahanan yang akan meningkat kandungannya bila terjadi peningkatan ketahanan akibat pengimbasan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi hasil pengimbasan ketahanan pisang dengan asam fusarat dalam kultur jaringan. Tanaman telah ditanam di lapangan yang terinfeksi berat oleh Foc. Intensitas penyakit di lapang diamati dengan menghitung persentase daun menguning dan atau layu. Intensitas kerusakan akar diamati dengan pembuatan irisan tipis dan pengamatan tilosis dengan cara skoring. Analisis asam salisilat dalam akar dilakukan dengan metode analisis senyawa fenol menggunakan HPLC. Hasil penelitian tanaman dari bibit yang diimbas dengan 1,165 ppm asam fusarat dalam kultur jaringan menunjukkan peningkatan ketahanan di lapang. Intensitas tilosis lebih rendah pada tanaman yang diimbas ketahanannya dibandingkan yang tidak diimbas. Asam salisilat dalam tanaman yang diimbas ketahanannya dengan asam fusarat 9,32 ppm terdeteksi pada konsentrasi yang sangat rendah yaitu 2 ppb, dengan ketahanan moderat. Pada tanaman hasil pengimbasan yang menunjukkan kriteria tahan asam salisilat tidak terdeteksi, namun terdeteksi tiga puncak senyawa fenol yang belum teridentifikasi. Intensitas tilosis pada tanaman yang diimbas ketahanannya tidak menunjukkan penurunan dibandingkan dengan tanaman yang tidak diperlakukan. Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan sampel yang lebih banyak. Identifikasi jenis senyawa fenol perlu dilakukan dalam penelitian lanjutan.

Kata kunci: asam fusarat, asam salisilat, layu fusarium, pengimbasan ketahanan, pisang

PENGANTAR

Pisang adalah komoditas hortikultura yang penting dan mempunyai nilai ekonomi tinggi. Banyak daerah di Indonesia terutama di Kalimantan, Sulawesi, Sumatera, dan Irian Jaya yang berpotensi untuk peningkatan produksi pisang baik kuantitas maupun kualitas buah daerah tropis yang disukai konsumen luar negeri. Oleh karena itu ekspor pisang juga mendatangkan keuntungan karena nilai jual yang tinggi di pasar luar negeri (Djohar *et al.*, 1999).

Penyakit yang merugikan pada pisang, khususnya pisang Ambon Kuning, adalah penyakit layu Fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Jamur *Fusarium* spp. adalah jamur tanah yang sulit dikendalikan karena adanya spora tahan yaitu klamidospora yang dapat tahan hidup lama dalam tanah tanpa adanya inang (Marois, 1993).

Ketahanan tanaman terhadap penyakit adalah pertahanan yang terkoordinasi dengan beberapa mekanisme ketahanan. Salah satu respon dari tanaman dengan adalah pembentukan lapisan gabus, lapisan pemisah, dan tilosis. Respon tanaman yang lain adalah penguatan dinding sel epidermis dan suberisasi sel, pembentukan selubung sekeliling hifa infeksi, agregat sitoplasma, halo, dan papilla (Deverall & Baker, 1982). Ketahanan terhadap penyakit dapat diperoleh dengan cara pengimbasan ketahanan, yaitu perlakuan sebelum infeksi patogen dengan senyawa kimia maupun dengan inokulasi mikroorganisme nonpatogenik. Perlakuan ini dinamakan ketahanan terimbas (*induced resistance*).

Pengendalian penyakit layu Fusarium dengan ketahanan terimbas adalah salah satu cara pengendalian yang lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan pengendalian secara kimia dengan fungisida.

Dalam proses ketahanan terimbas, sel dan jaringan tumbuhan yang diperlakukan dengan *inducer*/pengimbas berupa mikroorganisme nonpatogenik maupun bahan kimia tertentu akan bereaksi melalui serangkaian reaksi biokimia yang bertujuan menghambat perkembangan penyakit. Reaksi tersebut berkaitan dengan produksi zat fitotoksik di sekeliling tempat perlakuan (Agrios, 1997).

Asam fusarat (*fusaric acid*) adalah fitotoksin yang dihasilkan oleh Foc. Asam fusarat dikeluarkan oleh Foc akan merusak jaringan pengangkutan dan menyebabkan kelayuan (Alexopoulos, 1978). Senyawa beracun ini dapat mengimbas ketahanan vanili terhadap penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanilae* (Mariska & Hobir, 1998). Senyawa yang dibentuk tanaman sebagai respons terhadap infeksi dan menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri adalah fitoaleksin, lignin, asam

salisilat, asam jasmonat, dan hidrogen peroksida (Agrios, 1997; Kuć, 1999).

Fusarium menyerang jaringan vaskular xilem melalui akar. Infeksi terjadi pada akar di bagian yang terluka. Sebagai mekanisme ketahanan tanaman yang terinfeksi muncul struktur yang menonjol menyerupai balon ke arah lumen xilem yang disebut tilosis. Tilosis merupakan perkembangan parenkhim xilem yang berfungsi menghambat spora jamur yang terbawa aliran air dan nutrisi. Tilosis dapat menghambat perkembangan jamur, tetapi karena aliran air terhambat oleh tilosis, maka terjadi kelayuan tanaman (Thurston, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons tanaman dalam bentuk asam salisilat dan tilosis akar, sebagai hasil pengimbasan ketahanan tanaman pisang asal kultur jaringan yang diperkaya dengan asam fusarat.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium dan lahan petani yang terinfeksi berat oleh Foc.

Pengamatan Ketahanan di Lapangan

Tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan dari kultur jaringan ditanam di lahan terinfeksi. Penambahan asam fusarat dalam kultur jaringan adalah 0 (kontrol), 1,165 ppm, 2,33 ppm, 4,66 ppm dan 9,32 ppm dilakukan pada penelitian sebelumnya. Pengamatan persentase daun layu/kuning dilakukan setiap bulan selama 5 bulan. Sampel akar untuk ekstraksi asam salisilat dan pengamatan tilosis diambil pada akhir pengamatan. Hasil perhitungan di atas kemudian dianalisis berdasarkan kriteria ketahanan pada Tabel 1.

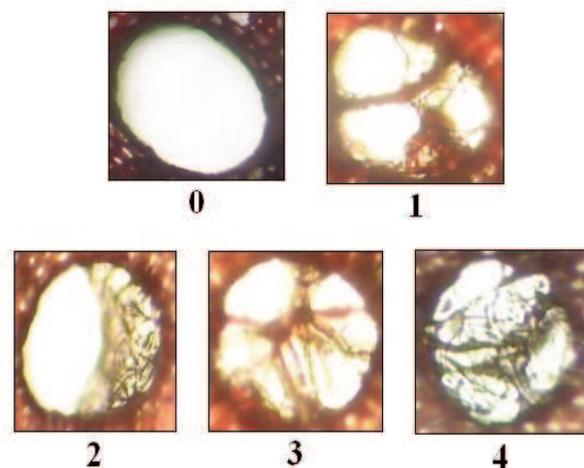
Tabel 1. Kriteria ketahanan berdasarkan persentase daun kuning/layu

Persentase daun menguning/layu	Kriteria ketahanan tanaman
0% – 25%	Tahan
> 25 % – 50%	Moderat
> 50% – 75%	Rentan
> 75%	Sangat rentan

Deteksi Respons Tanaman Hasil Pengimbasan Ketahanan

Kerusakan jaringan xilem pada akar. Pengamatan kerusakan jaringan xilem pada akar dilakukan dengan membuat preparat penampang melintang akar. Sampel diambil dari akar tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan dengan asam fusarat pada konsentrasi seperti di atas. Akar tanaman pisang diambil secara acak tiap perlakuan. Akar tanaman pisang dicuci

bersih, lalu dipotong tipis melintang dengan silet. Irisan diletakkan di atas gelas benda dan dicat dengan *lactofenol cotton blue*. Masing-masing dibuat lima ulangan preparat. Tilosis yang terbentuk dalam jaringan xilem diamati di bawah mikroskop. Skoring kerusakan adalah sebagai berikut:



Keterangan: 0 = sehat (tanpa tilosis)
 1 = tilosis > 0%–25%
 2 = tilosis > 25%–50%
 3 = tilosis > 50%–75%
 4 = tilosis > 75%

Intensitas kerusakan jaringan dihitung dengan rumus:

$$IK = \frac{\sum n \times z}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan: IK = intensitas kerusakan
 n = jumlah xilem pada skor tilosis tertentu
 z = skor tilosis tertentu
 N = jumlah total xilem yang diamati
 Z = skor tilosis tertinggi (4)

Analisis asam salisilat dalam akar. Analisis dilakukan dengan mengekstraksi asam salisilat dari akar tanaman pisang. Ekstraksi dilakukan berdasarkan analisis senyawa fenol mengikuti metode Keen *et al. cit.* Nonaka & Matsuzaki (1976) yang telah dimodifikasi. Sampel yang digunakan sama dengan sample pada pengamatan tilosis pada jaringan xilem akar.

Akar tanaman pisang sebanyak 25 g digerus dan ditambah 100 ml etanol 70%, direndam selama 24 jam, kemudian disaring. Partisi dilakukan dua kali dengan 25 ml petroleum eter. Hasil ekstraksi dievaporasi pada 40°C dengan rotavor sampai hampir kering lalu ditambahkan etanol 70% sampai volume 5 ml. Analisis asam salisilat dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Larutan pembawa

akuabides : metanol : asam asetat = 78 : 18 : 4 ; detektor UV-VIS spektrofotometer pada panjang gelombang 310 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman hasil pengimbasan ketahanan yang ditanam di lahan terinfeksi terlihat pada Gambar 1. Asam fusarut adalah racun yang dihasilkan oleh jamur dari genus *Fusarium* Pengimbasan kultur jaringan dengan asam fusarut dapat meningkatkan ketahanan bibit pisang terhadap infeksi *Foc*. Semua tanaman pisang asal kutur jaringan yang diimbas ketahannya dengan asam fusarut menunjukkan peningkatan ketahanan dari rentan menjadi tahan dan moderat. Hasil pengimbasan ketahanan terlihat pada Tabel 2.

Asam salisilat merupakan senyawa fenol yang diketahui sebagai salah satu senyawa penting dalam ketahanan terimbas suatu tanaman. Hasil analisis dengan HPLC menunjukkan akar tanaman hasil pengimbasan ketahanan dengan 9,32 ppm asam yang menunjukkan ketahanan moderat dideteksi adanya asam fusarut yang rendah yaitu 2 ppb asam salisilat (puncak c) (Gambar 2). Asam salisilat pada akar tanaman pisang dengan perlakuan yang lain termasuk kontrol tidak terdeteksi. Asam salisilat yang rendah kemungkinan disebabkan pengambilan sampel dilakukan pada akhir pengamatan di mana senyawa tersebut sudah berubah menjadi senyawa fenol lain karena biosintesis senyawa fenol adalah peristiwa yang dinamis. Adanya puncak-puncak senyawa fenol lain yang belum diketahui termasuk senyawa apa terlihat pada puncak a dan b. yang diduga merupakan senyawa perubahan asam salisilat menjadi senyawa fenol lain.

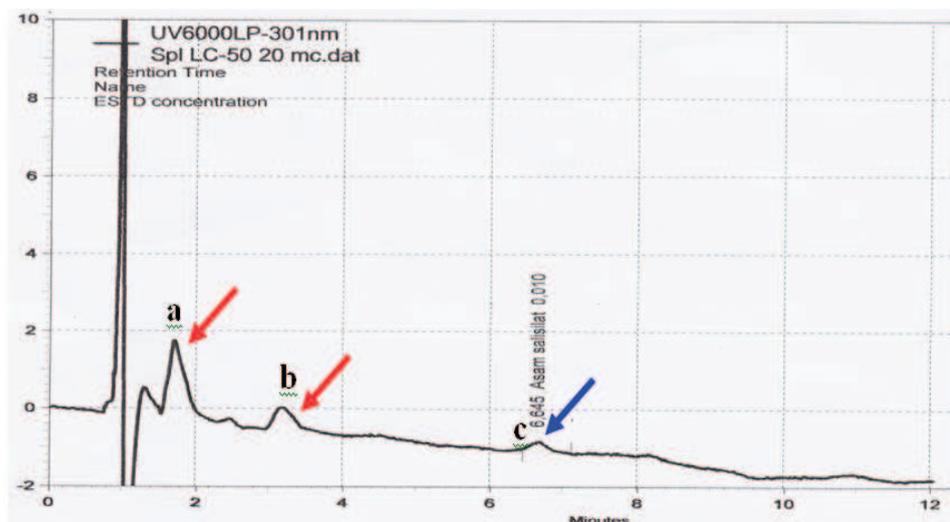
Asam salisilat adalah signal terbentuknya SAR (*Systemic Acquired Resistance*) yaitu ketahanan terimbas yang diimbas dengan PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dan pengimbas abiotik. Ketahanan terimbas semacam ini melibatkan sintesis *Pathogenesis Related Protein* (Vallad & Goodman, 2004). Ketahanan terimbas yang dilakukan pada penelitian ini digunakan asam fusarut yang seharusnya mempunyai sinyal asam salisilat, namun pada hasil pengimbasan yang tahan tidak terdeteksi. Asam salisilat hanya terdeteksi pada konsentrasi yang sangat rendah (2 ppb) pada hasil pengimbasan yang moderat. Secara umum pada ketahanan terimbas terjadi kenaikan metabolisme senyawa fenol sebagai senyawa antara dalam biosintesis fitoaleksin termasuk di dalamnya asam salisilat. Asam salisilat merupakan hasil perubahan dari asam sinamat menjadi asam benzoat dan dari asam benzoat menjadi asam salisilat (Vidhyasekaran, 1997). Hal ini diduga



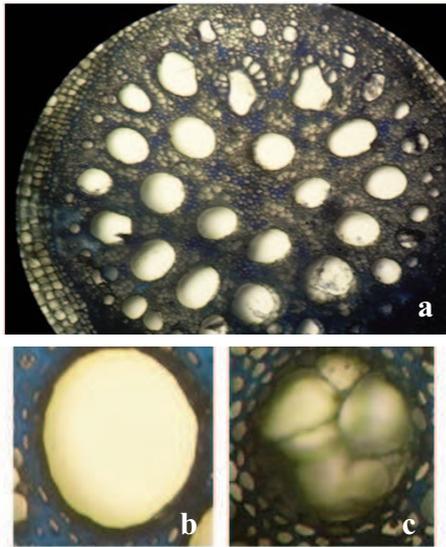
Gambar 1. Tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan dengan 4,66 ppm asam fusarat menunjukkan ketahanan moderat

Tabel 2. Persentase daun kuning/layu (%), kriteria ketahanan, kandungan asam salisilat, dan intensitas tilosis akar (%) pada tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan di lapang

Perlakuan asam fusarat	% daun kuning/layu	Kriteria ketahanan	Kandungan asam salisilat	% tilosis xilem
Kontrol (0 ppm)	52,38	Rentan	Tidak terdeteksi	6,25
1,165 ppm	0,00	Tahan	Tidak terdeteksi	0,23
2,33 ppm	50,00	Moderat	Tidak terdeteksi	1,71
4,66 ppm	33,33	Moderat	Tidak terdeteksi	0,88
9,32 m	50,00	Moderat	2 ppb	7,41



Gambar 2. Kromatogram senyawa fenol dalam akar tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan dengan 9,32 ppm asam fusarat (**a** dan **b** =senyawa fenol; **c** = asam salisilat)



Gambar 3. Penampang melintang akar tanaman pisang yang diimbaskan dengan asam fusarat 4,66 ppm dengan ketahanan moderat: penampang melintang akar (a); xilem sehat (b); xilem tilosis (c)

menyebabkan produksi senyawa fenol lain yang terlihat dalam kromatogram yaitu adanya puncak a dan b dari senyawa fenol yang belum diketahui

Tilosis terbentuk di jaringan parenkim, menonjol ke arah dalam, memenuhi jaringan tersebut dan menyebabkan penyumbatan (Gambar 3). Penyumbatan jaringan pengangkut mengakibatkan transportasi air dan hara terganggu sehingga sehingga tanaman menjadi layu. Kelayuan juga tidak hanya disebabkan karena tilosis tetapi juga kerusakan jaringan xilem karena *Foc*. Hal ini terlihat pada tanaman yang menjadi moderat, kerusakan karena tilosis justru lebih tinggi. Tilosis yang terbentuk pada jaringan akar tanaman pisang hasil pengimbasan ketahanan dengan 1,165 ppm asam fusarat adalah yang terendah, yaitu 0,23%. Di lapang, tanaman-tanaman tersebut tidak menampilkan gejala eksternal layu fusarium yaitu daun menguning/layu. Ketahanan tanaman meningkat dari moderat menjadi tahan dibandingkan dengan perlakuan yang lain seperti tampak pada Tabel 2.

KESIMPULAN

Hasil pengimbasan ketahanan dengan 1,165 ppm asam fusarat adalah yang terbaik. Ketahanannya di lapang meningkat: rentan menjadi tahan dan moderat. Asam salisilat dalam akar tidak dapat digunakan sebagai alat deteksi ketahanan terimbas tanaman pisang.

Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk identifikasi senyawa fenol lain yang terdapat dalam tanaman hasil pengimbasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan hasil penelitian dalam rangka Hibah Penelitian Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Tahun Anggaran 2010. Atas dana yang disediakan oleh fakultas, tim peneliti mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. 1997. *Plant Pathology*. 4th ed., Acad. Press, New York. 635 p.
- Deverall, B.J. & H.K. Baker. 1982. Introduction, p. 1–20. In J.A. Bailey & J.W. Mansfield (eds.), *Phytoalexins*. Blackie & Sons Ltd., Glasgow and London.
- Djohar, H. Herry, Wahyanto, V. Suwandi & H. Subagyo. 1999. Peluang Pengembangan Lahan untuk Komoditas Pisang di Indonesia. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 18: 46–55.
- Kuč, J. 1999 Specificity and Lack of Specificity as They Relate to Plant Defence Compounds and Diseases Control, p. 31–37. In H. Lyr, P.E. Russell, H.W. Dehne, & H.D. Sisler (eds.), *Modern Fungicides and Antifungal Compounds II*. 12th International Reinharsbrunn Symposium May 24th – 29th, 1998.
- Marois, J.J. 1993. Biological Control of Diseases Caused by *Fusarium oxysporum*, p. 77–81. In R. C. Ploets (ed.), *Fusarium Wilt of Banana*. APS Press, St Paul, Minnesota.
- Mariska, I. & Hobir. 1998. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Metode “*In vitro*”. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 17: 115–121.
- Nonaka, F. & M. Matsuzaki. 1976. Production of Hydroxyphaseollin in Soybean Leaves Infected with the Blight Bacterium, *Xanthomonas phaseoli* var. *sojae* and its Antifungal Action. *Agricultural Bulletin of Saga University* 40: 2.
- Thurston, H.D. 1998. *Tropical Plant Diseases*. APS Press, Minnesota, 200 p.
- Vallad, G.E. & R.M. Goodmann 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. *Crop Science* 44: 1920–1934.
- Vidhyasekaran, P. 1997. *Fungal Pathogenesis In planta and Crops Molecular Biology and Host Defence Mechanism*. Marcel Dekker, Inc., New York. 553 p.