

**PENGIMBASAN KETAHANAN PISANG TERHADAP
PENYAKIT LAYU FUSARIUM DENGAN ASAM SALISILAT *IN VITRO***

***INDUCED RESISTANCE TO BANANA FUSARIUM WILT DISEASE
WITH SALICYLIC ACID IN VITRO***

Suryanti*, Yufita Dwi Chinta, dan Christanti Sumardiyono

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

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

ABSTRACT

Salicylic acid (SA) is an important signal in plant defense. It is used as induced resistance agent against Fusarium wilt. An artificial induction was conducted by shaking the shoot groups of banana tissue culture in liquid medium of Murashige-Skoog (MS). MS medium was added with 0 ppm (as control), 1/8 LC50, 1/4 LC50, 1/2 LC50, and LC50 concentration of SA. Alive shoot groups were subcultured for about three months and were acclimated. Resistance test had been conducted in glass house by inoculated six months old banana seedlings with Fusarium oxysporum f.sp. cubense (Foc). Leaves symptom were observed based on Leaf Symptom Index (LSI) and corm discoloration based on Rhizome Discoloration Index (RDI). The result of this research showed that induced banana seedlings had higher plant resistance to Fusarium wilt than control.

Keywords : banana fusarium wilt, defence, salicylic acid

INTISARI

Asam salisilat (SA) merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman, digunakan sebagai senyawa pengimbas ketahanan tanaman pisang terhadap penyakit layu Fusarium. Pengimbasan dilakukan pada kelompok tunas kultur jaringan pisang dalam medium kultur jaringan MS cair dengan konsentrasi SA 0 ppm (sebagai kontrol), 1/8 LC50, 1/4 LC50, 1/2 LC50 dan LC50. Tunas yang bertahan hidup ditumbuhkan sebagai bibit dan uji ketahanan dilakukan di rumah kaca dengan inokulasi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) pada bibit pisang umur enam bulan pasca aklimatisasi. Pengamatan dilakukan terhadap gejala layu pada daun (*Leaf Symptom Index = LSI*) dan diskolorasi pada bonggol (*Rhizome Discoloration Index = RDI*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bibit pisang hasil pengimbasan memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

Kata kunci : asam salisilat, ketahanan, layu fusarium pisang

PENGANTAR

Penyakit Layu Fusarium pisang yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) merupakan salah satu penyakit penting pada pertanaman pisang. Tanaman yang terinfeksi menunjukkan gejala menguning pada daunnya, kemudian menjadi layu dan akhirnya roboh atau mati. Pada jaringan pengangkut terjadi diskolorisasi berwarna cokelat sampai hitam (Brown & Ogle, 1997).

Foc merupakan patogen yang bersifat saprofitik, yang dapat bertahan di dalam tanah dengan klamidospora dan mampu bertahan di dalam tanah dalam jangka waktu yang cukup lama tanpa adanya inang, sehingga upaya pengendalian sulit untuk dilakukan. Sumber inokulum yang paling penting adalah tanaman yang terinfeksi (Thurston, 1998).

Upaya pengendalian yang paling berpotensi adalah penggunaan bibit yang sehat dan tahan, sehingga dirasakan perlu untuk dilakukan

upaya pengimbasan ketahanan tanaman. Dalam pengimbasan ketahanan diperlukan *inducer* yang berfungsi sebagai penstimulir sinyal ketahanan tanaman. Salah satu senyawa yang mampu berperan sebagai *inducer* adalah asam salisilat. Menurut Hammerschmidt & Becker (1999) Asam salisilat berfungsi sebagai signal ketahanan terhadap infeksi patogen karena di dalam jaringan tanaman, asam salisilat dapat merespon lebih cepat terhadap serangan patogen. Ketika tanaman terserang patogen, biosintesis asam salisilat meningkat, jalur transduksi asam salisilat teraktivasi, yang menyebabkan ketahanan meningkat (Yu *et al.*, 1996). Penggunaan asam salisilat sebagai inducer telah banyak dilakukan antara lain oleh Kalix *et al.* (1996), pada tanaman tembakau untuk induksi ketahanan terhadap CMV dan pada apel untuk induksi ketahanan terhadap penyakit kudis (*Venturia inaequalis*).

Dalam penggunaan asam salisilat sebagai *inducer* perlu diketahui konsentrasi yang aman agar

tidak terjadi fitoksisitas, sehingga perlu diketahui nilai LC50-nya.

BAHAN DAN METODE

Penentuan LC50. Tunas diimbas dengan cara dimasukkan ke dalam 25 ml medium kultur jaringan MS cair yang diperkaya dengan vitamin dan hormon (P2) yang dicampur dengan asam salisilat pada konsentrasi 0 ppm (sebagai kontrol), 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Digojog selama dua hari (SH 1) kemudian ditumbuhkan ke medium MS padat (SK 1) selama 5–7 hari, lalu subkultur kembali ke medium MS padat (SK 2) selama 5–7 hari. Perlakuan pengimbasan tersebut dilakukan dua kali.

Pengamatan dilakukan terhadap kelompok tunas yang hidup setiap kali subkultur dan penentuan nilai LC50 dilakukan dengan menggunakan analisis regresi linier.

Pengimbasan kultur. Pengimbasan dilakukan dengan variasi perlakuan: LC50, ½ LC50, ¼ LC50, ⅓ LC50, dan 0 ppm. Setiap perlakuan terdiri atas 3 ulangan, setiap ulangan terdiri atas 3 kelompok tunas. Pengimbasan dilakukan pada medium P2 cair dengan metode seperti pada penentuan LC50.

Regenerasi tunas hasil pengimbasan. Tunas hasil pengimbasan yang bertahan hidup dipelihara selama ± 3 bulan sehingga siap untuk diaklimatisasi

Aklimatisasi. Planlet hasil pengimbasan ditanam pada medium campuran pasir steril dengan pupuk kandang (2:1) dan dipelihara selama 6 bulan

Inokulasi bibit dengan spora Foc. Bibit pisang yang sudah diaklimatisasi dicabut dan akarnya dibersihkan dari tanah kemudian akar dilukai dengan cara dipotong. Bibit direndam dalam suspensi spora dengan kerapatan 10^6 spora/ml selama 30 menit, kemudian ditanam dalam medium aklimatisasi.

Pengamatan dilakukan dengan mengikuti metode Mak *et al.* (2004) yang dimodifikasi. Pengamatan daun layu (*Leaf Symptom Index* = *LSI*) dilakukan setiap satu minggu sekali selama 4 minggu. Pengamatan gejala dalam (*Rhizome Discoloration Index* = *RDI*) dilakukan pada minggu terakhir dengan melakukan pembelahan bonggol.

Penentuan ketahanan bibit. Ketahanan bibit ditentukan berdasarkan *Disease Severity Index* (*DSI*).

$$DSI = \frac{\sum (\text{skor} \times \text{bibit pada skor tersebut})}{\sum \text{bibit yang diperlakukan (dijuji)}}$$

Tingkat gejala pada daun atau *leaf symptom index* (*LSI*) terdiri dari 5 skor gejala, sedangkan tingkat diskolorasi perakaran atau *rhizome discoloration index* (*RDI*) terdiri dari 8 skor gejala.

Berdasarkan hasil perhitungan dan skala *DSI*, maka diperoleh kriteria ketahanan bibit sebagai berikut:

Skala DSI untuk LSI	Skala DSI untuk RDI	Kriteria ketahanan
0	0	Tahan
0.1 – 1	0.1 – 2	Moderat
1.1 – 2	2.1 – 4	Rentan
2.1 – 3	4.1 – 7	Sangat rentan

Bibit termasuk tahan, jika sesuai skala *DSI* baik kriteria ketahanan untuk *LSI* maupun *RDI* adalah tahan. Apabila salah satu bersifat moderat, maka bibit termasuk kriteria moderat, sebagai contoh jika bibit tahan pada *LSI* dan moderat pada *RDI*, bibit termasuk dalam kriteria ketahanan moderat. Akan tetapi jika *RDI* bibit termasuk moderat dan *LSI* termasuk rentan, maka bibit termasuk dalam kriteria ketahanan rentan (Mak *et al.*, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan LC50. Penentuan nilai LC50 diperlukan untuk mengetahui daya meracun asam salisilat yang menyebabkan kematian 50% kelompok tunas. Pengaruh konsentrasi asam salisilat terhadap tunas mati memiliki hubungan yang mendekati linier dengan persamaan $y = 4,9825x + 1,0825$ dengan nilai $R^2 = 0,9722$. Berdasarkan persamaan tersebut diketahui bahwa nilai LC50 adalah 9,8 ppm (Gambar 1).

Pengimbasan kultur jaringan pisang dengan asam salisilat. Pengimbasan dilakukan pada medium cair dan dilakukan penggojogan sehingga medium homogen dan menyebabkan pertumbuhan sel yang lebih cepat (Hendaryono & Wijayani, 1994). Hasil pertumbuhan kelompok tunas pisang pada medium kultur jaringan yang diimbas dengan asam salisilat dapat dilihat pada Tabel 1.

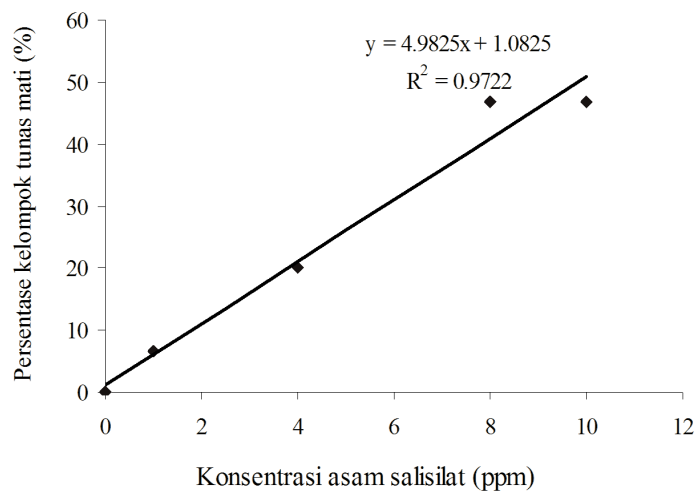
Kelompok tunas yang mati merupakan reaksi sel dan jaringan kultur terhadap toksisitas asam salisilat. Kematian kelompok tunas mulai terjadi pada subkultur 2 setelah pengimbasan 1. Secara statistik tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dan kontrol, meskipun persentase

kelompok tunas yang hidup cenderung menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat.

Aklimatisasi bibit pisang hasil pengimbasan. Aklimatisasi bertujuan untuk menyesuaikan bibit hasil kultur jaringan dengan kondisi lingkungan. Persentase bibit hasil aklimatisasi yang hidup pada 6 bulan pasca aklimatisasi ditampilkan pada Tabel 2. Dari tabel tersebut terlihat bahwa pengimbasan kultur jaringan dengan asam salisilat pada konsentrasi ¼ LC50 memberikan persentase bibit hidup yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Perlakuan dengan konsentrasi asam salisilat ¼ LC50 diduga mempunyai pengaruh yang lebih baik terhadap daya adaptasi bibit dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Akumulasi asam salisilat pada jaringan akan menyebabkan terjadinya lignifikasi pada dinding sel xilem sehingga pengangkutan air dan mineral juga menjadi lebih baik.

Inokulasi bibit dengan spora Foc. Hasil pengamatan gejala luar (*Leaf Symptom Index*) ditunjukkan pada Gambar 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa perkembangan gejala daun menguning mulai terlihat pada minggu ke dua dan perlakuan pengimbasan dengan asam salisilat pada



Gambar 1. Penentuan nilai LC50 asam salisilat dengan analisis regresi linier

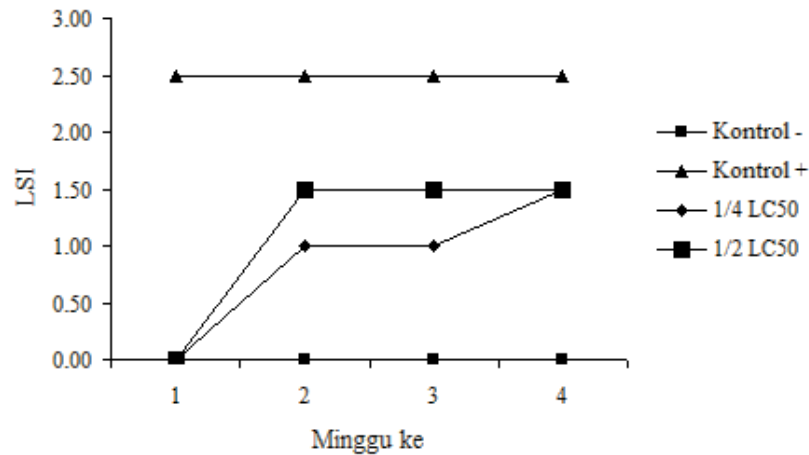
Tabel 1. Pengaruh pengimbasan ketahanan dengan asam salisilat terhadap persentase kelompok tunas yang hidup

Perlakuan	Rerata Kelompok tunas hidup (%)					
	SH 1	SK 1	SK2	SH 2	SK 1	SK 2
Kontrol	100	100	100,00	100,00	100,00	100,00 a
1/8 LC50	100	100	77,78	55,56	55,56	44,44 a
1/4 LC50	100	100	77,78	77,78	77,78	77,78 a
1/2 LC50	100	100	66,67	66,67	66,67	66,67 a
LC50	100	100	66,67	66,67	55,56	55,56 a

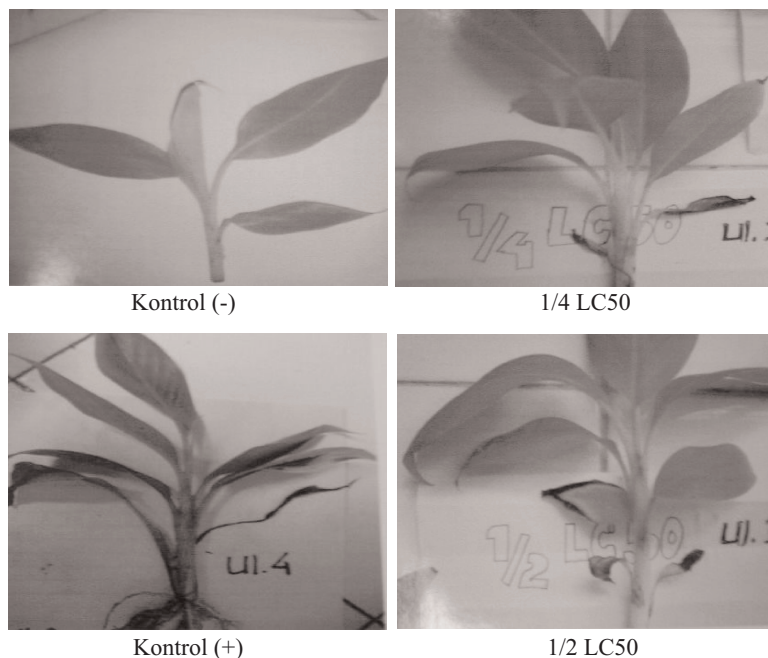
Keterangan: SH 1 = Pengimbasan 1; SH 2 = Pengimbasan 2; SK1 = Sub Kultur 1; SK 2 = Sub Kultur 2
 Angka dalam kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada uji DMRT pada taraf 0.05 dan untuk keperluan analisis statistik dilakukan transformasi data ke arc sin √x.

Tabel 2. Hasil aklimatisasi bibit pisang (6 bulan setelah tanam)

Perlakuan	Persentase bibit yang hidup (%)
Kontrol	52,38
1/8 LC50	14,29
1/4 LC50	57,14
1/2 LC50	44,44
LC50	0,00



Gambar 2. Perkembangan gejala luar (*Leaf Symptom Index*) penyakit layu fusarium pada bibit pisang yang telah diimbas dengan asam salisilat



Gambar 3. Gejala luar penyakit layu fusarium pada bibit pisang yang telah diimbas dengan asam salisilat

konsentrasi $\frac{1}{4}$ LC50 menunjukkan perkembangan gejala yang lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kenampakan gejala luar pada bibit pisang yang diimbas dengan asam salisilat ditunjukkan pada Gambar 3.

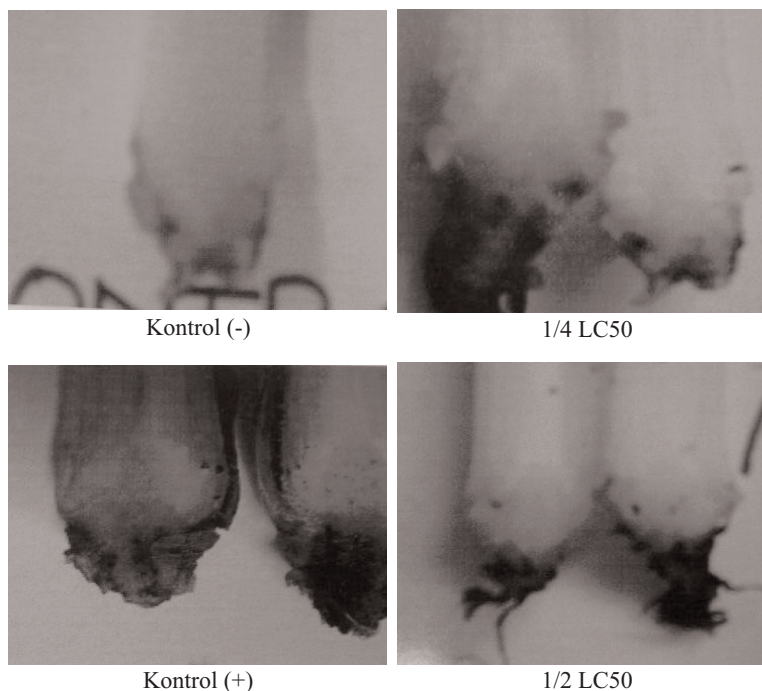
Pengamatan gejala dalam (*Rhizome Discoloration Index = RDI*) dilakukan pada akhir pengamatan (4 minggu setelah inokulasi). Hasil pengamatan rata-rata persentase diskolorasi pada bonggol ditunjukkan pada Tabel 3. Dari gambar tersebut terlihat bahwa perlakuan pengimbasan bibit pisang dengan asam salisilat menyebabkan timbulnya gejala diskolorasi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol.

Gambar 4 menunjukkan bahwa gejala diskolorasi bonggol pada perlakuan kontrol lebih luas dibandingkan dengan pada bibit yang diimbas dengan asam salisilat.

Menurut Thurston (1998) luka mekanik pada akar akan menghasilkan asam amino yang menjadi stimulus bagi perkecambahan dan perkembangan spora. Luka menjadi jalan masuk patogen, kemudian akan menuju ke jaringan pengangkutan sehingga menimbulkan gejala nekrotik pada bonggol.

Tabel 3. Persentase diskolorisasi bonggol pada bibit pisang yang telah diimbas dengan asam salisilat

Perlakuan	% diskolorasi bonggol	RDI
Kontrol -	0,00	0
Kontrol +	36,64	4
¼ LC50	7,96	3
½ LC50	6,23	3



Gambar 4. Gejala diskolorisasi bonggol bibit pisang yang telah diimbas dengan asam salisilat

Tabel 4. Pengaruh pengimbasan bibit dengan asam salisilat terhadap ketahanan bibit pisang

Perlakuan	DSI		Status ketahanan bibit
	LSI	RDI	
Kontrol -	0,00	0,00	-
Kontrol +	2,75	4,25	Sangat rentan
¼ LC50	1,50	3,00	Rentan
½ LC50	1,50	2,25	Rentan

Penentuan ketahanan bibit. Hasil uji ketahanan bibit hasil pengimbasan terhadap penyakit layu Fusarium ditunjukkan pada Tabel 4. Dari tabel tersebut dapat terlihat bahwa bibit pisang hasil pengimbasan memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pengimbasan bibit kultur jaringan dengan menggunakan asam salisilat memiliki potensi untuk digunakan dalam produksi bibit yang sehat dan tahan terhadap penyakit layu fusarium

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Asam salisilat mampu mengimbas ketahanan bibit pisang terhadap penyakit layu fusarium.
2. Perlu dilakukan uji pengimbasan dengan asam salisilat lebih dari dua kali pengimbasan.

DAFTAR PUSTAKA

Brown, J.F. & H.J. Ogle. 1997. Fungal Diseases and their Control, p. 443–467. In J.F. Brown & H.J. Ogle (eds.), *Plant Pathogens and Plant Diseases*. APPS, Australia.

- Hammerschmidt, R. & Becker A.S. 1999. The Role of Salicylic Acid in Disease Resistance, p. 37–54. In Agrawal, A.A., S. Tuzun, & E. Bent (eds.), *Induced Plant Defences against Pathogens and Herbivores*. APS Press, Minnesota.
- Hendaryono, D.P.S. & A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius, Yogyakarta. 139 p.
- Kalix, S., G. Anfoka, Y. Li, M. Stadnik, & H. Buchenauer. 1996. Induce Resistance in Some Selected Crops-prospects and Limitations, p. 451–460. In Lyr, H., P.E. Russell, & H.D. Sisler (eds.), *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*. 11th International Symposium. Thuringia, German, 14–20 Mei 1995.
- Mak, C., A.A. Mohamed, K.W. Liew, & Y.W. Ho. 2004. Early Screening Technique for Fusarium Wilt Resistance in Banana Micropropagated Plants, p. 219–227. In S. M. Jain & R. Swennen (eds.), *Banana Improvement: Cellular, Molecular, Biology, and Induced Mutations*. Science Publishers, Inc., USA.
- Thurston, H.D. 1998. *Tropical Plant Diseases*, 2nd edition. APS Press. Minnesota. 200 p.
- Yu, D., Y. Liu, B. Fan, D.F. Klessig, & Z. Chen. 1997. Is the High Basal Level of Salicylic Acid Important for Disease Resistance in Potato? *Plant Physiology* 115: 343–349.