

# PENGARUH EKSTRAK *Fusarium moniliforme* TERHADAP PERTUMBUHAN DAN RESISTENSI TANAMAN TEBU TERHADAP PENYAKIT POKAHBUNG

*Effect of Fusarium moniliforme Extract on Sugar Cane  
Growth and The Resistance To Pokahbung Disease*

Ahmad Yunus <sup>1)</sup>

---

## ABSTRACT

**O**bjectives of this research was to study the response of callus to the Fusarium extract concentration, response of callus to the method of Fusarium extract giving, response of sugarcane to the *F. moniliforme*, and the future it was hope can be obtained the subclones more resistance to the pokahbung disease.

The research method was Randomized Complete Design with ten replication for Fusarium extract concentration 0%, 33%, 50%, 100% and 0%, 1.5%, 3%, 4.5%, 6%.

It could be obtained from the result that Fusarium extract influence significantly to the growth of callus and plantlet. *In vitro* culture method have potential to use an alternative to obtain more resistance sugarcane. The concentration of Fusarium extract 3% in *in vitro* medium can increase the resistance of sugarcane PS 80-910 to the pokahbung disease, the increasing resistance of sugarcane PS 80-910 from the callus culture not followed by the changing of zymogram esterase and peroxidase isozyme.

Key words: sugar cane, pokahbung disease, fusarium

## PENDAHULUAN

Kebutuhan akan gula dalam negeri masih belum terpenuhi oleh produksi gula dalam negeri. Hal ini disebabkan oleh rendahnya produksi gula per hektar, terbatasnya areal pertanaman tebu, varietas unggul tebu yang beradaptasi khusus masih terbatas, dan serangan hama dan patogen tanaman.

Di antara jenis penyakit pada tanaman tebu di Indonesia adalah pokahbung yang disebabkan oleh *Fusarium moniliforme* (Handoyo, 1982). Di Indonesia sampai sekarang belum diperoleh klon tebu yang benar-benar tahan terhadap penyakit pokah-bung. Klon yang ada umumnya ren-

tan terhadap pokahbung (P3GI, 1990). Salah satu alternatif untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap pokahbung adalah melalui teknik kultur *in vitro*. Melalui metode kultur *in vitro* terdapat kemungkinan untuk memperbaiki sifat lemah dari suatu tanaman. Sifat-sifat tersebut antara lain ketahanan terhadap penyakit atau herbisida dan stres lingkungan.

Krisnamurthi dan Tlaskal (1974) telah mendapatkan beberapa soma-klon yang meningkatkan ketahanannya terhadap penyakit yang disebabkan virus Fiji dan embun bulu. Di Hawaii soma-klon

---

1) Staf Pengajar Fakultas Pertanian UNS Surakarta

juga ditemukan beragam ketahanannya terhadap penyakit noda mata yang disebabkan oleh *Helminthosporium sacchari* (Heinz *et al.* 1997). Sedangkan di Australia Larikan dan Scoweroft (1982) mendapatkan beberapa soma-klon Q 101 yang tahan terhadap penyakit noda mata. Liu dan Chen (1982) mendapatkan soma-klon yang tahan terhadap penyakit luka api dan embun bulu dari tanaman yang peka melalui kultur *in vitro*.

Pada soma-klon juga terjadi perubahan pada komponen hasil, Bonel *et al.* (1988) melaporkan peningkatan cabang muda dan penurunan diameter batang. Liu (1981), serta Sreenivasan dan Jalaja (1983) mendapatkan adanya keragaman jumlah batang, ketegakan batang, waktu pembungaan, diameter batang, bobot tebu, dan kandungan sukrosa yang meningkat. Liu *et al.* (1984) mendapatkan perbaikan somaklon dari kultivar H37-1933. Darmojo (1988) melaporkan adanya perubahan sifat-sifat agronomis dan terjadinya kehilangan kromosom pada subklon 3016/9/96. Tujuan penelitian ini adalah ; (1) mempelajari respon kalus terhadap berbagai kepekatan ekstrak, (2) mempelajari respon kalus terhadap cara pemberian ekstrak, (3) mempelajari respon tanaman tebu terhadap serangan *F. moniliforme*, (4) dalam jangka panjang diharapkan dapat diperoleh sub-klon yang lebih resisten terhadap penyakit pokahbung.

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah tanaman tebu varietas PS 61 dan PS 80-910 yang berasal dari kebun percobaan P3GI dan isolat *Fusarium* dari laboratorium penyakit P3GI. Untuk keperluan seterilisasi bahan tanaman digunakan alkohol 70% Clorox 20%, spirtus 90%, sedangkan untuk sterilisasi toksin digunakan saringan Teflon dengan pori-pori berdiameter 0,45 um. Untuk analisis isoenzim digunakan gel poliakrilamid, larutan elektrolit Tris-Glisin pH 8,3, 0-Dianisidin, *a*-naftil asetat, aseton, *a*-naftil, L-alanil-*b*-naftilamid.

Media yang digunakan adalah MS I untuk induksi kalus, dan MS II untuk regenerasi kalus. Media ditambah agar bakto 0,8% sebagai bahan

pemadat. Sebagai sumber energi digunakan sukrosa 30 g/l. Media aklimatisasi yang digunakan adalah tanah, dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1.

Penelitian ini disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL), dengan konsentrasi ekstrak *Fusarium* sebagai faktornya, dan setiap perlakuan diulang 10 kali.

Adapun konsentrasi ekstrak *Fusarium* yang digunakan dalam 4 percobaan terpisah adalah sebagai berikut. Percobaan 1: Perendaman kalus dalam ekstrak *Fusarium*: Ekstrak *Fusarium* 0%, 33%, 50%, 100%. Percobaan 2: Perendaman kalus dalam ekstrak *Fusarium* secara bertahap: Ekstrak *Fusarium* 0%, 33%, 50%, 100%. Percobaan 3: Inkubasi kalus pada media MS I: Ekstrak *Fusarium* 0%, 1,5%, 3%, 4,5%, 6%. Percobaan 4: Inkubasi kalus pada media MS I secara bertahap Ekstrak *Fusarium* 0%, 1.3%, 4.5%, 6% pemberian ekstrak *F. moniliforme* pada kalus. Pelaksanaan percobaan masing-masing adalah sebagai berikut.

**Percobaan 1 (Perendaman kalus dalam ekstrak *F. moniliforme*).** Kalus yang berukuran kecil (0.85 gram) direndam dalam ekstrak *Fusarium* pada konsentrasi 0%, 33%, 50% selama 30 menit. Kalus kemudian ditanam pada media MS I, setelah satu bulan kalus yang tahan dan hidup, yang ditandai dengan warna kalus putih kekuningan dan mempunyai struktur kompak tetapi feribel diregenerasikan plantlet pada media MS II.

**Percobaan 2 (Perendaman kalus dalam ekstrak *F. moniliforme* secara bertahap).** Pada perendaman kalus secara bertahap, kalus direndam dalam ekstrak *Fusarium* pada konsentrasi 33% selama 30 menit. Kalus kemudian ditanam pada media MS I, setelah satu bulan maka kalus yang tahan dan hidup direndam lagi ke dalam ekstrak *Fusarium* pada konsentrasai 50% selama 30 menit, kemudian kalus ditanam pada media MS I, demikian seterusnya sampai pada konsentrasi ekstrak *Fusarium* 100%. Kalus yang tahan dan hidup kemudian ditanam pada media MS II.

**Percobaan 3 (Inkubasi kalus pada media MS I).** Sebelum melakukan inkubasi kalus,

media MS I diberi ekstrak *F. moniliforme* dengan konsentrasi 0%, 1.5%, 3%, 4.5%, dan 6%. Pemberian ekstrak *Fusarium* pada media MS II. Kalus ditanam pada media MS I yang mengandung konsentrasi ekstrak *Fusarium* 0%, 1.5%, 3%, 4.5%, dan 6%. Setelah satu bulan kalus yang tahan dan hidup ditanam pada media MS II. Pada umumnya plantlet mulai terbentuk pada umur 3 bulan.

**Percobaan 4 (Inkubasi kalus pada media MS I secara bertahap).** Kalus ditanam pada media MS I yang mengandung ekstrak *Fusarium* konsentrasi 1.5%, setelah satu bulan kalus yang tahan dan hidup ditanam lagi pada media MS I yang mengandung ekstrak *Fusarium* konsentrasi 3%. Kalus yang tahan dan hidup ditanam lagi pada media MS I yang mengandung ekstrak *Fusarium* 6%. Kalus yang tahan dan hidup ditanam pada media MS II untuk pembentukan plantlet. Plantlet yang sudah besar dan mempunyai akar siap untuk diaklimatisasi. Aklimatisasi dibawah naungan ber-langsung selama satu minggu, kemudian tanaman siap ditempatkan di alam terbuka yang terkena cahaya matahari langsung.

#### **Pengujian ketahanan tebu terhadap *F. moniliforme***

Pengujian ketahanan tanaman tebu dengan inokulum *Fusarium* dilakukan di lapangan setelah tanaman berumur 3,5 bulan. Adapun cara pengujiannya adalah: sepuluh tabung reaksi yang berisi biakan murni *F.moniliforme* diambil. Biakan *Fusarium* dari setiap tabung reaksi ditambah dengan akuades 30 ml, kemudian dikeluarkan dari tabung reaksi, sehingga mendapatkan 300 ml suspensi. Suspensi disaring dengan setebal 1 cm, suspensi yang telah disaring digunakan untuk pengujian.

Volume suspensi yang digunakan untuk inokulum adalah 0.3 ml/tanaman. Dengan menggunakan alat suntik suspensi tersebut diinjeksikan di atas titik tumbuh tanaman tebu. Setelah 3-4 minggu gejala serangan *F. moniliforme* sudah dapat diamati.

#### **Analisis Isoenzim peroksidase dan Esterase**

Daun + 1 berdasarkan metode Kuijper diambil dari 6 tanaman, kemudian dicuci dengan ma-

nitol 3%. Daun dipotong-potong lalu diblender sampai halus. Daun yang sudah halus diekstrak dengan pelarut 0,5 M penyangga fosfat pH 7,4 dengan perbandingan 1:1 (b/v) kemudian diperas untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat disentrifus, kemudian filtrat yang akan digunakan dengan analisis ditambah 10% sukrosa.

Pemisahan isoenzim dilakukan dengan disk elektroforesis dalam 7,5% gel poliakrilamid, dan penyangga elektrolit Tris-Glisin pH 8,3.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **1. Pengaruh Ekstrak *E.moniliforme* Terhadap ketahanan Sel Kalus.**

Dari hasil pengamatan pada percobaan 1 dan 3 dapat diamati bahwa tingkat ketahanan sel kalus selama masa inkubasi dalam media MS I terdapat perbedaan antara kontrol dengan perlakuan ekstrak *Fusarium*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Fusarium*, maka tingkat ketahanan sel kalus semakin rendah. Ada perbedaan ketahanan sel kalus antara antara PS 61 dan PS 80-910 pada percobaan 1 (ekstrak *Fusarium* 50%) dan percobaan 3 (ekstrak *Fusarium* 3% dan 4,5%). Pada percobaan 2 ketahanan kalus PS 61 dan PS 80-910 setelah perendaman pada konsentrasi ekstrak *Fusarium*.

Pada percobaan 4 kalus tebu PS 80-910 hanya mampu hidup pada konsentrasi ekstrak *Fusarium* 3%. Pada konsentrasi 4,5% ketahanan kalus rendah dan tidak dapat berdiferensiasi. Pada PS 61 kalus mampu hidup pada konsentrasi ekstrak 4,5% dan kalus masih mampu berdiferensiasi. Pada konsentrasi ekstrak 6% ketahanan kalus PS 61 dan PS 80-910 adalah rendah. Adapun kriteria tingkat ketahanan sel kalus adalah: (1) tinggi: apabila sel kalus mampu berproliferasi secara cepat, struktur kompak, warna putih kekuningan, (2) sedang: apabila sel kalus kurang dapat berproliferasi, struktur remah, warna kekuningan (3) rendah: apabila sel kalus tidak mampu berproliferasi, struktur lembek, warna coklat kehitaman.

### **2. Pengamatan Pada Komponen Vegetatif.**

Pada percobaan 1, 2, 3 dan 4 yang menggu-

nakan tebu varietas PS 61, perlakuan ekstrak *F. Moniliforme* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap berat kalus, jumlah plantlet, tinggi plantlet, dan jumlah anakan umur 1,5 bulan. Pada pengamatan jumlah anakan umur 5 bulan, tinggi tanaman, dan diameter batang tidak terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan.

Pada percobaan 1,2,3 dan 4 yang menggunakan tebu varietas PS 80-910, perlakuan ekstrak *F. moniliformae* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap berat kalus, jumlah plantlet, tinggi plantlet dan jumlah anakan umur 1,5 bulan. Pada pengamatan tinggi tanaman terdapat perbedaan yang nyata pada percobaan 1 dan 3, sedangkan pada percobaan 2 dan 4 tidak terdapat perbedaan yang nyata. Pada pengamatan jumlah anakan umur 5 bulan dan diameter batang anakan tidak terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan. Pada semua percobaan terdapat kecenderungan penurunan nilai rata-rata dari peubah yang diamati dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak *F. moniliforme*.

Penurunan rata-rata berat kalus, jumlah plantlet, dan jumlah anakan tebu umur 1.5 bulan diduga karena metabolit yang terdapat di dalam ekstrak *F. moniliforme* terdiri atas naptazarin, asam fusarat, moniliformin, giberelin terutama GA<sub>4</sub>, dan enzim penghancur dinding sel. Naftazarin dapat bereaksi dengan tiamin pirofosfat yang dapat menghambat dekarboksilasi asam piruvat dan dekarboksilasi asam keto (Ballio, 1981). Asam fumarat dapat mempengaruhi fungsi mitokondria dan menghambat katalase (Ballio, 1981) serta mengganggu membran sel yang dapat mengakibatkan kebocoran ion (Kern, 1972).

Menurut Waggoner dan Dimond (1955) *Fusarium* dapat memproduksi enzim pektinmetilesterase, poligalakturonase dan enzim penghancur lainnya pada kultur asenik. Enzim-enzim tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan menyebabkan gangguan pertumbuhan. Miller dan Koepper (1971); Gregiry *et al.* (1977) mendapatkan adanya gangguan pada mitokondria *in vitro*, contohnya ialah T-toksin dapat menyebabkan stimulasi oksidasi nikotinamid adenin dinu-

kleotida (NADH), hambatan pada oksidasi asam malat, hambatan pada oksidasi asam suksinat pada konsentrasi KCl yang tinggi. Hambatan oksidasi asam suksinat dan asam malat dicirikan oleh ratio ATP/O<sub>2</sub> yang rendah (Bednaski *et al.*, 1977). Hambatan oksidasi asam malat ini karena interferensi toksin pada transpor yang menuju matrik mitokondria baik asam malat maupun adenosin difosfat (ADP). Matthews *et al.*, (1979) mendapatkan bahwa toksin dapat merusak permeabilitas membran mitokondria bagian dalam, hal ini dibuktikan dengan adanya kebocoran NAD<sup>+</sup> jagung yang rentan sedangkan pada jagung yang tahan hal tersebut tidak terjadi. Levings dan Pring (1976) mendapatkan perbedaan DNA mitokondria tanaman yang tahan dan tanaman yang rentan dengan menggunakan enzim restriksi endonuklease.

Pada mitokondria *in vitro* terjadi peningkatan respirasi pada segmen akar tetapi tidak pada ujung akar (Bednaski *te al.*, 1977). Payne (1980) mendapatkan adanya induksi kebocoran ion pada jaringan akar, sedangkan Frick *et al.* (1977) mendapatkan hambatan penyerapan K<sup>+</sup> pada ujung akar, dan Aldrich *et al.* (1977) menyatakan bahwa toksin dapat merubah kepadatan matrik mitokondria pada ujung akar tanaman yang rentan.

Pengamatan jumlah plantlet pada tebu PS 61 menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang besar pada konsentrasi ekstrak *Fusarium* 3% dan 4,5% (percobaan 3 dan 4), dan 100% (percobaan 1 dan 2). Pada konsentrasi ekstrak *Fusarium* 1,5% (percobaan 3), serta 50% dan 100% (percobaan 1) berat kalus tidak menunjukkan perbedaan nyata, sedangkan pada jumlah plantlet menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada PS 80-910 penurunan yang besar pada jumlah plantlet terjadi pada perlakuan ekstrak *Fusarium* 1,5% (percobaan 3). Hal ini dapat terjadi kemungkinan ada sel-sel kalus yang tahan terhadap metabolit yang bersifat toksik tetapi gagal untuk berdiferensiasi dengan sempurna. Adanya kandungan giberelin dalam ekstrak *Fusarium* diduga menghambat proses deferensiasi sel kalus. Untuk menetralkan pengaruh giberelin tersebut pada jenis tanaman lain yang sudah diteliti dapat diberikan tambahan zat tumbuh retardan

(paclobutrazol, cycosel, dan ancymidol). Dalam kasus-kalus tebu ini kemungkinan diperlukan peningkatan konsentrasi sitokinin untuk memperbaiki nisbah auksin-sitokinin yang dapat mendorong pembentukan tunas dan akar.

Pengamatan jumlah plantlet pada tebu PS 61 menunjukkan bahwa terjadi penurunan besar pada konsentrasi 3% *F. moniliforme* 3% dan 4,5% (percobaan 3 dan 4), dan 100% (percobaan 1 dan 2). Pada konsentrasi ekstrak 1,5% dan 3% (percobaan 3), serta 50% dan 100% (percobaan 1) berat kalus tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, sedangkan pada jumlah plantlet menunjukkan perbedaan nyata. Pada PS 80-910 penurunan yang besar pada jumlah plantlet terjadi pada perlakuan ekstrak 1,5% (percobaan 3). Hal ini dapat terjadi karena kemungkinan ada sel-sel kalus yang tahan terhadap metabolik yang bersifat toksik tetapi gagal untuk berdiferensiasi dengan sempurna. Adanya kandungan giberelin dalam ekstrak *F. moniliforme* diduga dapat menghambat proses diferensiasi sel kalus, untuk menetralkan pengaruh giberelin tersebut perlu diberikan tambahan zat retardan (paklobutrazol, sisosel (CCC), dan ansimidol dan perlu peningkatan konsentrasi sitokinin untuk memperbaiki nisbah auksin sitokinin yang dapat mendorong pembentukan tunas dan akar (Bednaski *et al.*, 1977). Hambatan oksidasi malat ini karena interferensi toksin pada transpor yang menuju matriks mitokondria baik malat maupun adenosin difosfat (ADP). Matthews *et al.* (1979) mendapatkan bahwa toksin dapat merusak permeabilitas membran dalam mitokondria, hal ini dibuktikan dengan adanya kebocoran NAD jagung yang rentan sedangkan pada jagung yang tahan hal tersebut tidak terjadi. Levings dan Pring (1976) mendapatkan perbedaan DNA mitokondria tanaman yang tahan dan tanaman yang rentan dengan menggunakan analisis enzim restriksi endonuklease.

Pada mitokondria *in vivo* terjadi peningkatan respirasi pada segmen akar tetapi tidak pada ujung akar (Bednaski *et al.*, 1977). Payne (1980) mendapatkan adanya induksi kebocoran ion pada jaringan akar, sedangkan Frick *et al.*, (1977) men-

dapatkan penyerapan  $K^+$  pada ujung akar dan Aldrich *et al.*, (1977) menyatakan toksin dapat merubah kepadatan matrik mitokondria pada ujung akar tanaman yang rentan.

### 3. Hasil Pengujian ketahanan tebu terhadap *F. moniliforme*

Dari hasil pengujian tanaman tebu terhadap *F. moniliforme* dapat dilihat bahwa tingkat serangan Pb-1 yang terjadi pada tebu PS 61 berkisar antara 33,3%-50%. Pada tebu PS 61 pengaruh perlakuan ekstrak *F. moniliforme* terhadap tingkat serangan Pb-1 nampak tidak teratur, seperti terlihat pada percobaan 1 dan 3, pada percobaan 2, tingkat serangan Pb-1 menurun, sedangkan pada percobaan 4, tingkat serangan Pb-1 meningkat.

Pada tebu Pb-61 persentase tingkat serangan (Pb-2 + Pb3) cenderung menurun (percobaan 1 dan 4) atau sama dengan kontrolnya (percobaan 2) kecuali percobaan 3, persentase tingkat serangan (Pb-2+ Pb-3) tidak teratur. Persentase serangan tertinggi (16,6%) terjadi pada percobaan 1 (kontrol), sedangkan serangan terendah terjadi pada percobaan 3 (ekstrak 1,5% dan 4,5%) dan percobaan 4. Secara genetik PS 61 tergolong tahan terhadap pokahbung, sehingga dalam pengujian ketahanan terhadap *F. moniliforme* persentase tanaman (kaliklon) yang terserang sekitar 10%-13%, kecuali pada percobaan 1 (kontrol) persentase mencapai 16,6%. Adanya persentase tanaman yang terserang (Pb-2 + Pb-3) sampai 13,3% dan 16,6% dalam pengujian ini disebabkan oleh pengujian dilakukan pada pertengahan musim penghujan sedangkan pengujian ketahanan terhadap pokahbung pada PS 61 dilakukan pada awal musim penghujan. Faktor kelembaban udara dan suhu udara dapat mempengaruhi aktivitas dan efektivitas serangan *F. moniliforme* terhadap tanaman tebu.

Pada tebu PS 80-910 tingkat serangan Pb-1 berkisar antara 43,3% -56,6%. Persentase tingkat serangan Pb-1 meningkat pada percobaan 1, pada percobaan 2 persentase tingkat serangan Pb-1 tetap, sedangkan pada percobaan 4 persentase tingkat serangan Pb-1 menurun.

Persentase tingkat serangan (Pb-2+Pb-3) pada tebu PS 80-910 cenderung turun pada semua percobaan dibandingkan dengan kontrolnya. Persentase tingkat serangan (Pb-2+ Pb-3) terendah (16,6%) dicapai pada percobaan 3 (ekstrak 3%), sedangkan serangan tertinggi (26,6%) terdapat pada kontrol (semua percobaan).

Kali-klon dari PS 80-910 rata-rata tingkat ketahanannya meningkat, yaitu dari kriteria tanaman yang peka (tingkat serangan Pb-2+ Pb-3) sekitar 50% menjadi tanaman yang agak peka (tingkat serangan Pb-2+ Pb-3 : 16,6% sampai 26,6%) sedangkan rata-rata tingkat serangan (Pb-2+ Pb-3) adalah 20%.

Perubahan yang terjadi menuju ke arah ketahanan yang lebih tinggi dapat disebabkan oleh keadaan kalus dan plantlet selama dalam kultur *in vitro*. Pada tanaman gandum asam-asam amino DL-serine, DL-histidin, metionin, isoleusin, diduga mampu menginduksi ketahanan terhadap karat daun (Pozsar, *et al.*, 1966) ; Samborskai *et al.*, 1960).

Kinetin, benzimidazol, dan substansi yang menyerupai kinetin, mempunyai peranan dalam mencegah kerusakan protein, dan mempunyai kemampuan menghambat degradasi RNA. Oleh karenanya pencegahan kehilangan protein oleh kinetin dapat menghambat penurunan ketahanan terhadap patogen tertentu. Sedangkan IAA bertanggung jawab secara langsung terhadap sintesis dinding sel dan mampu meningkatkan sintesis pektin dan fraksi selulosa dinding sel (Ray, 1962).

Auksin sintetik dapat menginduksi ketahanan terhadap penyakit layu *Fusarium* pada tomat dan *Phytophthora infestans* pada kentang. Pemberian NAA pada tomat menyebabkan pektin yang terlarut lebih sedikit dari pada tanpa perlakuan. NAA dapat mendorong demelitasi pektat, kemudian terbentuk ikatan Ca-pektat yang lebih tahan terhadap enzim pektolitik. Ada dugaan bahwa ketahanan yang diinduksi oleh NAA bergantung pada adanya kation polivalen terutama  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  lebih tinggidari pada  $Na^{+}$  dan  $K^{+}$ , sehingga kation  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  diduga dapat menghambat kehancuran jaringan akibat enzim poligalakturonase yang

disekresikan oleh patogen. Hanya saja dalam lingkungan asam enzim dan poligalakturonase dapat mengikat Ca yang tadinya berada pada Ca-pektat sehingga dinding sel kurang tahan terhadap enzim-enzim penghidrolisa. Kandungan  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  dalam media yang digunakan untuk induksi kalus, inkubasi kalus, diferensiasi kalus, dan pertumbuhan plantlet, kemungkinannya ikut membantu dinding sel menjadi lebih tahan terhadap penghancuran enzim-enzim pektolitik.

#### 4. Hubungan Antara Penyusutan Berat dengan Serangan Pokahbung

Dari Hasil pengujian terlihat bahwa ada hubungan yang erat antara penyusutan berat kalus dengan persentase serangan pokahbung pada tebu PS 61 (percobaan 1), hal ini menunjukkan bahwa semakin besar penghambatan ekstrak *F. moniliforme* terhadap sel kalus atau semakin besar persentase penyusutan berat kalus menyebabkan serangan pokahbung pada tanaman tebu menurun, walaupun penurunan itu hanya terjadi antara kontrol dengan perlakuan ekstrak *F. moniliforme*, sedangkan di antara perlakuan tidak terjadi penurunan serangan pokahbung.

Pada percobaan 2 tidak ada hubungan antara penyusutan berat kalus, menyebabkan serangan pokahbung pada tanaman tebu di lapangan. Pada percobaan 3 terdapat hubungan yang tidak erat antara penyusutan berat kalus dengan serangan pokahbung di lapang ( $r = -0,25$ ). Pada percobaan 4 peningkatan penyusutan berat kalus diikuti penurunan serangan pokahbung.

Pengamatan pada tebu PS 80-910 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang erat antara persentase penyusutan berat kalus dengan persentase serangan pokahbung pada tanaman tebu di lapangan (percobaan 2,3 dan 4).

Pada percobaan 1 semakin tinggi persentase penyusutan berat kalus mengakibatkan persentase serangan pokahbung menurun, penurunan serangan pokahbung terjadi antara kontrol dengan perlakuan ekstrak *F. moniliforme*, sedangkan di antara perlakuan tidak terjadi penurunan serangan pokahbung. Pada percobaan 2 dan 4 terdapat hubungan

antara penyusutan berat kalus dengan serangan pokahbung yaitu peningkatan persentase penyusutan berat kalus mengakibatkan penurunan persentase serangan pokahbung. Pada percobaan 3 juga terdapat hubungan yang erat yaitu peningkatan penyusutan berat kalus diikuti dengan penurunan serangan pokahbung. Persentase serangan pokahbung terendah dicapai pada metode pemberian ekstrak *F.moniliforme* dalam media *in vitro* konsentrasi 3% (percobaan 3). Dari hasil pengamatan tersebut dapat dikatakan bahwa metode pemberian ekstrak *F.moniliforme* dalam media *in vitro* dapat diperoleh tanaman tebu PS 80-910 yang lebih tahan terhadap pokahbung. Adanya hubungan yang erat antara penyusutan berat kalus dengan serangan pokahbung, menunjukkan bahwa semakin kuat tekanan seleksi yang diberikan ekstrak *F. moniliforme* terhadap kalus, maka semakin besar pula kemungkinannya untuk mendapatkan tanaman yang lebih tahan terhadap pokahbung sehingga metode pemberian ekstrak *F.moniliforme* dalam media *in vitro* memberikan harapan untuk menurunkan serangan pokahbung pada tanaman tebu PS 80-910.

#### **5. Hasil Analisis Isoenzim Peroksidase, Esterase, Asam Fosfatase, dan Leusin Aminopeptidase**

Pengamatan terhadap zimogram pola pita isoenzim peroksidase dan esterase menunjukkan bahwa nilai relatif (rf) sama antara kontrol dengan perlakuan pada semua percobaan dan bahkan dengan tanaman asal bakal pada kedua varietas tebu tersebut. Demikian juga jumlah pita isoenzim peroksidase dan esterase tidak menunjukkan adanya perbedaan.

Hasil analisis isoenzim asam fosfatase dan leusin aminopeptidase tidak dapat menunjukkan zimogram pola pita yang jelas, sehingga tidak dapat menjelaskan apakah ada perbedaan pola pita isoenzim antara kontrol dengan perlakuan. Hal ini di-

sebabkan oleh metode pengecatan yang kurang tepat, oleh karena itu perlu dicari metode pengecatan yang lebih sesuai untuk keperluan ini.

Pengamatan pada jumlah anakan, diameter batang, penyimpangan warna batang, ketegakan daun, dan perubahan ketahanan terhadap penyakit dapat menimbulkan dugaan bahwa tanaman yang berasal dari kultur kalus mengalami perubahan yang dikenal dengan keragaman somaklonal pada tanaman tebu pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti di antaranya Heinz dan Mee (1971), Heinz *et al.*, (1977), Liu (1981), Krishnamurthi dan Tlskal (1974), serta Lat dan Lantin (1976). Penelitian yang dilakukan oleh Peros *et al.*, (1989) tidak mendapat tanaman yang tahan terhadap *Puccinia melanocephala*, hal ini mungkin karena vigor tanaman yang lemah tetapi menemukan hilangnya satu pita isoenzim, leusin dan valin aminopeptidase. Su-

giyanto (1992) mendapatkan bahwa tanaman hasil kultur kalus mengalami perubahan pola pita isoenzim peroksidase jika dibandingkan dengan tanaman asal bakal.

#### **KESIMPULAN**

1. Perlakuan ekstrak *Fusarium* berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus dan plantlet tebu (berat kalus, jumlah plantlet, tinggi plantlet dan jumlah anakan umur 1,5 bulan).
2. Metode kultur *in vitro* mempunyai potensi untuk digunakan sebagai alternatif mendapatkan tanaman tebu yang lebih tahan terhadap pokahbung.
3. Pemberian ekstrak *Fusarium* 3% pada media *in vitro* dapat meningkatkan ketahanan tanaman tebu (PS 80-910) terhadap pokahbung.
4. Peningkatan ketahanan tebu PS 80-910 dari kultur kalus tidak menunjukkan perubahan pola pita isoenzim peroksidase dan esterase.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aldrich, HC, V.E. Gracen, DW York, ED Earle & DC Yorder. 1977. Ultra-structural effects of *Helminthosporium maydis* race T-toxin on mitochondria of corn roots and proplast. *Tissue and Cell* 9: 167-177.
- Ballio, A. 1981. Structure-Activity Relationship. Dalam RD Durbin (Ed.). *Toxins in Plant Diseases*. Academic Press. New York-London-San Fransisco. 435p.
- Bednarski, MA, S. Izawa & RP Scheffer. 1977. Reversible effects of toxin from *Helminthosporium maydis* race T on oxidative phosphorylation by mitochondria from maize. *Plant Physiol.* 59: 540-545.
- Bonnel, E, JP Peros & JC Girard. 1988. Evaluation of sugarcane soma-clones for gumming disease resistance and agronomic performances. *Sugarcane* (4) : 15-17.
- Darmojo, S. 1988. *Penyakit virus mozaik tebu dan cara mengatasinya dengan pemuliaan*. P3GI. Pasuruan. 115p.
- Frick, H, LF Bouman, RL Nicholson & TK Hodges. 1977. Influence of *Helminthosporium maydis* race T-toxin on potassium uptake in maize roots II. *Plant Phisyol* 59: 103-106.
- Gregory, P, VE Gracen, VE Yorder, & NA Steinkrans. 1977. Differential effects of digitonin on mitochondria isolated from male sterile and non male sterile cytoplasm of corn. *Plant Sci Lett* 9: 17-21.
- Handoyo, H. 1982. *Penyakit tebu di Indonesia*. P3GI. Pasuruan. Hal 5-12.
- Heinz DJ & GWP Mee. 1971. Morphologic, cytogenetic, and enzymatic variation in saccharum spesies hybride clones derived from callus tissue. *Amer J. Bot.* 58(3): 257-262.
- Heinz DJ, Krishnamurthi, LG Nickell & A. Maretski. 1977. Cell, Tissue and Organ Culture In Sugarcane Improvment. Dalam J. Reinert and YPS Bajaj (Eds.). *Plant Cells and Organ Culture*. Springer Verlag. Berlin-Heidelberg, New York. pp. 12-15.
- Kern, H. 1972. Phytotoxins produced by Fusaria. Dalam RKS Woods, A. Balio, and A. Graniti (Eds.). *Phytotoxins in plant diseases*. pp. 35-48. Academic Press. New York.
- Krishnamurthi, M, & J. Tlaskal. 1974. Fiji Disease resistant *Saccharum officinarum* var. Pindar subclones from tissue cultures. *Proc. ISSCT* 15: 130-131.
- Larkin, PJ & WR Scowcroft. 1982. Somaclonal variation a new option for plant improvement. Dalam IK Vasil, WR Scowcroft, KJ Frey (Eds.). *Plant improvement and somatic Cell Genetics*. Academic Press. New York. pp. 159-179.
- Lat, JB & MM Lantin. 1976. Agronomic performance of sugarcane clones derived from callus tissue. *Phil J. Crop Sci.* I: 117-1213.
- Leving, CS & DR Pring. 1976. Restriction Endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and texas male sterile maize. *Science* 193: 158-160.
- Liu, YT. 1981. *In vitro* methods applied to sugarcane improvement. Dalam TA Thorpe (Eds.). *Plant tissue culture. Methode and application in Agriculture*. Academic Press. New York. pp. 299-323.
- Liu, YT & SS Chen. 1982. Improvement of sugarcane by tissue culture. Dalam IK Vasil, WR Scowcroft, KJ Frey (Eds.). *Plant improvement and somatic cell genetics*. Academic Press. New York. 245 p.
- Liu, YT, HS Yeh & WH Chen. 1984. Tissue and cell culture as aids to sugarcane breeding a high sucrose and vigorously growing calli-clone 71-4829. *Taiwan sug.* 31(3): 77-83.
- Matthews, DD, Gregory, P & VE Gracen. 1979. *Helminthosporium maydis* race T toxin induces leakage of NAD from T cytoplasm corn mitochondria. *Plant Phisyol* 63: 1149-1153.
- Miller, RJ & De Koepper. 1971. Southern corn

- leaf light, susceptible and resistant mitochondria. *Science* 173: 67-69.
- Payne, GA, Y. Kono & JM daly. 1980. A comparison of puified host specific toxin from *Helminthosporium maydis* race T and its acetate derivative on oxidation by mitochondria from susceptible and resistan plants. *Plant Phisyol.* 65: 785-791.
- Peros, JP, E. Bonnel, L. Fererol & JC Maubousin. 1989. Altered rust resistance and yield component arising from leaf tissue and bud culture and sugarcane. *Proc. ISSCT*20: 1976-182.
- Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. 1990. *Varietas harapan Potensial Sebagai varietas Unggul Lokal*. Pasuruan. 26p.
- Srenivasan, JV & NC Jalaja. 1983. Sugarcane varietal improvement through tissue culture. *Dalam SK Sen & KL Giles (Eds.). Plant cell culture in crop improvement*. Plenum Press. New York. pp. 371-377.
- Sugiyarto, E. 1992. *Epigenetik dalam kultur jaringan tebu*. Seminar biotek-nologi III. PAU Bioteknologi UGM. Yogyakarta. 11p.
- Waggoner, PE & AE Dimond. 1955. Production and role of extracellular pectic enzymes of *Fusarium oxysporium*. *Phytopathology* 45: 79-87.