

Pengujian Planlet Abaka Hasil Seleksi terhadap *Fusarium oxysporum*

Deden Sukmadjaja, Ika Mariska, Endang G. Lestari, M. Tombe, dan Mia Kosmiatin

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Serangan penyakit layu yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* merupakan salah satu masalah yang dihadapi dalam usaha pertanaman abaka (*Musa textilis* Nee). Penggunaan varietas yang tahan terhadap penyakit tersebut merupakan cara yang paling cocok dalam menanggulangi masalah tersebut. Akan tetapi sampai saat ini belum ditemukan varietas abaka yang tahan terhadap penyakit tersebut. Seleksi *in vitro* merupakan salah satu metode seleksi dalam upaya memperoleh tanaman abaka yang tahan terhadap penyakit layu *Fusarium*. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berupa biakan abaka yang telah diinduksi keragaman somaklonalnya dengan radiasi 1 krad. Dua macam komponen seleksi yang digunakan adalah asam fusarat dan filtrat dari *F. oxysporum* dalam beberapa konsentrasi. Seleksi secara *in vitro* dilakukan melalui dua tahap berurutan, di mana pada seleksi tahap II konsentrasi asam fusarat dinaikkan satu tingkat dari seleksi I. Setelah itu, dilakukan seleksi silang dengan filtrat atau asam fusarat untuk mengetahui kestabilan perubahan sifat yang dihasilkan. Nomor-nomor yang tahan hasil seleksi secara *in vitro* diperbanyak untuk dilakukan pengujian ketahanannya terhadap *F. oxysporum* di kamar kaca. Hasil pengujian ketahanan terhadap *Fusarium* di kamar kaca menunjukkan bahwa penggunaan bahan tanaman dari perlakuan radiasi 1 krad umumnya menghasilkan tanaman yang relatif lebih tahan terhadap *Fusarium* dibandingkan dengan bahan tanaman yang tidak diradiasi. Kombinasi perlakuan radiasi 1 krad dengan seleksi menggunakan asam fusarat 30-45 ppm serta dilanjutkan dengan seleksi silang dengan filtrat *Fusarium* 50% dapat menghasilkan tanaman abaka yang mempunyai persentase hidup paling tinggi (75%) setelah diinokulasi dengan konidia *F. oxysporum*. Dari 30 nomor planlet yang diuji di kamar kaca terdapat 20 nomor yang tahan terhadap *F. oxysporum*. Hasil pengujian ini menunjukkan adanya korelasi positif antara ketahanan terhadap toksin murni asam fusarat dengan ketahanan terhadap suspensi konidia *F. oxysporum*. Perlakuan radiasi yang dikombinasikan dengan seleksi *in vitro* dapat menghasilkan tanaman abaka yang tahan terhadap patogen *F. oxysporum*.

Kata kunci: Abaka, *Fusarium oxysporum*, seleksi *in vitro*, asam fusarat

ABSTRACT

Wilt by *Fusarium oxysporum* has been a problem on abaca (*Musa textilis* Nee.) plantation. Utilization of the disease resistant variety can solve the disease problem. However, abaca resistant variety to *F. oxysporum* disease has not been found. *In vitro* selection is a selection method to produce a disease resistant plant which have been conducted in abaca *in vitro* culture to produce *F. oxysporum* resistant plants. Plant material used in this experiment was induced by a 1 krad gamma ray irradiation. Fusaric acid and filtrate of *F. oxysporum* in some concentrations were used as two selection components. *In vitro* selection was conducted by two stages, the concentration of selection component in second stage increased one level to

concentration in the first stage. Cross selection by using *F. oxysporum* filtrate or fusaric acid was continued to confirm the stability of trait change produced. The resistant accessions produced through *in vitro* selection multiplied for resistant testing to *F. oxysporum* in the green house. The results of Fusarium resistant testing in greenhouse showed that plant materials from 1 krad irradiation treated were generally produced more Fusarium resistant plants than non irradiation treated plant materials. The combination of treatments between 1 krad irradiation induced culture and selection using 30-45 ppm of fusaric acid and followed with cross selection using 50% of Fusarium filtrate produced the highest percentage of life plant (75%) after inoculated by *F. oxysporum* conidia. From 30 of accessions tested, there have been found 20 of *F. oxysporum* resistant accessions. The test results showed that pure toxin of fusaric acid resistant plant and *F. oxysporum* conidia suspension resistant plant have a positive correlation. Irradiation treatment combined with *in vitro* selection can produced *F. oxysporum* resistant abaca accessions.

Key words: Abaca, *Fusarium oxysporum*, *in vitro* selection, plantlet, filtrate, fusaric acid

PENDAHULUAN

Abaka (*Musa textilis*) merupakan tanaman yang potensial untuk dikembangkan saat ini. Banyak kalangan swasta dan koperasi yang akan mengembangkan pertanaman abaka secara luas karena menjanjikan keuntungan besar di masa mendatang.

Abaka merupakan tanaman yang multiguna karena dapat digunakan untuk kertas berharga (check, kertas dokumen di bank), kertas uang (dollar Amerika), pembungkus teh celup, tekstil (Wardiyati, 1999), pembungkus kabel laut (karena tahan air asin dan kelembaban tinggi), tissue, popok bayi, dan pakaian dalam (Haroen, 1999).

Penyakit yang saat ini banyak dijumpai pada pertanaman abaka adalah *F. oxysporum* f. sp. *Cubense* (Anunciado *et al.*, 1977). Pertanaman abaka yang akan dikembangkan secara besar-besaran (ratusan ribu hektar) dikhawatirkan dapat menimbulkan masalah penyebaran penyakit dari bibit yang sakit di sentra-sentra produksi karena varietas yang ada tidak tahan penyakit layu Fusarium.

Salah satu upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut antara lain penggunaan varietas yang tahan penyakit namun keragaman genetik pada tanaman abaka relatif rendah terutama sifat ketahanan terhadap penyakit. Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman dengan radiasi sinar gamma yang diharapkan dapat menghasilkan mutan baru sebagai sumber keragaman untuk peningkatan kualitas genetik tanaman.

Untuk meningkatkan sifat ketahanan abaka terhadap *F. oxysporum*, dilakukan seleksi *in vitro* dengan menggunakan komponen seleksi, yaitu filtrat dari patogen yang menyerang tanaman abaka dan toksin murni asam fusarat (Arceoni *et al.*, 1987; Latunde-Dada dan Lucas, 1988) yang dikombinasi dengan perlakuan mutagen fisik radiasi sinar gamma. Penggunaan kedua

komponen seleksi tersebut dapat menghasilkan varietas baru yang lebih tahan terhadap penyakit seperti pada tanaman pisang (Morpurgo *et al.*, 1994; Matsumoto *et al.*, 1995), gandum (Ahmed *et al.*, 1996), carnation (Arai dan Takeuchi, 1993), alfalfa, celery dan ubi jalar. Masalah yang sering dihadapi adalah menurunnya kemampuan regenerasi massa sel setelah seleksi (Arceoni *et al.*, 1987; Latunde-Dada dan Lucas, 1988). Dari penelitian TA 2001 telah diperoleh tunas *in vitro* hasil regenerasi silang. Bibit hasil seleksi *in vitro* harus diuji dengan *F. oxysporum* untuk mengetahui kestabilan perubahan sifat yang dihasilkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tunas dan planlet abaka hasil seleksi silang dengan filtrat *F. oxysporum* atau asam fusarat yang tahan terhadap *F. oxysporum*.

BAHAN DAN METODE

Biakan hasil seleksi silang dengan asam fusarat atau filtrat *F. oxysporum* dari penelitian TA 2001 telah diperoleh nomor harapan yang dianggap tahan. Jumlah tunas terbanyak dan dianggap cukup responsif terhadap media tanam diperoleh dari perlakuan radiasi sinar gamma 1 krad. Tunas tersebut diperbanyak terlebih dahulu pada media MS yang diberi BA 5 mg/l, thidiazuron 0,4 mg/l, dan asam sitrat 100 mg/l. Setelah terbentuk tunas ganda maka tunas tersebut diakarkan pada media MS (1 dan 1/2) + IBA atau NAA (0-2 mg/l). Untuk melihat adanya korelasi positif antara perlakuan seleksi *in vitro* dalam komponen seleksi toksin murni asam fusarat atau filtrat *F. oxysporum* dengan penyakit busuk batang *F. Oxysporum* maka planlet yang terbentuk kemudian diuji dengan konidia *F. oxysporum*.

Metode yang digunakan dalam pengujian, yaitu metode "dipping" dengan merendam planlet dalam suspensi konidia *F. oxysporum* dengan kerapatan spora 10^3 , 10^4 , dan 10^5 /ml air selama 30 menit. Kemudian planlet tersebut diaklimatisasi pada polibag berisi tanah steril.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini, yaitu melihat masa inkubasi penyakit, perkembangan gejala penyakit, dan jumlah tanaman yang diserang, mati, dan yang hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata jumlah tunas dari nomor-nomor hasil seleksi silang yang disub-kultur pada media MS + BA 5 mg/l + thidiazuron 0,4 mg/l + asam sitrat 100 mg/l bervariasi baik dari segi jumlah maupun penampilannya. Demikian pula setelah pemindahan pada media perakaran MS + NAA 2 mg/l menunjukkan adanya respon pertumbuhan yang berbeda dari nomor-nomor hasil seleksi. Adanya respon pertumbuhan yang berbeda dan masih dijumpainya masalah kontaminasi mengakibatkan tidak semua nomor biakan

dari semua perlakuan hasil penelitian seleksi silang dapat diaklimatisasi dan diuji ketahanannya.

Planlet dari biakan tanpa perlakuan radiasi yang berhasil diuji ketahanannya terhadap *F. oxysporum* adalah kontrol (tanpa seleksi awal dan seleksi silang), seleksi awal dengan asam fusarat 15-30 ppm dengan seleksi silang filtrat Fusarium 50%, serta seleksi awal filtrat 0-0% dengan seleksi silang asam fusarat 75 ppm. Dari perlakuan radiasi 1 krad yang berhasil diuji adalah seleksi awal dengan asam fusarat (0-0, 15-30, dan 30-45 ppm) dengan seleksi silang filtrat 50%, serta seleksi awal filtrat 0-0% dengan seleksi silang asam fusarat 75 ppm.

Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian ketahanan planlet abaka terhadap *F. oxysporum* berupa persentase hidup tanaman setelah diinfeksi dengan konidia pada beberapa taraf konsentrasi. Pada perlakuan tanpa radiasi, hanya tanaman yang berasal dari seleksi awal dengan asam fusarat 15-30 ppm dengan seleksi silang filtrat 50% dapat bertahan hidup sebanyak 25% baik pada pengujian dengan kerapatan konidia 10^3 , 10^4 maupun 10^5 . Tanaman yang berasal dari perlakuan tanpa seleksi dan perlakuan dengan seleksi awal filtrat 0-0 dan seleksi silang menggunakan asam fusarat 75 ppm tidak ada yang dapat bertahan hidup dengan menunjukkan gejala penyakit (masa inkubasi) yang berbeda (Tabel 3).

Planlet yang berasal dari hasil biakan yang telah diinduksi dengan radiasi 1 krad menunjukkan ketahanan yang berbeda tergantung dari perlakuan seleksi yang diberikan. Persentase hidup tanaman tertinggi setelah diinokulasi dengan konidia ditunjukkan oleh tanaman yang berasal dari perlakuan seleksi awal menggunakan asam fusarat 30-45 ppm dengan seleksi

Tabel 1. Persentase hidup tanaman hasil seleksi *in vitro* dengan suspensi konidia *F. oxysporum* di rumah kaca setelah 30 hari

Dosis radiasi (krad)	Seleksi awal	Seleksi silang	Persentase hidup tanaman		
			Konsentrasi konidia per ml		
			10^3	10^4	10^5
0	Tanpa seleksi		0	0	0
	Asam fusarat (ppm)	Filtrat (%)			
	0-0	50	0	0	0
	15-30	50	25	25	25
	30-45	50	-	-	-
1	Filtrat (%)	Asam fusarat (ppm)			
	0-0	75	0	0	0
	Tanpa seleksi		0	0	0
	Asam fusarat (ppm)	Filtrat (%)			
	0-0	50	40	50	40
	15-30	50	70	60	60
	30-45	50	75	75	75
	Filtrat (%)	Asam fusarat (ppm)			
	0-0	75	60	40	30

- = nomor-nomor planlet tidak dapat diuji karena mati sebelum diuji atau kontaminasi

silang filtrat 50%, yaitu sebanyak 75% baik pada pemberian konidia 10^3 , 10^4 maupun 10^5 . Toleransi tanaman terhadap penyakit yang cukup tinggi juga ditunjukkan oleh tanaman yang berasal dari perlakuan seleksi awal 15-30 ppm dengan seleksi silang filtrat 50%, yaitu sebanyak 70% pada konsentrasi konidia 10^3 , dan masing-masing 60% pada konsentrasi konidia 10^4 dan 10^5 . Perlakuan tanpa seleksi awal menunjukkan ketahanan hidup terhadap penyakit yang lebih rendah. Pemberian perlakuan seleksi silang dengan asam fusarat 75% pada biakan tanpa perlakuan filtrat memberikan ketahanan yang relatif tinggi dibandingkan dengan perlakuan seleksi silang dengan filtrat 50%. Pada perlakuan tanpa filtrat pada seleksi awal dengan seleksi silang asam fusarat 75 ppm terjadi penurunan ketahanan terhadap penyakit sejalan dengan peningkatan konsentrasi konidia yang diberikan. Pada perlakuan yang sama dengan seleksi silang menggunakan filtrat 50% menunjukkan persentase hidup tanaman sebanyak 40% pada perlakuan inokulasi konidia 10^3 dan 10^5 serta 50% pada konsentrasi 10^4 .

Hasil pengujian dengan konidia *F. oxysporum* di rumah kaca memperlihatkan adanya korelasi yang positif antara ketahanan terhadap asam fusarat dan filtrat (Tabel 2) dengan patogen penyebab penyakit layu Fusarium (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan pendapat Pegg dan Landon (1986) dan Matsumoto *et al.* (1995) bahwa tanaman yang tahan terhadap asam fusarat juga tahan terhadap penyakit layu Fusarium. Hasil penelitian Stegmark (1991) pada tanaman kacang polong yang di-inokulasi dengan suspensi konidia *Peronospora viciae* (Berk.) Casp. F. sp. *pisi* (Sydow) dengan kerapatan $2,5 \times 10^5$ /ml menghasilkan tanaman yang tahan terhadap penyakit

Tabel 2. Persentase hidup tanaman hasil seleksi *in vitro* di rumah kaca, setelah 30 hari

Dosis radiasi (krad)	Seleksi awal asam fusarat 15-30 ppm	Seleksi silang filtrat 50%
0	41,7	21,1
1	69,4	69,4

Tabel 3. Masa inkubasi munculnya gejala penyakit

Dosis radiasi (krad)	Seleksi awal	Seleksi silang	Masa inkubasi (hari)		
			Konsentrasi konidia per ml		
			10^3	10^4	10^5
0	Tanpa Seleksi	-	4-28	4-29	4-24
	Asam fusarat (ppm)	Filtrat (%)			
	15-30	50	14-29	14-22	7-24
1	Filtrat (%)	Asam fusarat (ppm)			
	0-0	75	22-24	16-25	7-23
	Asam fusarat (ppm)	Filtrat (%)			
	0-0	50	7-27	7-21	12-30
	15-30	50	18-23	18-25	18-26
	30-45	50	25	15	29
1	Filtrat (%)	Asam fusarat (ppm)			
	0-0	75	15-25	16-29	15-25

downy mildew. Evenor *et al.* (1994) melaporkan bahwa terdapat korelasi positif antara perlakuan seleksi dengan filtrat dan dengan suspensi konidia *Septoria apiicola* dengan kerapatan 10^6 konidia/ml pada tanaman selesri. Matsumoto *et al.* (1995) telah berhasil mendapatkan tanaman pisang cavendish kultivar 'Maca' yang tahan terhadap penyakit layu *Fusarium* melalui seleksi *in vitro* dengan menggunakan asam fusarat yang diberi perlakuan mutagen kimia dan mendapatkan korelasi positif antara ketahanan *in vitro* dan ketahanan di rumah kaca.

Tabel 3 menunjukkan masa inkubasi munculnya gejala penyakit dari sejumlah nomor planlet hasil seleksi yang berhasil diuji di kamar kaca. Dari nomor yang diuji, perlakuan seleksi awal menggunakan asam fusarat 30-45 ppm dengan seleksi silang 50% filtrat yang memperlihatkan paling sedikit munculnya gejala penyakit (Tabel 1) dengan masa inkubasi 15 sampai dengan 29 hari (Tabel 3). Munculnya gejala penyakit sangat bervariasi, masa inkubasi yang paling cepat ditemukan pada tanaman yang berasal dari perlakuan tanpa radiasi dan tanpa seleksi (kontrol), yaitu umur 4 hari yang ditemukan pada semua konsentrasi pemberian atau inokulasi konidia. Namun demikian, pada perlakuan ini terdapat nomor-nomor yang mempunyai masa inkubasi cukup lama, yaitu 29 hari. Nomor-nomor yang berasal dari perlakuan radiasi 1 krad selain menunjukkan persentase hidup yang relatif tinggi dibandingkan dengan tanpa radiasi juga menunjukkan masa inkubasi munculnya gejala penyakit yang cukup lama dengan rata-rata sekitar 15-25 hari. Hasil pengamatan secara umum menunjukkan bahwa perlakuan radiasi dapat memperbesar peluang untuk meningkatkan ketahanan terhadap penyakit. Hal ini sesuai dengan pendapat yang menyatakan bahwa perlakuan radiasi dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit (Nagatomi, 1996), yang disebabkan adanya perubahan jumlah dan struktur krooso, pada jaringan (Larkin dan Scrowcroft, 1981).

Jumlah nomor yang telah diuji ketahanannya terhadap *F. oxysporum* di kamar kaca sebanyak 30 nomor. Dari 30 nomor yang diuji, 20 nomor tahan terhadap serangan *F. oxysporum*.

KESIMPULAN

Hasil pengujian di kamar kaca menunjukkan adanya korelasi positif antara ketahanan planlet abaka terhadap toksin murni asam fusarat dengan ketahanan terhadap suspensi konidia *F. oxysporum*. Penggunaan seleksi asam fusarat 15-30 ppm pada biakan tanpa perlakuan radiasi dapat menghasilkan tanaman yang tahan terhadap *F. oxysporum* tetapi jumlahnya masih rendah dibandingkan dengan perlakuan radiasi. Pemberian radiasi pada biakan, baik yang kemudian dikombinasikan dengan komponen seleksi *in vitro* atau tidak, menghasilkan tanaman abaka yang tahan terhadap patogen *F. oxysporum*. Penggunaan komponen seleksi asam fusarat 15-30 dan 30-45 ppm pada biakan dengan perlakuan radiasi 1 krad dapat menghasilkan tanaman abaka yang

tahan terhadap patogen *F. oxysporum* hingga 75%. Dari 30 nomor planlet yang diuji di kamar kaca terdapat 20 nomor yang tahan terhadap *F.oxysporum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, K.Z., A. Mesterhazy, T. Bartok, and F. Sagi. 1996.** *In vitro* technique for selecting wheat (*Triticum astivum* L.) for Fusarium-resistance II culture filtrate technique and inheritance of Fusarium resistance in the somaclones. *Euphytica* 91:341-349.
- Anunciado, I.S., L.O. Balmes, P.Y. Bawagun, D.A. Benigno, and N.D. Bondad. 1977.** Primer on abaca production and culture. The Phillipines Recommends for Abaca. Quezon City.
- Arai, A. and M. Takeuchi. 1993.** Influence of Fusarium wilt toxin(s) on carnation cells. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 34:287-293.
- Arceoni, S., M. Pezzotti, and F. Damiani. 1987.** *In vitro* selection of alfalfa plants resistant to *Fusarium oxysporum* f.sp. medicaginis. *Theor. Appl. Genet.* 74:700-705.
- Evenor, D., E. Pressman, Y. Ben-Yephet, and L. Rappaport. 1994.** Somaclonal variation in celery and selection by coculturing toward resistance to *Septoria apiicola*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 39:203-210.
- Haroen, W.K. 1999.** Komoditi ekspor dan manfaat serat pisang abaka (*Musa textilis* Nee). PT. Meta Abaka Indonesia. Bandung.
- Larkin, P.J. and W.R. Scrowcroft. 1981.** Somaclonal variation an novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60:197-214.
- Latunde-Dada, A.O. and Lucas. 1988.** Somaclonal variation and resistance to verticilium wilt in lucerne, *Medicago sativa* L. Plant regenerated from callus. *Plant Sci.* 58:118-119.
- Matsumoto, K., M.L. Barbosa, L.A.C. Souza, and J.B. Teixeira. 1995.** Race 1 Fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid. *Euphytica* 84:67-71.
- Morpurgo, R., S.V. Lopato, R. Afza, and F.J. Novak. 1994.** Selection parameters for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense race 1 and race 4 on diploid banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica* 75:121-129.
- Nagatomi, S. 1996.** A new approach of radiation breeding toward improvement of disease resistance in crops. *Proceedings Integrated Control*

of Main Disease of Industrial Crops; Bogor, 13-14 March 1996. Puslitbangtan. hlm. 16-24.

Pegg, K.G. and P.W. Landon. 1986. *Fusarium wilt* (Panama Disease): a review. In G.J. Persley and E.A. De Langhe (*Eds.*). Banana and Plantain Breeding Strategies. Proceedings of an International Workshop held at Cairns, 13-17 Oct 1986. Queensland; Australia Center for International Agricultural Research. p. 119-123.

Stegmark, R. 1991. Selection for partial resistance to *downy mildew* in peas by means of greenhouse test. *Euphytica* 53:87-95.

Wardiyati, T. 1999. Abaca (*Musa textilis* Nee). PT. Nandinusa Abaca Mera. Jakarta.