IDENTIFIKASI RAS FISIOLOGIS FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. CUBENSE BERDASARKAN SIFAT KOMPATIBEL SECARA VEGETATIF DAN PEMBENTUKAN BAHAN VOLATIL

CHARACTERIZATION OF PHYSIOLOGICAL RACES OF FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. CUBENSE CAUSING FUSARIUM WILT OF BANANA ON THE BASIS OF VEGETATIVE COMPATIBILITY AND VOLATILES SYNTHESIS

Arif Wibowo⁺⁾, Suryanti, dan Christanti Sumardiyono Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, UGM ⁺⁾Penulis untuk korespondensi, E-mail: arif@faperta.ugm.ac.id

ABSTRACT

Race characterization of F. oxysporum Schlecht. f.sp. cubense (E.F. Smith) Snyd. & Hans. by determining disease reaction is difficult because the result may be biased due to the variability of growing condition. This study is aimed to identify physiological races of F. oxysporum f.sp. cubense in banana plantation in the province of Daerah Istimewa Yogyakarta by examining the relationship among the fungal pathogen isolates. The identification of physiological races of F. oxysporum f.sp. cubense was based on vegetative compatibility groups (VCGs). The research was conducted in The Laboratory of Mycology Faculty of Agriculture GMU on March to November 2000. Observation of heterokarion formed by the mutant of F. oxysporum f.sp. cubense on selective medium was carried out in order to identify the compatibility of two different fungal isolates. Nitrate non utilizing (nit) mutants obtained without mutagen were used as the label. Nit mutant obtained from the same wild type isolates could form heterokarion on minimal agar medium containing NaNO3 as nitrogen source. Eleven isolates of F. oxysporum f.sp. cubense have been isolated from several cultivars of banana. Vegetative compatibility tests showed that of 11 eleven isolates, there were 6 different group VCGs where four of them formed volatile compound in rice medium whereas two of them did not.

Key words: Fusarium wilt, F. oxysporum f.sp. cubense, vegetative compatibility groups (VCGs)

INTISARI

Pengujian sifat virulensi telah banyak dilakukan untuk membedakan ras Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. cubense (E.F. Smith) Snyd. & Hans., akan tetapi kerancuan sering timbul karena virulensi sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ras-ras fisiologis F. oxysporum f.sp. cubense pada beberapa kultivar pisang di Daerah Istimewa Yogyakarta dengan cara mengkaji hubungan kekerabatan isolat-isolat jamur patogen tersebut. Ras fisiologis F. oxysporum f.sp. cubense diidentifikasi berdasarkan sifat kompatibel secara vegetatif (VCGs). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi Fakultas Pertanian UGM pada bulan Maret hingga November 2000. Pengamatan terhadap dua isolat dari F. oxysporum f.sp. cubense yang kompatibel secara vegetatif dilakukan dengan mengamati terbentuknya heterokarion dari mutan isolat tersebut yang ditumbuhkan pada medium selektif. Nitrate nonutilizing (nit) mutan yang merupakan mutan yang diperoleh tanpa mutagen digunakan sebagai labelnya. Nit mutan yang berasal dari isolat induk yang sama mampu membentuk heterokarion dalam medium agar minimal yang mengandung NaNO3 sebagai sumber nitrogennya. Pada penelitian ini didapatkan 11 isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang berasal dari beberapa kultivar pisang yang berbeda. Uji kompatibilitas secara vegetatif menunjukkan bahwa ke-11 isolat jamur ini terbagi dalam 6 kelompok VCGs yang berbeda dengan empat kelompok di antaranya membentuk gas volatil dalam medium nasi sedangkan dua lainnya tidak.

Kata kunci: layu Fusarium, F. oxysporum f.sp cubense, sifat kompatibel secara vegetatif (VCGs)

PENGANTAR

layu Fusarium Penyakit yang disebabkan oleh Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. cubense (E.F. Smith) Snyd. & Hans, merupakan salah satu penyakit yang sangat merugikan pada pisang yang ditanam pada daerah tropika. Penyakit ini telah menimbulkan kerugian yang sangat besar di berbagai negara penghasil pisang di Amerika Latin, Australia dan juga di Asia seperti Malaysia, Thailand, Filipina, Burma, India, Sri Lanka dan Indonesia (Iswoto, et al., 1983 cit. Semangun, 1988). Penyakit ini diketahui telah menghancurkan lebih dari 40.000 ha kebun pisang di Amerika Tengah dan Amerika Selatan selama kurun waktu 50 tahun (Su, et al., 1986) sedangkan di Taiwan penyakit ini telah menghancurkan lebih dari 2.300 ha perkebunan pisang selama tahun 1978 (Su, et al., 1978). Di Indonesia, penyakit layu Fusarium diduga sudah tersebar luas di berbagai daerah sentra penghasil pisang seperti di Jawa Barat, Jawa Timur, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Jambi, Lampung, Sulawesi Selatan dan Maluku Utara (Anonim, 1994).

Sampai saat ini telah dikenal 4 ras dari F. oxysporum f.sp. cubense, 3 di antaranya merupakan patogen utama pada pisang (Pegg, et al., 1995). Pengujian sifat virulensi telah banyak dilakukan untuk membedakan ras F. oxysporum f.sp. cubense, akan tetapi kerancuan sering timbul karena virulensi sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan (Corell, et al., 1987). Su, et al. (1986) melaporkan bahwa pisang kultivar Cavendish hanya rentan terhadap serangan ras 4 dari F. oxysporum f.sp. cubense, akan tetapi dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk perkembangan tanaman pisang, ras 1 dari jamur ini juga menyerang pisang kultivar Cavendish (Waite, 1977 cit. Pegg, et al., 1995). Untuk mengatasi kerancuan tersebut maka Puhalla (1985) mencoba menggunakan karakter lain untuk membedakan isolat-isolat *F. oxysporum* yaitu dengan menggunakan sifat kompatibel secara vegetatif (VCGs) yang merupakan kemampuan dari 2 isolat jamur yang berbeda untuk membentuk heterokarion.

bertujuan Penelitian ini untuk mengidentifikasi ras fisiologis oxysporum f.sp. cubense pada pertanaman pisang di Daerah Istimewa Yogyakarta cara mengkaji hubungan kekerabatan isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang diperoleh dari beberapa kultivar pisang yang terserang oleh patogen tersebut berdasarkan sifat kompatibel secara vegetatif.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Fusarium oxysporum f.sp. cubense. Isolat F. oxysporum f.sp. cubense diperoleh dari pertanaman pisang di Daerah Istimewa Yogyakarta. Jaringan tanaman sakit didisinfestasi dengan klorox 0,5%, diambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit, kemudian diletakkan dalam medium PDA yang mengandung 1 tetes 25% dan laktat selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar (28 °C) selama 7 hari. Jamur hasil isolasi kemudian dipindahkan dalam PDA mendapatkan biakan murninya. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan untuk mengetahui morfologi jamur patogen tersebut (Widyaningsih, 1998). Isolat jamur selanjutnya disimpan dalam air steril pada suhu 5 °C yang selanjutnya dipergunakan untuk pengujian berikutnya (Wibowo, 2000). Uji patogenesitas isolat-isolat jamur yang diperoleh ini telah dilakukan pada pisang kultivar ambon kuning (Wibowo, et al., 2001).

Isolasi nitrate nonutilizing (nit) mutan. Nit mutan dari F. oxysporum f.sp. cubense diperoleh dengan menginokulasikan cakram biakan murni jamur tersebut pada

minimal medium chlorate (MMC) yang terdiri atas 1 L medium basal (Sukrosa 30 g; KH₂PO₄ 1 g; MgSO₄. 7H₂O 0,5 g; KCl 0,5 g; FeSO₄. 7H₂O 0,01 g; agar 20 g; akuades 1L; larutan unsur mikro 2 mL yang terdiri atas asam sitrat 5 g; ZnSO₄. $7H_2O$ 5 g; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$. $6H_2O$ 1g; CuSO₄. H₂O 0,25 g; MnSO₄. H₂O 0,05 g; H₃BO₄ 0,05 g; NaMoO₄. 2H₂O 0.05 g; akuades 95 mL); NaNO₃ 2g; KClO₃ 15 g L-asparagin 1,6 g. Kultur diinkubasikan pada suhu kamar selama 7 hari. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat adanya sektor pertumbuhan yang cepat dari koloni F. oxysporum f.sp. cubense yang pertumbuhannya terhambat. Semua sektor diinokulasikan kembali ke minimal medium (MM) yang terdiri atas medium basal 1 L dan NaNO3 2 g. Sektor yang pertumbuhannya tipis dan cepat serta membentuk miselium merupakan nit mutan dari F. oxysporum f.sp. cubense (Correll, et al., 1987). Pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan fisiologi fenotipe nit mutan dari F. oxysporum f.sp. cubense. Nit mutan yang didapatkan dari medium MMC langsung digunakan untuk uji komplementasi.

Uji komplementasi. Nit mutan yang diperoleh dari setiap isolat F. oxysporum f.sp. cubense berkisar antara 2 hingga 3. Nit mutan ini kemudian masing-masing dikomplementasikan dengan nit mutan yang berasal dari isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang lain. Uji komplementasi dilakukan dengan jalan menginokulasikan cakram biakan dari dua nit mutan yang didapat dari induk yang berbeda dengan jarak 1 - 3 cm pada medium MM dan kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 7 hari. Nit mutan yang sesuai secara vegetatif dapat berkomplementasi antara dengan yang lainnya dengan heterokarion membentuk yang dapat diamati dengan terbentuknya miselium tebal dan rapat pada tempat persinggungan dari koloni kedua nit mutan

tersebut (Correll *et al.*, 1987). Pada setiap uji komplemetasi dilakukan dengan 3 ulangan.

Uji pembentukan bahan volatil. Isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang diperoleh dibiakkan dalam medium nasi (yang telah disterilkan). Medium nasi dibuat dengan cara menambahkan 50 g beras dan 75 mL air ke dalam 250 mL tabung erlenmeyer, disumbat dengan menggunakan kapas dan disterilkan dengan menggunakan autoclave pada 120 °C selama 20 menit. Kultur F. oxysporum f.sp. cubense diinkubasikan pada suhu kamar (28 °C) selama 7 hari dan kemudian dibedakan berdasarkan terbentuk atau tidaknya bahan volatil yang berbau tajam (Pegg et al., 1995).

Analisis hasil. Nit mutan yang mampu membentuk heterokarion merupakan mutan yang berasal dari kelompok kompatibel secara vegetatif yang sama. Akan tetapi nit mutan yang tidak mampu membentuk heterokarion merupakan nit mutan yang berasal dari kelompok kompatibel secara vegetatif yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pisang Uter dan Ambon merupakan kultivar pisang yang banyak terkena penyakit layu Fusarium. Dari 11 kultivar pisang bergejala layu fusarium 5 di antaranya adalah pisang Uter, 4 pisang Ambon, 1 pisang Kepok, dan 1 pisang Cavendish. Widyaningsih (1998) melaporkan bahwa kultivar pisang Ambon, Kepok dan Cavendish merupakan jenis kultivar pisang yang rentan terhadap gangguan penyakit layu Fusarium.

Pada penelitian ini, *nit* mutan terutama terbentuk hingga hari ke-4 setelah inkubasi sedangkan sebagian terbentuk hingga hari ke-7. Ploetz, (1993) telah melakukan pengamatan untuk mengkarakterisasi kelompok VCGs pada *F. oxysporum* f.sp. *cubense* berdasarkan rata-rata waktu untuk

mulai terbentuknya *nit* mutan pada medium MMC. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa hanya kelompok VCGs 01210 yang mampu membentuk *nit* mutan kurang dari 6 hari, sedangkan kelompok VCGs 0120, 0122, 0125, 0126, dan 0129 mampu membentuk *nit* mutan kurang dari 9 hari. Kelompok VCGs lainnya memerlukan waktu lebih dari 10 hari untuk membentuk *nit* mutan pada medium tersebut.

Dari karakterisasi yang telah dilakukan oleh Ploetz (1993) tersebut di atas mungkin bahwa isolat-isolat F.oxysporum f.sp. cubense yang diperoleh dalam penelitian ini termasuk dalam kelompok VCGs 0120, 0122, 0125, 0126, 0129 atau 01210. Hanya saja dalam hal ini karakterisasi berdasarkan waktu terbentuknya nit mutan pada medium MMC tidak dapat membedakan semua kelompok VCGs dari F.oxysporum f.sp. cubense. Analisis regresi juga menunjukkan bahwa sensitivitas terhadap chlorate dan mutabilitas ini tidak berkorelasi secara signifikan (Ploetz, 1990 cit. Ploetz, 1993).

Uji kompatibiltas terhadap isolat-isolat F. oxysporum f.sp. cubense menunjukkan bahwa dari 11 isolat F. oxysporum f.sp. cubense dapat dibedakan menjadi 6 kelompok VCGs yang berbeda (Tabel 1).

Brake, et al. (1990) telah melakukan penelitian tentang pengelompokkan isolatisolat F. oxysporum f.sp. cubense yang

berasal dari Australia berdasarkan sifat kompatibel secara vegetatif. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa dari 148 isolat yang diperoleh dapat dikelompokkan dalam 6 kelompok VCGs yang berbeda yaitu VCGs 0120, 0124, 0125, 1028, 0129, dan 01211.

Ras 1 dari F. oxysporum f.sp. cubense terdiri atas kelompok VCGs 0124 dan 0125 dan ini hanya berasal dari kultivar pisang yang rentan terhadap ras 1 yaitu Gross Michel (AAA), serta Silk, Pome, and Ladyfinger (AAB), sedangkan ras 4 terdiri atas kelompok VCGs 0120 dan 0129. Ras 2 terdiri atas kelompok VCGs 0128, sedangkan VCGs 01211 belum diketahui kelompok rasnya (Ploetz, 1993).

Berdasarkan analisis ras dari F. oxysporum f.sp. cubense dan kelompok VCGs-nya tersebut maka isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang diperoleh diduga berasal dari ras 1 yang terdiri atas kelompok VCGs 0124 atau 1025; ras 2 yang terdiri atas kelompok VCGs 0128 atau ras 4 yang terdiri atas kelompok VCGs 0120 atau 0129 (Tabel 2). Pengujian lebih lanjut dengan menginokulasikan isolatisolat tersebut pada pisang kultivar Cavendish perlu dilakukan untuk mengetahui apakah isolat-isolat tersebut termasuk dalam ras 4.

Tabel 1. Uji kompatibilitas nit mutan dari 11 isolat F. oxysporum f.sp. cubense pada medium MM

No. Isolat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	.11
1 (KP-1)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 (KP-2)		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 (KP-3)			+	-	-	-	-	-	-	-	-
4 (SLM-1)				+	-	+	-	-	-	+	+
5 (SLM-2)					+		-	+	+	-	-
6 (SLM-3)						+	-	-	-	+	+
7 (BNT-1)							+	-	-	_	_
8 (BNT-2)								+	+	-	_
9 (BNT-3)									+	-	-
10 (BNT-4)										+	_
11(GNK-1)											+

Keterangan + : terbentuk heterokarion - : tidak terbentuk heterokarion

Tabel 2. Pengelompokkan F. oxysporum f.sp. cubense berdasarkan pendugaan ras dan VCGs-nya

Isolat	Kultivar pisang	Genom	Ras *	VCGs *	Pembentukan bahan volatil
KP-1	Ambon	AAA	Ras 1, 4	0124, 0125, 0120, 0129	+
KP-2	Uter	ABB	Ras 2, 4	0128, 0120, 0129	
KP-3	Uter	ABB	Ras 2, 4	0128, 0120, 0129	-
SLM-1	Ambon	AAA	Ras 2, 4	0128, 0120, 0129	+
SLM-3	Uter	ABB			
BNT-4	Uter	ABB			
GNK-1	Kepok	?			
SLM-2	Uter	ABB	Ras 2, 4	0128, 0120, 0129	+
BNT-2	Uter	ABB			
BNT-3	Ambon	AAA			
BNT-1	Cavendish	AAA	Ras 4	0120, 0129	+

Keterangan?: tidak teridentifikasi

+: menghasilkan bahan volatil

*: ras atau VCG's yang diduga

-: tidak menghasilkan bahan volatil

Berdasarkan analisis ras dari F. oxysporum f.sp. cubense dan kelompok VCGs-nya tersebut maka isolat F. oxysporum f.sp. cubense yang diperoleh diduga berasal dari ras 1 yang terdiri atas kelompok VCGs 0124 atau 1025; ras 2 yang terdiri atas kelompok VCGs 0128 atau ras 4 yang terdiri atas kelompok VCGs 0120 atau 0129 (Tabel 2). Pengujian lebih lanjut dengan menginokulasikan isolatisolat tersebut pada pisang kultivar perlu dilakukan untuk Cavendish mengetahui apakah isolat-isolat tersebut termasuk dalam ras 4.

Pada pisang kultivar Ambon Kuning ke enam kelompok jamur yang berbeda sifat VCGs ini menunjukkan sifat virulensi yang berbeda-beda. Hasil pengamatan yang dilakukan oleh Wibowo, et al. (2001) menujukkan bahwa semua tanaman pisang kultivar Ambon Kuning yang diinokulasi dengan F. oxysporum f.sp. cubense (isolat KP1, KP2, KP3, SLM2, BNT2, dan GNK1) menunjukkan gejala penyakit layu Fusarium dengan intensitas penyakit bervariasi antara 22 – 47%.

Hasil pengujian pembentukan bahan volatil menunjukkan bahwa bahan volatil ini dihasilkan secara spesifik oleh isolatisolat tertentu dari *F. oxysporum* f.sp. *cubense* tergantung dari kelompok VCGs-

nya. Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat KP-1, SLM-1, SLM-2, SLM-3, BNT-4, GNK-1, SLM-2, BNT-2, BNT-3, dan BNT-1 mampu menghasilkan bahan volatil jika ditumbuhkan pada medium nasi. Hanya isolat KP-2 dan KP-3 yang tidak menghasilkan bahan volatil ditumbuhkan dalam medium nasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moore, et al., (1991) menunjukkan bahwa bahan volatil hanya dihasilkan oleh isolat yang dikategorikan dalam kelompok yang odoratum (VCGs 0120, 0121, 0129, dan 01211) sedangkan kelompok yang inodoratum (VCGs 0123, 0124, 0125. 0128) tidak menghasilkan bahan volatil ini.

KESIMPULAN

Dari 11 isolat *F. oxysporum* f.sp. *cubense* yang berasal dari beberapa kultivar pisang yang berbeda di Daerah Istimewa Yogyakarta didapatkan 6 kelompok VCGs yang berbeda yang masing-masing dapat atau tidak menghasilkan bahan volatil jika ditumbuhkan pada medium nasi tergantung dari kelompok VCGs-nya.

Untuk pengelompokan lebih lanjut ras fisiologis *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

berdasarkan sifat kompatibel secara vegetatif maka perlu dilakukan ini penelitian uji kompatibilitas dengan kelompok VCGs referensinya sehingga dapat diketahui dengan pasti kelompok sesuai dengan sistem VCGs-nya penomoran yang telah berlaku selama ini (Puhalla, 1985). Selain itu perlu dilakukan juga penelitian untuk melihat perbedaan antar-kelompok VCGs ini dengan melihat perbedaan pola pita DNA mitokondrianya (mt DNA).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Gadjah Mada yang telah membiayai penelitian ini melalui Anggaran Rutin UGM M.A.K. 520 tahun 2000.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1994. Petunjuk Teknis Peningkatan Mutu Pisang Hasil Kultur Jaringan. Direktorat Jendral Pertanian Tanaman Pangan. Jakarta.

Brake, V.M., K.G. Pegg, J.A.G. Irwin, & P.W. Langdon. 1990. Vegetative Compatibility Groups within Australian Populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, the Cause of Fusarium Wilt of Bananas. *Aus. J. of Agric. Research* 41: 863 – 870.

Correll, J.C., J.E. Puhalla, & R.W. Schneider. 1987. Nitrate Nonutilizing Mutants of *Fusarium oxysporum* and their Use in Vegetative Compatibility Tests. *Phytopathology* 77: 1640 – 1646.

Moore, N.Y., P.A. Hargreaves, K.G. Pegg, & J.A.G. Irwin. 1991. Characterization of Strains of Fusarium oxysporum f.sp. cubense by Production of Volatiles. Aus. J. of Botany 39: 161 – 166.

Pegg, K.G., R.G. Shivas, N.Y. Moore, & S. Bentley. 1995. Characterization of a Unique Population of Fusarium oxysporum f.sp. cubense Causing Fusarium Wilt in Cavendish Bananas at Carnarvon, Western Australia. Aus. J. of Agric. Research 46: 167 – 178.

Puhalla, J.E. 1985. Classification of Strain of Fusarium oxysporum on the Basis of Vegetative Compatibility. Canadian J. of Botany 63: 179 – 183.

Ploetz, R.C. 1993. Population Biology of Fusarium oxysporum f.sp. cubense, p 63 – 76. Dalam: R.C. Ploetz. Fusarium Wilt of Banana. APS Press. St. Paul.

Semangun, H. 1988. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 850 p.

Su, E.J., H.J. Su, & W.H. Ko. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Race 4 from Soil or Host Tissue by Cultural Characters. *Phytopathology* 68: 1672 – 1673.

Su, H.J., S.C. Hwang, & W.H. Ko. 1986. Fusarial Wilt of Cavendish Bananas in Taiwan. *Plant Disease* 70 (9): 814 – 818.

Wibowo, A., Suryanti, & C. Sumardiyono. 2001. Patogenesitas 6 Isolat Fusarium oxysporum f.sp. cubense Penyebab Penyakit Layu Fusarium pada Pisang. Prosiding Kongres XVI dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia, Bogor 22 – 24 Agustus 2001. Bogor (dalam penerbitan).

Widyaningsih, S. 1998. Ketahanan Empat Kultivar Pisang Hasil Kultur Jaringan terhadap Penyakit Layu Fusarium. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta (tidak dipublikasikan).