

KAJIAN *Fusarium oxysporum* ENDOFIT PADA TANAMAN PANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DI MINAHASA

Frans B. Rondonuwu¹⁾, Johanna M. Paath¹⁾, Guntur S. J. Manengkey¹⁾,
Vivi B. Montong¹⁾, Arthur Pinaria²⁾, Berty H. Assa¹⁾, Dantje T. Sembel¹⁾,
dan Edward C. Y. Liew³⁾

¹⁾ Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Unsrat, Manado

²⁾ Jurusan Budidaya, Fakultas Pertanian Unsrat, Manado

³⁾ Botanic Gardens Trust Royal Botanic Gardens & Domain, Sydney NSW 2000 Australia

ABSTRACT

Rondonuwu, F.B. *et al.* 2008. Study of Endophytic *Fusarium oxysporum* on Vanilla Plant (*Vanilla planifolia* Andrews) in Minahasa. *Eugenia* 14 (3) : 306-310.

The objectives of this study was to know whether *F. oxysporum* have an endophytic phase. The isolation of endophytic *Fusarium* from from 'healthy stem' above and below diseased stem tissue and healthy stem were conducted on PPA and then subcultured on CLA for identification *F. oxysporum*. This fungi was reproduced on CLA and then counted concentration and inoculated. The experimental design was CRD with 10 replication and then the data analyzed by the analysis of variance.

The response of vanilla plant stem tissues which were inoculated with some endophytic *F. oxysporum* isolates showed that only isolates from 'healthy' stem above and below diseased stem tissue can infect vanilla plant. On the contrary, from healthy stem can not infect.

Keywords : Minahasa, *Vanilla planifolia*, *Fusarium oxysporum*, and endophytic

PENDAHULUAN

Tanaman panili sering juga disebut emas hijau sebab harga polong panili per kilogram dari tahun 1970-an sampai dengan awal 2004 sangat tinggi. Contohnya, pada tahun 2003-awal 2004 harganya mencapai Rp 3.000.000,00/kg (Anonim 2004a), tetapi sesudah itu turun drastis yakni berkisar antara Rp 40.000,00 – Rp 120.000,00/kg. Harga panili per kilogram meningkat sampai jutaan tersebut karena di negara penghasil panili terbesar di dunia, yaitu Madagaskar dilanda angin topan sehingga menghancurkan sebagian besar tanaman ini. Belakangan ini yang menjadi faktor penyebab utama terjadinya penurunan harga secara drastis adalah berkurangnya permintaan panili alamiah sebab perusahaan-perusahaan penghasil produk-produk makanan umumnya telah mengguna-

kan panili sintetik. Harga ini akan naik lagi bila kampanye-kampanye mengenai kesadaran mengkonsumsi produk-produk makanan yang dicampur dengan panili alamiah (tidak mempunyai efek sampingan bagi kesehatan manusia) berhasil (Anonim 2007 b).

Penurunan harga panili ini menyebabkan sebagian besar kebun-kebun panili di Minahasa tidak terawat lagi, kecuali di Kecamatan Tareran (Ratulangi *et al.* 2007). Kebun-kebun yang dibiarkan ini menjadi sumber inokulum potensial bagi patogen-patogen BBP (*Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* dan *Colletotrichum gloeosporioides*) (Liew *et al.* 2003). Salah satu sumber inokulum *F.oxysporum* f.sp. *vanillae* adalah stek-stek yang secara eksternal kelihatan sehat padahal jamur ini berada pada fase endofit.

Patogen-patogen pembuluh (contoh, *F.oxysporum* f.sp. *vanillae* umumnya mempunyai fase endofit. Pada tahap ini, bukti kehadirannya pada jaringan tumbuhan tidak diketahui sampai jaringan tersebut ditempatkan pada suatu media untuk diisolasi mikroorganisme yang hidup di dalamnya (Ogle dan Brown 1997). Semangun (1988) menyatakan sekitar 31 % stek yang ditanam oleh petani mengandung penyakit. Terjadi demikian karena memang sulit membedakan antara stek sehat dan sakit sebab kemungkinan patogen berada dalam fase endofitik (infeksi laten). Selama ini belum ada informasi mengenai isolasi, identifikasi dan uji patogenisitas patogen endofitik pada tanaman panili.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah *F.oxysporum* f.sp. *vanillae* endofit pada jaringan sehat dari suatu tanaman panili bergejala penyakit BBP, dan dari tanaman sehat dapat menyebabkan penyakit. Manfaat hasil penelitian ini yaitu bisa membuktikan patogen ini dapat bertahan hidup dalam bentuk endofit, sehingga dalam pemilihan tanaman sebagai sumber stek dilakukan dengan teliti – hanya yang betul-betul sehat yang dijadikan sebagai sumber stek.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Sampling jaringan sehat dari batang sehat dan jaringan sehat dari batang yang sakit dilakukan di Minahasa Utara, Minahasa Tengah bagian Barat, Minahasa Tengah bagian Timur, dan Minahasa Selatan. Isolasi, identifikasi, perbanyakan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi. Uji patogenisitas dilakukan di *Green house* Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Unsrat. Lamanya penelitian tiga bulan, yakni dari bulan Februari 2004 sampai April 2004.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain: spesimen jaringan sehat dari batang sehat dan jaringan sehat dari batang yang sakit, media isolasi identifikasi dan perbanyakan (PDA (*potato dextrose agar*), WA (*water agar*), CLA (*carnation leaf agar*), PPA (*peptone PCNB Agar*), SDW (*sterilized deionized water*), alkohol 95 %, dan *clear lactophenol*). Alat yang digunakan antara lain: *laminar air flow*, *compound microscope*, mikroskop stereo, *light banks*, *microwave*, timbangan analitik, hemasitometer, *Schott bottle*, gelas beker, labu Erlenmeyer, gelas ukur, pipet eppendorf, *colony counter*, *McCartney bottle*, skalpel, pinset, jarum ose, petridis, lampu spiritus, gunting tanaman, kamera, *vortex*, *aluminium foil*, *parafilm*, otoklaf, *hand sprayer*, gelas benda, gelas penutup, tissue, tanah steril, kapas, kantong plastik dan alat tulis-menulis.

Pengambilan Sampel

Sampel batang panili diambil dari perkebunan Desa Pondos (Minahasa Selatan), Desa Rumoong Atas Dua (Minahasa Tengah bagian Barat), Kapataran (Minahasa Tengah bagian Timur), dan Mapanget (Minahasa Utara). Setiap kriteria batang tersebut diambil 30 sampel dan dimasukkan ke dalam kantong plastik transparan dan *labelling*. Sampel segera dibawa ke ruangan tertentu (ruang kotor) di laboratorium, kemudian dilakukan proses isolasi.

Isolasi dan Identifikasi

Jaringan yang diisolasi, yakni jaringan sehat di atas dan di bawah jaringan sakit, serta dari tanaman sehat. Spesimen-spesimen dari lapangan disortir menurut variasi gejala penyakit, kemudian diisolasi pada media PPA, dimurnikan pada media CLA dan dilanjutkan dengan isolasi spora tunggal pada CLA dan PDA. Identifikasi *F.oxysporum* endofit dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Unsrat; dengan meng-

gunakan kunci identifikasi Burgess *et al.* 1994 dan William-Woodward 2001.

Uji Patogenisitas

Jumlah perlakuan 7 (6 isolat (masing-masing sumber diambil 2 isolat) + 1 kontrol) dan dirancang menurut rancangan acak lengkap dan 10 ulangan. Teknik inokulasi dengan penyiraman 100 ml suspensi spora dengan konsentrasi $4,5 \times 10^4$ konidia/ml pada 1 kg tanah steril. Data insidensi penyakit dianalisis dengan analisis ragam. Pemeliharaan tanaman dengan melakukan penyiraman secara teratur (setiap tiga hari), penyiangan dan monitoring sumber stress. Sumber stress utama adalah serangan hama bekicot dan intensitas cahaya yang terlalu tinggi.

Monitoring perkembangan gejala dan tanda (*sign*) penyakit eksternal setiap hari sesudah gejala awal muncul selama enam minggu. Fokus pengamatan pada sindrom penyakit dan munculnya tanda penyakit di permukaan batang panili.

Reisolasi

Prosedur kerja isolasi dan identifikasi kembali *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* setelah inokulasi sebagai berikut: (1) mencabut stek terinfeksi pada saat jaringan batang masih ada yang sehat (hijau), (2) membuang daun-daun dan cuci di air mengalir (air kran), kemudian tempatkan di baki dan bawa ke ruang bersih, dan (3) prosedur kerja selanjutnya sama seperti pada prosedur Isolasi dan Identifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons tanaman panili terhadap inokulasi tanah *F. oxysporum* dari jaringan tanaman sehat (dua spesimen), jaringan sehat di atas dan di bawah jaringan sakit (masing-masing dua spesimen) sesudah 21 hari dapat dilihat pada Tabel 1. Informasi dari tabel ini menunjukkan bahwa rerata insidensi penyakit busuk batang panili dari isolat *F. oxysporum* jaringan

tanaman sehat (dua spesimen) sama nilainya, yakni 0,31%. Secara statistika, nilai ini berbeda nyata dengan pada isolat dari jaringan sehat di atas dan di bawah jaringan luka (masing-masing dua spesimen, dan nilai-nya sama semua, yaitu 89,68 %).

Fusarium oxysporum endofit dari tanaman panili sehat tidak menyebabkan penyakit karena mungkin hubungan jamur ini dengan tanaman bersifat simbiosis-mutualistik. Ogle dan Brown (1997) mengemukakan bahwa jamur yang berperilaku seperti ini selain memperoleh nutrisi dari inang, juga *niche* yang menyediakan perlindungan dan membolehkan untuk bereproduksi dan menyebar, sebaliknya tumbuhan terlindung dari serangan patogen dan hama.

Jamur endofit bisa berada di dalam sistem jaringan tumbuhan seperti daun, bunga, ranting, batang, atau akar (Clay 1988). Jamur ini menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotika (Carrol 1988; Clay 1988). Selain itu dapat juga secara langsung meningkatkan pertumbuhan tanaman, tanaman toleran terhadap kekeringan, dan endofit dominan diketahui memproduksi alkaloid-alkaloid toksik yang meracuni herbivora (Ganley *et al.* 2004).

Menurut MacHardy dan Beckman (1981), *F. oxysporum* tersebar ke bagian atas tanaman dalam bentuk mikrokonidia yang terikut larutan di *xylem*, dan menjadi dorman (infeksi laten) di dalam jaringan untuk beberapa waktu. Fase endofitik ini terjadi karena pada saat itu tanaman memproduksi senyawa-senyawa anti jamur, sebaliknya pada waktu tertentu tanaman tidak dapat memproduksi senyawa-senyawa tersebut sehingga infeksi terjadi lagi (Anonim 2004b). Jadi kemungkinan patogen BBP pada jaringan sehat di atas dan di bawah jaringan sakit tidak bisa menginfeksi tanaman karena adanya metabolit sekunder toksik yang diproduksi pada saat itu (Gao *et al.* 1995).

Tabel 1. Rerata Insidensi Penyakit Busuk Batang Panili yang Disebabkan oleh *F. oxysporum* Endofitik yang Berasal dari Jaringan Tanaman Sehat dan Jaringan sehat di Atas dan di Bawah Jaringan Busuk (*Average of Vanilla Stem Rot Disease Incidence which was Caused by Endophytic F. oxysporum from 'healthy Stem' above and below Diseased Stem Tissue and Healthy Stem*)

Inokulasi Tanah Isolat <i>F. oxysporum</i> Endofitik dari Beberapa Jaringan	Rerata Insidensi Penyakit BBP (%)		Notasi dengan BNT 5 % = 28,25
	Data Asli	Hasil Transformasi ke Arcsine	
Isolat dari spesimen tanaman sehat ke- 1	0	0,31	a
Isolat dari spesimen tanaman sehat ke- 2	0	0,31	a
Isolat dari jaringan sehat di atas jaringan busuk spesimen ke- 1	100	89,68	b
Isolat dari jaringan sehat di atas jaringan busuk spesimen ke-2	100	89,68	b
Isolat dari jaringan sehat di bawah jaringan busuk spesimen ke- 1	100	89,68	b
Isolat dari jaringan sehat di bawah jaringan busuk spesimen ke- 2	100	89,68	b

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* dari jaringan sehat suatu tanaman panili yang sakit busuk batang berstatus patogen yang bertahan hidup sebagai endofit, sedang yang berasal dari tanaman sehat bersifat endofitik - mutualistik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis menyampaikan terima kasih kepada *Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)* melalui kontrak nomor: CP/2000/094: *Diagnosis and Control of Soilborne Fungal*

Diseases of Plants in Indonesia yang telah mendanai proyek penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004a. Vanili Sekilo Rp 3 Juta. <http://www.trubus-online.com/artikel>. 5 Mei 2004.
- . 2004b. *Fungal Biology*. University of Sydney. <http://bugs.bio.usyd.edu.au/mycology//PlantInteractions/Endophytes/inGeneral.5html>. 3 September 2007.

- Burgess, L.W., B. A. Summerell, S. Bullock, K. P. Gott, and D. Backhouse. 1994. *Laboratory Manual For Fusarium Research*. Fusarium Research Laboratory Department of Crop Sciences and Royal Botanic Garden Sydney.
- Carrol, G.C. 1988. *Fungal Endophytes in Stems and Leaves: From Latent Pathogens to Mutualistic Symbiont*. Ecology. 69:2-9.
- Clay, K. 1988. *Fungal Endophytes of Grasses : A Defensive Mutualism Between Plants and Fungi*. Ecology 69 (1) : 10-16
- Ganley, R. J; S. J. Brunsfeld; and G. Newcombe. 2004. *A Community of Unknown, Endophytic Fungi in Western White Pine*. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=454172>. 26 September 2007.
- Gao, H; C. H. Beckman; and W. C. Mueller. 1995. *The Rate of Vascular Colonization as a Measure of the Genotypic Interaction between Various Cultivar of Tomato and Various Formae or Races of Fusarium oxysporum*. Physiological and Molecular Plant Pathology. Vol. 46: 29 – 43.
- Liew, E. C. Y.; F. B. Rondonuwu ; A. Pinaria; D. T. Sembel; B. A. Summerel and L. W. Burgess. 2003. *Fusarium Stem Rot of Vanilla in North Sulawesi*. 8th International Congress of Plant Pathology. Christ Church New Zealand 2 – 7 February 2003.
- MacHardy, W.E. and C. H. Beckman. 1981. *Vascular Wilt Fusaria : Infection and Pathogenesis*, p. 365-390. cit P.E Nelson, T.A. Toussoun, and R.J Cook (Ed.). *Fusarium: Disease, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. niversity Park and London.
- Ogle, H. J. and J. F. Brown. 1997. *Plant-Microbe Symbioses*, p. 21-36. Cit. J. F. Brown and H. J. Ogle. (Ed.). *Plant Pathogens and Plant Diseases*. Rockvalle Publications. Armidale NSW Australia.
- Ratulangi M. M; G. S. J. Manengkey; dan F.B. Rondonuwu. 2007. Sumber Inokulum *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* dan *Colletotrichum gloesporioides* (Penyebab Penyakit Busuk Batang Panili di Minahasa) dan Mode Infeksi. Laporan Penelitian Fundamental. Dikti. Belum Dipublikasikan.
- Semangun, H. 1988. Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Gadjah Mada. Yogyakarta.
- William-Woodward, J. 2001. *Simplified Fungi Identification Key*. Special Bulletin No. 37, January.