

**KOMBINASI PSEUDOMONAD FLUORESCENS DAN FUNGI
MIKORIZA ARBUSKULAR INDIGENUS DARI GEOGRAFIS
BERBEDA UNTUK MENINGKATKAN KETAHANAN
TANAMAN PISANG TERHADAP PENYAKIT LAYU
FUSARIUM (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense)**

**Oleh:
ERI SULYANTI
00301015**



**Disertasi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor
Pada Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian
Pemusatan Hama dan Penyakit Tumbuhan**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012**

ABSTRACT

ERI SULTYANTI. Effect Combination of *Pseudomonad fluorescens* and Arbuscular Mycorrhizae Fungi indigenous from different geographycs to increase banana seedling resistance to fusarium wilt. Supervised by Prof. Dr. sc.agr. Ir. Trimurti Habazar, Prof. Dr. Ir. Eti Farda Husin, M.S., Prof. Dr. Abdi Dharma, M.Sc, and Dr. Nasril Nasir.

Fusarium oxysporum f. sp. cubense (Foc) is a fungal plant pathogen that causes Panama disease of banana (*Musa* spp.), also known as Fusarium wilt of banana is the most important and destructive diseases on banana, causing decrease yields and death plants. Once Foc is present in the soil, it cannot be eliminated. The disease is important not only because of the geographic distribution, but also because of its wide host range. To overcome this problem, one way can be done namely by introducing the indigenous *Pseudomonad fluorescens* (Pf) isolates and indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AM Fungi) isolates and their combinations along with to detect their antifungal fitoalexins to control Foc ras 4. The studies were aimed at isolating the type of *Pseudomonads fluorescens* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi species associated with healthy banana rizospheres among the infected plants by fusarium wilt at different altitudes in the centre banana production areas at West Sumatra, identifying and characterizing them to be the biocontrol agents to Foc ras 4 and it relations to their antifungal; to know the potential of various isolates of Pf and AM Fungi indigenous that can induce the growth of banana seedlings; to get the specific Pf and AM Fungi inoculum of banana rizosphere that is effective to control fusarium wilt diseases. To search the effect of the combination between Pf and AM Fungi isolates and their anti microbial production in controlling Fusarium wilt on banana seedlings. The study consisted of three stages: the first and the second stages was using survey methods by conducting field observations, laboratory work, greenhouse experiment; the third stages were a laboratory work and greenhouse experiment. The result showed that the combination of three *Pseudomonad fluorescens* indigeneous (Pf) potensial isolates: Par1-Cv, Par4-Rj1, Par2-Jt1, and three of AM Fungi potensial isolates: Gl₁BuA₄, Gl₂BuA₆, and Gl₁KeP₃ (*Glomus* type 1-2) were applied as a singly and combination two of them. The results showed that the combined application of biocontrol organism *Pseudomonad fluorescens* bacteria and AM Fungi were better than singly application to increase host defence and an effective control option for banana growers dealing with Fusarium wilt. The most effective to increase dry weight of biomassa banana seedlings was Par1-Cv + Gl₁BuA₄ isolates (142,48%) followed by Par1-Cv + Gl₂BuA₆ (139,26%); and Par2-Jt1 + Gl₁KeP₃ (132,47%) and reduced percentage of pseudostem discoloration up to 100%, respectively. Accumulation of total phenolic were variety distribution all over plants (roots, pseudostem, and leaves). The highest acumulation of total phenolic was on the roots areas at twelve hour after isolates application.

Key words: *Pseudomonad fluorescens* (Pf) and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AM Fungi) indigenous isolates, *Musa* sp.

PENDAHULUAN

Penyakit layu *Fusarium* atau penyakit Panama merupakan salah satu penyakit pisang yang paling penting dan merusak karena punya inang dan daerah penyebaran yang luas serta dapat menurunkan hasil pada tanaman pisang. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Jamur ini mampu bertahan lama di dalam tanah dalam bentuk kladospora sehingga sulit dikendalikan, karena dapat lama bertahan dalam tanah dan sulit dimusnahkan. Taktik pengendalian patogen ini telah banyak diteliti, namun hasilnya belum memuaskan. Untuk itu perlu diteliti alternatif pengendalian yang ramah lingkungan seperti penggunaan isolat *Pseudomonad fluorescens* (Pf) dan Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) indigenus yang potensial dan spesifik pada tanaman pisang.

Tujuan penelitian ini adalah untuk: (1). Mengetahui keragaman isolat Pf dan FMA dari rizosfir pisang sehat pada lahan endemik layu *Fusarium* dengan ketinggian berbeda di sentra produksi pisang Sumatera barat, (2). Mendapatkan isolat Pf dan FMA indigenus yang efektif menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap serangan penyakit layu *Fusarium* (Foc ras 4), (3). Mengetahui pengaruh introduksi kombinasi isolat FMA dan Pf indigenus terbaik terhadap perkembangan penyakit layu *Fusarium* pada bibit pisang Cavendish, dan mengkaji efektivitasnya terhadap peningkatan pertumbuhan bibit pisang, (4). Mengetahui terbentuknya fitoaleksin pada bibit pisang yang terinduksi ketahanannya oleh FMA dan bakteri Pf terhadap Foc ras 4.

BAHAN DAN METODA

Keragaman Pf indigenus ditemukan lebih dominan didaerah dataran rendah (Kabupaten Padang Pariaman: 10 isolat) dibanding dengan daerah dataran sedang (Kabupaten Solok 2 isolat) dan dataran tinggi (Kabupaten Agam dan Kabupaten Tanah Datar 4 isolat). Keenam belas isolat Pf indigenus tersebut diisolasi dari rizosfir perakaran rumpun pisang sehat pada daerah endemik layu *Fusarium* dengan metode Multistage Stratified Pourpuse Sampling dan telah dikarakterisasi di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan. Hasil penapisan menunjukkan bahwa semua isolat *Pseudomonad fluorescens* yang digunakan dapat menekan perkembangan serangan penyakit layu *Fusarium* ras 4 sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan bibit pisang Cavendish dengan kemampuan yang bervariasi. Isolat tersebut terdiri dari: 10 isolat dari Kabupaten Padang Pariaman (3 isolat dari pisang jantan, 3 isolat dari pisang raja serai, 2 isolat dari pisang kepok, 1 isolat dari pisang mas dan 1 isolate dari pisang Cavendish); 2 isolat dari Kabupaten Solok (dari pisang buai dan pisang kepok); 2 isolat dari Kabupaten Agam (dari pisang buai); dan 2 isolat dari Kabupaten Tanah Datar pisang gadang (buai). Hasil pengujian *in planta* menunjukkan bahwa semua isolat *Pseudomonad fluorescens* indigenus yang

diisolasi dari rizosfer kultivar pisang sehat dan geografis berbeda dapat menekan perkembangan serangan penyakit layu *Fusarium* ras 4 sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan bibit pisang dengan kemampuan yang bervariasi. Isolat Pf indigenus terbaik dalam meningkatkan ketahanan bibit pisang terhadap Foc ras 4 dan meningkatkan pertumbuhan adalah: Isolat Par1-Cv; Par4-Rj₁ dan isolat Par2-Jt₁ (ketiganya berasal dari rizosfer Pisang dataran rendah) dengan efektivitas penekanan terhadap diskolorasi batang semu (76,18 – 71,42%) dan efektivitas peningkatan berat kering biomassa (95,22 – 60,88%).

Tujuh puluh enam isolat FMA indigenus berhasil diisolasi. Keragaman isolat FMA indigenus lebih dominan pada dataran rendah Kabupaten Padang Pariaman ditemukan 34 isolat FMA dengan 11 jenis tipe spora terdiri dari: 8 tipe spora *Glomus*, 2 tipe spora *Acaulospora* sp. dan 1 tipe spora *Gigaspora* sp.; 18 isolat FMA di dataran sedang Kabupaten Solok dengan 8 jenis tipe spora (5 tipe spora *Glomus*, 2 tipe spora *Acaulospora* dan 1 tipe spora *Gigaspora*; sedangkan pada dataran tinggi Kabupaten Agam dan Tanah Datar diperoleh 24 isolat FMA dengan 8 jenis tipe spora (7 tipe spora *Glomus* dan 1 tipe spora *Acaulospora*). Hasil pengujian *in planta* menunjukkan bahwa semua isolat FMA indigenus terpilih mampu menekan perkembangan serangan penyakit layu *Fusarium* ras 4 sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan bibit pisang Cavendish dengan kemampuan yang bervariasi. Efektifitas tertinggi terdapat pada 3 isolat FMA: isolat Gl₁KeP₃ (*Glomus* tipe 1 berasal dari Pisang Kepok dataran rendah), isolat Gl₁BuA₄ dan isolat Gl₂BuA₆ (*Glomus* tipe 1 dan 2 berasal dari Pisang Buai dataran tinggi) dapat meningkatkan ketahanan bibit pisang Cavendish terhadap serangan patogen Foc ras 4, dengan efektivitas persentase penekanan terhadap diskolorasi batang semu sampai 100%. Ketiga isolat ini juga efektif meningkatkan berat kering biomassa pisang sebesar 75,93 – 88,34%.

Aplikasi kombinasi agens biokontrol dimaksudkan untuk meningkatkan keefektifannya dalam mengendalikan penyakit. Agens biokontrol yang bersifat sinergis diharapkan dapat memberikan penekanan terhadap penyakit lebih besar dibandingkan apabila masing-masing diaplikasikan secara tunggal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh aplikasi agen biokontrol secara tunggal maupun kombinasi terhadap keefektifan dalam mengendalikan perkembangan penyakit layu *Fusarium* pada bibit pisang Cavendish. Enam agens biokontrol: 3 isolat *Pseudomonad* fluoresens indigenus, terdiri dari Isolat Par1-Cv (berasal dari Pisang Pisang Cavendish dataran rendah), Isolat P_rRjP₁ (berasal dari Pisang Raja Serai dataran rendah), Isolat Par2-Jt₁ (berasal dari Pisang Jantan dataran rendah) terbaik dan 3 isolat FMA indigenus terbaik yang terdiri dari isolat Gl₁BuA₄ (dari rizosfir Pisang Buai dataran tinggi), isolat Gl₂BuA₆ (dari rizosfir Pisang Buai dataran tinggi), isolat Gl₁KeP₃ (berasal dari Pisang Kepok dataran rendah) dan Kontrol. Parameter yang diamati adalah kolonisasi akar oleh isolat Pf indigenus, isolat FMA indigenus pada akar bibit pisang Cavendish, masa inkubasi, persentase daun terserang, skoring kerusakan bonggol, pertumbuhan tanaman (pertambahan tinggi, pertambahan jumlah daun dan bobot basah dan kering). Data pengamatan dianalisis secara statistik dengan uji F, bila F hitung lebih besar dari F tabel 5% dilanjutkan dengan DNMR pada taraf nyata 5%.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi isolat Pf indigenus dan FMA indigenus mampu lebih baik meningkatkan ketahanan bibit pisang terhadap penyakit layu *Fusarium* dibanding dengan introduksi tunggal. Kombinasi terbaik adalah Par1-Cv + Gl₁BuA₄; Par1-Cv + Gl₂BuA₆ dan Par2-Jt₁ + Gl₁KeP₃ dengan efektivitas penekanan terhadap diskolorasi batang semu 100% dan peningkatan berat kering biomassa 145,88 – 137,17%. Kandungan senyawa fenolik total bibit pisang yang diinduksi dengan FMA dan Pf bervariasi dan tersebar hampir diseluruh bagian tanaman (akar, batang semu dan daun), Akumulasi kandungan senyawa fenolik (antijamur) tertinggi ditemukan pada introduksi kombinasi isolat Pf dan AM Fungi pada bagian akar (12 jam setelah introduksi).

PENBAHASAN

Penyakit layu *Fusarium* atau penyakit Panama disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) adalah patogen paling berbahaya di berbagai pertanaman pisang di seluruh dunia, menyerang berbagai fase pertumbuhan, mematikan, mudah menular, tidak ada kultivar komersil yang tahan, struktur klamidosporanya dapat bertahan didalam tanah lebih dari 20 tahun tanpa inang, dan merupakan penyebab utama kehilangan hasil (Wardlaw, 1972; Booth, 1977; Ploetz, 2000; Hwang dan Ko, 2004; Widono, *et al.* 2003). Dilaporkan ledakan penyakit layu *Fusarium* pada kultivar Cavendish menyebabkan kerusakan besar di Halmahera, Sumatera dan Jawa, serta Johor di Malaysia Barat (Ploetz dan Pegg, 2000). Potensi peningkatan dan penyebaran penyakit ini sangat tinggi karena didukung berbagai faktor seperti: penanaman bibit terinfeksi, tanah, air, alat-alat pertanian, dan kendaraan terkontaminasi.

Penggunaan bibit pisang kultur jaringan merupakan salah satu upaya untuk memperoleh bibit sehat dan seragam dalam jumlah besar, tetapi umumnya rentan terhadap penyakit layu *Fusarium*. Untuk meningkatkan ketahanan tanaman pisang sejak dini terhadap patogen sekaligus dapat mempercepat pertumbuhan perlu dilakukan introduksi agens hayati pada saat pembibitan (Atthar dan Siddique, 2008). Penggunaan agens hayati Pf dan FMA indigenus tanaman pisang merupakan salah satu pilihan tepat dan perlu dikembangkan dalam upaya peningkatan ketahanan tanaman terhadap penyakit layu. Kedua agens hayati ini memiliki berbagai kelebihan dibandingkan dengan agen hayati lainnya seperti: kosmolitan terdapat diberbagai ekosistem, dapat berasosiasi dengan banyak tanaman tingkat tinggi, punya fungsi ganda selain sebagai biokontrol terhadap patogen tular tanah dan filoplan sekaligus dapat meningkatkan penyerapan hara, menstimulasi pertumbuhan tanaman (Cook dan Bakker, 2005; Atthar dan Siddique, 2008). Pengendalian hayati akan lebih berhasil apabila menggunakan mikroba antagonis indigenus dibanding dengan introduksi (Nigam dan Mukerji, 1989).

Berbagai pengendalian telah dilakukan seperti kimiawi, kultur teknis, pemberaan lahan tetapi belum efektif (Nasir *et al.* 2005; Nasir dan Wardana, 2009). Untuk itu telah dikembangkan alternatif pengendalian penyakit layu *Fusarium* ini secara hayati menggunakan *Pseudomonad fluorescens*, Pf (Bab III), Fungi Mikoriza Arbuskular indigenus, FMA (Bab IV) dan Kombinasi Pf dan

FMA indigenus (Bab V) dalam pengujian rumah kaca. Metoda ini sangat potensial untuk dikembangkan karena lebih aman terhadap lingkungan, praktis, tepat dan efektif terhadap patogen.

Keragaman isolat Pf indigenus lebih dominan berasal dari daerah dataran rendah (10 isolat) dibanding dengan dataran sedang (2 isolat) maupun dataran tinggi 4 isolat (Tabel 3.2). hal ini berbeda dengan yang dilaporkan Trisno (2010) bahwa isolat rizobakteria indigenus rizosfer cabai lebih dominan dari dataran tinggi (6 isolat), 4 isolat dari dataran sedang dan 4 isolat dari dataran rendah.

Hasil pengujian *in planta* 16 isolat Pf indigenus pisang tiga lokasi pengambilan sampel menunjukkan semua isolat pseudomonad fluoresens indigenus dapat meningkatkan pertahanan bibit pisang Cavendish terhadap serangan Foc ras 4 sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan variasi antar isolate (Tabel 3.1). Isolat terbaik adalah Par1-Cv berasal dari rizosfer pisang Cavendish dataran rendah, karena mampu memperlambat masa inkubasi Foc 28,80 hsi dengan efektivitas 97,89 %, menekan persentase daun terserang dengan efektivitas penurunan 67,26 %, menekan skala kerusakan bonggol dengan efektivitas penurunan 63,63 %; dan efektif menurunkan persentase diskolorasi batang semu 76,18 % dibanding kontrol (Tabel 3.3 dan Gambar 3.9), serta dapat meningkatkan pertumbuhan bibit, dengan efektivitas peningkatan berat kering biomassa sampai 95 % (Tabel 3.4 dan Gambar 3.10). Isolat Pseudomonad fluorescens indigenus ini juga dapat menekan serangan *Ralstonia solanacearum* pada bibit tanaman pisang di rumah kaca dan di lapangan. dengan efektivitas penekanan isolat Pf terbaik 100% berasal dari rizosfir pisang jantan sehat dataran rendah (Advinda, 2008).

Penelitian ini menghasilkan informasi baru bahwa isolat Pf indigenus pisang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap layu Fusarium maupun layu bakteri (BDB) sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang. Penelitian sebelumnya hanya efektif terhadap penekanan serangan patogen saja.

Efektifitas peningkatan ketahanan tanaman terhadap patogen akan lebih tinggi apabila diintroduksi pada tanaman sejenis dan dikembalikan ke lingkungan asal. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Trisno (2010) yang menunjukkan bahwa umumnya isolat terbaik rizobakteria berasal dari rizosfer cabai dataran tinggi (TD1-3, TD1-8, GN-3, Ag1-5 dan LKP1-9) yang dapat memperlambat masa inkubasi 3 – 12 hari dibanding kontrol, menekan perkembangan kejadian penyakit cabai terserang Geminivirus dengan efektivitas penurunan 50 – 90% dan efektivitas penurunan intensitas serangan 60 – 94,87%. Aplikasi rizobakteria indigenus dari tanaman bawang dapat menekan perkembangan *Xanthomonas axonopodis* pv *vesiculata* (Habazar *et al.*, 2008). Hasil penapisan 179 isolat rizobakteria indigenus dari rizosfer bawang merah pada daerah endemik *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (Xaa) ditemukan 6 isolat unggul yang dapat menekan serangan Xaa 87,47 – 94,63% (Habazar *et al.*, 2007).

Keragaman isolat FMA indigenus lebih dominan berasal dari dataran rendah (34 isolat), dataran sedang (18 isolat) maupun dari dataran tinggi (24 isolat) dengan kepadatan populasi genus *Glomus* ditemukan tertinggi dan tersebar di seluruh areal pengambilan sampel (Tabel 4.3 dan 4.4). Menurut van den Bosh (1982) setiap populasi yang berada pada daerah yang berbeda akan mengalami tekanan seleksi yang berbeda pula, sehingga akan menyebabkan keragaman antar populasi dalam spesies yang sama (interspesifik variation) karena populasi

tersebut beradaptasi dengan lingkungannya. Sebaliknya Nurbailis (2008) melaporkan bahwa isolat *Trichoderma indigenus* spesifik pisang lebih dominan dari dataran tinggi dibanding dataran sedang dan dataran rendah.

Hasil pengujian *in planta* terhadap isolat FMA indigenus menunjukkan bahwa semua isolat FMA yang digunakan dapat menekan perkembangan serangan penyakit layu *Fusarium* ras 4 sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan bibit pisang Cavendish dengan kemampuan yang bervariasi di rumah kaca. Isolat FMA terbaik adalah Gl₁KeP₃ (berasal dari rizosfir pisang Kepok dataran rendah, *Glomus* tipe-1) dan isolat Gl₁BuA₄ dan Gl₂BuA₆ (berasal dari rizosfir pisang Buai dataran tinggi, *Glomus* tipe 1-2) dapat meningkatkan ketahanan bibit pisang terhadap serangan Foc sampai 100 % (Tabel 4.6). Hal ini teramati dengan dari efektifitas penekanan persentase daun bergejala dan skala kerusakan bonggol dengan masa inkubasi lebih lama dan tingkat serangan yang lebih rendah dibanding kontrol. Sedangkan Nurbailis (2007) melaporkan bahwa 5 isolat *Trichoderma* spp. terbaik (T12sk, S6slk, T1sk, S10sh dan S7sh) berasal dari rizosfer pisang di dataran sedang dan dataran tinggi dari daerah endemik layu *Fusarium* Sumatera Barat, karena dapat memperlambat masa inkubasi 31,00 – 33,33 hsi, penurunan persentase daun bergejala 28,3-43,23% dengan efektifitas 40,53%-61,03%.

Beberapa peneliti lainnya melaporkan bahwa introduksi FMA pada bibit jeruk dapat menurunkan intensitas serangan *Phytophthora parasitica* pada akar (Chambell, 1989), introduksi *G. etunicum* pada akar kentang var. Gold rush dapat menurunkan intensitas serangan *Rhizoctonia solani* pada daun (60,2%) dan umbi 71,2% (Yao et al., 2002). Introduksi tunggal maupun multispora dari *G. fasciculatum*, *G. eunicatum* dan *Acaulospora sp* mampu meningkatkan ketahanan terhadap *Rastonia solanacearum* ras 2 (Yefriwati, et al., 2004), dan layu *Fusarium* ras 4 (Sulyanti, et al., 2005) pada bibit pisang Cavendish. Introduksi FMA indigenus jahe yang diberikan secara tunggal maupun kombinasi dengan rhizobakteria mampu mengendalikan perkembangan penyakit layu *P. solanacearum* ras 4 dalam pengujian rumah kaca dan lapangan efektifitas penekanan 100 % (Suharti et al., 2010).

Rendahnya tingkat serangan Foc pada bibit pisang yang diintroduksi FMA indigenus berkorelasi positif dengan rendahnya populasi Foc pada dalam jaringan akar dan rizosfir tanaman pisang. Hal ini teramati dengan tingginya tingkat kolonisasi FMA pada akar sangat tinggi (Table 4.5 dan Gambar 4.3) dibanding kontrol. Hal yang sama juga dilaporkan Suswati (2011) introduksi FMA indigenus mampu menghambat perkembangan BDB dalam jaringan tanaman pisang kepok dengan efektifitas penekanan tinggi (95,33 – 98,88%) di rumah kaca dan 55,00 – 99,00% pada tanah terkontaminasi BDB di lapangan. Hal ini merupakan kemajuan dalam memperoleh FMA indigenus yang efektif meningkatkan ketahanan tanaman terhadap Foc ras 4.

Introduksi FMA indigenus juga efektif menekan gejala diskolorasi batang semu oleh Foc ras 4 sampai 100% pada bibit pisang Cavendish diikuti dengan terjadinya pengurangan gejala layu yang signifikan dan perpanjangan masa inkubasi Foc ras 4 pada bibit pisang (Tabel 4.6 dan Gambar 4.4). Kejadian ini juga dilaporkan Suswati (2011) terjadi peningkatan ketahanan tanaman terhadap BDB (70 – 100%) pada pisang Kepok. Menurut Dehne dan Schoenbeck (1979) pengurangan gejala layu yang signifikan ini terjadi karena peningkatan deposit

lignin dinding sel tanaman tomat yang terkolonisasi FMA, sehingga dapat mencegah penyebaran patogen dalam jaringan tanaman inang.

Tingginya efek perlindungan FMA indigenus pada bibit pisang kultivar Cavendish yang terinduksi berkorelasi positif dengan tingginya populasi ataupun kolonisasi FMA pada perakaran. Hal ini disebabkan efek bioprotektif agens hayati akan tercapai pada tingkat kolonisasi tinggi (Khaosaadet *et al.*, 2007). Efek perlindungan FMA pada berbagai tanaman terjadi pada kondisi kolonisasi tinggi. Efek perlindungan secara lokal dan sistemik FMA sangat ditentukan oleh derajat dan tingkat kritis kolonisasi yang sama pada perakaran. Pada tanaman terinduksi FMA terlihat tingginya persentase kolonisasi dan intensifnya perkembangan struktur FMA. Introduksi FMA pada bibit Cavendish kultur jaringan menyebabkan semakin cepat terjadinya penetrasi dan peningkatan kolonisasi FMA secara drastik hingga mencapai kondisi stabil pada akar (82 – 97%) dengan intensitas sangat tinggi. FMA indigenus berkembang dan terkolonisasi secara intensif oleh hifa internal, spora dan arbuskul (berfungsi sebagai tempat pertukaran zat antara FMA dan tanaman) pada jaringan korteks akar. Organ arbuskul ini merupakan tempat spesifik untuk pertahanan yang berhubungan dengan aktivasi gen dalam jaringan simbiotik. Perkembangan struktur dan kolonisasi FMA bertindak sebagai *system priming* dalam proses ketahanan tanaman terhadap patogen (Pozo dan Azcon-Aguilar, 2007). Sistem pertahanan akan tetap berlangsung selama perkembangan FMA sampai tercapai kestabilan simbiosis. Respon ketahanan tanaman bermikoriza akan terstimulasi lebih kuat pada saat patogen menginfeksi dibanding dengan tanaman tanpa FMA (kontrol) (Garcia-Garrido dan Ocampo, 2002).

Efek perlindungan FMA tidak akan terjadi apabila tingkat kolonisasi rendah. Hal ini diperkuat oleh Brundrett (1999) melaporkan bahwa struktur FMA dapat berfungsi sebagai pelindung biologi terhadap pathogen akar, disebabkan antara lain; (1). Terdapatnya selaput tipis hifa sebagai penghalang masuknya pathogen, (2). FMA memanfaatkan hampir semua kelebihan karbohidrat dan hasil eksudat akar lainnya, sehingga tercipta lingkungan tidak sesuai untuk perkembangan pathogen, (3) FMA juga dapat menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat perkembangan pathogen sebelum mencapai perakaran tanaman dan (4). Akar tanaman bermikoriza tidak dapat atau sulit dipenetrasi pathogen, karena harus berkompetisi dengan FMA dulu sebelum sampai ke akar tanaman. Disamping itu jumlah dan ketebalan akar tanaman bermikoriza mengalami peningkatan. Perubahan struktur akar tanaman inang oleh kolonisasi FMA, mengakibatkan terhalangnya penetrasi patogen pada akar bermikoriza (Kobayashi dan Branch, 1991).

Teknik seleksi agens antagonis untuk pengendalian penyakit tanaman selama ini dilakukan secara *in vitro* (bersifat langsung terhadap pathogen). Kelemahannya sering terjadi isolat yang unggul secara *in vitro* tidak efektif dalam pengujian secara *in planta*, sehingga kesimpulan yang didapat tidak tepat. Seleksi pengujian secara *in planta* lebih menguntungkan karena semua karakter mikroorganisme antagonis dapat terekspressi dengan baik dan bersifat langsung terhadap pathogen ataupun tidak langsung melalui peningkatan ketahanan atau kebugaran tanaman sehingga tahan terhadap patogen.

Melalui penelitian ini juga telah dikaji peranan kombinasi *Pseudomonad fluorescens* (Pf) dan FMA indigenus dalam meningkatkan ketahanan terhadap foc

ras 4 sekaligus meningkatkan pertumbuhan bibit pisang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi kombinasi isolat Pf dan FMA lebih efektif dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap Foc ras 4 dibanding aplikasi tunggal.

Dalam penelitian ini diperoleh informasi baru bahwa aplikasi kombinasi Pf dan FMA terbaik bisa berasal dari geografis berbeda maupun dari geografis yang sama. Tiga kombinasi perlakuan terbaik adalah kombinasi isolat Par1-Cv + Gl₁BuA₄ (Pf berasal dari rizosfir Pisang Cavendish dataran rendah) dengan FMA (berasal dari rizosfir Pisang Buai dataran tinggi), diikuti oleh kombinasi isolat Par1-Cv + Gl₂BuA₆ (Pf berasal dari dataran rendah) dengan FMA (berasal dari rizosfir Pisang Buai dataran tinggi) dan Par2-Jt₁ + Gl₁KeP₃ (Pf berasal dari rizosfir Pisang Jantan dataran rendah) dengan (FMA berasal dari rizosfir pisang Kepok dataran rendah) dengan efektivitas penekanan terhadap diskolorasi semu 100% dan peningkatan berat kering biomassa 145,88 – 137,17% dan peningkatan kolonisasi Pf tertinggi ($11,4 \times 10^8$ UPK g⁻¹ akar sampai dengan 80×10^8 UPK g⁻¹ akar) (Gambar 5.1) dan peningkatan kolonisasi FMA sangat tinggi (98,67 – 81,33 %) (Tabel 5.1). Hal ini menunjukkan isolat tersebut sudah stabil dan terjadi interaksi yang positif antara kedua agens biokontrol, tanaman dan lingkungan.

Keuntungan aplikasi kombinasi ini adalah karena kedua agens biokontrol ini berada pada tempat/posisi yang tidak sama dalam jaringan akar dan bersinergis dalam mengendalikan patogen, sehingga tidak terjadi kompetisi makanan dan tempat penetrasi. Bakteri Pf mengkolonisasi bagian permukaan jaringan akar (epidermis), membantu tanaman menghelat Fe dan ketersediaan phosphate bagi tanaman inang. Sedangkan FMA berada pada jaringan bagian dalam (korteks) dari akar. Hifa eksternal yang dihasilkan FMA dipermukaan akar membantu pergerakan bakteri Pf (FMA sebagai *helper bacteria*) dan akar tanaman dalam penyerapan hara yang lebih banyak. Di dalam jaringan akar kedua agens biokontrol ini akan mengkolonisasi akar, dan melakukan aktifitas fisiologi dan biokimia secara bersama, sehingga menguntungkan bagi tanaman inangnya (Atthar dan Siddique, 2008).

Tingginya efektifitas aplikasi agens biokontrol dalam menekan kejadian penyakit layu fusarium ditentukan oleh berbagai faktor yang mendukung aktifitas agens biokontrol tersebut. Model dan tempat aplikasi agens biokontrol berhubungan dengan kemampuannya untuk tumbuh lebih cepat, mengkolonisasi sistim perakaran dan menghasilkan senyawa metabolit (Fahima dan Henis, 1990; Cook dan bakker, 2005; Atthar dan Siddique, 2008).

Agens biokontrol yang mampu tumbuh dengan cepat dan secara aktif mengkolonisasi sistim perakaran, akan berperan aktif menekan perkembangan Foc ras 4 (Mishagi *et al*, 1992; Atthar dan Siddique, 2008). Proporsi akar yang dikolonisasi oleh FMA dipengaruhi oleh interaksi antara kondisi fisiologis akar pada saat FMA menginfeksi dengan perubahan akar setelah dikolonisasi (Setiadi, 2000).

FMA juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui perlindungan tanaman dari patogen akar dan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikroba. Struktur FMA dapat berfungsi sebagai pelindung biologi bagi akar dari serangan patogen (Imas *et al*, 1993; Atthar dan Siddique, 2008).

Isolat Pf dan FMA indigenus yang digunakan dalam penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan Foc ras 4 dengan efektifitas perlambatan masa inkubasi Par1-Cv + Gl₁BuA₄ 47,50 % (27 hari), diikuti kombinasi isolat Par1-Cv

+ Gl₂BuA₆ dan kombinasi Par2-Jt₁ + Gl₁KeP₃ 42% (26 hari), dimana satu ulangan tidak menimbulkan gejala dibanding kontrol 18,3 hari (Tabel 5.4). Kombinasi isolat Par1-Cv + Gl₁BuA₄ mampu menurunkan persentase daun terserang lebih rendah 15,77% dengan efektivitas penekanan 51%, diikuti kombinasi isolat Par1-Cv + Gl₂BuA₆ 43% dan Par2-Jt₁ + Gl₁KeP₃ 47%. Ketiga kombinasi tersebut juga efektif menekan persentase daun layu sampai 65,90 % dan diskolorasi batang semu sampai 100% (Tabel 5.3), sekaligus dapat meningkatkan pertumbuhan bibit dengan efektivitas peningkatan berat kering biomassa 145,85 – 139,26% (Tabel 5.4). Mekanisme penghambatan oleh agens hayati terjadi melalui interaksi antara tumbuhan, agens biokontrol dan lingkungan. Hasil ini lebih baik dibanding hasil penelitian Suharti (2010) sebelumnya dimana aplikasi 3 kombinasi isolat rizobakteria dan FMA pada tanaman jahe yaitu Raa13+Fslk2, Rslk2+Fslk2 dan Rslk7+Fslk2 yang masih terserang masing-masing 16,66 %, 16,66 % dan 33,33 %, maupun dari hasil penelitian Nasrun (1996) dimana aplikasi beberapa isolat *P. fluorescens* (kelompok rizobakteria) yang berasal dari tanaman trefoil (*Medicago lupulina*) pada bibit jahe menunjukkan hanya mampu menurunkan serangan *R. Solanacearum* 18,75 – 56,25 % dibanding kontrol 87,50 %. Dari beberapa penelitian menggunakan agens hayati indigenus untuk pengendalian patogen, pada beberapa tanaman memperlihatkan hasil yang bervariasi. Nurbailis (2007) melaporkan bahwa terjadi peningkatan ketahanan tanaman pisang terhadap *Fusarium oxysporum* menggunakan Trichoderma.

Beberapa keunggulan penggunaan rizobakteria Pf dan FMA dalam bentuk inteaksi adalah kedua agens hayati ini dapat bekerja secara sinergis dalam menunjang pertumbuhan tanaman. Rizobakteria Pf merupakan kelompok bakteri yang mendiami jaringan epidermis dari tanaman, yang menyelubungi FMA yang hidup pada jaringan korteks dari akar tanaman. Kedua agens biokontrol ini secara bersama-sama melakukan aktifitas fisiologis dan biokimia sehingga memberikan keuntungan bagi tanaman inang (Pfleger dan Linderman, 1996). Selanjutnya diantara sifat penting FMA yang menunjang perannya sebagai agens pengendalian hayati adalah bersifat kosmopolitan, terdapat pada berbagai ekosistem (Setiadi, 1993), dapat berasosiasi dengan lebih dari 97% tanaman tingkat tinggi (Smith and Read, 1997) dan memiliki fungsi ganda yaitu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen tular tanah dan filoplan, serta meningkatkan penyerapan air, menstimulasi pertumbuhan serta meningkatkan kualitas dan kuantitas buah (Ishii and Kadoya, 1996; Fortuna *et al*, 1996).

Penelitian ini juga mendapatkan informasi adanya peningkatan senyawa metabolit sekunder dari tanaman yang diintroduksi Pf dan FMA indigenus dan menunjukkan respon ketahanan terhadap Foc ras 4 dibanding kontrol. Pada fraksi n-heksan bibit pisang yang diintroduksi Pf dan FMA dan kombinasi keduanya menunjukkan kemampuan isolat ini dalam menghambat pertumbuhan Foc, hal ini terlihat dengan terbentuknya daerah hambatan (*clear zone*) dengan diameter berkisar antara 0,60 – 9,80 mm dibanding kontrol 0 – 0,60 mm (Gambar 5.6). Keadaan ini diikuti dengan terdeteksinya senyawa fenol teroksidasi yang memiliki aktifitas antijamur dengan kategori sedang (+++) sampai dengan sangat tinggi (+++++) (Tabel 5.5).

Penekanan kejadian penyakit dapat dikaitkan dengan peran dari senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman pisang ini dengan adanya rizobakteria Pf dan FMA yang bersifat antagonis terhadap jamur patogen. Isolat

Pf dan FMA secara signifikan dapat merubah komponen kimia dari tumbuhan, perubahan eksudat akar dan komposisi mikroba pada rizosfir tanaman inang. Perubahan ini akan berpengaruh besar terhadap kesehatan dan pertumbuhan tanaman dan aktivitas senyawa antimikroba yang dihasilkan (Pfleger dan Linderman, 1996; Atthar dan Siddique, 2008).

Mekanisme induksi ketahanan adalah kemampuan agen hayati yang mengaktifkan mekanisme pertahanan tanaman terhadap penyakit. Mekanisme ini meliputi akumulasi senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikroba dengan berat molekul rendah seperti fitoaleksin dan diterpen, terbentuknya biopolimer protektif seperti lignin, kalus dan hidroksiprolin yang kaya glikoprotein serta peningkatan aktivitas enzim dalam lintasan produksi senyawa pertahanan produk gen primer seperti kitinase, β -1-3- glukanase, peroksidase dan *pathogenesis related protein* (PR-protein) (Agrios, 1977; Marshal and Walters, 1994). Beberapa jenis senyawa yang dihasilkan agens hayati yang berperan sebagai isyarat tersebut adalah; lipopolisakarida (LPS), siderofor, asam salisilat (Atthar dan Siddique, 2008).

Fitoaleksin dalam bentuk senyawa fenol yaitu asam salisilat dan asam vanilat ditemukan pada tanaman pisang yang diinduksi ketahanannya dengan menggunakan *P. fluorescens* dan *P. cepacia* (Sumardiyono *et al*, 2000). *P. aureofaciens* menghasilkan asam salisilat yang dapat menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman ketimun terhadap serangan *P. aphanidermatum* (Chen *et al*, 1999; Atthar dan Siddique, 2008). Disamping itu beberapa jenis agens penginduksi juga mampu meningkatkan produk metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman, seperti peningkatan kadar minyak nilam yang diinduksi dengan rizobakteria kelompok pseudomonas fluorescens (Nasrun, 2005).

Introduksi rizobakteria Pf dan FMA juga meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang Cavendish. Hal ini disebabkan adanya sifat *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dan *Plant Growth Promoting Fungi* (PGPF) oleh kedua macam agens hayati tersebut. Mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri Pf diantaranya dengan memproduksi hormon pertumbuhan golongan auksin yaitu *indole-3-acetic acid* (IAA) (Padua *et al*, 2000). Bakteri pemicu pertumbuhan tanaman (PGPR) dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman jagung (Luz, 2001)

Kemampuan agens biokontrol sering kali berbeda dalam menekan perkembangan patogen pada suatu daerah, yang disebabkan keadaan lingkungan yang sangat kompleks, sehingga tiap populasi yang berbeda pada daerah berbeda akan mengalami tekanan seleksi berbeda pula. Hal ini akan menyebabkan adanya keragaman antar populasi dalam spesies yang sama (*interspesifik varition*) karena populasi tersebut beradaptasi dengan lingkungannya. Dengan demikian suatu spesies yang sama tetapi berada pada wilayah geografi dan lingkungan yang berbeda dapat memiliki kemampuan yang berbeda dalam menekan perkembangan patogen.

KESIMPULAN

1. Keragaman Pf dan FMA indigenus lebih dominan ditemukan di dataran rendah dibanding dengan di dataran sedang maupun di dataran tinggi.
2. Isolat Pf indigenus terbaik adalah Par1-Cv (berasal dari dataran rendah) dan 3 isolat FMA Indigenus terbaik adalah GI₁KeP₃ (berasal dari dataran rendah),

Gl₁BuA₄ dan Gl₂BuA₆ (berasal dari dataran tinggi) potensial dalam meningkatkan ketahanan tanaman pisang terhadap Foc ras 4 dan pertumbuhan tanaman.

3. Kombinasi isolat Pf+FMA terbaik dalam meningkatkan ketahanan bibit pisang terhadap Foc Ras 4 adalah Par1-Cv + Gl₁BuA₄, Par1-Cv + Gl₂BuA₆ (kombinasi Pf berasal dari dataran rendah dengan FMA dari dataran tinggi), dan Par2-Jt + Gl₁KeP₃ (kombinasi Pf dan FMA berasal dari dataran rendah) dengan efektivitas penekanan diskolorasi batang semu 100% dan peningkatan berat kering biomassa pisang 142,48 – 132,47%. Akumulasi Senyawa Fenolik (Antijamur) tertinggi terdapat pada akar (12 jsi).