

# Mekanisme Serangan Patogen Lodoh pada Semai Pinus (*Pinus merkusii*)<sup>1</sup>

## *Attack Mechanism of Damping-off Pathogens of Pinus merkusii Seedling*

Achmad<sup>2\*</sup>, S. Hadi<sup>2\*\*\*</sup>, S. Harran<sup>3\*\*</sup>, E. Gumbira Sa'id<sup>4</sup>, B. Satiawiharja<sup>5</sup> dan M. Kosim Kardin<sup>6\*\*</sup>

<sup>1)</sup> Bagian dari disertasi penulis pertama, <sup>2)</sup> Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan IPB, <sup>3)</sup> Departemen Biologi, Fakultas MIPA IPB, <sup>4)</sup> Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, <sup>5)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, <sup>6)</sup> BB-Biogen, Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian

<sup>\*</sup> Penulis untuk korespondensi, alamat: Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan IPB, Jl Lingkar Akademik Kampus IPB Darmaga PO Box 168 Bogor 16680, telp. 0251-8626806, faks. 0251-8626886, mobile 08129415399,

e-mail [depsilvik@ipb.ac.id](mailto:depsilvik@ipb.ac.id), [achmadrm@yahoo.com](mailto:achmadrm@yahoo.com)

<sup>\*\*</sup>) Purnabakti <sup>\*\*\*</sup>) Almarhum

### ABSTRACT

The study aims to determine the attack period of damping-off pathogen, i.e. *F. oxysporum* and *R. solani*, on *P. merkusii*, as well as studying the role of cellulolytic and pectolytic enzymes in the attack mechanism of both damping-off pathogens. Attack period determined by inoculated the two pathogenic fungi to seed or some age level of *P. merkusii* seedlings. Cellulolytic enzyme activity, represented by cellulase-C1, was determined by spectrophotometric techniques. Pectolytic enzyme activity, represented by polygalacturonase, determined by iodometric techniques and growth of the two pathogenic fungi in the medium containing pectin. The results showed that the attack period of damping-off pathogen, i.e. *F. oxysporum* and *R. Solani*, on *P. merkusii* seedling started from seed to 7-week old seedling, the 8-week old seedlings were free from damping-off. Both pathogens showed cellulase-C1 activity, and the enzyme activity in *F. oxysporum* is higher than that in *R. solani*. Iodometric technique could not detect the polygalacturonase activity of two fungal pathogens, presumably because *P. merkusii* stem seedling substrate which used in testing was too few. Nevertheless the two pathogenic fungi grew more intensively in medium containing pectin shown by higher mycelial dry weight than in media without pectin, and it shows the that the fungi capable to degrade pectin using pectolytic enzymes and use the carbon produced for growth.

**Keywords:** seedling death percentage, cellulase-C1, polygalacturonase

### PENDAHULUAN

Lodoh merupakan salah satu penyakit utama di pesemaian tanaman kehutanan maupun pertanian. Penyakit ini disebabkan oleh sekelompok fungi penghuni tanah yang merupakan parasit fakultatif tanpa kekhususan dengan inangnya (Hartley 1921). Hifa patogen menyebar melalui tanah, dan interaksi terjadi melalui penetrasi secara langsung pada epidermis yang masih lemah yang melindungi jaringan sukulen inang (Boyce 1961).

*Pinus merkusii* merupakan salah satu jenis pohon asli Indonesia. Pohon ini menghasilkan kayu untuk bahan bangunan, bahan korek api, terpentin dan gondorukem, serta dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pulp untuk menghasilkan kertas. Oleh karena itu *P. merkusii* menjadi salah satu jenis pohon yang disarankan ditanam pada Hutan Tanaman Industri (HTI). Pada HTI, ditanam pohon sejenis pada skala yang luas, oleh karena itu diperlukan tersedianya bibit dalam jumlah yang cukup agar keberlangsungan HTI terjaga. Terkait dengan penyediaan semai, serangan patogen lodoh dapat merupakan salah satu diantara beberapa penyebab utama berkurangnya jumlah semai. Intensitas serangan lodoh di pesemaian sangat bervariasi dan dapat mencapai 100% (Suharti *et al.* 1991).

*Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. merupakan jenis-jenis fungi patogen lodoh yang dilaporkan menyerang *P. merkusii* di pesemaian (Sujud 1983; Achmad *et al.* 1994). *Fusarium* sp. termasuk famili Tuberculariaceae dan merupakan fungi penghuni tanah yang terdiri atas lebih dari 40 spesies (Booth 1971), dan yang diketahui menyebabkan lodoh pada semai *P. merkusii* adalah *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. ventricosum*, dan *F. acuminatum* dengan daya patogenisitas yang bervariasi (Roth *et al.* 1947). *Rhizoctonia* termasuk 'form-ordo' Agonomycetales 'form-klas' Deuteromycetes (Alexopoulos dan Mims 1979). Satu diantara spesies-spesies yang sering menimbulkan penyakit lodoh pada *P. merkusii* adalah *R. solani*. Virulensi ras-ras *R. solani* terhadap *P. merkusii* beragam (Roth dan Riker 1943). *Rhizoctonia* memiliki mekanisme variabilitas yang khas, yaitu anastomosis (Ogoshi 1987).

Patogen menyerang inang dengan melibatkan beberapa mekanisme. Untuk kasus penyakit lodoh, Agrios (1988) mengemukakan tahap-tahap infeksi untuk tipe lodoh benih. Fungi masuk ke dalam benih dengan mempenetrasi langsung melalui kulit benih yang lembab atau melalui rekahan pada permukaan kulit, serta selanjutnya mempenetrasi embrio atau jaringan kecambah benih melalui tekanan mekanik dan penghancuran oleh enzim. Pektinase dilepaskan fungi

untuk menghancurkan lamela tengah yang menjadi pengikat antar sel inang sehingga jaringan termaserasi. Invasi dan penghancuran jaringan lebih lanjut terjadi akibat pertumbuhan miselia fungi di antara dan melalui sel-sel. Hifa yang tumbuh menembus dinding sel diameternya mengecil sehingga menjadi separoh ukuran normal. Protease mendegradasi protoplas jaringan yang diinvasi, sedangkan kekuatan fisik dan kadang selulase merusak dinding sel.

Pada penelitian ini dipelajari periode serangan patogen lodoh *F. oxysporum* dan *R. solani* terhadap *P. merkusii*. Di samping itu dipelajari pula peran enzim selulolitik dan pektolitik dalam mekanisme serangan *P. merkusii* oleh kedua jenis patogen lodoh.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan terdiri atas pengujian periode serangan patogen lodoh pada benih dan semai *P. merkusii* serta penentuan aktivitas selulolitik dan pektolitik fungi patogen. Pengujian periode serangan patogen lodoh dilakukan di rumah plastik di lingkungan PAU Bioteknologi IPB, sedangkan penentuan aktivitas selulolitik dan pektolitik fungi patogen dilakukan di laboratorium Biokimia FMIPA IPB. Penyiapan inokulum fungi patogen dilakukan di Laboratorium Perlindungan Hutan Fahutan IPB. Benih pinus yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari KPH Cianjur - Jawa Barat.

Isolat patogen lodoh *F. oxysporum* dan *R. solani* yang digunakan merupakan isolat dengan tingkat patogenisitas tertinggi yang dipilih dari hasil pemurnian dan pengujian isolat-isolat yang diperoleh dari isolasi dari benih dan dari pangkal semai pinus terserang lodoh. Isolat *F. solani* memiliki karakteristik sebagai berikut (Gambar 1): koloni berwarna keunguan, miselium udara seperti kapas, awalnya berwarna putih kemudian menjadi keunguan, memiliki hifa  $\varnothing$  2-4  $\mu$ m, mikro konidia berukuran 4-9 x 2-3  $\mu$ m, makro konidia berukuran 20-29 x 4-5  $\mu$ m, konidia hialin, klamidospora berukuran  $\varnothing$  5-10  $\mu$ m. Fungi memiliki percabangan konidiofor pendek yang merupakan karakter khas *F. oxysporum* (Samson *et al.* 1984). Isolat *R. solani* memiliki karakteristik khas yaitu memiliki percabangan hifa tegak lurus (Gambar 2). Karakteristik tersebut sesuai dengan yang dikemukakan oleh Ogoshi (1975) dan Sneh *et al.* (1991).

Benih *P. merkusii* yang akan digunakan direndam dalam air destilata selama 24 jam. Benih yang tenggelam kemudian disterilkan permukaannya dengan merendam dalam larutan NaOCl 0.5% selama 10 menit, dan selanjutnya benih dibilas beberapa kali dengan air steril. Benih kemudian dikering-anginkan dengan meletakkannya dalam wadah yang sudah dialasi kertas saring steril, selanjutnya benih ditabur pada bak pengecambah berisi media tanam steril. Semai dipelihara dengan penyiraman tiap sore hari hingga mencapai umur yang diperlukan untuk perlakuan.

Fungi patogen dibiakkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Untuk membuat inokulum, 3 potongan koloni patogen ditanam pada media CMS (*Corn Meal Sand*) yang terdiri atas campuran pasir, hancuran biji

jagung dan air (96:4:20 g/g/ml) dalam labu Erlenmeyer volume 250 ml yang diotoklaf (121 °C, 1 atmosfer) selama 60 menit. Potongan koloni patogen diambil dari biakan murni pada media PDA berumur 5 hari menggunakan bor gabus (*cork borer*) dengan diameter 6 mm. Labu beserta isinya diinkubasi pada suhu kamar selama 2 minggu. Untuk kontrol media patogen, labu Erlenmeyer berisi jenis media campuran yang sama tanpa diinokulasi fungi dидiamkan pada suhu kamar selama dua minggu.

Pengujian periode serangan patogen lodoh disusun dengan rancangan petak terbagi dengan rancangan lingkungan acak lengkap 2 ulangan. Satuan percobaannya berupa 20 semai yang masing-masing ditanam pada wadah tanam terpisah, yaitu berupa politub yang memuat 100 g media tanam. Sebagai petak utama adalah inokulasi fungi patogen yang terdiri atas 5 taraf, yaitu kontrol, ditambah media patogen, diinokulasi *F. oxysporum*, diinokulasi *R. solani*, serta diinokulasi *F. oxysporum* dan *R. solani*. Sebagai anak petak adalah umur semai pinus dengan 6 taraf, yaitu 0, 2, 4, 6, 7 dan 8 minggu,; umur 0 menunjukkan bahwa bahan pertanamannya adalah benih.

Inokulasi fungi patogen dilakukan dengan mencampur 2.5 g inokulum patogen dengan 100 g media tanam dalam politub, kemudian ditambah 10 ml air steril, selanjutnya wadah tanam ditutup dengan plastik dan diinkubasi selama 4 hari. Untuk perlakuan 'ditambah media patogen', maka ke dalam media dalam politub ditambahkan 2.5 g media patogen, kemudian diinkubasi selama 4 hari. Pada semua perlakuan kemudian dilakukan penanaman benih atau semai *P. merkusii* sesuai taraf perlakuannya. Semai diambil dari bak pengecambah, dan sebelum ditanam perakarannya disemprot lebih dahulu dengan air steril. Seluruh wadah tanam kemudian ditempatkan di bawah rumah plastik yang dinaungi paranet 70% dan dilakukan penyiraman setiap hari pada sore hari. Pengamatan dilakukan terhadap semai yang mati atau benih yang tidak tumbuh pada 14 hari setelah inokulasi.

Aktivitas enzim patogen yang diuji adalah selulolitik dan pektolitik. Aktivitas enzim selulolitik diwakili oleh aktivitas FP-ase ('Filter Paper'-ase) atau selulase-Cl, pengukurannya dilakukan menggunakan teknik spektrofotometri, dan senyawa standar yang digunakan adalah glukosa. Aktivitas enzim pektolitik diwakili oleh aktivitas poligalakturonase, pengukurannya dilakukan dengan teknik iodometri, dan senyawa standar yang digunakan adalah asam galakturonat monohidrat.

Enzim diekstrak dari isolat yang ditumbuhkan pada beberapa macam 'media'. Media pertama adalah PDA dalam cawan petri yang ditanami fungi patogen dan diinkubasi selama tujuh hari, dan sebagai kontrol adalah media PDA yang tidak ditanami fungi patogen. Media ke dua adalah CMS steril dalam tabung reaksi yang diinokulasi dengan satu potongan koloni fungi patogen  $\varnothing$  6 mm dan diinkubasi selama tujuh hari, dan sebagai kontrol adalah media CMS yang tidak diinokulasi fungi patogen. Media ke tiga adalah CMS steril dalam tabung reaksi yang di atasnya ditempatkan 0.1 gram potongan batang semai *P. merkusii* steril (panjang potongan  $\pm$  1 cm) berumur 2 dan 8 minggu, kemudian media diinokulasi dengan satu potongan koloni fungi patogen

ø 6 mm dan selanjutnya diinkubasi selama tujuh hari. Kontrol disiapkan dengan prosedur sama, hanya saja tidak dilakukan inokulasi fungi patogen. Sterilisasi permukaan potongan batang semai *P. merkusii* dilakukan dengan cara merendamnya dalam HgCl<sub>2</sub> 0.5 % selama 3 menit kemudian dibilas dua kali dengan merendam dalam air steril selama 15 menit.

Uji lain untuk mendeteksi produksi pektinase fungi patogen dilakukan dengan menumbuhkan kedua jenis fungi tersebut pada media pektin (Atlas 1993) dan diinkubasi selama 10 hari. Produksi pektinase ditandai antara lain oleh berubahnya warna media dari hijau kecoklatan menjadi merah.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Inokulasi fungi patogen lodoh nyata mengakibatkan persentase semai atau benih mati yang tinggi dibanding kontrol maupun ditambah media patogen (Gambar 3). Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa tipe lodoh yang terjadi mencakup lodoh benih, lodoh dalam tanah, dan lodoh pangkal batang. Lodoh benih ditunjukkan oleh membusuknya benih sehingga tidak berkecambah. Lodoh dalam tanah ditunjukkan oleh benih yang mampu berkecambah tetapi membusuk sebelum hipokotil mencapai permukaan tanah. Untuk lodoh pangkal batang, patogen menyerang semai yang masih sukulen dengan gejala khas berupa terjadinya penggentingan hipokotil akibat maserasi jaringan diikuti pembusukan hipokotil dekat permukaan tanah secara cepat, sehingga semai yang masih segar menjadi rebah.

Serangan lodoh terberat dan tercepat terjadi pada semai umur 2 minggu. Pada umur tersebut, inokulasi *R. solani* mengakibatkan 100% semai mati pada 4 hari setelah semai ditanam. Semai mati 100% untuk umur yang sama akibat dinokulasi *F. oxysporum* atau kedua jenis patogen berturut-turut terjadi pada 8 dan 6 hari setelah semai ditanam. Pada semai umur 4 minggu, serangan *R. solani* dan kedua jenis patogen masih mengakibatkan 100% semai mati, sedangkan inokulasi *F. oxysporum* saja mengakibatkan semai mati 80%. Pada semai umur 6 minggu, persentase semai mati nyata lebih rendah dibanding semai dengan umur lebih muda; semai mati tertinggi adalah 55.5% akibat inokulasi *R. solani*. Untuk semai umur 7 minggu, semai mati tertinggi adalah 15% akibat inokulasi *R. solani*, sedang semai umur 8 minggu telah bebas dari kematian akibat serangan lodoh (Gambar 3).

Terdeteksinya glukosa setelah filtrat biakan fungi direaksikan dengan kertas saring sebagai sumber selulosa, menunjukkan dihasilkannya selulase-C1 oleh fungi bersangkutan. Hancuran biji jagung pada media CMS maupun potongan batang semai *P. merkusii* mengandung selulosa. *R. solani* maupun *F. oxysporum* menghasilkan selulase-C1 bila dibiakkan pada media yang mengandung selulosa sebagai sumber karbon, yaitu CMS dan CMS yang ditambah potongan batang semai *P. merkusii*, yang ditunjukkan oleh dihasilkannya glukosa (Tabel 1)

Sumber karbon pada PDA bukan selulosa melainkan gula sederhana. Filtrat kontrol PDA menyebabkan terdeteksinya glukosa dengan kadar paling tinggi dibanding perlakuan lainnya, yaitu mencapai 0.889 mg/ml. Filtrat *F. oxysporum* dan *R. solani* yang dibiakkan pada PDA menyebabkan terdeteksinya glukosa berturut-turut sebesar 0.035 dan 0.143 mg/ml (Tabel 1).

Tanpa fungi yang dapat mendegradasi selulosa pada media, kadar glukosa yang ditimbulkan oleh filtrat kontrol CMS dan kontrol CMS yang ditambah potongan batang semai *P. merkusii* umur dua atau delapan minggu sangat rendah, yaitu berturut-turut hanya sebesar 0.013, 0.013, dan 0.015 mg/ml. Glukosa yang terdeteksi tersebut dapat dipastikan berasal dari gula sederhana yang terdapat pada hancuran biji jagung pada CMS. Dari ketiga macam media tersebut, CMS tanpa potongan batang semai dapat dipastikan mengandung selulosa teredah, yaitu yang terdapat pada hancuran biji jagung, dan kandungan selulosa media makin meningkat berturut-turut oleh penambahan potongan batang semai *P. merkusii* umur dua minggu dan delapan minggu.

Kadar glukosa yang ditimbulkan oleh filtrat biakan *F. oxysporum* pada CMS dan CMS yang ditambah potongan batang semai *P. merkusii* umur dua minggu atau delapan minggu berturut-turut sebesar 0.171, 0.213, dan 0.323 mg/ml. Kadar glukosa yang ditimbulkan oleh filtrat biakan *R. solani* pada urutan media yang sama juga meningkat, yaitu sebesar 0.078, 0.157, 0.202 mg/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas selulase-C1 kedua jenis fungi patogen makin meningkat dengan semakin banyaknya selulosa yang terdapat pada media. Produksi glukosa *F. oxysporum* nyata lebih tinggi dibanding *R. solani* pada semua media yang mengandung selulosa sebagai sumber karbon. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas selulase-C1 *F. oxysporum* lebih tinggi dibanding *R. solani*.

Berlainan dengan aktivitas selulase-C1 kedua jenis fungi patogen yang dapat dideteksi pada semua media yang mengandung selulosa, aktivitas poligalakturonase ternyata tidak dapat dideteksi berdasarkan teknik iodometri yang telah dilakukan. Hal tersebut ditunjukkan oleh kadar asam galakturonat monohidrat yang ditimbulkan oleh filtrat biakan fungi pada semua media maupun kontrolnya yang tidak berbeda nyata (Tabel 1).

Meskipun aktivitas poligalakturonase kedua fungi patogen tidak berhasil dideteksi dengan teknik iodometri yang diterapkan, pembiakan kedua jenis fungi patogen pada medium pektin mengindikasikan dihasilkannya pektinase. Pertumbuhan kedua jenis fungi pada medium yang mengandung pektin lebih intensif dibanding pertumbuhan pada medium tanpa pektin, dan hal tersebut ditunjukkan oleh bobot kering kedua jenis fungi patogen yang nyata lebih tinggi pada medium berpektin dibanding kontrol (Gambar 4). *R. solani* tumbuh lebih intensif pada medium berpektin dibanding *F. oxysporum*. Bobot kering *R. solani* pada medium berpektin mencapai 24.5 kali lipat dibanding bobot kering pada kontrol, sedangkan *F. oxysporum* hanya mencapai 3.2 kali lipat.

## Pembahasan

Patogen lodoh, dalam hal ini adalah *F. oxysporum* dan *R. solani*, dapat menyerang *P. merkusii* dari benih hingga semai berumur tujuh minggu. Rentang periode serangan ini lebih panjang dari yang dilaporkan Hodge dan Luchle (1959), yaitu hingga semai berumur empat atau lima minggu.

Kedua jenis fungi patogen, baik sendiri-sendiri maupun bersama-sama, sangat intensif menyerang semai muda. Serangan pada semai berumur dua minggu sampai mengakibatkan semua semai mati, sedang pada semai berumur empat minggu masih dapat mengakibatkan semua semai mati. Pesentase semai mati akibat serangan patogen lodoh makin berkurang dengan makin tuanya semai. Hal tersebut menunjukkan bahwa makin tua semai, ketahanannya terhadap serangan patogen lodoh makin meningkat.

Boyce (1961) mengaitkan serangan patogen dengan kondisi jaringan semai yang masih sukulen. Perkembangan batang semai *P. merkusii* pada yang dipelajari penelitian ini menunjukkan bahwa pada umur dua minggu, semua bagian batang masih berupa jaringan sukulen. Sifat sukulen tersebut makin berkurang dengan bertambah tuanya semai. Batang semai umur lima minggu mulai berkayu, dan makin bertambah umur semai, batangnya makin keras. Pengamatan pada semai menunjukkan bahwa pengkerasan bagian-bagian batang tidak terjadi serentak. Batang dekat permukaan tanah adalah yang paling lambat mengeras. Bagian batang semai umur lima minggu yang dekat dengan leher akar (dekat permukaan tanah) masih agak sukulen, sehingga masih dapat diinfeksi patogen lodoh.

Agrios (1988) menguraikan proses infeksi penyakit lodoh tipe lodoh benih yang melibatkan enzim-enzim pendeградasi lamela tengah dan dinding sel, meliputi pektinase, selulase, dan protease. Pada lodoh pangkal batang, terjadi gejala maserasi dan pembusukan jaringan terinfeksi secara cepat. Bateman dan Basham (1976) menyatakan bahwa gejala demikian memperlihatkan terlibatnya aktivitas enzim-enzim patogen pendeградasi lamela tengah dan dinding sel inang, yaitu pektinase dan selulase, dalam patogenesis.

Pengujian aktivitas selulase *F. oxysporum* dan *R. solani* dilakukan dengan membiakkan kedua jenis fungi patogen pada tiga macam media, yaitu PDA, CMS, dan CMS ditambah potongan batang semai pinus. PDA merupakan media media kaya dengan gula sederhana sebagai sumber karbon. Tingginya kadar glukosa yang ditimbulkan oleh filtrat media PDA kontrol semata-mata berasal dari gula sederhana yang terdapat pada media tersebut. Dari filtrat biakan kedua jenis patogen pada PDA, terdeteksi glukosa dengan kadar yang rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa gula sederhana pada PDA dikonsumsi oleh kedua jenis fungi.

Penambahan filtrat kedua jenis fungi yang dibiakkan pada media CMS pada kertas saring, menyebabkan terdeteksinya glukosa. Hal tersebut menunjukkan aktivitas selulase-C1 kedua jenis fungi patogen untuk mendeградasi selulosa sebagai sumber karbon yang terdapat pada hancuran biji jagung. Dengan

demikian selulase-C1 dihasilkan secara adaptif oleh kedua jenis fungi patogen.

Sifat adaptif produksi selulase-C1 dikuatkan oleh terdeteksinya glukosa yang diakibatkan oleh filtrat fungi yang dibiakkan pada media CMS yang diberi potongan batang semai *P. merkusii*. Dibanding pada media CMS saja, aktivitas selulase-C1 kedua jenis fungi pada media terakhir nyata lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa potongan batang semai *P. merkusii* menjadi substrat selulosa tambahan di samping selulosa yang terdapat pada hancuran biji jagung. Kontrol media CMS dengan batang semai *P. merkusii* akan tetapi tidak ditanami fungi patogen tidak menunjukkan adanya aktivitas selulase-C1. Hal tersebut karena glukosa yang terdeteksi dapat dipastikan berasal dari gula sederhana yang terdapat pada hancuran biji jagung maupun batang semai *P. merkusii*.

Bahwa selulase merupakan enzim adaptif, antara lain terlihat dari metode-metode pengujian produksi selulase jasad renik secara *in-vitro* yang selalu menggunakan media yang disertai selulosa sebagai sumber karbon untuk membiakkan jasad renik yang akan diuji untuk memicu produksi selulase jasad renik bersangkutan. Untuk *R. solani*, produksi selulase dan aktivitasnya telah dilaporkan antara lain oleh Bateman (1964). Yoshida *et al.* (1989) melaporkan dihasilkannya enzim selulolitik oleh *F. oxysporum* strain SUF850. Jika strain tersebut dibiakkan dengan polisakarida Avicel, CMC (Carboksimetil Selulosa) atau xylan, maka ketiga sumber karbon tersebut didegradasi. Dari filtrat biakan fungi pada avicel mereka berhasil memurnikan empat macam enzim selulolitik yaitu CMCCase-I, CMCCase II, F-nitrofenil- $\beta$ -D-selobiosidase, dan silanase.

Aktivitas selulase filtrat biakan kedua jenis fungi pada media dengan potongan batang semai umur 8 minggu lebih tinggi dibanding aktivitas selulase filtrat biakan kedua jenis fungi pada media dengan potongan batang semai berumur 2 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa kadar selulosa batang semai 8 minggu lebih besar dibanding kadar selulosa batang semai yang berumur 2 minggu, dengan asumsi bahwa perbedaan aktivitas selulase C1 tersebut semata-mata disebabkan oleh faktor substrat. Selulosa merupakan komponen utama pada dinding sel sekunder, yaitu dinding sel yang terbentuk setelah sel mengalami pembesaran maksimum dan merupakan karakteristik seluler pada jaringan yang telah terdiferensiasi sempurna (Esau, 1958).

Bila aktivitas selulase-C1 nyata terdeteksi pada filtrat biakan kedua jenis fungi patogen pada media yang mengandung selulosa, maka aktivitas pektinase, dalam hal ini adalah poligalakturonase (PG), tidak berhasil dideteksi menggunakan teknik iodometri yang diterapkan. Tidak terdeteksinya aktivitas PG pada ketiga kontrol dapat difahami karena tidak ada fungsi penghasil PG, demikian pula pada filtrat biakan fungi pada PDA karena tidak adanya substrat yang sesuai bagi PG yang dihasilkan fungi, yang sekaligus menunjukkan bahwa produksi PG bersifat adaptif. Akan tetapi filtrat biakan kedua jenis patogen pada CMS maupun CMS ditambah potongan batang semai *P. merkusii* juga tidak menunjukkan aktivitas PG. Hancuran biji jagung pada media CMS seharusnya dapat menjadi sumber pektat

sebagai substrat PG, terlebih lagi potongan batang semai *P. merkusii*.

Tidak terdeteksinya aktivitas PG melalui teknik iodometri pada penelitian ini diduga berkaitan dengan kuantitas bahan tanaman sebagai sumber pektat dan teknik deteksinya. Dalam penelitian ini digunakan 0.1 g potongan batang semai *P. merkusii* sebagai sumber pektat dan deteksi dilakukan dengan teknik iodometrik. Bateman (1963) juga menggunakan teknik deteksi iodometri, akan tetapi contoh sumber pektatnya jauh lebih banyak yaitu 100 g hipokotil semai *P. vulgaris*. Ayers *et al.* (1966) mendeteksi aktivitas PG dan PATE ('pectic acid transeliminase' atau poligalakturonat transeliminase) dengan teknik spektrofotometri. Aktivitas PG dideteksi pada panjang gelombang 515 nm, dan teknik tersebut mampu mendeteksi asam galakturonat yang merupakan produk aktivitas PG hingga 0.05 mg/ml.

Meskipun dengan teknik iodometri aktivitas poligalakturonase tidak berhasil dideteksi, pembiakan pada medium pektin mengindikasikan bahwa kedua jenis fungi patogen menghasilkan pektinase. Dibanding aktivitas pektinase *F. oxysporum*, aktivitas pektinase *R. solani* diduga lebih tinggi. Hal tersebut ditunjukkan oleh lebih tingginya peningkatan bobot kering miselia *R. solani* pada medium pektin yang menunjukkan bahwa pektinase fungi patogen tersebut lebih efektif mendegradasi pektin dan selanjutnya memanfaatkannya sebagai sumber karbon dibanding *F. oxysporum*. Dugaan lebih tingginya aktivitas pektinase *R. solani* tersebut juga didukung oleh perubahan warna medium yang lebih tajam, disamping itu fungi patogen tersebut juga mengakibatkan medium menjadi transparan.

Goodman *et al.* (1986) mengemukakan bahwa pektinase terdiri atas enzim-enzim pektin metil esterase (PME), poligalakturonase (PG), pektin metil galakturonase (PMG), pektintranseliminase (PTE) dan poligalakturonat transeliminase (PATE). pembiakan fungi pada medium pektin dapat memberikan indikasi dihasilkannya pektinase, akan tetapi tidak dapat diketahui macam enzim yang dihasilkan oleh tiap jenis fungi patogen tersebut. Meskipun demikian secara umum hasil ini mendukung hasil penelitian Bateman (1963) yang berhasil mendeteksi aktivitas PG dalam filtrat biakan *R. solani* dengan menggunakan hipokotil *Phaseolus vulgaris* sebagai sumber pektat. Ayers *et al.* (1966) juga berhasil mendeteksi aktivitas PG dan PATE dari hipokotil jenis tanaman yang sama yang terinfeksi *R. solani*. Fernandes *et al.* (1993) mempelajari enzim pektolitik yang dihasilkan enam isolat *F. oxysporum*. Jika isolat dibiakkan pada media yang mengandung pektin sebagai sumber karbon, aktivitas PG dapat dideteksi pada filtrat biakan setelah tiga hari. Aktivitas endo-PG hanya terdeteksi pada satu isolat. Peran aktivitas enzim selulolitik dan pektolitik dalam patogenesis penyakit busuk batang pada jagung oleh *Fusarium* sp. dan *Rhizoctonia* sp. dilaporkan Ahmad *et al.* (2006).

Aktivitas selulase-C1 *F. oxysporum* lebih tinggi dibanding aktivitas selulase-C1 *R. solani*. Meskipun demikian ternyata hasil pengujian periode serangan lodoh memperlihatkan *R. solani* lebih agresif menyerang semai *P. merkusii* dibanding *F. oxysporum*.

Bateman (1963) mengemukakan bahwa 'enzim maserase' yang terlibat dalam proses infeksi oleh *R. solani* terutama tersusun atas PG dan selulase. Kedua enzim secara sinergistik berperan dalam maserasi jaringan. Keberadaan PG dalam maserasi jaringan terinfeksi sifatnya esensial. Selulase komersial bila tanpa PG tidak mengakibatkan maserasi jaringan., sedangkan PG bekerja lebih baik bila terdapat selulase. Dugaan bahwa pektinase yang dihasilkan *R. solani* lebih aktif mendegradasi pektin dibanding pektinase yang dihasilkan *F. oxysporum* dapat menerangkan fenomena lebih agresifnya *R. solani* terhadap semai *P. merkusii* dibanding *F. oxysporum*, meskipun fungi patogen yang disebut terakhir menghasilkan selulase dengan aktivitas yang lebih tinggi.

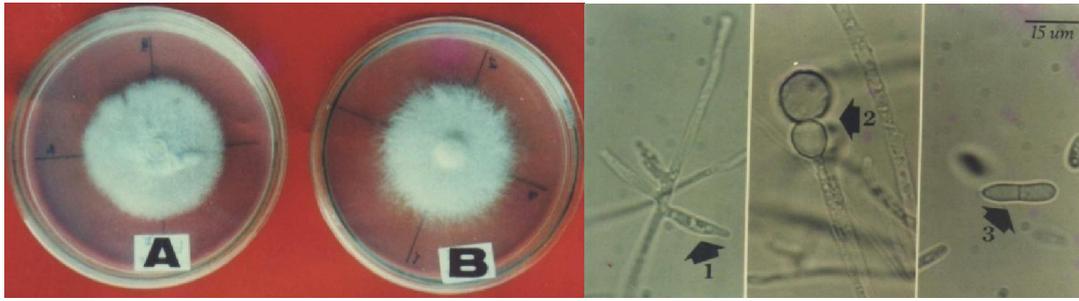
## KESIMPULAN

1. Serangan lodoh pada semai *P. merkusii* terjadi hanya pada periode umur tertentu, yaitu dari benih hingga semai berumur tujuh minggu. Semai umur delapan minggu telah bebas dari serangan lodoh.
2. Kedua jenis fungi patogen menghasilkan enzim selulolitik dan pektolitik. Aktivitas selulase-C1 pada *F. oxysporum* lebih tinggi dibanding pada *R. solani*. Pektinase *R. solani* lebih efektif mendegradasi pektin dibandingkan pektinase *F. oxysporum*.

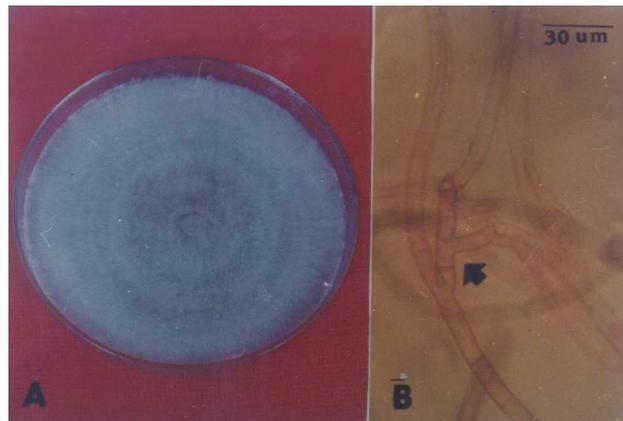
## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Fakuara Y, Wulandari AS, Herliyana EN. 1994. Studi kemampuan mikoriza dalam perlindungan hayati terhadap patogen lodoh dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan semai *Pinus merkusii*. Laporan Hasil penelitian. Bogor: Fakultas Kehutanan IPB. 45hal.
- Ahmad Y, Hameed A, Ghaffar A. 2006. Enzymatic activity of fungal pathogens in corn. *Pakistan J. Bot.* 38(4):1305-1316.
- Agrios GN. 1988. *Plant Pathology* 3<sup>rd</sup> ed. New York: Academic Press. 803p.
- Alexopoulos CJ, Mims CW. 1979. *Introductory Mycology* 3<sup>rd</sup> ed. New York: John Wiley & Sons. 632p.
- Atlas RM. 1993. *Handbook of Microbiological Media*. Boca Raon: CRC Press. 1079p.
- Ayers WA, Papavizas GC, Diem AF. 1966. Polygalacturonate trans-eliminase and polygalacturonase production by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 56:1006-1011.
- Bateman DF. 1963. The "macerating enzyme" of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 53:1178-1186.
- Bateman DF. 1964. Cellulase and the *Rhizoctonia* disease of bean. *Phytopathology* 54:1372-1377.
- Bateman DF, Basham HG. 1976. Degradation of plant cell walls and membranes by microbial enzymes.

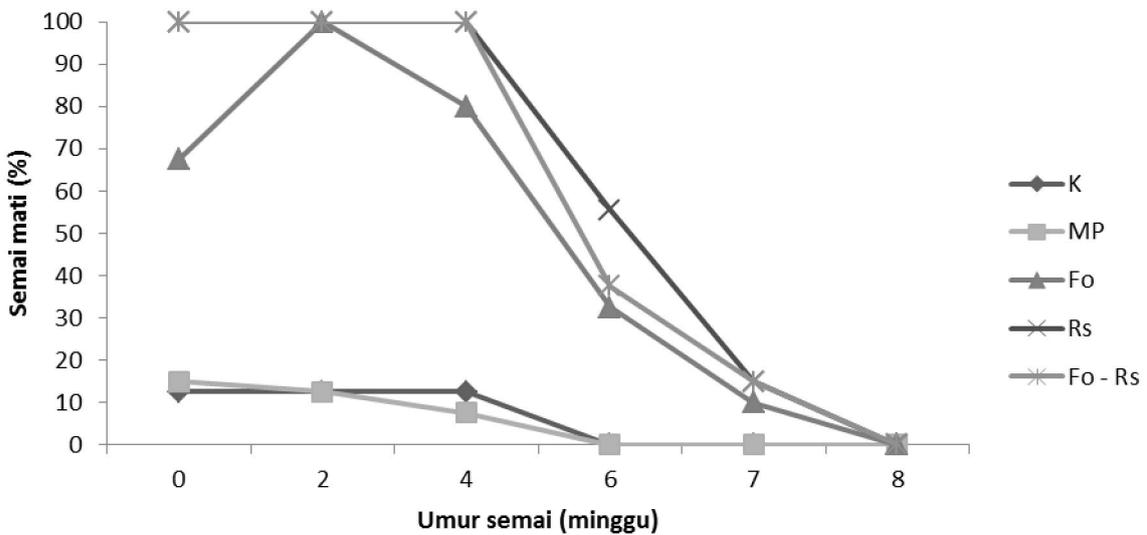
- Dalam: Heitefuss R, Williams PH (Eds.) *Physiological Plant Pathology* vol. 4. Berlin: Springer-Verlag.
- Booth C. 1971. *The Genus Fusarium*. Key, Surrey: Commonwealth Mycological Institute. 237p.
- Boyce JS. 1961. *Forest Pathology*. New York: McGraw-Hill Co. Inc. 572p.
- Esau K. 1958. *Plant Anatomy*. New York: John Wiley & Sons. 767p.
- Fernandes N, Patino B, Vauges C. 1993. Pectin degrading enzymes secreted by six isolates *Fusarium oxysporum*. *Mycological Research* 97:461-466.
- Goodman RN, Kiraly Z, Wood KR. 1986. *The Physiology and Biochemistry of Plant Disease*. Columbia: Univ. Missouri Press. 433p.
- Hartley C. 1921. Damping-off in forest nursery. *Bull. No.34* p. 1-90. Washington: Bureau of Plant Industry.
- Hodge CS, Luchle JL. 1959. Nursery diseases of southern-pines. *Forest Pest Leaflet* no. 32. Washington: US Department of Agriculture Forest Service.
- Ogoshi A. 1975. Grouping of *Rhizoctonia solani* Kuhn and their perfect stages. *Plant Protection Research* 8:93-103.
- Ogoshi A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology* 25:125-143.
- Roth LF, Riker AJ, Brener WH. 1947. Some ecological treatments and their influence of damping-off, weed control and winter injury of red-pine seedlings. *J. Agric. Res.* 47:87-95.
- Samson RA, Hoekstra ES, van Oorschot CAN. 1984. *Introduction to Food-borne Fungi*. Baarn – Delf: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 248p.
- Sneh B, Bupree L, Ogoshi A. 1991. *Identification of Rhizoctonia species*. St Paul – Minnesota: The American Phytopathological Society Press. 135p.
- Sudjud DA. 1983. Tinjauan antagonisme antara *Trichoderma* sp. dengan *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., dan *Fusarium* sp. dalam rangka usaha pengendalian/penekanan secara biologis terhadap kerugian akibat *damping-off*. Bogor: Lembaga Penelitian Hutan.
- Suharti M, Hardi T, Rianto RSB. 1991. Mengenal beberapa hama, penyakit penting pada hutan tanaman industri. Seminar Nasional Peningkatan Produktivitas HTI Melalui Upaya Pengendalian Hama dan Penyakit Secara Terpadu 31 Juli 1991. Bogor: Fahutan IPB – Dephut – RI.
- Yoshida N, Fukushima T, Saito M, Shimosaka M, Okazaki M. 1989. Cellulase and Xylan degrading enzymes of the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* SUF850. *Agric. Bio. Chem.* 53:1829-1836.



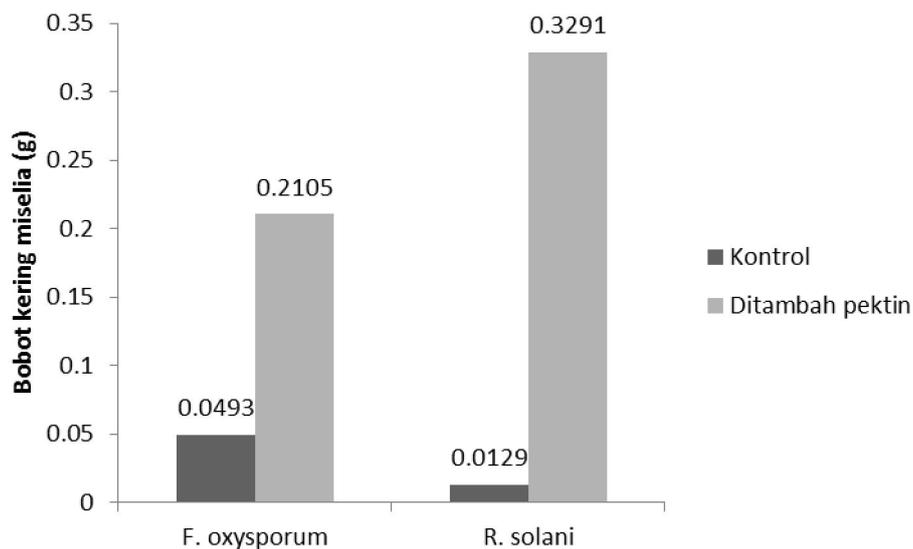
Gambar 1. Karakteristik *F. oxysporum*. Koloni pada MEA (A) dan PDA (B), filialid (tanda anak panah -1), klamidospora (tanda anak panah -2), mikrokonidia (tanda anak panah -3).



Gambar 2. *Rhizoctonia* sp. A: biakan pada media PDA, B: mikrograf miselia, khas ditandai oleh percabangan miselia tegak lurus (tanda anak panah)



Gambar 3. Semai *P. merkusii* yang mati atau benih yang tidak tumbuh pada beberapa tingkat umur pada 14 hari setelah inokulasi. K: kontrol tanpa inokulasi, MP: ditambah media patogen, Fo: diinokulasi *F. oxysporum*, Rs: diinokulasi *R. solani*, Fo-Rs: diinokulasi *F. oxysporum* dan *R. solani*



Gambar 4. Bobot kering miselia *F. oxysporum* dan *R. solani* pada medium berpektin beserta kontrolnya

Tabel 1. Kadar glukosa dan asam galakturonat monohidrat yang ditimbulkan oleh filtrat biakan *F. oxysporum* dan *R. solani* pada beberapa media beserta kontrolnya.

Perlakuan <sup>1)</sup>	Kadar glukosa (mg/ml) <sup>2)</sup> (aktivitas selulasi-C1)			Kadar asam galakturonat monohidrat (mg/ml) <sup>2)</sup> (aktivitas pektinase)
Fo – PDA	0.035	± 0.0021	(0.188 b )	1.378 ± 0.0516
Rs – PDA	0.143	± 0.0014	(0.378 d )	1.353 ± 0.0869
Kontrol PDA	0.889	± 0.0389	(0.943 h )	1.305 ± 0.0000
Fo – CMS	0.171	± 0.0155	(0.413 e )	1.378 ± 0.0700
Rs – CMS	0.078	± 0.0035	(0.280 c )	1.353 ± 0.0346
Kontrol CMS	0.013	± 0.0000	(0.114 a )	1.323 ± 0.0438
Fo – CMS – semai 2 m	0.213	± 0.0163	(0.462 f )	1.311 ± 0.0658
Rs – CMS – semai 2 m	0.157	± 0.0056	(0.396 de)	1.323 ± 0.0084
Kontrol CMS – semai 2 m	0.013	± 0.0014	(0.114 a )	1.354 ± 0.0169
Fo – CMS – semai 8 m	0.323	± 0.0120	(0.569 g )	1.311 ± 0.0777
Rs – CMS – semai 8 m	0.202	± 0.0056	(0.449 f )	1.329 ± 0.0176
Kontrol CMS – semai 8 m	0.015	± 0.0014	(0.122 a )	1.323 ± 0.0438

1) Fo: *F. oxysporum*, Rs: *R. solani*, PDA: media PDA, CMS: media CMS, semai 2 m: ditambah potongan batang semai pinus umur 2 minggu, semai 8 m: ditambah potongan batang semai pinus umur 8 minggu

2) Nilai tanpa tanda kurung: rata-rata ± simpang baku, nilai dalam tanda kurung: transformasi akar kuadrat nilai rata-rata di depannya, nilai dalam tanda kurung yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $\alpha$  0.05 berdasarkan uji jarak berganda Duncan