

# Senyawa Phenolik Akar Pisang CV. Kepok (*Musa acuminata*) yang Diinduksi dengan Fungi Mikoriza Arbuskular Indigenus PU10-Glomus sp 1 terhadap Penyakit Darah Bakteri

Suswati<sup>1\*)</sup>, Trimurti Habazar<sup>2)</sup>, Eti Farda Husin<sup>3)</sup>, Nasril Nasir<sup>4)</sup>,  
Dedi Prima Putra<sup>5)</sup>, dan Peter Taylor<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Pascasarjana, Ilmu-Ilmu Pertanian Pemusatan Ilmu Penyakit Tanaman, Universitas Andalas, Padang 25163

<sup>2)</sup>Program Studi Hama dan Penyakit Tanaman, Universitas Andalas, Padang 25163

<sup>3)</sup>Program Studi Ilmu Tanah, Universitas Andalas, Padang 25163

<sup>4)</sup>Program Studi Biologi, Universitas Andalas, Padang 25163

<sup>5)</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Andalas, Padang 25163

<sup>6)</sup>Universitas Queensland, Australia

Diterima 18-08-2009

Disetujui 22-09-20110

## ABSTRACT

Cooking banana (*Musa acuminata*) cv. Kepok is the most susceptible to Blood disease bacterium (BDB) infection. From previous study revealed the best isolate indigenous Arbuscular Mycorrhiza Fungi-Pasar Usang 10 (PU10-Glomus sp 1) could induce cv.Kepok resistance to BDB in green house and field experiment. The AMF could change the phenolic compound in root plant. This objectives were to measure the root phenolic compound and bioassay to BDB. The 50 grams fresh inoculant PU10-Glomus sp 1 were applied to banana root plants 60 days old with 6 levels time course: 12; 24; 36; 48; 72; 92 hours and control (without PU10-Glomus sp 1). The root methanolic extraction followed to Echeverri *et al.*, (2002) methode with vacuum concentration of the filtrate and partitioning into ethyl acetate revealed the presence of an antibacterial compound as detected by TLC (Thin Layer Chromatography), assay phenolic contained by Spectrofotometer UV-Vis 1700. PharmaSpec. Shimadzu and bioassay using BDB. Nine antibacterial compounds rose from root banana seedling colonized by PU10-Glomus sp 1 in 12 hours after applied (haa) ; 24; 36 and 48 haa. They were with Rf values of 0.16; 0.17; 0.19; 0.26; 0.32; 0.37; 0.71; 0.80 and 0.83 on silica plates run in hexane:ethyl acetate (1:2 v/v) and control contained only 0.05 and 0.28. These compounds produced fluorescens which was bright yellow green spots and purple and have antimicrobial properties to BDB.

**Keywords:** banana cv.Kepok, induce resistance, phenolic, antibacterium, clear zone growth

## PENDAHULUAN

Senyawa phenolik tersebut memainkan peranan penting dalam perlindungan tanaman terhadap patogen (Grandmaison *et al.*, 1993). Kadar phenolik yang disintesis oleh sel tanaman selama proses HR bervariasi tergantung pada berbagai faktor seperti spesies atau varietas tanaman, tipe jaringan, tipe patogen dan agen induser tanaman. Pada berbagai jenis tanaman pisang *Musa* sp. yang terserang nematoda ditemukan senyawa phenolik yang berkorelasi dengan pembentukan phenylpropanoid seperti lignifikasi pada pisang jari buaya (AA, Pisang jari buaya group) (Fogain & Gowen, 1996), akumulasi phenolik pada Yangambi km5 (AAA, lbota group) (Fogain & Gowen, 1996, Valette *et al.*, 1998), phenylphenalenone phytoalexin pada *Musa acuminata* (Binks *et al.*, 1997; Luis, 1998), dan

proanthocyanidins dalam jumlah tinggi pada pisang Kunnan (AB) (Collingborn *et al.*, 2000). Selain patogen senyawa phenolik pada tanaman juga terinduksi oleh berbagai agen hayati lain seperti fungi mikoriza arbuskular (FMA) (Dixon & Paiva, 1995).

Introduksi Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) dapat mempengaruhi respon fisiologis dan biokimia tanaman yaitu terjadinya peningkatan produksi senyawa asam salisilat (Blilou *et al.*, 1999), ekspresi gen pertahanan (Harrison & Dixon, 1993), peningkatan ethylene dan metilasi DNA dalam akar (Dugassa *et al.*, 1996), induksi enzim-enzim hidrolitik (Pozo *et al.*, 1999), peningkatan tingkat PR-protein, akumulasi kandungan phenolik, phytoalexin (Harrison & Dixon, 1993; Morandi, 1996; Larose *et al.*, 2002); kalose (Cordier *et al.*, 1998b), akumulasi asam salisilat (Blilou *et al.*, 2000a, 2000b;

\*Telp: +06281363845116

Email: sus\_wati@yahoo.com

Medina *et al.*, 2003); kitinase (Rabie & Almadini, 2005), dan spesies oksigen reaktif (ROS) (Salzer *et al.*, 1999).

Pada berbagai tanaman yang dikolonisasi FMA terjadi perubahan senyawa phenolik dan aktivitas antimikrobanya. Terjadi peningkatan oksidasi dan polymerisasi fenol dalam akar tomat bermikoriza (Dehne & Schonbeck, 1979), kandungan total fenol terlarut dijumpai dalam akar tanaman kacang tanah yang bermikoriza (Krishna & Bagyaraj, 1984), deposit phenolik dan enzim hidrolitik pada tanaman wortel terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* (Benhamou *et al.*, 1994). Introduksi *G. fasciculatum* dan penambahan pupuk P pada tanaman kedelai yang diaplikasi pada saat tanam dapat meningkatkan ketahanan terhadap bakteri pustul (*Xanthomonas campestris* pv. *glycines*). Dalam ekstrak akar, batang dan daun kedelai tersebut ditemukan senyawa antibakteri dengan nilai Rf 0,4 dan 0,54 (Harmet *et al.*, 1999).

Selain kandungan phenolik juga ditemukan senyawa antimikroba yang tergolong fitoaleksin. Fitoaleksin adalah senyawa toksik yang dilepaskan oleh tanaman di tempat terjadinya infeksi. Fitoaleksin termasuk kedalam beberapa jenis senyawa antara lain : terpenoid, glycocortesoid dan alkaloid yang merupakan kelompok senyawa yang umumnya bersifat lipofilik dan spesifik dalam aktivitas antimikrobanya (Morrissey *et al.*, 1999). Senyawa tersebut memiliki kemampuan merusak dinding sel, memperlambat proses maturasi, merusak metabolisme atau mencegah reproduksi patogen. Inokulasi berbagai jenis FMA pada tanaman kedelai ditemukan peningkatan konsentrasi fitoaleksin: glyocelin, coemestrol dan diadzein yang bersifat antimikroba (Morandi *et al.*, 1984). Isoflavonoid seperti glyceolin yang bersifat nematostatik dan caumestrol yang bersifat fungitoksik bersama dengan coumestan isosojagol ditemukan dalam jumlah yang lebih tinggi dalam akar tanaman kedelai yang bermikoriza dibanding akar tanpa mikoriza (Morandi & Le Querre, 1991). Tingkat fitoaleksin medicarpin, coumestrol, daidzein, medicarpin-malonyl glucoside, formononetin, meningkat dalam akar *Medicago truncatula* pada 7-40 hari setelah introduksi *Glomus* sp dimana jumlah senyawa tersebut meningkat tajam selama tahap awal kolonisasi kemudian jumlahnya menurun tajam setelah asosiasinya mapan (Harison & Dixon, 1993).

Kajian kandungan phenolik akar tanaman pisang cv. Kepok yang terkolonisasi FMA-PU10 indigenous dan uji bioaktivitasnya terhadap BDB sampai kini belum ada. Tujuan penelitian adalah untuk mengukur kandungan senyawa phenolik akar pisang cv. Kepok dan uji penghambatan pertumbuhan (bioaktivitas) terhadap BDB.

## BAHAN DAN METODE

**Rancangan Penelitian.** Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah jam setelah introduksi (jsi) FMA-PU10 (A) dengan 6 taraf yaitu: A0= kontrol; A1 = 4 jsi; A2 = 12 jsi; A3 = 24 jsi; A4 = 36 jsi; A5 = 48 jsi; A6 = 72 jsi; A7 = 96 jsi sebagai pembanding digunakan akar tanaman pisang umur 8 bulan setelah tanam (bst) di lahan endemik BDB.

PU10-*Glomus* sp 1 merupakan FMA indigenous yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman pisang terhadap BDB (hasil penelitian awal). PU10-*Glomus* sp 1 diperbanyak pada tanaman jagung selama 2 bulan, kemudian dipanen. Aplikasi PU10-*Glomus* sp 1 dilakukan pada bibit pisang umur 2 bulan setelah aklimatisasi dengan cara membuat koakan disekitar perakaran tanaman, kemudian sebanyak 50 gram inokulan segar PU10-*Glomus* sp 1 diletakkan disekitar akar, diupayakan agar terjadi kontak antara inokulant dengan akar, selanjutnya ditutup dengan media tanam. Tanaman dibongkar sesuai dengan waktu perlakuan, bagian akar diambil untuk dianalisis fitoaleksinnya.

**Ekstraksi dan Fraksinasi.** Ekstraksi dan fraksinasi akar tanaman pisang menggunakan metode Echeverri *et al.*, (2002). Sebanyak 100 gram akar tanaman pisang cv. Kepok yang telah diberi perlakuan dicuci dan dikeringkan dalam oven suhu 40°C, hingga kadar air 10% kemudian di potong-potong ukuran 1 cm x 1 cm, digrinder dan diayak (lolos saringan 180 µm). Sebanyak 10 gr tepung akar pisang dimasukkan kedalam botol kemudian direndam dalam 100 ml etil asetat, selama 3 hari. Perendaman dilakukan sebanyak 2 x 100ml etil asetat. Hasil perendaman disaring, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga 25% volume sisa. Ekstrak EtOAc diuji kandungan phenolik totalnya dan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri BDB (uji bioaktivitas).

**Analisis kualitatif kandungan phenolik total.** Kandungan total phenolik sampel akar diuji dengan

menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,001 gr fraksi etil asetat akar ditambahkan dengan 1 ml methanol. Perlakuan tersebut dilakukan secara terpisah untuk masing-masing perlakuan. Maserat diambil dengan pipet mikro sebanyak 250 µl, kemudian ditambahkan dengan 2,75 ml Reagen Folin Calceur (pengenceran 1:20) dan 2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu 40°C selama 10 menit. Kandungan phenolik total diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis 1700. PharmaSpec. (Shimadzu®) pada 765 nm, masing-masing perlakuan dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali. Standar kurva kalibrasi asam gallat dinyatakan equivalent per gram berat segar akar.

**Analisis Kromatografi Lapis Tipis.** Pemeriksaan dengan KLT dilakukan dengan fasa diam plat silika gel GF254 dengan pengembang hexan - etil asetat (2:1). Sebanyak 0,001 gr fraksi etil asetat akar ditambahkan dengan 1 ml methanol, kemudian 10 µl fraksi etil asetat tersebut ditotolkan pada plat KLT, dibiarkan kering dan dikembangkan dengan hexan - etil asetat (2:1). Sebagai standar digunakan asam salisilat dan asam benzoat. Pita yang terbentuk pada plat KLT dilihat dibawah lampu UV Camag pada panjang gelombang 366 nm. Masing-masing pita yang tampak tersebut dihitung nilai Rf-nya.

**Uji bioaktivitas.** Uji bioaktivitas antimikroba dilakukan dengan metode kertas cakram (Habazar, 1989). Fraksi etil asetat sebanyak 0,001 gr ditambah dengan 1 ml DMSO, diaduk hingga maserat terlarut sempurna. Setiap kertas cakram dibasahi dengan 10 µl fraksi etil asetat kemudian diletakkan dalam biakan bakteri penyakit darah, masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Biakan bakteri diinkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Terbentuknya daerah hambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya senyawa antimikroba pada akar. Untuk mengetahui adanya pita-pita yang aktif dan tidak aktif sebagai senyawa antibakteri maka plat KLT disemprot dengan suspensi BDB pada medium TZC agar 1% (populasi 10<sup>6</sup> upk ml<sup>-1</sup>), kemudian dimasukkan ke

dalam cawan petri diameter 15 cm untuk diinkubasikan selama 48 jam pada suhu kamar (RH > 96%). Daerah hambatan pertumbuhan BDB ditandai dengan jernihnya (clear zone) pada plat KLT yang membuktikan adanya senyawa antibakteri.

**Pengamatan.** Kandungan phenolik total fraksi etil asetat akar tanaman pisang diukur dengan penentuan nilai absorbansi masing-masing ekstrak dengan Spektrofotometer UV-Vis 1700. PharmaSpec. (Shimadzu®) pada panjang gelombang 765 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi ke persamaan regresi senyawa standar asam galat yaitu  $Y=0,0156X-0,0195$ ;  $R^2= 0,9992$ , di mana  $Y=$  Kandungan phenolik,  $X =$  Nilai absorbansi.

Kemampuan fraksi etil asetat dalam menghambat tumbuh BDB dihitung dengan menggunakan rumus  $L = 2 r$ , dimana  $L =$  luas daerah zona hambat tumbuh BDB,  $r =$  jari-jari daerah hambat tumbuh BDB.

Terbentuknya pita-pita fraksi etil asetat akar tanaman yang diaplikasi FMA pada plat KLT di amati dengan mengukur nilai Rf masing-masing pita dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak relatif yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Kandungan Phenolik Total.** Kandungan phenolik total fraksi etil asetat akar tanaman pisang diukur dengan penentuan nilai absorbansi masing-masing ekstrak dengan Spektrofotometer UV-Vis 1700. PharmaSpec.(Shimadzu®) pada panjang gelombang 765 nm yang diulang 3 kali. Aplikasi FMA menyebabkan teraktivasinya mekanisme pertahanan tanaman melalui perubahan kandungan phenolik akar tanaman. Senyawa tersebut terdapat dalam jumlah rendah pada awal kolonisasi kemudian meningkat seiring dengan bertambahnya waktu kolonisasi FMA (Tabel 1). Pada awal kolonisasi PU10-Glomus sp 1 menyebabkan penurunan kandungan phenolik akar cv.Kepok sebesar

Tabel 1. Kandungan phenolik total akar tanaman pisang cv Kepok setelah aplikasi FMA-PU10 pada waktu yang berbeda diuji dengan Spektrofotometer UV-Vis 1700

Bahan uji	Waktu perlakuan (jam)	Konsentrasi (µg/ml)	kandungan phenolik total (rata-rata± stdev) µg/ml	Perubahan kandungan phenolik (%)
Kontrol	0	1	10,481 ± 1,994	0,000
FMA-PU10	12	1	4,113 ± 2,590	- 60,760
	24	1	5,865 ± 2,629	- 44,040
	36	1	7,596 ± 2,774	- 27,530
	48	1	8,130 ± 2,290	- 22,430
	72	1	9,903 ± 6,164	- 5,510
	96	1	10,502 ± 3,634	0,200
LFMA PU-10	8 bulan setelah tanam di lahan endemik BDB	1	26,603 ± 2,693	153,820
LKontrol	8 bulan setelah tanam di lahan endemik BDB	1	11,220 ± 2,889	6,670

60,76% (12 jsi) dan 5,51% (72 jsi), kemudian mengalami sedikit peningkatan (0,20%) pada 96 jsi. Peningkatan yang cukup tajam sebesar 153,82% ditemukan dalam ekstrak akar tanaman yang telah 8 bst di lapangan.

**Analisis Kromatografi Lapis Tipis.** Hasil pengujian fraksi etil asetat yang dielusi dengan pelarut heksan: etil asetat (1:2 v/v) pada plat KLT diperoleh beberapa pita yang berfluorescens kuning hijau cerah dan ungu dibawah sinar UV Camag pada 366 nm yang memiliki nilai Rf berbeda (Tabel 2). Terjadi penambahan beberapa pita baru dengan nilai Rf yang berbeda pada 12 jsi hingga 48 jsi, kemudian jumlah pita berkurang dari 72 jsi -96 jsi. Hal ini diduga bahwa aplikasi PU10-Glomus sp 1 menyebabkan terbentuknya jenis senyawa phenolik baru yang memiliki aktivitas berbeda dengan senyawa phenolik akar kontrol.

**Analisis Bioaktivitas.** Uji bioaktivitas fraksi etil asetat dengan metode kertas cakram diperoleh bahwa senyawa phenolik akar tanaman bermikoriza memiliki sifat anti bakteri yang lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 3). Masing-masing perlakuan memberikan hasil yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Aktivitas antibakteri senyawa phenolik akar tanaman pisang bermikoriza meningkat 53,40%-100,00%. Aplikasi PU10-Glomus sp 1 setelah 24 jsi akan meningkatkan aktivitas antibakteri senyawa phenolik hingga 100%. Sebagai pembanding juga dilakukan analisis bioaktivitas senyawa phenolik akar tanaman pisang sehat dan tanaman pisang yang terserang secara alami di lahan endemik BDB.

Ditemukan bahwa aktivitas senyawa phenolik tanaman tersebut memiliki aktivitas yang tergolong tinggi yaitu 126,60% sedang pada akar sehat aktivitasnya lebih rendah (46,60%). Hasil uji dengan metode kertas cakram selaras dengan hasil uji antibakteri pada plat KLT. Ditemukan tidak adanya pertumbuhan pada pita-pita aktif yang ditandai dengan zona terang (clear zone) sedang pada pita-pita tidak aktif ditemukan adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan warna agak gelap.

Tanaman pisang cv.Kepok merupakan jenis pisang yang sangat respon terhadap introduksi FMA. Pada pengujian awal diperoleh bahwa isolat PU10-Glomus sp 1 dapat meningkatkan ketahanan cv.Kepok terhadap BDB dalam pengujian rumah kaca dan lapangan (Suswati *et al.*, 2008). Mekanisme peningkatan ketahanan cv.Kepok terhadap BDB setelah diaplikasi dengan PU10-Glomus sp 1 diketahui melalui perubahan jumlah senyawa phenolik akar dan aktivitas antibakteri. Pada awal kolonisasi (12-72 jsi) kandungan phenolik menurun kemudian mengalami peningkatan secara lambat dan rendah setelah 96 jsi. Respon tanaman akibat introduksi FMA ini berjalan pada waktu yang pendek khususnya di awal infeksi dan untuk selanjutnya terjadi interaksi yang harmonis antara inang dan fungi sehingga respon ketahanan berkurang/dapat ditekan. Hasil yang diperoleh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Krishna dan Bagyaraj (1984), dimana aplikasi mikoriza menyebabkan terjadi peningkatan kandungan total phenol terlarut akar

Tabel 2. Nilai Rf fraksi ethyl acetat akar tanaman pisang yang diinduksi dengan FMA-PU10 pada plat Kromatografi Lapis Tipis

Bahan uji	Waktu perlakuan (jam)	Nilai Rf
Kontrol	0	0,05 <sup>*</sup> ; 0,28 <sup>**</sup>
FMA	12	0,06 <sup>**</sup> ; 0,19 <sup>**</sup> ; 0,32 <sup>**</sup> ; 0,80 <sup>**</sup>
	24	0,05 <sup>*</sup> ; 0,16 <sup>**</sup> ; 0,37 <sup>**</sup> ; 0,71 <sup>**</sup>
	36	0,03 <sup>**</sup> ; 0,17 <sup>**</sup> ; 0,71 <sup>**</sup>
	48	0,05 <sup>*</sup> ; 0,26 <sup>**</sup> ; 0,83 <sup>**</sup>
	72	0,06 <sup>**</sup>
	96	0,04 <sup>**</sup>
Asam salisilat		0,22 <sup>*</sup>
Asam benzoat		0,33 <sup>*</sup>

Keterangan : \* = pita tidak aktif; \*\* = pita aktif

Tabel 3. Zona hambat ekstrak fraksi etil asetat akar tanaman pisang setelah aplikasi FMA-PU10 pada waktu yang berbeda

Bahan uji	Waktu perlakuan (jam)	Konsentrasi (µg/ml)	Zona hambat (rata-rata ± stdev) (mm)	Peningkatan (%)
Kontrol	0	1	5,00 ± 0,00	0,00
FMA-PU10	12	1	7,67 ± 0,57	53,40
	24	1	10,00 ± 3,46	100,00
	36	1	9,00 ± 1,00	80,00
	48	1	8,00 ± 0,00	62,60
	72	1	9,00 ± 1,73	98,06
	96	1	8,67 ± 1,15	73,40
LFMA PU-10	8 bulan setelah tanam di lahan endemik BDB	1	11,33 ± 2,52	126,60
LKontrol	8 bulan setelah tanam di lahan endemik BDB	1	7,33 ± 0,58	46,60

kacang tanah, deposit phenolik dan enzim hidrolitik pada tanaman wortel bermikoriza terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* (Benhamou *et al.*, 1994). Sedang pada perakaran tanaman kedelai dan spesies *Medicago* yang bermikoriza dilaporkan bahwa akumulasi fitoaleksin atau prekursor fitoaleksin terjadi secara lambat, rendah dan sementara (Morandi *et al.*, 1984; Harrison & Dixon, 1993; Volpin *et al.*, 1995), dan ekspresi gen yang mengkode biosintesa enzim PAL (pada tahap awal/early stage) (Harrison & Dixon, 1993; Volpin *et al.*, 1994,1995). Sementara pada tanaman buncis, parsley atau akar tanaman kentang tidak terjadi perubahan aktivitas PAL dan akumulasi fitoaleksin (Lambais & Mehdy, 1993). Penurunan kandungan phenolik akar tanaman pisang yang diaplikasi PU10-*Glomus* sp 1 berkorelasi positif dengan penurunan aktivitas enzim PAL dalam akar tersebut pada awal kolonisasi (12 jsi-72 jsi) sedang pada 96 jsi terjadi peningkatan walaupun dalam jumlah rendah (Suswati *et al.*, 2009). Setelah tanaman dipindah ke lahan endemik BDB, terjadi peningkatan kandungan phenolik yang cukup besar pada tanaman pisang bermikoriza (153,820%) sedang kontrol hanya 6,670%. Menurut García-Garrido dan Ocampo (2002), tanaman akan terstimulasi lebih kuat dalam mengaktifkan mekanisme pertahanan pada saat patogen menyerang tanaman. Menurut berbagai hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa mekanisme pertahanan tumbuhan diaktifkan lebih cepat dan lebih besar di dalam tanaman yang bermikoriza pada saat adanya serangan patogen dibanding tanaman tanpa mikoriza.

Kandungan phenolik, fitoaleksin yang disintesis oleh sel tanaman selama proses patogenisitas bervariasi tergantung pada berbagai varietas tanaman, tipe jaringan dan tipe patogen. Produksi senyawa tersebut dalam skala besar hanya terdapat pada kombinasi ras bakteri dan varietas yang inkompatibel tetapi juga ditemukan dalam kadar rendah dalam kombinasi kompatibel (Habazar & Rivai, 2000). Tingkat fitoaleksin medicarpin, coumestrol, daidzein, medicarpin-malonyl glucoside, formononetin, meningkat dalam akar *Medicago truncatula* pada 7- 40 hari setelah introduksi *Glomus* sp (Harison & Dixon, 1993).

Hasil pengujian senyawa aktif antibakteri pada plat KLT diperoleh bahwa aplikasi PU10-*Glomus* sp 1 akan menyebabkan terinduksinya ketahanan tanaman yaitu dengan terbentuknya beberapa senyawa aktif yang

terdeteksi dengan munculnya pita-pita baru yang memiliki nilai Rf yang berbeda dengan kontrol. Jumlah pita aktif tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh lamanya masa kolonisasi mikoriza. Pada awal kolonisasi terdapat 4 pita aktif dengan nilai Rf 0,06,0,19,0,32,0,80, pada 24 jsi terdapat 3 pita aktif dengan nilai Rf 0,16,0,37,0,71 pada 36 jsi juga terdapat 3 pita aktif pada Rf 0,03,0,17 dan 0,71. Pada 48 jsi terjadi pengurangan pita aktif menjadi 2 buah yaitu pada Rf 0,26 dan 0,83, sedang pada akhir kolonisasi 72 jsi dan 96 jsi hanya terdapat masing-masing 1 pita aktif dengan nilai Rf berturut-turut 0,06 dan 0,04, sedang kontrol memiliki 2 pita dengan nilai Rf 0.05 dan 0.28. Senyawa standar asam salisilat dan benzoat memiliki nilai Rf 0,22 dan 0,33. Hasil penelitian Plumbley and Sweetmore, (2001), dalam fraksi etil asetat daun yam (*Dioscorea alata*) yang peka terhadap penyakit antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) ditemukan hanya satu pita dengan nilai Rf 0,32 sedang pada tanaman yang resisten ditemukan adanya tiga pita baru yang muncul yang tergolong senyawa phenolik dengan nilai Rf: 0,15, 0,21 dan 0,39 dan memiliki aktivitas antifungi. Inokulasi *G. fasciculatum* dan penambahan pupuk P pada tanaman kedelai yang diaplikasi pada saat tanam dapat meningkatkan ketahanan terhadap bakteri pustul (*Xanthomonas campestris* pv. *glycines*), dalam ekstrak akar, batang dan daun ditemukan senyawa antibakteri dengan nilai Rf 0,4 dan 0,54 (Harmet *et al.*, 1999).

Aktivitas antibakteri senyawa phenolik dengan jelas dapat diukur dalam pengujian bioassay dengan metode kertas cakram. Aktivitas antibakteri meningkat dari 53,40% (12 jsi) hingga 100% pada 24 jsi. Pada pengujian aktivitas antibakteri pada plat KLT diketahui bahwa sebagian besar pita yang muncul akibat aplikasi FMA memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian Morandi *et al.*, (1996), inokulasi berbagai jenis FMA pada tanaman kedelai dapat meningkatkan konsentrasi fitoaleksin: glyocelin, coemestrol dan diadzein yang bersifat antimikroba. Isoflavonoid seperti glyceolin yang bersifat nematostatik dan caumestrol yang bersifat fungitoksik bersama dengan coumestan isosojagol ditemukan dalam jumlah yang lebih tinggi dalam akar tanaman kedelai yang bermikoriza dibanding akar tanpa mikoriza (Morandi & Le Querre, 1991). Pada tanaman yang terserang oleh mikroorganisme patogen juga ditemukan

fitoaleksin dan peningkatan enzim pertahanan. Hasil penelitian Echeverri *et al.*, (2002), ditemukan beberapa jenis fitoaleksin dari kelompok isoflavonoid di dalam daun dan akar tanaman pisang akibat serangan *Mycosphaerella fijiensis* dan *Fusarium oxysporum* yaitu: 9-phenylphenalenones; 4- phenylphenalenones; irenolone; 4'-methoxyirenolone; musanolones dan dari bagian buah yang terserang *Colletotrichum musae* telah diidentifikasi 17 derivat phenylphenalenone.

### KESIMPULAN

Aplikasi PU10-Glomus sp 1 indigenous akan mengaktifkan ketahanan tanaman melalui peningkatan kandungan senyawa phenolik. Kandungan senyawa tersebut pada awal kolonisasi mengalami penurunan kemudian jumlahnya meningkat seiring dengan lamanya waktu kolonisasi mikoriza. Senyawa phenolik tersebut dapat menghambat pertumbuhan BDB (antibakteri).

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih di sampaikan kepada Direktur Dikti, DP2M yang telah memberikan Dana Penelitian kegiatan ini yang merupakan program kerjasama antara Universitas Medan Area dengan DIKTI, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor : 078/SP2H/PP/DP2M/III/2008.

### DAFTAR PUSTAKA

- Benhamou, N., Fortin, J.A., Hamel, C., St-Arnaud, M. & Shatilla, A.** 1994. Resistance responses of mycorrhizal Ri T-DNA-transformed carrot roots to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*. *Phytopathology* **84**: 958-968.
- Binks, R.H.** 1996. Aspects of biochemical resistance in *Musa* spp. *Nematropica* **26**: 243.
- Binks, R.H., Greenham, J.R., Luis, J.G. & Gowen, S.R.** 1997. A phytoalexin from roots of *Musa acuminata* var. "Pisang sipulu". *Phytochemistry* **45**: 47-49.
- Blilou, I., Ocampo, J.A. & Garcia-Garrido, J.M.** 1999. Resistance of pea roots to endomycorrhizal fungus or *Rhizobium* correlates with enhanced levels of endogenous salicylic acid. *J. Exp. Bot* **50**: 1663-1668.
- Blilou, I., Bueno, P., Ocampo, J.A. & Garcia-Garrido, J.M.** 2000a. Induction of catalase and ascorbate peroxidase activities in tobacco roots inoculated with the arbuscular mycorrhizal *Glomus mosseae*. *Mycological Research* **104**: 722-725.
- Blilou I, Ocampo, J.A. & Garcia-Garrido, J.M.** 2000b. Induction of *Ltp* (Lipid transfer protein) and *Pal* (Phenylalanine ammonia-lyase) gene expression in rice roots colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *J Exp Bot* **51**:1969-1977
- Brundrett, M., Abbot, L.K., Jasper, D.A. & Aswath, N.** 1994. Mycorrhizal association in Disturbed and Natural Habitats in Tropical Australia Mycorrhizas for plantation Forestry in Asia. Proceeding of International Symposium and workshop, Kaping, Guandong Province, P.R. China 7-11 November 1994. Editors M.Brundrett, B.dell. Maljczuk and Gong Mingqin. P.34-40.
- Campbell, R.** 1989. Effect of *Glomus intraradices* on infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* in tomatoes 12 week period. *Canadian Journal Botany* **64**: 552-556.
- Collingborn, F.M.B., Gowen, S.R. & Mueller-Harvey, I.** 2000. Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three *Musa* cultivars in response to *Radopholus similis* infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 5297-5301.
- Cordier, C., Pozo, M.J., Gianinazzi, S. & Gianinazzi-Pearson, V.** 1998b. Cell defence responses associated with localised and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol. Plant Microbe Interac* **11**:1017-1028.
- Dehne, H.W. & Schönbeck, F.** 1979. Untersuchungen zum einfluss der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten: II. Phenolstoffwechsel und lignifizierung. *Phytopath.Z.* **95**: 210-216.
- Dehne, H.W.** 1992. Interaction between vesicular arbuscular mycorrhizae fungi and plant pathogens. *Phytopathology*.
- Dixon, R.A., Harrison, M.J., Paiva, N.L.** 1995. The isoflavonoid phytoalexin pathway: From enzymes to genes to transcription factors. *Physiologia Plantarum* **93**: 385-392.
- Dugassa, G.D., von Alten, H. & Schonbeck, F.** 1996. Effect of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. *Plant Soil*, **185**: 173-18.
- Echeverri, F., Quinones, W., Torres, F. & Scheinede, B.** 2002. Correlation Between phenylphenalenones phytoalexins and phytopathological properties In *Musa* and role of a dehydrophenylphenalenonetriol. *Molecules* **7**: 331-340.
- Fogain, R. & Gowen, S.R.** 1996. Investigations on possible mechanism of resistance to nematodes in *Musa*. *Euphytica* **92**: 375-381.
- Garcia-Garrido, J.M. & Ocampo, J.A.** 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of experimental Botany* **53**: 1377-1386.
- Grandmaison, J., Olah, G.M., van Calsteren, M.R. & Furlan, V.** 1993. Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. *Mycorrhiza* **3**:155-164.
- Habazar, T. & Rivai, F.** 2000. Dasar-Dasar Bakteri Patogenik Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang.
- Harison, M.J. & Dixon, R.A.** 1993. Isoflavonoid accumulation and expression of defence gene transcripts during the establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations in roots of *Medicago trunculata*. *Mole. Plant Microbe Interac* **6**: 643-654.
- Harmet.** 1999. Peranan *G. fasciculatum* dan pupuk fosfor dalam peningkatan ketahanan tanaman kedelai terhadap penyakit pustul bakteri (*Xcg*). Thesis program pascasarjana Universitas Andalas Padang. 73 hal.
- Kobayashi, N. & Branch, K.** 1991. Biological control of soil borne disease with vesicular arbuscular mycorrhiza fungi and charcoal compost. In: Proceeding of the international seminar biological control of plant disease and Virus vektor. Sept 17-21, Tsukuba. Japan 153-160.
- Krishna, K.R. & Bagyaraj, D.J.** 1984. Phenols in mycorrhizal roots of *Arachis hypogaea*. *Experientia* **40**: 85-86.
- Larose, G., Chenevert., Moutoglis, P., Gagne, S., Piché & Vierheilig, H.** (2002). Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *J Plant Physiol* **159**: 1329-1339.
- Luis, J.G.** 1998. Phenylphenalenone-type phytoalexins and phytoanticipins from susceptible and resistance cultivars of *Musa* species. Its potential for engineering resistance to fungi and nematodes into banana. *Acta Horticulturae* **490**: 425-430.
- Medina, H.M.J., Gagnon, H., Piché, Y., Ocampo, J.A., Garcia Garrido, J.M. & Vierheilig, H.** (2003) Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. *Plant Sci* **164**: 993-998.
- Morandi, D., Baily, J.A. & Gianinazzi-Pearson, V.** 1984. Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with

- vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant Pathol* **24**: 357-364.
- Morandi, D. & Le Querre, J.L.** 1991. Influence of nitrogen on accumulation of isosojagol ( a newly detected coumestan in soybean) and associated isoflavonoids in roots and nodules of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybean. *New Phytol* **117**: 75-79.
- Morandi, D.** 1996. Occurrence of phytoalexins and phenolics compounds in endomycorrhizal interaction and their potential role in biological control. *Plant and Soil* **185**: 241-251.
- Morrissey, John. P., Osburn., Anne, E. & Fungal Resistance to Plant Antibiotics as a Mechanism of Pathogenesis.** 1999. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 708-724.
- Pozo, M.J., Azcón-Aguilar, C., Dumas-Gaudot, E. & Barea, J.M.** 1999.  $\beta$ -1,3-glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Sci* **141**:149–157.
- Plumbley, R.A & Sweetmore, A.** 2001. Phenolic compounds and resistance of Yam (*Dioscorea alata*) to Anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance. Acta Horticulturae. 381.
- Salzer, P., Corbière, H. & Boller, T.** 1999. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus *Glomus mosseae*. *Planta* **208**: 319-325.
- Sieverding, E.** 1991. Vesicular- arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. GTZ GmbH. Germany. pp. 371.
- Smith, S.E. & Read, D.J.** 1997. Mycorrhizae symbios. Academic press. Harcourt brace & Company, Publisher, UK. pp. 605.
- Suswati, Habazar, T., Husin, E.F., Nasir, N., Putra, D.P. & Taylor, P.A.** 2008. Seminar Nasional dan Workshop Mikoriza Indonesia, Fakultas Ekonomi Universitas Andalas, Padang 12- 15 November 2008.
- Suswati, Habazar, T., Husin E.F., Nasir, N., Putra, D.P. & Taylor, P.A.** 2009. Phenylalanine Ammonia-lyase Activity In Plantain cv.Kepok Induced by PU10-AMF. The 2<sup>nd</sup> International Seminar And Workshop On Advance Molecular Biology.Pangeran Beach Hotel, Padang. August 17<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> 2009.
- Valette, C., Andary, C., Geiger, J.P., Sarah, J.L. & Nicole, M.** 1998. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected by the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Phytopathology*, **88**: 1141-1148.