

PENGIMBASAN KETAHANAN PISANG TERHADAP PENYAKIT LAYU FUSARIUM DENGAN *Burkholderia cepacia*

Induce resistance of banana against fusarium wilt by using Burkholderia cepacia

Salim Widono¹⁾, Christanti Sumardiyono²⁾, Bambang Hadisutrisno²⁾

ABSTRACT

Fusarium wilt of banana or Panama disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* is widespread in the tropics and subtropics. The disease control is difficult because the pathogen form chlamidospores in soil and can still alive for a long time. Although some disease controls have been done, an efficient and effective methods of control is still unknown. The study was done to induced resistance of banana seedling against Fusarium wilt by using *Burkholderia cepacia* obtained from shallot rhizosphere. Banana plants were preinoculated by injecting rhizome with alive bacterial cells and extracellular of *B. cepacia*. The root and rhizome were extracted to determine the phytoalexin and salicylic acid as a response to preinoculated agents.

The results indicated that alive bacterial cells could induce the resistance of banana against *F. oxysporum* f.sp. *cubense* better than extracellular protein of *B. cepacia*. It was found that phytoalexin and salicylic acid in the pseudostem and rhizome extracted from banana plants can inhibit fungus growth and germination of microconidia.

Key words: induced resistance, banana, *B. cepacia*, *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

¹ Fakultas Pertanian UNS

² Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta

PENDAHULUAN

Layu Fusarium merupakan salah satu penyakit pisang yang paling merugikan atau merusak baik di daerah tropis maupun subtropis, menyebabkan kerugian ekonomi cukup besar karena menyerang Gross Michel (pisang Ambon), yaitu komoditas yang paling diminati dalam perdagangan pisang dunia (Su *et al.*, 1986). Jamur penyebab layu Fusarium adalah *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, mampu bertahan lama di dalam tanah sebagai kladospora sehingga sulit dikendalikan (Brown dan Ogle, 1997). Sejumlah cara pengendaliannya telah diteliti, namun belum memberikan hasil yang memuaskan.

Pengendalian hayati patogen tular tanah merupakan pendekatan alternatif yang perlu dikembangkan, sebab relatif murah dan mudah dilakukan, serta bersifat ramah lingkungan. Penggunaan strain bakteri tertentu untuk mengendalikan patogen tular tanah telah banyak dilaporkan. Menurut Upadhyay dan Jayaswal (1992), *Burkholderia cepacia* memiliki daya antagonisme yang tinggi terhadap jamur patogen tanaman. Bakteri ini dapat menekan perkembangan penyakit *soil-borne* yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* (Zaki *et al.*, 1998), *Pythium* spp. (King dan Parke, 1993), *Sclerotinia sclerotiorum* (McLoughlin *et al.*, 1990), *Fusarium moniliforme* (Hebbar *et al.*, 1992), dan *F. sambucinum* (Burkhead *et al.*, 1994).

Telah diketahui bahwa preinokulasi tanaman dengan berbagai agen fisik, kimia, dan biologi dapat menyebabkan perubahan reaksi penyakit yang diakibatkan oleh inokulasi berikutnya dengan patogen sasaran. Fenomena ini dikenal sebagai ketahanan terimbas atau Induced Resistance (Misaghi, 1982). Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa asam salisilat atau 2-hidroksi-benzoat merupakan salah satu molekul signal terjadinya aktivasi sistem pertahanan tanaman (Conrath *et al.*, 1995).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Klinik Fakultas Pertanian UGM, dengan rancangan dasar RAL. Tiga faktor yang diteliti adalah bagian tanaman (akar dan batang), waktu setelah tanaman diinokulasi (1-4 minggu setelah tanaman diinokulasi), dan perlakuan. Ada 5 kelompok perlakuan, dengan setiap kelompok perlakuan terdiri dari 14 tanaman (Kontrol (+), yaitu tanaman pisang diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; Kontrol (-), yaitu tanaman pisang disiram dengan akuades steril; Pc-C6, yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*; Pc-C6 x Fo-A13, yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; Prot. x Fo-A13, yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan protein ekstraseluler *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*).

Bibit pisang yang digunakan adalah hasil kultur jaringan dari Pusat Penelitian Kakao dan Kopi Jember, sedangkan isolat jamur patogen, *F. oxysporum* f.sp. *cubense*, dan bakteri antagonis, *B. cepacia* hasil isolasi dari rhizosfer bawang merah, keduanya merupakan koleksi dari Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Klinik Fakultas Pertanian UGM.

Penyiapan bahan pengimbas berupa sel bakteri hidup dan isolasi protein ekstraseluler dari *B. cepacia* dilakukan menurut metode Ball *et al.* (1990) yang dimodifikasi. Ekstraksi fitoaleksin dan asam salisilat dilakukan sesuai dengan ekstraksi senyawa fenol menurut metode Nonaka dan Matsuzaki (1976) yang dimodifikasi. Sedangkan inokulum jamur patogen yang digunakan adalah suspensi mikrokonidium *F. oxysporum* f.sp. *cubense* yang memiliki kerapatan 10^6 mikrokonidium/ml akuades.

Pengimbasan ketahanan bibit pisang dilakukan dengan menyuntikkan pada bagian pangkal batang bibit pisang sebanyak 10 ml bahan pengimbas berupa sel bakteri hidup dengan kerapatan 10^8 cfu/ml atau 1 ml berupa protein ekstraseluler konsentrasi 300 mg/ml. Satu minggu setelah perlakuan penyuntikan bahan pengimbas dilakukan inokulasi bibit pisang dengan menyiramkan sebanyak 25 ml suspensi mikrokonidium *F. oxysporum* f.sp. *cubense* kerapatan 10^6 mikrokonidium/ml akuades pada bagian akar lateral tanaman uji yang telah dilukai dengan pisau steril.

Mulai minggu I-IV dilakukan ekstraksi fitoaleksin dan asam salisilat dari bagian akar dan batang tanaman, dengan setiap kali ekstraksi diambil 2 tanaman uji. Selanjutnya, setiap hasil ekstraksi, baik berasal dari akar maupun batang tanaman, dilakukan analisis spektrum asam salisilat dengan spektrofotometer UV kemudian dilanjutkan analisis HPLC (*High Pressure Liquid Chromatography*) untuk menentukan konsentrasi asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang tanaman pisang uji.

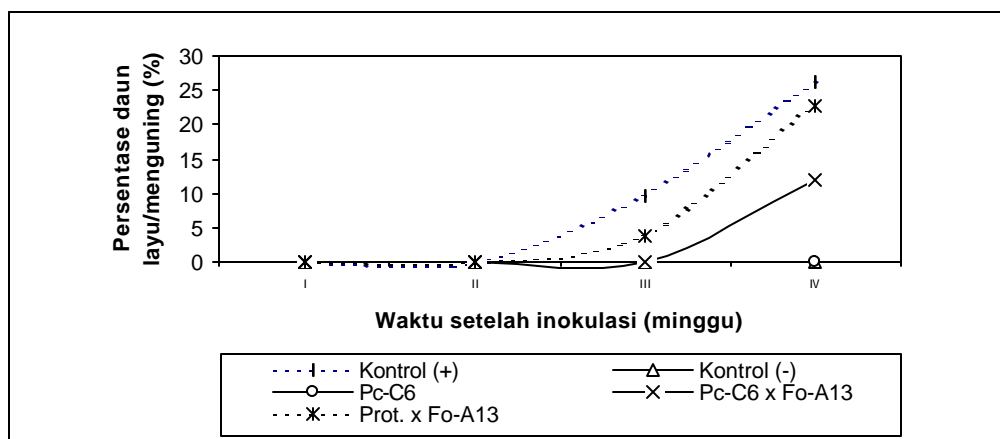
Peubah yang diamati adalah persentase daun pisang sakit, tingkat ketahanan tanaman, laju infeksi penyakit layu Fusarium, konsentrasi

asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang tanaman, daya hambat *in vitro* *B. cepacia*, ekstrak akar dan batang tanaman terhadap jamur patogen, serta pengaruh ekstrak akar dan batang tanaman terhadap perkecambahan mikrokonidium *F. oxysporum* f.sp. *cubense*. Data yang terkumpul dilakukan analisis varian dengan Uji Jarak Ganda Duncan pada taraf 5 %. Sedangkan analisis regresi linier dilakukan untuk mengetahui konsentrasi asam salisilat yang dibentuk tanaman pada minggu I-IV setelah tanaman diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Perkembangan Penyakit Layu Fusarium Pisang

Perkembangan penyakit layu Fusarium seperti tampak pada Gambar 1, menunjukkan bahwa gejala daun layu atau menguning sebagai tanggapan tanaman terhadap aksi jamur patogen muncul pada 3 minggu setelah tanaman diinokulasi (msi) dengan jamur patogen. Pada Prot. x Fo-A13 dan Kontrol (+), berturut-turut memperlihatkan persentase daun sakit sebesar 3,870 % dan 9,526 %. Sedangkan



Gambar 1. Perkembangan penyakit layu Fusarium pisang selama 4 minggu setelah tanaman diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Tabel 1. Hasil analisis pengaruh preinokulasi tanaman pisang dengan *B. cepacia* terhadap persentase daun sakit setelah transformasi data dengan Arcsin $\sqrt{(X + 0,5)}$ dan laju infeksi penyakit layu Fusarium pada minggu IV setelah tanaman diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Perlakuan	Persentase daun sakit dari 6 ulangan (%)	Laju infeksi penyakit layu Fusarium dari 6 ulangan (per unit per minggu)
Kontrol (+)	26,190 a	0,179
Kontrol (-)	0,000 b	0,000
Pc-C6	0,000 b	0,000
Pc-C6 x Fo-A13	12,003 a	0,078
Prot. x Fo-A13	22,718 a	0,115

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5 %; Kontrol (+) yaitu tanaman pisang diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; Kontrol (-) yaitu tanaman pisang disiram dengan akuades steril; Pc-C6 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepa-cia*; Pc-C6 x Fo-A13 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; dan Prot. x Fo-A13 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan protein ekstra-seluler *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Tabel 2. Konsentrasi asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang tanaman pisang pada minggu I-IV setelah tanaman diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Perlakuan	Konsentrasi asam salisilat (ppb)							
	1 msi		2 msi		3 msi		4 msi	
	Akar	Batang	Akar	Batang	Akar	Batang	Akar	Batang
Kontrol (+)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	12,030	0,000
Kontrol (-)	29,460	0,000	10,219	9,076	0,000	0,000	0,000	0,000
Pc-C6	0,000	20,636	0,000	61,421	0,000	0,000	0,000	0,000
Pc-C6 x Fo-A13	0,000	0,000	0,000	0,000	25,212	0,000	0,000	0,000
Prot. x Fo-A13	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Keterangan: msi (minggu setelah tanaman diinokulasi); Kontrol (+) yaitu tanaman pisang diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; Kontrol (-) yaitu tanaman pisang disiram dengan akuades steril; Pc-C6 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*; Pc-C6 x Fo-A13 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; Prot. x Fo-A13 yaitu tanaman pisang dipreinkulasi dengan protein ekstrak seluler *B. cepacia*, kemudian diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

pada Pc-C6 x Fo-A13 gejala penyakit muncul lebih lambat pada 4 msi dengan persentase daun sakit sebesar 12,003 %. Kondisi ini diduga karena pengaruh keberhasilan tanaman dalam mengenali keberadaan *B. cepacia*, sehingga tanaman bereaksi dengan mengaktifkan sistem pertahanannya. Di lain pihak, aktivasi sistem pertahanan tanaman menyebabkan infeksi yang diakibatkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* menjadi terhambat sehingga waktu inkubasi penyakit layu Fusarium menjadi lebih lama pula. Namun demikian, *B. cepacia* dan tanaman pisang terjadi interaksi yang inkompatibel sehingga tidak timbul gejala yang merugikan bagi tanaman pada semua tanaman yang diperlakukan dengan sel bakteri hidup *B. cepacia*.

C. Daya Penghambatan *In Vitro* *B. cepacia*, Fitoaleksin dan Asam Salisilat dalam Ekstrak Akar dan Batang Tanaman Pisang terhadap *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa daya penghambatan *B. cepacia* terhadap *F. oxysporum* f.sp. *cubense* relatif rendah, yaitu menghasilkan rerata diameter zone penghambatan sebesar 7,690 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan jamur patogen pada medium kultur tidak banyak dipengaruhi oleh keberadaan bakteri antagonis. Diduga jamur patogen dapat mendetoksifikasi sejumlah senyawa antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Beberapa antimikrobia yang dihasilkan oleh *B. cepacia*: pyrrolnitrin, phenazine, dan cepaceamide A (Burkhead *et al.*, 1994; Cartwright *et al.*, 1995; Jayaswal *et al.*, 1993; Jiao *et al.*, 1996).

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa semua ekstrak tanaman, baik yang diambil dari bagian akar maupun batang, mampu menghambat pertumbuhan dan

perkembangan jamur patogen pada medium kultur. Hal ini menerangkan bahwa pada tanaman pisang secara alami telah terbentuk senyawa pertahanan sebelum dan sesudah terjadi infeksi oleh patogen. Namun demikian tidak terlihat kejelasan hubungan antara besarnya daya penghambatan fitoaleksin dan asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang tanaman dengan besarnya akumulasi asam salisilat dalam ekstrak tanaman tersebut.

Terbentuknya diameter zone penghambatan yang lebih besar pada ekstrak akar daripada ekstrak batang menunjukkan bahwa stress yang dialami tanaman pisang uji lebih besar terjadi pada daerah perakaran dibandingkan pada bagian batang. Infeksi oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* lewat akar merupakan penyebab utama stress tanaman. Tanaman bereaksi dengan membentuk senyawa pertahanan yang terakumulasi pada daerah akar untuk menghambat invasi jamur patogen pada sistem perakarannya. Senyawa antimikrobia yang dibentuk tanaman sebagai reaksi terhadap aksi patogen di dalam jaringan tanaman dapat berupa fitoaleksin atau senyawa antimikrobia lainnya.

Diduga perlakuan tanaman dengan sel bakteri hidup *B. cepacia* selain mempengaruhi besarnya konsentrasi senyawa pertahanan yang terbentuk, juga mempercepat proses pembentukannya. Pada Pc-C6 terjadi kenaikan besarnya daya penghambatan yang lebih cepat pada 2 msi dan Pc-C6 x Fo-A13 pada 3 msi dibandingkan dengan Kontrol (+) pada 4 msi. Selain itu, kedua perlakuan tersebut pada tanaman umur 1 msi memiliki daya penghambatan yang cenderung lebih rendah dari pada Kontrol (+).

D. Daya Penghambatan *In Vitro* Fitoaleksin dan Asam Salisilat dalam Ekstrak Akar dan Batang Tanaman Pisang terhadap Perkecambahan Mikrokonidium *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antara ekstrak tanaman yang diambil dari bagian akar dan bagian batang memiliki pengaruh yang sama terhadap besarnya persentase perkecambahan mikrokonidium jamur patogen. Hal tersebut mengisyaratkan bahwa secara alami pada tanaman pisang terbentuk senyawa pertahanan, yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya perkecambahan spora jamur patogen, baik sebelum maupun sesudah adanya infeksi oleh patogen. Namun demikian pada ekstrak yang berasal dari batang tanaman pada umumnya menghambat pemanjangan buluh kecambah lebih baik bila dibandingkan dengan ekstrak berasal dari akar. Diduga fitoaleksin, dan senyawa antimikrobia lainnya yang dibentuk tanaman pisang sebagai tanggapan terhadap perlakuan dengan *B. cepacia* atau dibentuk tanaman pisang setelah terjadi infeksi oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* berperan dalam menghambat perkecambahan spora jamur patogen.

Pada dasarnya tidak dapat diketahui adanya kaitan yang jelas yang menggambarkan hubungan antara besarnya daya penghambatan fitoaleksin dan asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang tanaman terhadap perkecambahan mikrokonidium jamur patogen dengan akumulasi asam salisilat yang dibentuk tanaman sebagai tanggapan tanaman terhadap perlakuan dengan kedua bahan pengimbas yang digunakan. Hal ini terlihat jelas pada perlakuan Pc-C6 x Fo-A13 — A3 yang memiliki akumulasi asam salisilat sebesar 25,212 ppb dengan persentase perkecambahan mikrokonidium sebesar 23,683 % dan panjang buluh kecambah 4,070 μm , sedangkan pada

perlakuan Pc-C6 x Fo-A13 — A1 walaupun tidak ditemukan adanya asam salisilat tetapi mempunyai persentase perkecambahan lebih baik atau lebih rendah, yaitu 4,557 % dan panjang buluh kecambah 2,963 μm . Demikian pula pada perlakuan Prot. x Fo-A13 meskipun tidak ditemukan adanya asam salisilat, baik pada ekstrak bagian akar maupun batang tanaman, namun memiliki persentase perkecambahan mikrokonidium dan panjang buluh kecambah konidium yang bervariasi.

Hasil penelitian juga menunjukkan adanya perbedaan tanggapan tanaman yang diperlakukan dengan kedua bahan pengimbas tersebut. Persentase perkecambahan dan panjang buluh kecambah mikrokonidium pada Pc-C6 x Fo-A13 cenderung mengalami kenaikan hingga pada 3 msi, sebaliknya pada Prot x Fo-A13 cenderung mengalami penurunan. Sedangkan pada Kontrol (+) juga mengalami kecenderungan meningkat besarnya persentase mikrokonidium yang mampu berkecambah dan panjang buluh kecambah mikrokonidium yang berhasil berkecambah.

Perbedaan pengaruh kedua bahan pengimbas menunjukkan adanya perbedaan tanggapan tanaman terhadap keberadaan bahan pengimbas tersebut. Diduga *B. cepacia* dapat dikenali keberadaannya oleh tanaman, namun bukanlah protein ekstraseluler dari *B. cepacia* yang berperan sebagai elisitor dalam proses rekognisi tersebut. Pada tanaman yang diberikan perlakuan protein ekstraseluler diduga gagal membentuk senyawa fitoaleksin, sehingga memperlihatkan tingkat keparahan penyakit yang cenderung sama dengan tanaman yang hanya diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

KESIMPULAN

1. Inokulasi tanaman pisang dengan *B. cepacia* yang dilakukan 7 hari sebelum inokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* mampu menekan perkembangan penyakit layu Fusarium. Inokulasi tanaman dengan bahan pengimbas berupa sel bakteri hidup *B. cepacia* memberikan ketahanan tanaman terhadap penyakit layu Fusarium yang lebih baik daripada dengan protein ekstraseluler.

2. Inokulasi tanaman pisang dengan bahan pengimbas berupa sel bakteri hidup *B. cepacia* mampu meningkatkan konsentrasi asam salisilat dalam akar dan batang tanaman, tetapi tidak dapat diketahui adanya hubungan yang jelas antara akumulasi asam salisilat dengan daya penghambatan *in vitro* fitoaleksin dan asam salisilat dalam ekstrak akar dan batang terhadap pertumbuhan dan perkembangan jamur *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ball, E., Hampton, R. O., De Boer, S. and Schaad, N. W., 1990. Polyclonal Antibodies. In R.O. Hamton, E. Ball and S. de Boer (Eds.). *Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogen*: 27-29.
- Brown, J. and Ogle, H. 1997. Fungal Disease and Their Control. In J. Brown and H. Ogle (eds.). *Plant Pathogens and Plant Diseases*. The University of New England Printery, Armidal.
- Burkhead, K. D., Schisler, D. A., and Slininger, P. J. 1994. Pyrrolnitrin Production by Biological Control Agent *Pseudomonas cepacia* B37w in Culture and in Colonized Wounds of Potatoes. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (6): 2031-2039.
- Conrath, U., Chen, Z., Malamy, J., Duener, J., Hennig, J., Sanches-Casas, P., Silva, H., Ricigliano, J., and Klessig, D. F., 1995. The Salicylic Acid Signal for the Activation of Plant Disease Resistance: Induction, Modification, Perception and Transduction. In H. Lyr, P.E. Russell and H.D. Sisler (Eds.). *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. Intercept Ltd, Andover.
- Hebbar, K. P., Atkinson, D., Tucker, W., and Dart, P. J. 1992. Suppression of *Fusarium moniliforme* by Maize Root Associated *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* 24 (10): 1009-1020.
- Jayaswal, R. K., Fernandez, M., Upadhyay, R.S., Kuez, M., Webb, J., and Rinehart, K. 1993. Antagonism of *Pseudomonas cepacia* Against Phytopathogenic Fungi. *Curr. Microbiol.* 26 (1):17-22.
- King, E. B. and Parke, J. L. 1993. Biocontrol of Aphanomyces Root Rot and Pythium Damping-off by *Pseudomonas cepacia* AMMD of Four Pea Cultivars. *Plant Disease* 77: 1185-1188.
- McLoughlin, T. J., Quinn, J. P., and Bookland, R. 1990. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* on Sunflower by *Pseudomonas cepacia*. In C. Keel B. Koller and G. Defago (eds.). *PGPR Progress and Prospects*. The Second International Workshop on PGPR.

- Interlaken, Switzerland, Oct. 14-19, 1990.
- Misaghi, I. J. 1982. *Physiology and Biochemistry of Plant-Pathogen Interaction*. Plenum Press, New York.
- Nonaka, F. and Matsuzaki, M., 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.
- Su, Hong-ji, Hwang, Shin-chuan, and Ko, Wen-hsiung. 1986. Fusarial Wilt of Cavendish Bananas in Taiwan. *Plant Disease* 70 (9): 814-818.
- Upadhyay, R. S. and Jayaswal, R. K. 1992. *Pseudomonas cepacia* Causes Mycelial Deformities and Inhibition of Conidiation in Phytopathogenic Fungi. *Curr. Microbiol* 24 (4): 181-187.
- Zaki, K., Misaghi, I. J., Heydary, A., and Shatla, M. N. 1998. Control of Cotton Seedling Damping-off in the Field by *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* AMMD of Four Pea Cultivars. *Plant Disease* 82: 291-193.