Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan 11(2):62-66 (1999)
Bulletin of Plant Pests and Diseases, ISSN 0854-3836

UJI KETAHANAN BERBAGAI VARIETAS KEDELAI TERHADAP FITOPLASMA

Asniwita1), Rusmilah Suseno[2)], Sri Hendrastuti Hidayat[2)] dan Budi Tjahjono[2)]

[1)]Fakultas Pertanian-Universitas Jambi, [2)]Jurusan Hama dan Penyakit, Fakultas Pertanian-IPB

ABSTRACT

Evaluation of Varietal Resistance of Soybean to Phytoplasma

It has been known that phytoplasma inducing witches broom disease can infect various kind of leguminous plants in Indonesia, among others soybean. Information on the resistance of various kind of soybean varieties to the phytoplasma is still limited.

Experiments were conducted to evaluate the resistance of ten soybean varieties/lines to the phytoplasma. The evaluation was carried out by inoculation method through Orosius argentatus *Evans, with two days of acquisition feeding period, ten days latent period and two days inoculation feeding period. Observation was conducted on the presence of phytoplasma, incubation period, symptom and number & weight of seed. The result indicated that line Malang 3474 was resistant, Sindoro and Sriono were tolerant, while the other tested varieties/lines, i.e. Galunggung, Orba, Ringgit, Wilis, Malang 2999, Malang 2805 and Sicinang were susceptible.*

Key words: Phytoplasma, witches broom *Orosius argentatus.*

RINGKASAN

Uji Ketahanan Berbagai Varietas Kedelai Terhadap Fitoplasma

Telah diketahui bahwa fitoplasma penyebab penyakit sapu dapat menyerang berbagai tanaman leguminosa di Indonesia, diantaranya kedelai. Informasi mengenai resistensi berbagai macam varietas kedelai terhadap fitoplasma masih sangat sedikit.

Penelitian dilakukan untuk mengevalusi resistensi sepuluh varietas/galur kedelai terhadap fitoplasma. Evaluasi ini dilakukan dengan cara inokulasi melalui Orosius argentatus *Evans, dengan dua hari periode makan akuisisi, sepuluih hari periode laten dan dua hari periode makan inokulasi. Observasi terhadap keberadaan fitoplasma, periode inkubasi, gejala dan jumlah dan berat biji, menunjukkan bahwa galur Malang 3474 adalah tahan, Sindoro dan Sriono toleran. Varietas/galur lainnya yang diuji, yaitu: Galunggung, Orba, Ringgit, Wilis, Malang 2999, Malang 2805 dan Sicinang adalah rentan.*

Kata kunci : Fitoplasma, penyakit sapu, *Orosius argentatus*

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) termasuk tanaman palawija yang mempunyai arti penting. Indonesia menempati urutan ke delapan dari 10 besar negara penghasil kedelai dunia dengan produksi sebesar 1,6 juta ton (Wrather *et al.* 1997). Walaupun demikian produksi kedelai di Indonesia belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri, sehingga pemerintah masih terus mengimpor kedelai.

Salah satu faktor yang dapat mengurangi produksi kedelai adalah gangguan penyakit. Penyakit sapu yang disebabkan oleh fitoplasma merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman Leguminosa. Penyebaran geografi fitoplasma sangat luas dan sering menimbulkan epidemi (Oka, 1977). Menurut Mamahit (1998) fitoplasma penyebab penyakit sapu dapat menyerang berbagai tanaman leguminosa seperti kacang merah, kacang hijau, kacang panjang, kacang tunggak, kacang bogor, kacang buncis, kecipir dan bengkuang. Penyakit sapu pada kedelai ditularkan oleh serangga *Orosius argentatus* Evans (Iwaki *et al.* 1978).

Serangan fitoplasma dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik tetrasiklin yang dapat menyebabkan gejala hilang untuk sementara waktu (Fletcher *et al.* 1984; Sinclair & Backman 1993), sehingga aplikasinya harus terus menerus, disamping itu harganya sangat mahal. Menggunakan varietas tahan merupakan cara pengendalian yang mudah, murah dan tidak berdampak negatif terhadap lingkungan.

Berdasarkan permasalahan yang dikemukakan di atas, maka dalam rangka usaha pengendalian penyakit ini perlu dilakukan suatu penelitian mengenai pengujian ketahanan berbagai varietas kedelai terhadap fitoplasma tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan berbagai varietas/galur kedelai terhadap fitoplasma penyebab penyakit sapu.

BAHAN DAN METODE

Tanaman Kedelai Sumber Inokulum dan Tanaman Uji.

Sebagai sumber inokulum digunakan tanaman kedelai dari lapang yang menderita penyakit sapu. Untuk tanaman uji digunakan 10 varietas/galur kedelai yaitu Galunggung, Orba, Ringgit, Wilis, Malang 2999, Malang 2805, Malang 3474, Sicinang, Sindoro, dan Sriono. Tanaman uji tersebut berasal dari benih yang telah direndam dalam larutan NaOCl 1% selama 5 menit, kemudian dicuci dengan akuades. Penanaman dilakukan pada polibeg berdiameter 35 cm, berisi campuran tanah dan pupuk kandang 3:1 (v/v) yang telah disterilkan.

Serangga Vektor

Serangga vektor yang digunakan adalah *Orosius argentatus* dari lapang yang sebelumnya telah dibebaskan dari fitoplasma. Penyiapan serangga vektor bebas fitoplasma dilakukan dengan memelihara beberapa pasang *O. argentatus* dewasa pada tanaman kacang tanah sehat yang ditanam pada polibag berdiameter 35 cm dan ditutup dengan kurungan plastik. Setelah 7 hari serangga dewasa tersebut dikeluarkan. Nimfa (generasi I) yang baru menetas dipindah ke tanaman kacang tanah sehat baru dan dipelihara sampai menjadi serangga dewasa. Untuk mendapatkan serangga vektor yang berumur sama dilakukan dengan memelihara 5 ekor serangga dewasa tersebut (2 ekor jantan dan 3 ekor betina) pada kacang tanah sehat. Satu minggu kemudian serangga dewasa tersebut dikeluarkan. Nimfa (generasi ke II) dipelihara sampai dewasa, selanjutnya serangga ini digunakan sebagai serangga vektor.

Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap, terdiri atas dua faktor yaitu varietas kedelai dengan 10 taraf dan serangga vektor dengan 2 taraf (*O. argentatus* mengandung fitoplasma dan *O. argentatus* tanpa fitoplasma). Tanaman yang diinokulasi sebanyak empat tanaman untuk setiap varietas/galur.

Penularan Fitoplasma dengan *O. argentatus*

Cara penularan dilakukan sebagai berikut: periode makan akuisisi selama 2 hari, periode makan laten 10 hari dan periode makan inokulasi 2 hari. Periode makan akuisisi untuk taraf *O. argentatus* tanpa fitoplasma digunakan tanaman kedelai sehat, selanjutnya cara berikutnya sama dengan untuk taraf *O. argentatus* yang mengandung fitoplasma. Inokulasi dilakukan dengan 5 serangga vektor per tanaman uji yang berumur 1 minggu.

Pengujian dengan Teknik PCR

Untuk mengetahui adanya infeksi pada tanaman kedelai yang tidak menunjukkan gejala dilakukan pengujian dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menurut Dellaporta *et al.* (1983) dan Gibb & Padovan (1994) yang meliputi (1) ekstraksi DNA total tanaman, (2) amplifikasi DNA dengan PCR, dan (3) visualisasi DNA dengan elektroforesis. Dalam metode ini digunakan sepasang primer fP1 (5'AAGAGTTTGATCCTCGCTCAGGATT3') dan rP7 (5'CGTCCTTCATCGGCTCTT3') yang dapat mengamplifikasi genom fitoplasma pada *region* berukuran 1800 pasang basa. Proses amplifikasi ini menggunakan *Thermal cycler* Corbett FTS-dengan kondisi suhu 92°C pada 1 menit pertama (*hot start*); selanjutnya daur pemanasan yang terdiri atas tahap denaturasi (95°C, 1 menit), anilisasi (53°C, 1 menit) dan ekstensi (72°C, 1,5 menit). Daur tersebut dilakukan sebanyak 35 kali. Setelah reaksi PCR selesai, suhu dipertahankan pada 4°C sampai analisis DNA dilakukan.

DNA hasil ekstraksi maupun PCR divisualisasikan dengan elektroferesis gel agarose 1%. DNA fitoplasma yang positif teramplifikasi oleh PCR ditunjukkan dengan terbentuknya pita berukuran 1800 pb dengan membandingkannya terhadap marker 1 kb. Ladder.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap: (1) periode inkubasi, (2) macam gejala, (3) jumlah biji per tanaman, dan (4) bobot biji per tanaman.

Pengelompokkan Tipe Ketahanan Varietas/Galur Kedelai terhadap Fitoplasma

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dan uji PCR digunakan untuk mengelompokkan varietas tersebut ke dalam kelompok tahan, laten, toleran atau rentan, Pengelompokkan berdasarkan pada reaksi tanaman terhadap fitoplasma (Tabel 1).

Perbedaan periode inkubasi dan persentase tanaman bergejala ternyata dipengaruhi oleh varietas/galur kedelai. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Ploarie (1981), periode inkubasi fitoplasma dipengaruhi oleh varietas, umur tanaman, jumlah vektor dan faktor lingkungan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Periode Inkubasi dan Persentase Tanaman yang Menunjukkan Gejala Penyakit Sapu pada Berbagai Varietas/Galur Kedelai

Periode inkubasi fitoplasma penyebab penyakit sapu pada tanaman kedelai berkisar antara 29 - 36 hari dan persentase tanaman yang menunjukkan gejala berkisar antara 0-100% (Tabel 2).

Tabel 1 Pengelompokkan tipe ketahanan tanaman berdasarkan reaksi tanaman terhadap fitoplasma

Tipe ketahanan	Fitoplasma	Gejala	Pengurangan Jumlah biji/bobot biji
Tahan	-	-	-/-
Laten	+	-	-/-
Toleran	+	+	-/-
Rentan	+	+	+/+

Keterangan : + = ada - = tidak ada

Tabel 2 Periode inkubasi dan persentase tanaman bergejala pada berbagai varietas/ galur kedelai.

Varietas/Galur	Periode inkubasi (hari)	Tanaman bergejala (%)
Galunggung	30 - 32	75
Orba	32 - 36	75
Ringgit	31 - 33	75
Wilis	29 - 30	100
Malang 2999	35 - 36	100
Malang 2805	33 - 35	50
Malang 3474	0	0
Sicinang	34 - 35	75
Sindoro	33	25
Sriono	36	25

Macam Gejala

Gejala pertama kelihatan pada fase pembungaan yang ditunjukkan oleh adanya *virescens* atau polong tumbuh tegak. Gejala selanjutnya berupa filodi, proliferase, polong yang tumbuh tegak kelihatan berombak dan tidak menghasilkan biji (polong hampa), bunga berkembang dalam jumlah banyak dan berkelompok seperti satu kumpulan bunga besar. Tanaman yang terserang berat tidak menghasilkan biji. Pada galur Sriono dan Sindoro gejala yang ditemui hanya sampai petal berwarna hijau, tanaman banyak menghasilkan bunga yang normal dan menghasilkan biji. Gejala yang hampir sama dilaporkan oleh Fletcher *et al.* (1984) pada kedelai yang terserang fitoplasma di Mexico, yaitu dengan gejala *virescens* pada petal, fidi, proliferase, dan polong tumbuh tegak.

Tanaman yang diperlakukan dengan *O. argentatus* yang diambil dari kedelai sehat (periode akuisisi pada tanaman sehat) tidak menunjukkan gejala terserang fitoplasma hingga panen.

Adanya gejala penyakit sapu pada tanaman kedelai yang diinokulasi melalui *O. argentatus* yang mengandung fitoplasma dapat menguatkan pendapat bahwa penyebab penyakit sapu pada kedelai dapat ditularkan oleh vektor *O. argentatus.* Menurut Iwaki *et al.* (1978) *O. argentatus* yang infektif (telah mengandung fitoplasma) dapat menularkan fitoplasma 80-90%.

Jumlah Biji

Inokulasi fitoplasma pada galur Malang 3474, Sindoro, dan Sriono tidak menyebabkan pengurangan rata-rata jumlah biji per tanaman, sedangkan pada varietas/galur lainnya yang diuji fitoplasma dapat menurunkan jumlah biji yang dihasilkan (Tabel 3).

Pengurangan jumlah biji per tanaman pada varietas/galur tersebut adalah: (53,94%), (77,28%), (86,04%), (100%), (58,48%), (80,09%) berturut-turut pada Galunggung, Orba, Ringgit, Wilis dan Malang 2999, Malang 2805 dan Sicinang. Penyakit sapu dapat mengurangi rata-rata jumlah biji per tanaman pada ke tujuh varietas/galur tersebut sebanyak 53,94-100%.

Tabel 3 Rata-rata jumlah biji per tanaman pada berbagai varietas/galur kedelai

Varietas/galur	Rata-rata jumlah biji per tanaman	
	Inokulasi tanpa fitoplasma	inokulasi dengan fitoplasma
Galunggung	104,75 a	48,25 b
Orba	110,00 a	25,00 b
Ringgit	100,25 a	14,00 b
Wilis	125,00 a	0,00
Malang 2999	122,50 a	0,00 b
Malang 2805	112,00 a	46,50 b
Malang 3474	120,00 a	115,00 a
Sicinang	87,75 a	17,50 b
Sindoro	101,50 a	80,00 a
Sriono	105,25 a	86,20 a

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%, $\sqrt{x+0,5}$.

Bobot Biji

Inokulasi fitoplasma pada galur Malang, Sindoro, dan Sriono, tidak menyebabkan pengurangan bobot biji per tanaman. Pada varietas/galur lain yang diuji fitoplasma dapat menurunkan bobot biji per tanaman (Tabel 4).

Kehilangan bobot biji per tanaman pada beberapa varietas/galur adalah: (54,17%), (75,93%), (85,54%), (100%), (80,61%) berturut-berturut pada Galunggung, Orba, Ringgit, Wilis dan Malang 2999, dan Sicinang. Fitoplasma penyebab penyakit sapu dapat mengurangi bobot biji per tanaman pada ketujuh varietas/galur yang terinfeksi tersebut sebesar 54,17-100%.

Dalam tanaman pada umumnya fitoplasma berada dalam floem dan dengan adanya akumulasi fitoplasma dalam jaringan tersebut translokasi zat-zat hasil fotosintesis terganggu. Dengan demikian pembentukan biji juga terganggu dan dapat mengurangi hasil.

Pengujian dengan teknik PCR

Uji PCR dilakukan terhadap galur Malang 3474 yang diinokulasi fitoplasma tetapi tidak menunjukkan gejala hingga akhir penelitian. Kontrol positif menggunakan varietas Wilis yang menunjukkan gejala penyakit sapu dan kontrol negatif menggunakan galur Malang 3474 yang diinokulasi *O. argentatus* bebas fitoplasma.

Hasil pengujian ini menunjukkan adanya pita DNA berukuran 1800 bp pada kontrol positif dan tidak didapatkan pita DNA tersebut pada galur Malang 3474 yang diinokulasi fitoplasma tetapi tidak menunjukkan gejala dan kontrol negatif. Dengan demikian dapat dipastikan bahwa galur Ma Malang 3474 adalah tahan terhadap fitoplasma penyebab penyakit sapu.

Tabel 4 Rata-rata bobot biji per tanaman pada berbagai varietas kedelai

Varietas/galur	Rata-rata jumlah biji per tanaman	
	Inokulasi tanpa fitoplasma	Inokulasi dengan fitoplasma
Galunggung	12,11 a	5,55 b
Orba	11,88 a	2,86 b
Ringgit	10,44 a	1,51 b
Wilis	12,17 a	0,00 b
Malang 2999	9,18 a	0,00 b
Malang 2805	8,36 a	3,85 b
Malang 3474	9,72 a	9,00 a
Sicinang	8,30 a	1,61 b
Sindoro	10,15 a	8,28 a
Sriono	11,11 a	8,75 a

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%, $\sqrt{x+0,5}$.

Pengelompokkan Tipe Ketahanan ke-10 Varietas/Galur terhadap Fitoplasma

Dari 10 varietas/galur yang diuji dapat dikelompokkan menjadi tiga tipe yaitu tahan, toleran dan rentan (Tabel 5).

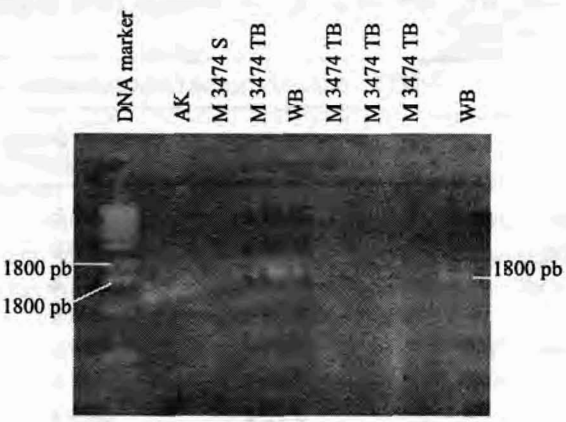
Galur Malang 3474 dikelompokkan ke dalam tipe tahan terhadap fitoplasma penyebab penyakit sapu. Hal ini ditunjukkan dengan tidak timbulnya gejala setelah diinokulasi dengan *O. argentatus* infektif dan tidak terdapatnya pita berukuran 18,000 pb pada pengujian dengan teknik PCR (Gambar 1).

Galur Sindoro dan Sriono dikelompokkan kedalam tipe toleran karena setelah diinokulasi ternyata menunjukkan gejala serangan fitoplasma, tetapi tidak terjadi pengurangan jumlah dan bobot biji

Tabel 5 Pengelompokkan tipe ketahanan ke-10 varietas/galur kedelai terhadap fitoplasma penyebab penyakit sapu.

Varietas/ galur	Fito- plasma	Geja- la	Pengu- rangan jumlah/ bobot biji	Tipe keta- hanan
Galunggung	+	+	+/+	Rentan
Orba	+	+	+/+	Rentan
Ringgit	+	+	+/+	Rentan
Wilis	+	+	+/+	Rentan
Malang 2999	+	+	+/+	Rentan
Malang 2805	+	+	+/+	Rentan
Malang 3474	-	-	-/-	Tahan
Sicinang	+	+	+/+	Rentan
Sindoro	+	+	-/-	Toleran
Sriono	+	+	-/-	Toleran

Keterangan : + = ada - = tidak ada



Gambar 1 Amplifikasi DNA fitoplasma dengan PCR menggunakan primer P1/P7: Ak = Akuades; M 3474 S = Malang 3474 sehat; M 3474 TB = Malang 3474 diinokulasi tetapi tidak bergejala; WB = Wilis bergejala

per tanaman. Ke-7 varietas/galur lainnya dikelompokkan kedalam tipe rentan karena semua varietas/galur tersebut menunjukkan gejala serangan fitoplasma dan jumlah dan bobot biji per tanaman berkurang. Dapat disimpulkan bahwa ketahanan kedelai terhadap fitoplasma penyebab penyakit sapu dipengaruhi oleh faktor varietas/galur. Galur Malang 3474 dapat digunakan untuk mengatasi serangan fitoplasma penyebab penyakit sapu dan digunakan sebagai sumber gen ketahanan terhadap fitoplasma tersebut. Pengujian dengan teknik PCR dapat digunakan untuk menentukan keberadaan fitoplasma dalam tanaman kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios GN. 1997. Plant Pathology. Academic Press Inc, Gainesville.

Dellaporta, S.L, J. Wood & J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation Version II. Plant Moleculer Biology Reporter 1(4):19-20.

Fletcher J, Irwin ME, Bradfute OE, Granada GA. 1984. Discovery of a mycoplasmalike organism associated with diseased soybeans in Mexico. Plant Disease 68:994-996.

Gibb K, Padovan A. 1994. A DNA method that allows reliable PCR amplification of MLO DNA from difficult plant host species. PCR Meth. and Appl. 4:56-58.

Green SK. 1991. Guidelines for diagnostic work in plant virology. AVRDC. Technical bulletin 15.

Iwaki M, Roechan M, Saleh N, Sugiura M, Hibino H. 1978. Identification of mycoplasma-like agent of legume witches' broom in Indonesia CRIA. Bogor. No. 41:11 hal.

Mamahit JME. 1998. Penularan fitoplasma penyebab penyakit sapu oleh *Orosius argentatus* Evans pada berbagai tanaman kacang-kacangan. Tesis. Fak. Pascasarjana. IPB. Bogor

Oka IN. 1977. Virus diseases of food crops in Indonesia and their control, hlm. 37-43. *In* Symposium on Virus Diseases of Tropical Crops. Proceeding of a Symposium on Tropical Agriculture Researches. Tropical Agriculture Research Center Ministry of Agriculture and Forestry Japan, Japan.

Ploaie PG. 1981. Mycoplasmalike-organism and plant diseases in Europe, hlm 62-104. *In*. K. Maramorosch K, Harris KF. Editors. Plant diseases and vectors: Ecology and epidemiology. Academic Press, New York.

Semangun H. 1994. Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Sinclair JB, Backman PA. 1993. Compendium of soybean diseases. APS Press, New York.

Wrather JA, Anderson TR, Arsyad DM, Gai J, Ploper D, Portapuglina A, Ram HH, Yorinori JT. 1997. Soybean. Disease loss estimates for the top ten soybean producing countries in 1994. Plant Disease 81:107-110.