

**IDENTIFIKASI *Fusarium* sp. DARI TANAMAN PISANG
SEBAGAI INOKULAN PEMBENTUKAN GAHARU**

***IDENTIFICATION OF Fusarium sp. FROM BANANA AS INOCULANT FOR
GAHARU INDUCTION***

Fariha Wilisiani¹⁾, ²⁾ Sumardi, ¹⁾ Afrizal Hasibuan

¹⁾Agroteknologi, Fakultas Pertanian, INSTIPER; ²⁾Fakultas Kehutanan, INSTIPER

ABSTRACT

Agarwood is a non-timber forest product having high economic value as production material for perfume, cosmetic and medicine. However, growing the agarwood is facing some issues such as the shaping of gaharu with low rendement and the resin shaping process which takes long period of time. Recently, there are many development on the artificial making gaharu by inoculating *Fusarium* sp. The type of *Fusarium* sp isolate is very influential toward the production of gaharu. This study will investigate the potential of *Fusarium* sp type from banana tree as the host plant which can be used as premium inoculant in producing gaharu. The research method conducted in this study is by identifying *Fusarium* sp macroscopically, microscopically and molecularly. Result of study showed that identification of *Fusarium* sp macroscopically indicated purple whitening hyphae of fungus and microscopically indicate the spore of fungus has specific character of *Fusarium* sp. Molecular identification that used universal primer of ITS region showed positive detection on sample and sequencing result from the PCR product showed that sample has high identity with *Fusarium oxysporum* that has already known on gaharu plant naturally. Therefore, the isolate of this sample is potential for premium inoculants on gaharu production artificially.

Key-words: gaharu, *Fusarium*, identification

INTISARI

Tanaman gaharu merupakan tanaman hutan bukan kayu yang memiliki nilai ekonomi tinggi dengan dimanfaatkan sebagai bahan parfum, kosmetik, dan obat. Dalam budidaya tanaman gaharu, salah satu kendalanya adalah pembentukan gaharu dengan rendemen rendah serta proses pembentukan gubal gaharu yang lama. Saat ini banyak dikembangkan pembentukan gaharu buatan, yaitu dengan inokulasi *Fusarium* sp. untuk mempercepat pembentukan gubal gaharu. Jenis isolat *Fusarium* sp. sangat berpengaruh terhadap pembentukan gaharu. Penelitian ini mengkaji potensi *Fusarium* sp. dari tanaman inang pisang yang dimanfaatkan sebagai inokulan unggul pembentukan gaharu. Metode yang digunakan: identifikasi *Fusarium* sp. secara makroskopis, mikroskopis, dan molekuler. Hasil penelitian: identifikasi *Fusarium* sp. secara makroskopis menunjukkan warna hifa putih keunguan dan secara mikroskopis terlihat spora dan konidia khas dari *Fusarium* sp. Identifikasi secara molekuler menggunakan primer universal ITS menunjukkan sampel yang diuji positif terdeteksi bagian ITS nya dan hasil sekuensing dari produk PCR tersebut menunjukkan bahwa *Fusarium* sp. yang dianalisis memiliki kemiripan dengan *Fusarium oxysporum* yang telah ada di database genbank. *Fusarium* jenis tersebut juga telah dilaporkan terdapat dalam gubal gaharu yang terbentuk secara alami. Oleh karena itu, isolat *Fusarium oxysporum* yang diisolasi dari tanaman inang pisang dalam penelitian ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai inokulum dalam pembentukan gubal gaharu.

Key-words : gaharu, *Fusarium* sp., identifikasi

¹⁾ Alamat penulis untuk korespondensi: Fariha Wilisiani. Agroteknologi, Fakultas Pertanian, INSTIPER. Jln. Nangka II Maguwoharjo Yogyakarta 0274-885580 instiper@instiperjogja.ac.id 55281. farihawilis@gmail.com

PENDAHULUAN

Tanaman penghasil gaharu merupakan tanaman hutan bukan kayu yang memiliki nilai ekonomi sangat tinggi. Gaharu dikenal sebagai agarwood atau *eaglewood* yang mengandung damar wangi (Irfandi et al., 2017) berupa gumpalan padat (gubal) berwarna cokelat kehitaman sampai hitam. Gubal gaharu memiliki nilai jual yang sangat tinggi, dengan dimanfaatkan sebagai bahan parfum, kosmetik, dan obat-obatan (Barden et al., 2000).

Indonesia merupakan salah satu produsen gaharu di dunia dan telah lama dikenal sebagai pengeksport gaharu ke beberapa negara, diantaranya adalah Saudi Arabia dan China. Gaharu yang banyak diperdagangkan selama ini adalah gaharu yang terbentuk secara alami, sehingga berdampak pada banyaknya eksploitasi hutan alam yang tidak terkendali serta pemanenan yang tidak tepat sehingga mengakibatkan gaharu menjadi langka (Sutrisno, 2011). Dalam perkembangannya, banyak petani yang membudidayakan tanaman gaharu. Salah satu kendala dalam budidaya tersebut adalah pembentukan gaharu dengan rendemen yang rendah serta proses pembentukan gubal gaharu yang membutuhkan waktu lama.

Pembentukan gubal gaharu dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah jenis pohon penghasil gaharu, mikrobia yang dapat menginduksi, serta lingkungan. Pembentukan gubal gaharu merupakan respon dari pertahanan tanaman tersebut karena adanya luka terhadap penyakit atau patogen. Saat ini banyak dikembangkan pembentukan gaharu secara buatan dengan menggunakan Fungi sebagai inokulum pemicu (Turjaman et al., 2016), salah satunya adalah dengan inokulasi *Fusarium sp.* untuk mempercepat pembentukan gubal

gaharu (Triadiati et al., 2016). Teknologi ini dapat menjadi solusi untuk meningkatkan rendemen serta masalah lambatnya pembentukan gaharu secara alami, terutama untuk diterapkan pada budidaya tanaman gaharu.

Penelitian bioinduksi pohon gaharu telah ditetapkan dalam prioritas penelitian gaharu dalam Roadmap Penelitian dan Pengembangan Kehutanan 2010-2025, salah satunya adalah mengenai teknologi pengembangan isolat fungi patogen pembentuk gaharu. Jenis isolat *Fusarium sp.* sangat berpengaruh terhadap pembentukan gaharu. *Fusarium sp.* telah banyak diketahui sebagai patogen yang sangat merugikan pada beberapa jenis tanaman, diantaranya adalah gejala layu *Fusarium* pada tanaman pisang dan cabai (Maryani et al., 2019). Identifikasi jenis spesies *Fusarium* secara molekuler dari tanaman inang sebagai sumber inokulan yang memiliki potensi bagus dalam pembentukan gaharu belum banyak dilakukan. Dalam penelitian ini akan dikaji mengenai potensi jenis *Fusarium sp.* dari tanaman inang pisang yang dapat dimanfaatkan sebagai inokulan unggul dalam pembentukan gaharu.

METODE PENELITIAN

Deteksi Makroskopis dan Mikroskopis *Fusarium sp.* *Fusarium sp.* yang diisolasi dari tanaman pisang dilakukan re-kultur pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi selama tujuh hari dengan melakukan pengamatan pertumbuhan morfologisnya. Pengamatan mikroskopis diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 untuk mengamati spora dan konidianya.

Deteksi Molekuler *Fusarium sp.* Miselium dari cendawan yang dibiakkan diambil untuk

diisolasi DNA nya menggunakan Quick-DNA™ Fungal / Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research, D6005). DNA yang telah diisolasi tersebut diukur konsentrasinya menggunakan nanodrop. DNA tersebut digunakan sebagai *template* untuk amplifikasi dengan primer universal ITS menggunakan MyTaq HS Red Mix (Bioline, BIO-25047). Hasil amplifikasi tersebut (3 µl) divisualisasi dengan elektroforesis menggunakan satu persen TBE *agarose*.

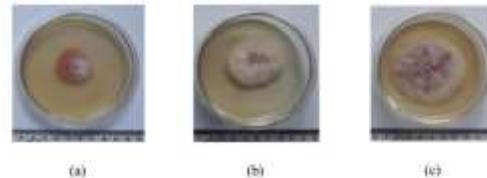
Analisis Data Sekuensing. Hasil amplifikasi DNA dengan primer ITS diseku (bi-directional sequencing) dengan menggunakan jasa PT Genetika Science. Hasil sekuen tersebut diblast untuk mengetahui sekuen dengan kemiripan paling tinggi di database NCBI dengan BLASTn (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PR_OGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome).

Analisis Kekerbatan Dengan Pohon Filogenetik. Analisis sekuen dilanjutkan dengan penjajaran (alignment) sekuen tersebut dengan sekuen-sekuen dari database NCBI yang memiliki kemiripan tinggi dengan sekuen tersebut menggunakan program GENETYX ver. 10 (GENETYX Co., Tokyo, Japan). Hasil alignment tersebut selanjutnya digunakan untuk membuat pohon filogenetik dengan metode neighbor-joining pada program Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) ver. 6 (Tamura *et al.*, 2007)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dari biakan murni *Fusarium sp* yang diisolasi dari tanaman pisang pada

medium PDA menunjukkan pertumbuhan hifa berwarna putih keunguan (Gambar 1).



Gambar 1. Pengamatan makroskopis *Fusarium sp.* setelah 1 hari (a), 3 hari (b), 5 hari (c) rekultur pada medium PDA.

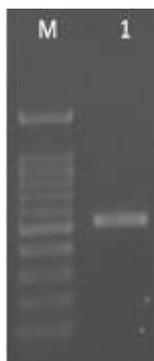
Pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya bentuk spora dan konidia dari jenis *Fusarium sp.* (Gambar 2). Pengamatan *Fusarium sp.* baik secara makroskopis maupun mikroskopis menunjukkan ciri umum dari cendawan tersebut, tetapi belum dapat diketahui jenis spesiesnya karena kemiripan ciri makroskopis dan mikroskopis dari jenis *Fusarium*.



Gambar 2. Pengamatan mikroskopis spora dan konidia *Fusarium sp.*

Deteksi Molekuler. Identifikasi jenis dilakukan secara molekuler dengan mengisolasi DNA sampel jamur dengan kit isolasi Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research, D6005). Hasil isolasi DNA diukur konsentrasinya menggunakan nanodrop dengan hasil 68,6 ng/µl ($A_{260/280} = 1,90$; $A_{260/230} = 1,24$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa DNA yang

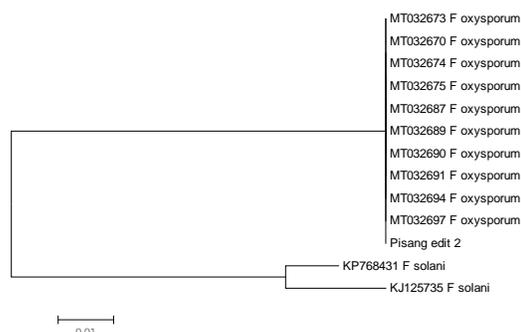
diisolasi cukup untuk digunakan sebagai *template* dalam reaksi PCR. Teknik PCR telah banyak digunakan dalam mengidentifikasi jamur sampai tingkat spesiesnya. Amplifikasi DNA sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan primer universal ITS. Pada family cendawan, *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan daerah terkonservasi yang terletak pada ribosomal DNA (rDNA) sehingga bagian tersebut umum digunakan dalam deteksi cendawan secara molekuler (Nugraheni *et al.*, 2015). Hasil amplifikasi sampel cendawan tersebut menunjukkan bahwa sampel yang diuji positif terdeteksi bagian ITS 1 dengan ukuran produk 500 hingga 600 bp (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil visualisasi DNA dari produk PCR menggunakan primer ITS

Analisis Sekuen dan Hubungan Kekerbatan. Sekuensing yang dilakukan dalam penelitian ini dilakukan secara dua arah (*bidirectional sequencing*) untuk mendapatkan hasil keseluruhan sekuen dari produk PCR yang dianalisis. Analisis BLASTn sekuen dari produk PCR yang diperoleh menunjukkan sampel yang diamati memiliki kemiripan paling tinggi (99,36 persen) dengan beberapa *Fusarium oxysporum* (Gambar 4) yang terdapat dalam *database genebank*. Oleh karena itu, sampel

Fusarium yang dianalisis dalam penelitian ini termasuk dalam jenis *Fusarium oxysporum*.



Gambar 4. Analisis kekerabatan dengan pohon filogenetik isolat cendawan dari pisang berdasarkan penyejajaran sekuen ITS 1 beberapa *F. oxysporum* (Accession number MT032670, MT032673, MT032674, MT032675, MT032687, MT032689, MT032690, MT032691, MT032694, MT032697) dan *F. solani* (Acc. no. KP768431&KJ125735).

Pada analisis kekerabatan filogenetik dalam penelitian ini (Gambar 4) menunjukkan bahwa isolat yang diamati membentuk kluster/mengelompok dengan beberapa isolat *F. oxysporum* dan terpisah dari kelompok *F. solani*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan *F. oxysporum* dibandingkan dengan *F. solani*. Kedua jenis *Fusarium* tersebut telah dilaporkan memiliki potensi sebagai inokulum untuk mendapatkan gubal gaharu karena respon tanaman dengan adanya pelukaan/infeksi (Nugraheni *et al.*, 2015).

Fusarium oxysporum telah dilaporkan sebagai patogen pada penyakit layu pada tanaman pisang (Maryani *et al.*, 2019), di sisi lain cendawan tersebut juga teridentifikasi dari gubal gaharu yang diduga berasosiasi dengan pembentukan gubal gaharu tersebut secara alami (Zulfendi *et al.*, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa isolat *F.*

oxysporum pada penelitian ini memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai inokulum pemicu terbentuknya gubal gaharu dalam pembudidayaannya.

KESIMPULAN

Dari identifikasi morfologi, mikroskopis, dan molekuler dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa *Fusarium* yang diisolasi dari tanaman inang pisang termasuk dalam *Fusarium oxysporum*. *Fusarium* jenis tersebut juga telah dilaporkan terdapat dalam gubal gaharu yang terbentuk secara alami, sehingga isolat *Fusarium oxysporum* yang diisolasi dari tanaman inang pisang dalam penelitian ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai inokulum bagi tanaman gaharu.

DAFTAR PUSTAKA

- Barden A, Anak N, Mulliken T, Song M. 2000. *Heart of the matter. Agarwood use and trade and CITES implementation Aquilaria malaccensis*. Cambridge: TRAFFIC International.
- Irfandi, F. , Bambang H., Raden S. 2017. Inokulasi Cendawan *Fusarium* sp. dari Berbagai Tanaman Inang dan Diameter Batang terhadap Pembentukan Kemedangan Gaharu Jenis *Gynerospora versteegii*. *AGROVIGOR* 10 (1): 13 – 20
- Maryani N, Lomabrd L, Poerba YS, Subandiyah S, Crous PW, Kema GHJ. 2019. Phylogeny and genetic diversity of the banana *Fusarium* wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in the Indonesian centre of origin. *Studies in Micology* Vol. 92: 155-194
- Nugraheni YMMA, Lutfi A, Riza AP. 2015. Identifikasi tiga isolat cendawan penghasil gaharu dari Nusa Tenggara Barat dengan menggunakan primer ITS dan TEF 1- α . *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* Vol.9:77-90
- Sutrisno, E. 2011. Inokulasi Jamur *Fusarium* Sp. dalam Media Biakan Padat dan Cair Terhadap Pembentukan Gaharu Pada Pohon Karas (*Aquilaria Malaccensis*, Lamrk). Riau: Balai Penelitian Teknologi Serat Tanaman Hutan
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipiski A, Kumar S. 2007. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30:2725–2729
- Triadiati T, Diana AC, Miftahudin. 2016. Induksi Pembentukan Gaharu Menggunakan Berbagai Media Tanam dan Cendawan *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. Pada *Aquilaria crassna*. *Jurnal Sumberdaya Hayati* Vol. 2:1-6
- Turjaman M, Hidayat A, Santoso E. 2016. Development of Agarwood Induction Technology Using Endophytic Fungi. In: MOHAMED R. (eds) *Agarwood: 57-71*. Tropical Forestry. Springer, Singapore
- Zulfendi, Rinaldi I, Khairan. 2019. Isolation and identification of Endophytic Fungus *Fusarium* sp from Agarwood (*Aquilaria* sp) population originated from the forest of Aceh Tamiang district, Indonesia. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 523 012013