

Potensi Kolonisasi Mikoriza Arbuskular dan Cendawan Endofit dan Kemampuannya dalam Pengendalian Layu Fusarium pada Bawang Merah

Colonization Potential of Arbuscular Mycorrhiza and Endophytic Fungi and Its Effectiveness in Control Fusarium Wilt on Shallot

Mei Lita Fitriani, Suryo Wiyono*, Meity Suradji Sinaga
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Layu Fusarium merupakan penyakit penting pada bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. Pada penelitian ini, isolat biokontrol potensial cendawan endofit dan mikoriza diuji kemampuan kolonisasinya secara tunggal dan kombinasi untuk menekan perkembangan penyakit layu Fusarium. Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan dan 5 ulangan. Kemampuan menekan patogen diamati dari persentase kolonisasi agens biokontrol, periode laten penyakit, insidensi penyakit, laju infeksi, dan *area under the disease progress curve* (AUDPC). Agens biokontrol yang diujikan berhasil bersimbiosis dengan akar tanaman bawang merah. Aplikasi tunggal mikoriza arbuskular paling baik dalam memengaruhi pertumbuhan tanaman dan menekan perkembangan penyakit layu fusarium pada bawang merah dengan periode laten penyakit terpanjang 21 hari dan menurunkan insidensi penyakit hingga 40%.

Kata kunci: agens biokontrol, kombinasi agens biokontrol, mekanisme antagonis

ABSTRACT

Fusarium wilt is an important disease on shallot (*Allium cepa* var. *Aggregatum*) due to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. The research aimed to study colonization of arbuscular mycorrhiza and endophytic fungi, and their biocontrol performance against fusarium wilt disease of shallot. The experiment was performed using a completely randomized design with 8 treatments and 5 replications. The effectiveness of biocontrol agents on the progress of fusarium wilt was observed from the percentage of agent biocontrol colonization, disease latent periode, disease incidence, rate of infection, and area under disease progress curve. The biocontrol agent tested successfully symbiotic in the root tissue of shallot. The single application of arbuscular mycorrhizal showed the best influence on plant growth and suppressing the progress of fusarium wilt in shallots with the longest disease latent period at 21 days and decreasing disease incidence up to 40%.

Key words: antagonism mechanism, biocontrol agent, biocontrol combination

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: suryowi@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Saat ini, penyakit layu *Fusarium* menjadi masalah utama yang merugikan bagi petani bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*). Penyakit layu ini disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* saat ini menjadi masalah dominan pada tiap sentra produksi bawang merah di Indonesia dan telah dilaporkan terjadi di banyak negara (Fadhilah 2014). Layu fusarium menyebabkan busuk pangkal batang yang dapat menurunkan hasil umbi hingga 50% (Wiyatiningsih *et al.* 2009). Tondok (2001) melaporkan kerusakan akibat serangan *F. oxysporum* pada bawang merah dapat mencapai 100%.

Petani mengendalikan penyakit layu fusarium menggunakan fungisida atau mengumpulkan dan memusnahkan tanaman sakit. Teknik pengendalian lainnya yang dilakukan antara lain rotasi tanaman, penggunaan tanaman resisten, dan solarisasi tanah. Teknik pengendalian alternatif lainnya yang dapat dikembangkan ialah pengendalian secara hayati menggunakan agens biokontrol.

Mikoriza arbuskular (MA) dan cendawan endofit merupakan agens biokontrol yang dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit layu fusarium pada bawang merah. MA hidup secara biotrop dan berkoloni pada sistem perakaran hingga tanaman dewasa dan dapat memberikan pertahanan pada akar tanaman terhadap patogen tular tanah (Al-Askar dan Rashad 2010). Penggunaan MA dan cendawan endofit sebagai pengendali patogen tular tanah telah banyak dilaporkan, di antaranya untuk mengendalikan *Sclerotium rolfsii* dan *F. solani* (Ozgonen *et al.* 2010; Al-Askar dan Rashad 2010).

Cendawan endofit yang diisolasi dari bawang merah dapat menekan perkembangan penyakit busuk umbi pada bawang merah dengan tingkat efikasi sebesar 61.70% dan 63.83% (Zulaika 2014). MA dengan cendawan endofit hifa gelap dilaporkan secara alami bersimbiosis dalam jaringan akar yang sama pada tanaman bawang merah (Priyadharsini *et al.* 2012). Cendawan endofit dan MA berkoloni di dalam akar tanaman secara interseluler

sehingga diharapkan berkolonisasi bersama dan mampu menekan perkembangan penyakit layu fusarium. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kolonisasi dan keefektifan mikoriza arbuskular dan cendawan endofit baik secara tunggal maupun kombinasi terhadap penyakit layu fusarium dalam mengendalikan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* pada bawang merah.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan Mikoriza Arbuskular, Cendawan Endofit dan Cendawan Patogen

Formula mikoriza arbuskular (MA) diperoleh dari Balai Pengkajian Bioteknologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Pusat Pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (Puspiptek), Serpong. Tiap gram inokulum mengandung $\pm 60\text{--}70$ spora, dengan formulasi campuran empat spesies MA, yaitu *Gigaspora* sp., *Glomus* putih, *Glomus* coklat, dan *Acaulospora* sp.

Isolat cendawan endofit (CE) yang digunakan dengan kode PAP4 dan PUP1 merupakan isolat koleksi Laboratorium Mikologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Isolat diremajakan pada medium *potato dextrose broth* (PDB). Penyiapan suspensi CE dilakukan dengan menumbuhkannya pada PDB 10 mL, kemudian dikocok dengan *shaker* (*Eyela Multishaker*) pada kecepatan 130 rpm selama 7 hari. Suspensi CE yang telah menggumpal, disaring dan dibilas dengan air destilata sebanyak 3 kali dan dipindahkan ke dalam 100 mL air destilata untuk dihancurkan menggunakan *homogenizer* (IKA ULTRA-TURRAX T18 Basic) dengan kecepatan 3500–24 000 rpm selama 8 menit. Kerapatan CE yang digunakan ialah 10^5 cfu mL⁻¹.

Isolat *F. oxysporum* f. sp. *cepae* koleksi Laboratorium Mikologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor merupakan hasil isolasi dari tanaman bawang merah yang memiliki gejala busuk umbi dan layu fusarium yang berasal dari Tegal (Jawa Tengah). Peremajaan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dilakukan pada medium agar-agar

dekstrosa kentang (ADK). Perbanyakkan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dilakukan dengan menumbuhkan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* pada medium beras steril. Beras direndam dalam air bersih selama \pm 12 jam, kemudian dicuci dan dikeringanginkan. Sebanyak 300 g beras dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm. Isolat *F. oxysporum* f. sp. *cepae* diambil menggunakan *cork borer* diameter 5 mm sebanyak 5 plak dan ditumbuhkan ke dalam medium tersebut dan diinkubasi selama 30 hari pada suhu ruang.

Suspensi *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dibuat dengan menghaluskan 100 g isolat *F. oxysporum* f. sp. *cepae* berumur 30 hari dan dicampur dengan 100 mL air destilata. Suspensi disaring dan kerapatan propagul dihitung hingga mencapai 10^5 cfu mL⁻¹.

Uji Kemampuan Kolonisasi dan Keefektifan Mikoriza Arbuskular dan Cendawan Endofit dalam Menekan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* secara *in Planta*

Benih bawang merah varietas Tuk-tuk disemai pada medium tanam steril. Benih bawang merah yang telah disterilisasi permukaan kemudian diberi perlakuan seperti tertera pada Tabel 1. Perlakuan CE dilakukan dengan merendam benih bawang merah dalam suspensi CE selama \pm 12 jam. Selanjutnya pada perlakuan aplikasi mikoriza arbuskular (MA), benih bawang merah steril ditanam pada medium semai yang dicampur dengan 10 g MA tiap pada kedalaman 3 cm. Perlakuan kontrol dilakukan dengan perendaman benih

menggunakan air destilata. Sebanyak 5 larik benih bawang merah disemai dalam baki semai selama \pm 4 minggu kemudian dipindah tanam ke pot plastik dengan ukuran 25 cm \times 25 cm. Medium tanam yang digunakan ialah tanah, arang sekam, pupuk kandang dengan perbandingan 1:1:1 (b/b) yang telah disterilisasi dan diangin-anginkan selama 3 hari.

Tanaman bawang merah berumur 2 minggu setelah tanam (MST)–termasuk tanaman kontrol–kemudian diberikan perlakuan patogen dengan meneteskan 1 mL suspensi patogen *F. oxysporum* f. sp. *cepae* (10^5 cfu mL⁻¹) di setiap lubang tanam. Tanaman bawang merah dipelihara selama 60 hari dan dilakukan pengamatan gejala layu fusarium.

Pewarnaan Akar Bawang Merah

Pewarnaan akar dilakukan untuk melihat struktur cendawan dalam jaringan akar tanaman sehingga mempermudah pengamatan kolonisasi oleh agens biokontrol. Pewarnaan akar yang dilakukan menggunakan metode yang digunakan oleh Brundrett *et al.* (1996) yang dimodifikasi pada pewarna *vinegar quink red* 5%. Akar bawang merah dibersihkan dan dimasukkan ke dalam botol kaca. Akar bawang merah selanjutnya diproses secara berurutan, yaitu *clearing* dan *staining*. *Clearing* dilakukan dengan cara merendam akar dalam larutan KOH 10% (w/v) dan dipanaskan pada suhu 60 °C hingga 90 °C selama 10–30 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga akar jernih. Tahapan selanjutnya ialah pewarnaan akar dengan merendamnya dalam larutan pewarna selama 12 jam.

Tabel 1 Perlakuan mikoriza arbuskular dan cendawan endofit pada akar bawang merah

Perlakuan	Keterangan
Kontrol +	Tanpa inokulasi cendawan endofit dan mikoriza arbuskular
PAP4	Inokulasi tunggal cendawan endofit kode PAP4
PUP1	Inokulasi tunggal cendawan endofit kode PUP1
MA	Inokulasi tunggal mikoriza arbuskular
PAP4+PUP1	Inokulasi kombinasi cendawan endofit kode PAP4 dan PUP1
PAP4+MA	Inokulasi kombinasi cendawan endofit kode PAP4 dan mikoriza arbuskular
PUP1+MA	Inokulasi kombinasi cendawan endofit kode PUP1 dan mikoriza arbuskular
PAP4+PUP1+MA	Inokulasi kombinasi cendawan endofit kode PAP4, PUP1 dan mikoriza arbuskular

Pengamatan Kolonisasi Mikoriza Arbuskular dan Cendawan Endofit pada Akar Bawang Merah

Sampel akar yang diamati ialah akar perlakuan semai umur 4 minggu tanpa inokulasi patogen dan akar dari perlakuan diinokulasi patogen umur 3 minggu setelah inokulasi. Hal ini dilakukan untuk melihat pengaruh kolonisasi tersebut terhadap kemampuan agens biokontrol dan pertumbuhan tanaman. Sampel akar yang telah diwarnai, dipotong sepanjang 1 cm dan disusun berjajar pada kaca preparat (1 kaca preparat untuk 10 potong akar). Akar diamati di bawah mikroskop compound *Olympus CH30* dan akar yang terinfeksi dihitung. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Penampakan struktur hifa internal, hifa, arbuskular, vesikula, dan spora merupakan suatu indikasi bahwa akar tersebut telah terkolonisasi oleh MA. Potongan akar yang terkolonisasi cendawan endofit akan menunjukkan struktur hifa yang sesuai dengan cendawan tersebut di dalam korteks akar. Persen kolonisasi dihitung dengan rumus:

$$\text{Persen kolonisasi} = \frac{\sum \text{akar terkolonisasi}}{\sum \text{akar yang diamati}} \times 100 \%$$

Insidensi Penyakit

Insidensi penyakit layu fusarium diamati setiap minggu setelah inokulasi patogen dan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IP = \frac{n}{N} \times 100 \%, \text{ dengan}$$

n, jumlah tanaman bergejala dan N, jumlah tanaman yang diamati.

Perhitungan Laju Infeksi dan Kurva Perkembangan Penyakit (AUDPC) Penyakit Layu Fusarium

Penyakit layu fusarium ialah penyakit dengan tipe monosiklik sehingga laju infeksi (r) dihitung dengan rumus van der Plank (1964), yaitu:

$$r = \frac{e}{t} \times \left[\log \frac{1}{1 - X_t} - \log \frac{1}{1 - X_0} \right], \text{ dengan}$$

e, 2.714; t, selang waktu pengamatan; X_t , Insidensi penyakit pada waktu tertentu; X_0 ,

Insidensi penyakit pada waktu sebelumnya. Laju perkembangan penyakitnya dihitung menggunakan rumus:

$$AUDPC = \frac{X_t - X_0}{2} \times t, \text{ dengan}$$

X_t , insidensi penyakit pada waktu tertentu; dan X_0 , insidensi penyakit pada waktu sebelumnya.

Uji Mekanisme Antagonis Cendawan Endofit terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* secara *in Vitro*

Uji ini dilakukan menggunakan metode kultur ganda (Talapatra *et al.* 2017) pada medium ADK. Biakan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dan cendawan endofit berumur 7 hari (berdiameter 5 mm) diletakkan dalam medium ADK secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Sebagai kontrol *F. oxysporum* f. sp. *cepae* ditumbuhkan pada cawan petri tanpa cendawan endofit. Zona bening dihitung setelah inkubasi 7 hari. Pengujian disusun dalam RAL yang terdiri atas 3 perlakuan dan 3 ulangan.

Analisis Data

Data kolonisasi agens biokontrol, tinggi tanaman dan jumlah daun dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SAS versi 9.1. Perbedaan nilai antarperlakuan diuji lanjut menggunakan uji Duncan pada taraf α 5% .

HASIL

Gejala layu pada tanaman kontrol muncul pada hari ke-5 setelah inokulasi. Gejala dimulai dengan menguningnya ujung daun sampai pangkal, daun meliuk layu dan nekrosis (Gambar 1).

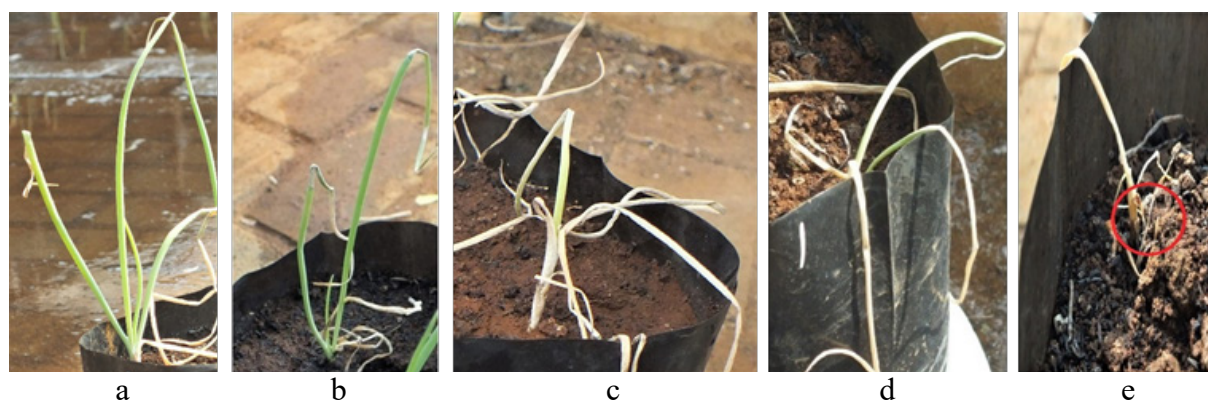
Mikoriza arbuskular dan cendawan endofit mampu mengoloni akar tanaman bawang merah. Pengamatan terhadap kolonisasi agens biokontrol pada akar bawang merah tanpa patogen menunjukkan persentase kolonisasi MA tertinggi pada aplikasi tunggal (MA), yaitu 43.33% dan diikuti dengan aplikasi PUP1+MA sebesar 40%. Kolonisasi agens biokontrol pada akar bawang merah dengan

inokulasi patogen juga menunjukkan MA mempunyai persentase kolonisasi tertinggi pada aplikasi tunggal maupun kombinasi dengan endofit PUP1 berturut-turut sebesar 80% dan 83.33% (Tabel 2).

Aplikasi MA dan CE secara tunggal menunjukkan ketiga agens biokontrol tersebut mengalami peningkatan persentase kolonisasi setelah inokulasi patogen dengan persentase kolonisasi tertinggi oleh MA sebesar 43.33% menjadi 80% (Tabel 2). Hasil pewarnaan akar juga membuktikan adanya kolonisasi agens biokontrol dan bersimbiosis dengan akar tanaman bawang merah. Akar yang tidak terkolonisasi oleh patogen dan agens biokontrol tidak tampak struktur hifa atau vesikel dan akar pada perlakuan kontrol menunjukkan adanya struktur hifa dan mikrokonidia pada sel korteks dari cendawan

F. oxysporum f. sp. *cepae*. Kolonisasi agens biokontrol pada perlakuan aplikasi tunggal cendawan endofit PAP4 menunjukkan adanya kolonisasi hifa berseptat pada sel korteks akar. Hifa intraseluler tampak pada korteks akar yang diberi perlakuan PUP1, sedangkan hifa dan vesikula terminal tampak pada perlakuan tunggal MA (Gambar 2).

Perlakuan agens biokontrol secara kombinasi juga menunjukkan ketiga agens mampu berkolonisasi dalam jaringan akar. Pada perlakuan MA persen kolonisasi meningkat setelah inokulasi patogen, tertinggi pada perlakuan kombinasi dengan PUP1, yaitu 40% menjadi 83.33%, sedangkan untuk perlakuan cendawan endofit keduanya cenderung turun setelah diinokulasi patogen. Akan tetapi, untuk perlakuan kombinasi ketiga agens biokontrol tampak meningkat setelah diinokulasi patogen



Gambar 1 Keragaman gejala penyakit layu fusarium pada tanaman kontrol bawang merah varietas Tuk-tuk yang diuji. a, Daun layu dan menguning; b dan c, Daun layu dan ujung daun klorosis; d dan e, *Basal plate* busuk, daun klorosis, mengering, dan tanaman akhirnya mati.

Tabel 2 Pengaruh kolonisasi perlakuan mikoriza arbuskular dan cendawan endofit pada akar bawang merah

Perlakuan	Kolonisasi (%)					
	Tanpa patogen			Inokulasi patogen		
	MA	PAP4	PUP1	MA	PAP4	PUP1
PAP4	-	33.33 a	-	-	60.00 a	-
PUP1	-	-	26.67 a	-	-	50.00 a
MA	43.33 a	-	-	80.00 a	-	-
PAP4+PUP1	-	26.67 bc	30.00 a	-	20.00 c	23.33 c
PAP4+MA	36.67 b	30.00 ab	-	50.00 b	40.00 b	-
PUP1+MA	40.00 ab	-	33.33 a	83.33 a	-	23.33 c
PAP4+PUP1+MA	36.67 b	23.33 c	26.67 a	80.00 a	33.33 b	40.00 b

Angka selanjutnya yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji jarak berganda Duncan (DMRT) α 5%.

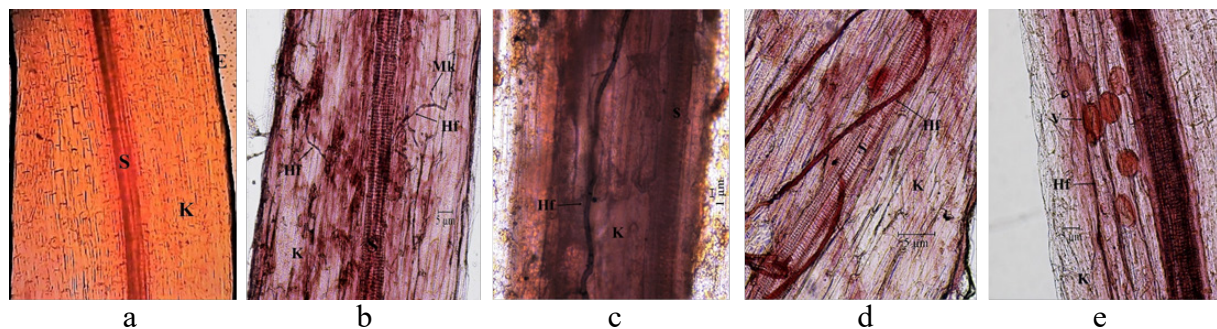
- = tidak diaplikasikan agens biokontrol tersebut.

(Tabel 2). Pewarnaan akar menunjukkan pada perlakuan kombinasi PAP4 dan PUP1 terdapat hifa septat dan aseptat dalam korteks akar secara intraseluler (Gambar 3b); kombinasi PAP4 dan MA terdapat struktur MA berupa hifa dan vesikula, hifa septat dalam korteks akar. Koloni hifa endofit PAP4 lebih sedikit dibanding koloni MA (Gambar 3c); kombinasi PUP1 dan MA terdapat hifa aseptat, hifa internal dan vesikula MA (Gambar 3d), dan kombinasi PAP4, PUP1, dan MA terdapat hifa septat, hifa aseptat, hifa internal dan vesikula MA (Gambar 3e).

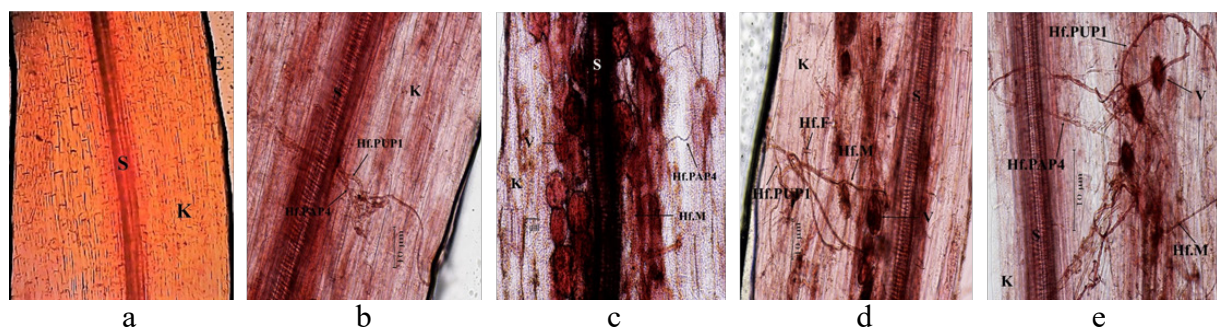
Kolonisasi agens biokontrol yang diaplikasikan berpengaruh terhadap pertumbuhan bawang merah. Tinggi tanaman

berbeda nyata pada perlakuan aplikasi tunggal MA dan pada perlakuan kombinasi PUP1+MA tanpa patogen dan inokulasi patogen, sedangkan pada jumlah helai daun berbeda nyata pada aplikasi MA secara tunggal (Tabel 3).

Pengendalian yang efektif juga didukung dari lamanya periode laten penyakit, rendahnya insidensi penyakit, dan lambatnya laju infeksi penyakit (Tabel 4). Aplikasi agens biokontrol memengaruhi periode laten, insidensi penyakit, laju infeksi, dan kurva perkembangan penyakit (AUDPC). Bila AUDPC nilainya besar artinya penyakit layu fusarium berkembang lebih cepat. Rata-rata periode laten *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dalam menginfeksi ialah 7 hari. Periode laten



Gambar 2 Jaringan akar tanaman bawang merah pada perlakuan kontrol dan aplikasi tunggal mikoriza arbuskular dan cendawan endofit. a, Akar tidak terkolonisasi patogen atau agens biokontrol; b, Kolonisasi *F. oxysporum* f. sp. *cepae* pada perlakuan kontrol; c, Kolonisasi cendawan endofit perlakuan PAP4; d, Kolonisasi cendawan endofit perlakuan PUP1; dan e, Kolonisasi tunggal MA. Gambar a, d, dan e diamati pada pebesaran 20×, sedangkan b dan c pada perbesaran 40×. E = epidermis; Hf = hifa; K = korteks; Mk= mikrokonidia; S = stele; dan V= vesikula.



Gambar 3 Jaringan akar tanaman bawang merah pada perlakuan kombinasi mikoriza arbuskular dan cendawan endofit: (a) akar yang tidak terkolonisasi agens biokontrol, (b) kolonisasi cendawan endofit PAP4 dan PUP1, (c) kolonisasi PAP4 dan MA, (d) kolonisasi PAP4 dan MA dan (e) kolonisasi PAP4, PUP1, dan MA. Perbesaran yang digunakan (a), (b), (c), (d), dan (e): 20x. Simbol E: epidermis, Hf: hifa, Hf.F: hifa *F. oxysporum* f. sp. *cepae*, Hf.M: hifa MA, K: korteks, S: stele, dan V: vesikula

terpanjang, yaitu 21 hari ditunjukkan oleh perlakuan tunggal MA dan diikuti perlakuan kombinasi PUP1+MA selama 18 hari (Tabel 4). Perlakuan agens biokontrol MA secara tunggal mampu menurunkan insidensi penyakit sampai 40% dan pada perlakuan kombinasi PUP1 dan MA menurunkan insidensi penyakit sebesar 33.3% pada gejala visual. Perlakuan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tanpa MA dan CE semua tanaman terinfeksi 100% (Tabel 4). Perlakuan paling baik dalam menekan layu fusarium berdasarkan parameter uji ialah MA.

Hasil pengujian mekanisme antagonisme dari cendawan endofit yang diuji ialah antibiosis (Tabel 5). Zona bening terlebar ditunjukkan cendawan endofit PAP4 sebesar

1.83 mm (Tabel 5 dan Gambar 4). Zona bening yang terbentuk karena cendawan endofit menghasilkan metabolit untuk menghambat pertumbuhan patogen.

Bentuk simbiosis yang terjadi di antara agens biokontrol yang diuji ialah independen, antagonis, netral dan amensalisme (Tabel 6). Bentuk simbiosis agens biokontrol tersebut berdasarkan data persentase kolonisasi agens biokontrol yang diujikan (Tabel 2) dan pengaruhnya terhadap penekanan layu fusarium berdasarkan periode laten, insidensi penyakit, laju infeksi dan kurva perkembangan penyakit layu fusarium (Tabel 4). Perlakuan tunggal agens biokontrol MA, cendawan endofit PAP4, dan cendawan endofit

Tabel 3 Pengaruh perlakuan agens biokontrol terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun tanaman bawang merah

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)		Jumlah daun (helai)	
	Tanpa patogen	Inokulasi patogen	Tanpa patogen	Inokulasi patogen
Kontrol	18.40 b	17.05 e	3.00 b	5.40 b
PAP4	19.20 b	21.61 de	3.20 ab	5.13 bc
PUP1	19.20 b	24.67 cd	3.00 b	5.13 bc
MA	22.90 a	35.30 a	3.60 a	6.73 a
PAP4+PUP1	19.30 b	22.07 de	3.00 b	4.73 c
PAP4+MA	19.10 b	29.10 bc	3.20 ab	5.80 b
PUP1+MA	22.80 a	33.52 ab	3.40 ab	5.73 b
PAP4+PUP1+MA	18.70 b	28.05 bc	3.00 b	5.33 b

Angka selanjur yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada uji jarak berganda Duncan (DMRT) α 5%.

Tabel 4 Pengaruh perlakuan agens biokontrol terhadap periode laten, insidensi penyakit, laju infeksi (r), dan kurva perkembangan penyakit layu Fusarium bawang merah (AUDPC)

Perlakuan	Periode laten (hari)	Insidensi penyakit (%)	r	AUDPC
Kontrol +	7.5	100.0	1.00	256.55
PAP4	17.5	86.7	0.14	303.45
PUP1	11.0	86.7	0.14	303.45
MA	21.0	60.0	0.07	210.00
PAP4+PUP1	13.5	80.0	0.10	256.55
PAP4+MA	13.3	73.3	0.09	256.55
PUP1+MA	18.5	66.7	0.08	233.45
PAP4+PUP1+MA	16.5	86.7	0.14	303.45

Tabel 5 Pengaruh cendawan endofit terhadap pertumbuhan *F.oxysporum* f.sp. *cepae* secara *in vitro*

Kode isolat endofit	Interaksi	Lebar zona bening
PAP4	antibiosis	1.83 mm
PUP1	antibiosis	0.67 mm

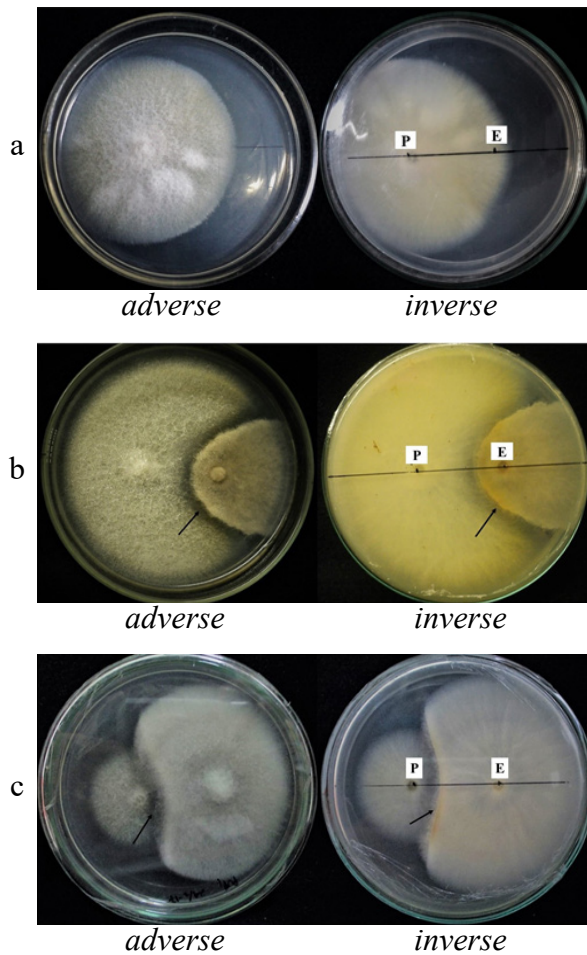
PUP1 terjadi secara independen. Perlakuan kombinasi cendawan endofit PAP4+PUP1 dan PAP4+PUP1+MA terjadi secara antagonis, PAP4+MA netral, sedangkan PUP1+MA secara amensalisme. Pengaruh perlakuan agens biokontrol terhadap penekanan layu

fusarium dikelompokkan menjadi lemah, sedang, dan kuat (Tabel 6). Perlakuan tunggal agens biokontrol MA mempunyai pengaruh kuat terhadap penekanan layu fusarium.

PEMBAHASAN

Gejala layu fusarium pada bawang merah oleh *F. oxysporum* ialah daun menguning pada pucuk daun ke arah pangkal daun. Bentuk daun menjadi rata dan tebal sedangkan daun normal berbentuk seperti pipa, daun tidak tumbuh tegak tetapi meliuk karena daun tumbuh lebih panjang, serta warna daun hijau pucat atau kekuningan (Tondok 2001). Kemampuan kolonisasi agens biokontrol pada jaringan tanaman, dapat membuktikan adanya interaksi agens biokontrol dengan tanaman. Selain aplikasi agens biokontrol tunggal, dalam penelitian ini juga dilakukan secara kombinasi antar agens biokontrol.

Tondok (2001) dalam penelitiannya melaporkan periode munculnya gejala penyakit akibat *F. oxysporum* isolat CRB 13 pada bibit bawang merah dengan pengujian di Bogor dan Cirebon membutuhkan waktu 5–6 hari. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan periode laten 5–12 hari. Namun, Zulaika (2014) melaporkan gejala penyakit yang ditimbulkan *F. oxysporum* mulai tampak pada hari ke-3 setelah inokulasi patogen. Gejala layu dan menguning yang terjadi pada tanaman bawang merah diduga merupakan gejala sekunder yang diakibatkan oleh terganggunya sistem transportasi air dari akar ke seluruh tanaman. Perubahan warna menguning dapat disebabkan oleh adanya penurunan kloroplas akibat gangguan yang



Gambar 4 Uji kultur ganda cendawan endofit terhadap *F. oxysporum* f.sp. *cepae* dengan (a) perlakuan kontrol *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tanpa cendawan endofit, (b) perlakuan cendawan endofit PAP4, dan (c) perlakuan cendawan endofit PUP1

Tabel 6 Bentuk simbiosis yang terjadi antar agens biokontrol yang diuji dan pengaruhnya terhadap penekanan layu fusarium

Agens biokontrol	Bentuk simbiosis antaragens	Pengaruh terhadap penekanan layu fusarium
PAP4	Independen	Lemah
PUP1	Independen	Lemah
MA	Independen	Kuat
PAP4 + PUP1	Antagonis	Lemah
PAP4+MA	Netral	Sedang
PUP1+MA	Amensalisme	Sedang
PAP4+PUP1+MA	Antagonis	Lemah

disebabkan oleh patogen yang menyebabkan kandungan klorofil pada daun menurun. *Fusarium* sp. diketahui menghasilkan senyawa metabolik yang toksik pada tanaman dan tidak spesifik pada inang yang disebut asam fusarat yang menyebabkan warna kuning pada daun (Agrios 2005). Leslie dan Summerell (2006) menambahkan *Fusarium* sp. mempunyai toksin utama *fumosinin* dan *trichotecenes* yang dapat menyebabkan jaringan *basal plate* dan umbi membusuk.

Agens biokontrol cendawan endofit (PAP4 dan PUP1) dan MA yang digunakan dalam penelitian diketahui bersimbiosis dengan inang dan mengkoloni jaringan akar sama halnya dengan cendawan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* pada perlakuan kontrol. *Fusarium* penyebab layu fusarium perkembangannya dapat ditekan oleh agens biokontrol apabila telah terjadi simbiosis antara tanaman inang terlebih dahulu. Jika patogen menginfeksi tanaman sebelum kolonisasi agens biokontrol, maka agens biokontrol tidak dapat berkembang dan berfungsi sebagai penekan dalam perkembangan cendawan patogen pada tanaman inang. Interaksi antara agens biokontrol dengan tanaman dapat bersifat netral, sinergis, dan negatif. Interaksi mutualisme antara tanaman dan cendawan dapat meningkatkan pertumbuhan inang dan ketahanan terhadap patogen. Menurut Zuccaro *et al.* (2014), kolonisasi cendawan dengan akar menunjukkan fungsi penting dalam penyerapan hara mineral oleh inang, siklus karbon, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan meningkatkan ketahanan terhadap patogen tanaman yang menjadi dasar dalam produktivitas tanaman.

MA dan CE yang masuk pada jaringan tanaman diharapkan mampu berkolonisasi dan dapat menekan perkembangan penyakit pada tanaman dengan menginduksi ketahanan tanaman. Muller (2015) menerangkan bahwa tumbuhan dan mikroorganisme endofit berinteraksi secara berkelanjutan di alam dalam simbiosisnya. Interaksi metabolisme terjadi dalam beberapa hal: (a) endofit menginduksi metabolisme inang, (b) inang menginduksi metabolisme endofit, (c) inang dan endofit

saling mengambil bagian dalam jalur tertentu atau sebagian, (d) inang dapat memetabolisme produk dari endofit dan sebaliknya, dan (e) endofit dapat memetabolisme senyawa sekunder dari inang seperti senyawa fenol.

Koloni MA pada akar terlihat adanya hifa internal, hifa eksternal, dan vesikula. Brundrett *et al.* (1996) menerangkan MA mempunyai hifa eksternal, internal, *coil*, vesikula dan arbuskular. Hifanya tidak bersekat dan tumbuh secara intra dan interseluler dalam sel korteks akar dan bercabang-cabang. Proses kolonisasi MA pada akar tanaman dimulai dari adanya kontak antara hifa MA yang berasal dari sporokarp, zigospora atau komponen lainnya yang terdapat di sekitar perakaran inang. Penetrasi dimulai dengan pembentukan apresorium untuk melekatkan diri pada inang. Selanjutnya hifa akan menembus sel-sel korteks akar melalui sel epidermis rambut akar, setelah mencapai bagian tengah korteks, tumbuh secara interseluler, intraseluler dan keduanya. Hifa MA tidak masuk ke jaringan stele dan hifa yang bergelembung bercabang-cabang disebut arbuskular. Arbuskular diduga berfungsi sebagai struktur transfer unsur hara dalam jaringan tanaman. Pada struktur yang menggelembung ibentuk secara apikal dan sering terdapat pada hifa utama disebut vesikula. Vesikula ukurannya kadang besar dan ber dinding tebal serta mengandung banyak lipid, berfungsi sebagai organ simpan. Apabila korteks mengelupas, beberapa vesikula dapat berkecambah dan menjadi propagul infeksi di dalam tanah. Dalam penelitian ini tidak ditemukan struktur arbuskular diduga karena saat pengambilan sampel akar tanaman dalam kondisi kering dan MA lebih banyak membentuk struktur vesikula.

Sedangkan koloni cendawan endofit PAP4 berupa hifa septat dan endofit PUP1 berupa hifa tidak bersekat yang mengkoloni sel korteks secara intraseluler. Hal ini karena cendawan endofit yang digunakan merupakan hifa steril. Menurut Fesel dan Zuccaro (2016), strategi kolonisasi cendawan endofit pada akar ialah endofit mengkoloni secara interseluler pada epidermis dan korteks akar secara intraseluler, di dalam korteks akar hifa berkoloni

memperbanyak diri. Kolonisasi cendawan endofit hanya terjadi di daerah epidermis dan sel-sel korteks akar dan hifa tidak ditemukan di dalam endodermis dan jaringan stele.

Perlakuan aplikasi MA baik secara tunggal maupun kombinasi mempunyai persen kolonisasi yang tinggi. Aplikasi agens tunggal MA mampu menghambat penekanan layu fusarium paling baik. MA dilaporkan mempunyai bakteri endosimbiotik yang bersimbiosis dengan mikoriza yang dapat memacu perkecambahan spora MA, meningkatkan penyerapan hara, dan menekan pertumbuhan patogen (Bakhtiar 2011; Cruz dan Ishii 2012; Khairani *et al.* 2017). Bakteri endosimbiotik mikoriza *Bacillus subtilis* B10 dilaporkan memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan patogen *G. boninense* secara *in vitro* (Bakhtiar *et al.* 2010). MA mempunyai penekanan terhadap layu fusarium paling baik dapat dikarenakan MA menstimulasi pertahanan tanaman bawang merah terhadap patogen *Fusarium*. Al-Askar dan Rashad (2010) dalam penelitiannya melaporkan kolonisasi MA dapat menurunkan persen keparahan penyakit dan insidensi penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *F. solani* yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan yang signifikan terhadap kandungan senyawa fenol dan aktivitas enzim pertahanan *polyphenoloxidase* (PPO), enzim peroxidase (POD), dan enzim *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL) pada tanaman *bean*.

Bentuk simbiosis antar mikroorganisme dalam habitatnya dapat bersifat netral, mutualisme, parasitisme, komensalisme, predasi dan amensalisme. Dalam penelitian ini agens biokontrol yang diujikan saling dikombinasikan. Menurut Xu *et al.* (2011) adanya kombinasi antara beberapa agens biokontrol dapat bersifat independen, sinergis, maupun antagonis. Hal ini untuk menjelaskan bahwa antara agens biokontrol yang mengkolonisasi jaringan tanaman dan patogen yang diinokulasikan dapat menyebabkan berbagai kemungkinan seperti: keduanya tidak saling memengaruhi, saling berkompetisi, sinergis dalam menimbulkan gejala penyakit atau menekan insidensi penyakit.

Bentuk simbiosis yang terjadi antar agens biokontrol yang diuji dalam penelitian ialah independen, antagonis, netral dan amensalisme. Berdasarkan persentase kolonisasi agens biokontrol menunjukkan bentuk simbiosis independen terjadi pada aplikasi tunggal agens biokontrol MA, cendawan endofit PAP4, dan cendawan endofit PUP1. Perlakuan kombinasi agens biokontrol PAP4+PUP1 dan PAP4+PUP1+MA terjadi secara antagonis, yaitu agens biokontrol saling berkompetisi terhadap ruang tumbuh dan nutrisi, PAP4+MA bersifat netral yaitu tidak saling mempengaruhi, sedangkan PUP1+MA secara amensalisme yaitu agens biokontrol PUP1 pertumbuhannya terhambat dibandingkan dengan agens MA. Perlakuan agens biokontrol dan simbiosisnya berpengaruh lemah, sedang, dan kuat terhadap penekanan layu fusarium. Perlakuan tunggal agens biokontrol MA mempunyai pengaruh kuat terhadap penekanan layu fusarium.

Aplikasi mikoriza arbuskular secara tunggal mempunyai keefektifan pengendalian lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi dengan cendawan endofit. Mikoriza arbuskular berhasil mengkoloni akar bawang merah dengan baik, memperpanjang periode laten, menurunkan insidensi penyakit dan nyata meningkatkan pertumbuhan tanaman.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ditjen DIKTI yang membantu dana penelitian ini melalui Beasiswa BPP-DN 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Ed ke-5. California (US): Elsevier Academic Pr.
- Al-Askar AA, Rashad YM. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi: Biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease. *Plant Pathol J.* 9(1):31–38. DOI: <https://doi.org/10.3923/ppj.2010.31.38>.
- Bakhtiar Y, Yahya S, Sumaryono W, Sinaga MS, Budi SW, Tajuddin T. 2010. Isolation and identification of mycorrhizosphere bacteria and their antagonistic effect

- towards *Ganoderma boninense in vitro*. Microbiol Indones. 4:96–102. DOI: <https://doi.org/10.5454/mi.4.2.9>.
- Bakhtiar Y. 2011. Peran fungi mikoriza arbuskular dan bakteri endosimbiotik mikoriza dalam meningkatkan daya adaptasi bibit kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) terhadap cekaman biotik *Ganoderma boninense* Pat [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N. 1996. *Working With Mycorrhizas In Forestry and Agriculture* (No. 435-2016-33680). Canberra (AU): Australian Centre for International Agricultural Research.
- Cruz AF, Ishii T. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal spores host bacteria that affect nutrient biodynamics and biocontrol of soilborne plant pathogens. Biol Open. 1:52–57. DOI: <https://doi.org/10.1242/bio.2011014>.
- Fadhilah S, Wiyono S, Surahman. 2014. Pengembangan Teknik Deteksi Fusarium Patogen Pada Umbi Benih Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) di Laboratorium. J Horti. 24(2):171–178. DOI: <https://doi.org/10.21082/jhort.v24n2.2014.p171-178>.
- Fesel PH, Zuccaro A. 2016. Dissecting endophytic lifestyle along the parasitism/mutualism continuum in Arabidopsis. Curr Opin Microbiol. 32:103–112. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.05.008>.
- Khairani HG, Sinaga MS, Mutaqin KH. 2017. Mekanisme pengendalian penyakit busuk batang jeruk oleh khamir, kitosan, cendawan mikoriza arbuskular, dan bakteri simbiotiknya. J Fitopatol Indones. 13(1):17–25. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1>.
- Leslie JF, Summerell BA, Bullock S. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Manhattan (US): Blackwell Publishing. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470278376>.
- Muller JL. 2015. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production?. Biotechnol Lett. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1814-4>.
- Ozgönen H, Akgul DS, Erkilic A. 2010. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut. African J Agric Res. 5(2):128–132.
- Priyadharsini P, Pandey RR, Muthukumar T. 2012. Arbuscular mycorrhizal and dark septate fungal associations in shallot (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) under conventional agriculture. Acta Bot Croat. 71(1):159–175. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10184-011-0058-1>.
- Talapatra K, Das AR, Saha AK, Das P. 2017. *In vitro* antagonistic activity of a root endophytic fungus towards plant pathogenic fungi. J App Biol Biotech. 5(2):68–71. DOI: <https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50210>.
- Tondok ET. 2001. Twisting disease caused by *Fusarium oxysporum* on shallot (*Allium cepa* L. var. *agregatum* G. Don.) in Indonesia. [thesis]. Jerman (DE): Institute of Plant Protection, Faculty of Agriculture, George-August University Geottingen, Germany.
- Wiyatiningsih S, Arif W, Endang TP. 2009. Keperahan penyakit moler pada enam kultivar bawang merah karena infeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* di tiga daerah sentra produksi. Seminar Nasional Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian dalam Mendukung Revitalisasi Pertanian. 2009 Des 2. Surabaya (ID). Fak. Pertanian dan LPPM UPN Veteran Jawa Timur.
- Xu XM, Jeffries P, Pautasso M, Jegger MJ. 2011. Combined use of biocontrol agent to manage plant disease in theory and practice. Phytopathology 100(9):1024–1031. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-10-0216>.
- Zuccaro A, Lahrmann U, Langen G. 2014. Broad compatibility in fungal root symbioses. Curr Opin Plant Biol. 20:135–145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.05.013>.
- Zulaika. 2014. Pemanfaatan cendawan endofit dalam pengendalian busuk umbi (*Fusarium oxysporum*) pada bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.