

## IDENTIFIKASI DAN VIRULENSI *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* RAS 4

### IDENTIFICATION AND VIRULENCE OF *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* RACE 4

Dwi Kiswanti, Suryanti\*, dan Christanti Sumardiyono

Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*Penulis untuk korespondensi. E-mail: suryanti@faperta.ugm.ac.id

#### ABSTRACT

The aim of this study was to identify and to detect the virulence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) race 4. The isolates consisted of BNT-2, KD-1, U-8, BK, A-2, and A-13. Monospore isolation was done to obtain stable isolates. The detection and characteristics of isolates were observed on Komada medium. The diameter of colony and color was observed from underside of culture in petridish, while the shape of colony was observed from the upper side. Virulence test was conducted on Cavendish cultivar seedlings. Banana seedlings were inoculated with *Foc* cultured on rice medium (20 g/kg soil). The result indicated that A-13, U-8, BNT-2, and BK, were very virulent isolates; while A-2 and KD-1 were virulent. All isolates were detected as *FOC* race 4, with mild yellowish color and laccinated colonies on Komada medium.

Key words: *Foc* race 4, Komada medium, virulence

#### INTISARI

Penelitian ini bertujuan mendeteksi ras 4 dan virulensi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*). Isolat yang diuji adalah isolat Bnt-2, KD-1, U-8, A-13, A-2, dan BK. Isolasi monospora dilakukan untuk memperoleh isolat yang stabil. Identifikasi dilakukan pada medium Komada. Pengamatan warna dan pengukuran diameter koloni dilakukan dari permukaan bawah cawan petri. Karakteristik morfologi yaitu bentuk koloni jamur diamati dari atas cawan petri. Uji virulensi dilakukan pada bibit pisang Cavendish. Bibit pisang Cavendish diinokulasi dengan *Foc* dalam medium beras sebanyak 20 g/kg tanah. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat A-13, U-8, BNT-2, dan BK sangat virulen. Isolat A-2 dan KD-1 virulen. Semua isolat diuji termasuk ras 4 dengan ciri-ciri warna koloni agak kekuningan dan tepi koloni bergerigi pada medium Komada.

Kata kunci: *Foc* ras 4, medium Komada, virulensi

#### PENGANTAR

Penyakit layu *Fusarium* yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) merupakan penyakit yang sangat merugikan. Di Indonesia, *Foc* diketahui telah menyerang tanaman pisang hingga seluas 3.300 ha di 3 provinsi di Sumatera (Nasir & Jumjunidang, 2003).

*Foc* mempunyai banyak ras yang dikelompokkan berdasarkan patogenisitasnya terhadap beberapa kultivar pisang. Ras 1 menyerang kultivar Gross Michel (AAA) yang merupakan kultivar pisang yang paling komersial. Ras 2 menyerang Bluggoe (ABB) sedangkan ras 3 menyebabkan layu pada *Heliconia* spp. di Amerika Tengah. Ras 4 mampu menyerang kultivar Cavendish (AAA) dan kultivar lain yang tahan terhadap ras 1 dan 2 (Pegg *et al.*, 1995). Selain mempunyai kisaran inang yang luas, di kawasan Asia, *Foc* ras 4 diketahui mempunyai virulensi yang tinggi dan biasa disebut dengan *Foc* “tropical race 4” (TR4). Sebaran *Foc* ras 4 di kawasan Asia, diantaranya Taiwan (tahun

1967), Malaysia dan Indonesia (awal tahun 1990), China Selatan (2004), timur laut Australia (tahun 1997 s.d. tahun 1999) dan Filipina sejak tahun 1970 (Molina *et al.*, 2009).

Identifikasi karakteristik morfologi koloni *Foc* ras 4 dengan Medium Komada telah dilakukan oleh Sun *et al.* (1978) di Taiwan dan Qi *et al.* (2008) di China. Medium Komada ini sangat selektif untuk *Foc* ras 4 dengan karakteristik morfologi koloni yang khas yaitu bentuk koloni seperti gerigi (*lacinated colony*) dengan jumlah tonjolan gerigi per koloni berkisar 8–30 tonjolan gerigi dan muncul warna kekuningan yang berbeda dengan ras-ras yang lain jika dilihat dari bawah cawan petri (Sun *et al.*, 1978).

Identifikasi *Foc* ras 4 juga dapat dilakukan dengan menginokulasikannya pada kultivar Cavendish. Kultivar Cavendish hanya rentan terhadap serangan *Foc* ras 4 dan tahan terhadap serangan *Foc* ras 1 dan 2 (Sun *et al.*, 1986). Identifikasi *Foc* ras 4 dengan medium Komada

dapat dilakukan secara cepat sebagai uji awal sebelum uji secara molekuler.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui virulensi dan deteksi ras beberapa isolat *Foc* yang berasal dari beberapa kultivar pisang.

## BAHAN DAN METODE

Isolat yang diuji berasal dari kultivar pisang yang berbeda dari beberapa lokasi di DIY (Tabel 1).

Isolat BNT-2 yang telah diidentifikasi sebagai ras 4 oleh Wibowo *et al.* (2007) dan digunakan sebagai pembanding.

### Isolasi Monospora

Semua isolat yang akan diuji diisolasi secara monospora dengan metode Boisson dan Lahlou yang dimodifikasi (Hadisutrisno, 1988 *cit.* Siallagan, 2008).

### Identifikasi Ras 4 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

Semua isolat yang akan diuji diperbanyak pada medium selektif Komada. Inkubasi dilakukan selama 15 hari pada suhu 28°C di bawah cahaya lampu *fluorescent* (Qi *et al.*, 2008).

Parameter pengamatan:

- Diameter koloni yang diamati setiap hari selama 15 hari.
- Warna koloni, diamati untuk mengetahui isolat yang termasuk ras 4 yaitu isolat yang berwarna kekuning-kuningan (Qi *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 1978). Pengamatan dilakukan pada umur 15 hari dari permukaan bawah cawan petri.
- Bentuk koloni (*laccinated colony*), pengamatan dilakukan pada umur 15 hari, dari permukaan bawah cawan petri.

### Uji Virulensi pada Bibit Kultivar Cavendish

Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 5 ulangan. Inokulasi dilakukan dengan cara menaburkan inokulum dari *Foc* pada medium beras (20 g/kg tanah) di sekitar perakaran bibit pisang kultivar Cavendish yang akarnya telah dilukai menggunakan skalpel steril (Djatnika & Nuryani, 1995). Bibit pisang yang telah diinokulasi diletakkan di tempat yang teduh.

### Pengamatan Gejala Luar

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu selama delapan minggu. Parameter yang diamati adalah gejala layu pada daun. Analisis data berdasarkan indeks gejala layu pada tanaman (*LSI = Leaf Symptom Index*), RDI dan DSI mengikuti metode Mak *et al.* (2004) yang dimodifikasi (Tabel 2).

### Pengamatan Gejala Dalam

Pengamatan gejala pembusukan pada rimpang dilakukan pada minggu ke-8 setelah inokulasi. Data dianalisis berdasarkan indeks gejala pembusukan pada rimpang RDI (*Rhizome Discoloration Index*) (Tabel 3). Setelah nilai RDI dan LSI diperoleh, kemudian dihitung indeks keparahan penyakit (*DSI = Disease Severity Index*) secara keseluruhan untuk gejala daun dan pembusukan batang dengan menggunakan rumus:

$$DSI = \frac{\sum (\text{skor} \times \text{jumlah tanaman pada skor tersebut})}{\sum (\text{jumlah semua tanaman yang diuji})}$$

Virulensi isolat ditentukan berdasarkan hasil perhitungan indeks gejala luar (LSI) dan gejala dalam (RDI) mengikuti metode Mak *et al.* (2004) yang dimodifikasi (Tabel 4).

Tabel 1. Isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* yang diuji berasal dari beberapa kultivar

No.	Kode isolat	Kultivar pisang	Daerah asal
1.	BNT-2	Ambon (AAA)	Kab. Bantul
2.	KD-1	Kepok (BBB)	Kodya Yogyakarta
3.	U-8	Uter (ABB)	Kab. Sleman
4.	BK	Kepok (BBB)	Kab. Bantul
5.	A-2	Ambon (AAA)	Kab. Sleman
6.	A-13	Ambon (AAA)	Kab. Sleman

Tabel 2. Skor Indeks Layu pada Daun (*LSI: Leaf Symptom Indeks*)

Skor	Keterangan
0	Tidak ada gejala layu/sehat
1	1–2 daun kuning/layu
2	3–4 daun kuning/layu
3	5 daun kuning/layu
4	>5 daun kuning/layu/tanaman mati

Tabel 3. Indeks gejala pembusukan pada rimpang (*RDI: Rhizome Discoloration Index*)

Skor	Keterangan
0	Tidak ada pembusukan jaringan pada bagian pusat rimpang atau di sekeliling jaringan
1	Tidak ada pembusukan pada rimpang, pembusukan terjadi di antara rimpang pada akar
2	Pembusukan pada bagian pusat rimpang hingga 5 %
3	Pembusukan pada bagian pusat rimpang hingga 6–20 %
4	Pembusukan pada bagian pusat rimpang hingga 21–50 %
5	Pembusukan pada bagian pusat rimpang hingga >50 %
6	Pembusukan pada bagian pusat rimpang
7	Tanaman mati

Tabel 4. Keterangan skala DSI

Skala DSI untuk LSI	Skala DSI untuk RDI	Tingkat virulensi
0	0	Avirulen
0,1–1,0	0,1–2,0	Moderat
1,1–2,0	2,1–4,0	Virulen
2,1–3,0	4,1–7	Sangat virulen

Tabel 5. *Disease Severity Index* (DSI) pada bibit pisang kultivar Cavendish

No.	Isolat	LSI	RDI	Keterangan
1.	A-2	1,8	2,8	Virulen
2.	A-13	2,8	3,2	Virulen
3.	U-8	2,6	3,0	Virulen
4.	BNT-2	3,0	3,2	Virulen
5.	KD-1	2,0	2,4	Virulen
6.	BK	3,2	2,8	Virulen
7.	Kontrol (-)	0,6	0,8	-

Keterangan: LSI= *Leaf Symptom Index*, RDI= *Rhizome Discoloration Index*

## HASIL DAN PEMBAHASAN

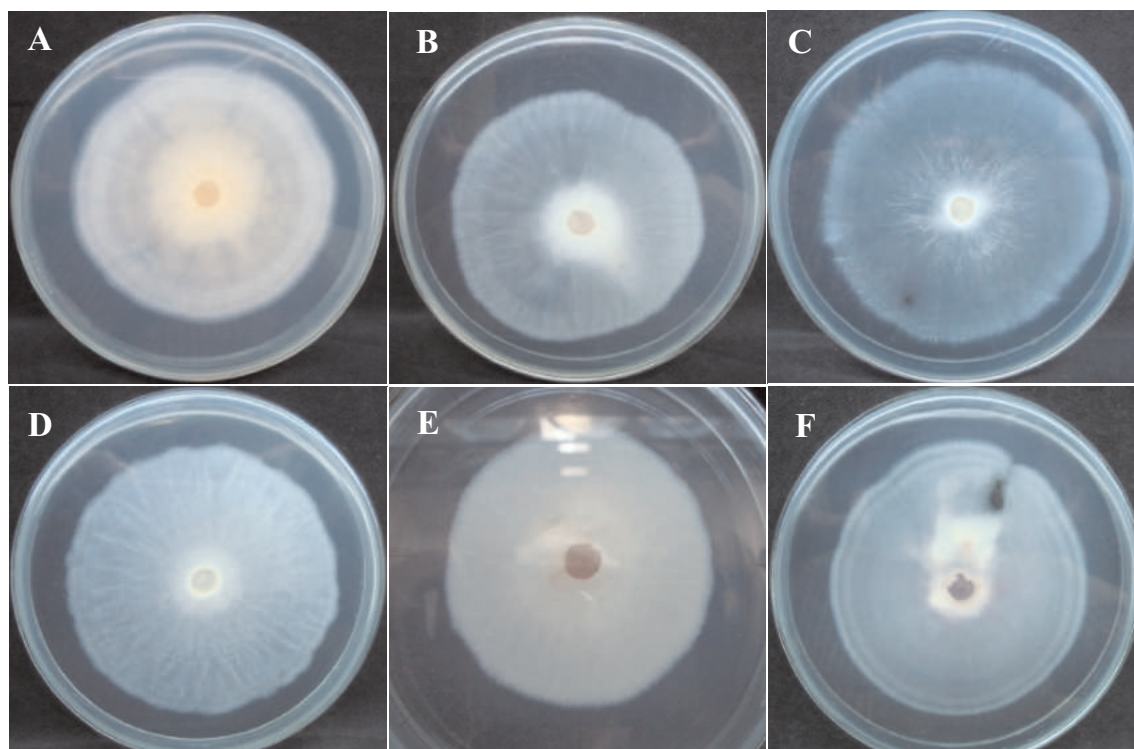
### *Identifikasi Ras Foc dengan Medium Komada*

Semua isolat dapat tumbuh dengan baik pada medium Komada yang dimodifikasi. Hasil pengamatan warna koloni, semua isolat menunjukkan warna kuning muda (Gambar 2) dan terpusat pada bagian tengah yaitu di daerah sekitar isolat awal diletakkan. Isolat pembanding dari peneliti terdahulu terlihat pada gambar 3. Pada medium Komada yang dimodifikasi, koloni dari *Foc* ras 4 timbul warna kekuningan jika dilihat dari bawah cawan petri (Qi *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 1978). Isolat KD-1 juga menunjukkan warna kuning keunguan. Warna ungu yang ditimbulkan pada isolat KD-1 sama seperti warna yang muncul ketika isolat ditumbuhkan pada PDA. BNT-2 yang sebelumnya telah diidentifikasi secara molekuler oleh Wibowo (2007) sebagai ras 4 juga tidak menunjukkan warna kekuning-kuningan yang jelas. Hal ini terjadi karena pertumbuhan koloni semua isolat tipis.

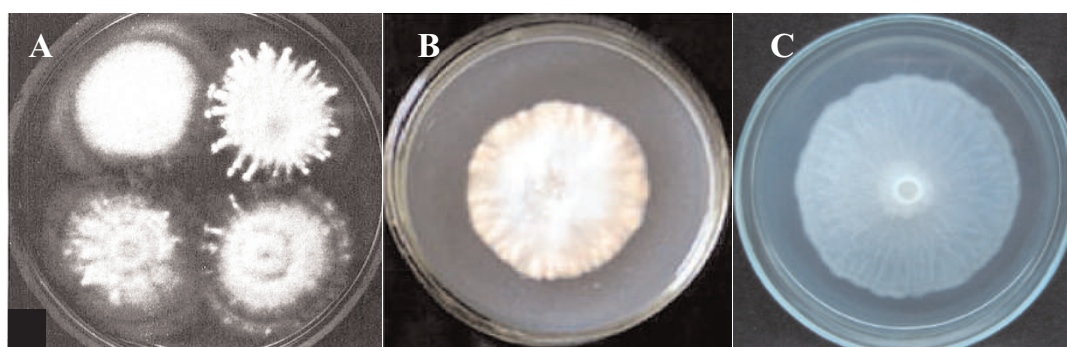
Pada pengamatan bentuk koloni, isolat BNT-2 sebagai kontrol menunjukkan hasil yang positif yaitu membentuk lekukan (gelombang) yang menyerupai gergaji walaupun tidak terlalu jelas. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BNT-2 dapat digunakan sebagai kontrol positif pada pengamatan bentuk *lacinated* pada medium Komada yang dimodifikasi. Semua isolat uji menunjukkan hasil positif dengan lekukan yang kurang jelas. Hasil pengamatan karakteristik morfologi dengan dua (2) variabel pengamatan, yaitu warna dan bentuk koloni menunjukkan bahwa semua isolat termasuk dalam *Foc* ras 4.

### *Uji Virulensi pada bibit pisang Cavendish*

Tingkat infeksi dan keparahan penyakit dapat dilihat dengan melakukan pengamatan gejala luar (layu pada daun) dan gejala dalam (pembusukan pada rimpang). Selanjutnya dilakukan analisis DSI untuk mengetahui tingkat keparahan penyakit sesuai Tabel 5.



Gambar 2. Warna koloni *Foc* dalam medium Komada dari permukaan bawah petridish pada umur 15 hari  
A = A-2; B = A-13; C = U-8; D = BNT-2; E = BK; F = KD-1



Gambar 3. Pertumbuhan koloni *Foc* ras 4 pada medium Komada, isolat ras 4 *Foc* hasil penelitian Sun *et al.* (1978) (A); isolat ras 4 *Foc* hasil penelitian Qi *et al.* (2008) (B); isolat *Foc* BNT-2 (C)

Hasil analisis DSI menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kategori tingkat keparahan penyakit dari data LSI dan RDI. Hasil pengamatan RDI menunjukkan bahwa semua isolat virulen. Sedangkan untuk data LSI, isolat A-13, U-8, BNT-2, dan BK sangat virulen. Isolat A-2 dan KD-1 virulen. Kategori virulensi yang digunakan adalah dari hasil pengamatan RDI karena patogen pertama kali akan menyebabkan gejala di batang yang kemudian akan menyebabkan layu pada daun. Perbedaan hasil ini dapat terjadi karena daun yang layu disebabkan oleh banyak faktor; antara lain umur daun, kondisi kesuburan tanaman dan akibat dari patogen itu sendiri sehingga seringkali belum

menunjukkan kerusakan pada bagian dalam tanaman. Selain itu, menurut Gaumann & Jaag (1947) dan Dimond & Waggoner (1953) *cit.* Semangun (2001) jamur membentuk suatu toksin yang dapat mengganggu permeabilitas membran plasma tanaman yang menimbulkan gejala layu. Pada perlakuan kontrol menunjukkan gejala terserang *Foc*. Hal ini diduga terjadi karena ada sedikit kontaminasi pada saat inokulasi.

#### KESIMPULAN

Hasil identifikasi awal dengan medium Komada menunjukkan bahwa isolat *Fusarium oxysporum*

f.sp. *cubense* termasuk dalam ras 4 adalah isolat A-2, U-8, BK, A-13, KD-1 dan Bnt-2 dan semua bersifat virulen terhadap kultivar Cavendish. Identifikasi secara molekuler diperlukan untuk mendukung hasil identifikasi awal dengan medium Komada.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Djatnika, I. & W. Nuryani. 1995. Pengendalian Biologi Penyakit Layu *Fusarium* pada Pisang dengan Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens*. Kongres Nasional XIII dan Seminar Ilmiah PFI, Mataram, 27–29 September 1995.
- Komada, H. 1975. Development of a Selective Medium for Quantitative Isolation of *Fusarium oxysporum* from Natural Soil. *Review of Plant Protection Research* 8: 114–125.
- Mak, C., A.A. Mohamed, K.W. Liew, & Y.W. Ho. 2004. *Early Screening Technique for Fusarium Wilt Resistance in Banana Micropropagated Plants. Banana Improvement*. <http://www.fao.org/docrep/007/ae216e00.HTM>, modified 25/05/09.
- Molina, A. B., E. Fabreger, V.G. Sinohin, G. Yi, & A. Viljoen. 2009. *Recent Occurrence of Fusarium oxysporum f.sp. cubense Tropical Race 4 in Asia*. <http://www.actahort.org>, modified 25/11/09.
- Nasir, N. & Jumjunidang. 2003. Karakterisasi Ras *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* dengan Metode *Vegetative Compatibility Group Test* dan Identifikasi Kultivar Pisang yang Terserang. *Jurnal Hortikultura* 13: 276–284.
- 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. *Australian Journal of Agriculture Research* 46: 167–178.
- Qi, Y.X., X. Zhang, J.J. Pu., Y.X. Xie., H.Q. Zhang & S.L. Huang. 2008. Race 4 Identification of *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* from Cavendish Cultivars in Hainan Province, China. *Australian Plant Diseases Notes* 3: 46–47.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Edisi Kedua. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 850 p.
- Siallagan, B. 2008. *Uji Virulensi Beberapa Isolat Fusarium oxysporum f.sp. cubense*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. (Unpublished).
- Sun, 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.
- Wibowo, A., S. Subandiyah, C. Sumardiyono, L. Sulistyowati, P. Taylor, & M. Fegan. 2007. Diversity of Race 4 *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* Strains from Indonesia. In Sumardiyono Y.B. & S. Hartono (eds.) *Proceedings the Third Asian Conference on Plant Pathology*. Faculty of Agriculture. Gadjah Mada University. Yogyakarta, Indonesia, August 20–24, 2007.