

Identifikasi Sumber Daya Genetik Kedelai Tahan Penyakit Virus Kerdil Kedelai

Asadi* dan Nurwita Dewi

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: asadiboos@yahoo.com

Diajukan: 24 Maret 2010; Diterima: 30 September 2010

ABSTRACT

Identification of Soybean Germplasm Resistant to Soybean Stunt Virus (SSV). The experiment was conducted at screen cage and laboratory of the Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development (ICABIOGRAD), Bogor. The objective was to obtain genotypes (accessions) which were resistant to SSV. The experiment consisted of two activities (1) virulent test of SSV isolates, (2) evaluation and identification of soybean germplasm for resistance to Soybean stunt virus. Evaluation and identification consisted of three steps. Step I, 900 soybean accessions were evaluated for their resistance to SSV. In this trial, each accession or genotype was planted in a pot, 8-14 plants/pot. One week after planting, each plant was inoculated with selected SSV isolate. The disease incidence was observed visually one month after inoculation. In step II, the soybean genotypes considered resistant in step I or about 10% of the total accessions were reevaluated using the Dot-ELISA technique. Finally, in the last step, the resistances of the selected genotypes from step II were reconfirmed using the same technique as that in the step I. The result showed that among two SSV isolates that were tested, isolate J (Jakarta) was more virulent than isolate B, and it is used as inocula source for the next evaluation. Seventeen soybean genotypes were identified resistant to SSV, three of the them showed good agronomic performances, i.e., Mlg 2521, B3570, and Taichung will be used as resistant parents in the subsequent soybean breeding for resistance to SSV.

Keywords: Genetic resources, soybean stunt virus (SSV).

ABSTRAK

Percobaan dilakukan di kurungan kawat dan laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Penelitian bertujuan untuk memperoleh beberapa aksesori kedelai yang tahan terhadap SSV. Penelitian terdiri dari dua kegiatan (1) uji virulensi isolat SSV dan (2) evaluasi dan identifikasi sumber daya genetik kedelai untuk ketahanan terhadap SSV. Kegiatan kedua (evaluasi dan indentifikasi) terdiri atas tiga tahapan penelitian. Pada tahap I, sebanyak 900 aksesori plasma nutfah kedelai dievaluasi ketahanannya terhadap SSV. Setiap aksesori ditanam dalam pot (8-14

tanaman/pot). Seminggu setelah tanam, setiap tanaman diinokulasi dengan SSV virulen (inokulum hasil uji virulensi pada kegiatan, pertama tingkat serangan SSV diamati secara visual sebulan setelah inokulasi. Pada tahap kedua sekitar 10% (84 aksesori) yang bereaksi sangat tahan hingga agak tahan (skor ketahanan 0-3) dievaluasi kembali ketahanannya terhadap SSV secara serologi menggunakan metode Dot-ELISA. Pada tahap ketiga, aksesori tahan terpilih pada penelitian tahap kedua diuji konfirmasi kembali dengan menggunakan teknik Dot-ELISA. Hasil penelitian menunjukkan di antara dua isolat SSV yang diuji, isolat J (Jakarta) lebih virulen dibandingkan dengan isolat B (Bogor). Isolat J digunakan sebagai sumber inokulum untuk evaluasi selanjutnya. Tujuh belas aksesori telah diidentifikasi sebagai aksesori tahan SSV, tiga di antaranya memperlihatkan konsistensi ketahanan dan penampilan agronomis yang baik, yaitu MLG2521, B3570, dan Taichung. Ketiga aksesori diidentifikasi sebagai sumber gen/tetua tahan SSV.

Kata kunci: Sumber daya genetik, virus kerdil kedelai.

PENDAHULUAN

Kenaikan Produktivitas kedelai nasional dalam kurun waktu 10 tahun relatif kecil, dari 1,19 t/ha pada tahun 1998 menjadi 1,31 pada tahun 2007 (Sudaryanto dan Swastika, 2007) Sementara di tingkat penelitian dapat mencapai 3,07 t/ha (Taufiq dan wijanarko, 2007). Rendahnya Produktivitas kedelai di tingkat petani di antaranya disebabkan oleh masih tingginya serangan hama dan penyakit. Virus merupakan kendala penting bagi peningkatan produksi (Sumarno *et al.*, 1983).

Penyakit virus kerdil yang disebabkan oleh *soybean stunt virus* (SSV) merupakan penyakit utama kedelai, penyebarannya cukup luas, hampir ditemukan di setiap sentra produksi kedelai di Sumatera, Jawa, dan Nusa Tenggara Barat (Roechan 1992, Nakano *et al.*, 1998). Di Timur Laut Cina, penyakit SSV menduduki urutan kedua setelah *soybean mosaic virus* (SMV) (Nakano, 1999). Serangan penyakit SSV pada pertanaman

kedelai dapat menurunkan produksi 14-50% (Honda *et al.*, 1988; Muhsin *et al.*, 1997). *Soybean stunt virus* ditularkan terutama oleh serangga *Aphis glycines* Mats., serangga *Myzus persicae* Sulzer, dan *Rhopalosiphum padi* Linnaeus dengan kisaran inang yang cukup luas, meliputi famili *Polygonaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Leguminosae*, *Solanaceae*, *Pedaliaceae*, dan *Compositae* (Iwaki *et al.*, 1979; Tamada, 1977). Virus ini dapat pula ditularkan melalui benih dengan persentase yang tinggi (>70%) (Honda *et al.*, 1988; Iwaki *et al.*, 1979). Penularan secara mekanis di lapang hampir tidak ada, kecuali dengan bantuan manusia (Roechan, 1992).

Sistem perbenihan kedelai di Indonesia yang masih kurang baik mempengaruhi penyebaran dan penularan penyakit virus. Pengawasan terhadap tingkat serangan virus di lapangan oleh petugas pengawas terbentur pada pengetahuan dan peralatan laboratorium yang terbatas untuk pendeteksi. Benih kedelai bersertifikat pun masih mungkin membawa dan menularkan penyakit SSV.

Pengendalian secara biologi dengan menanam varietas unggul tahan SSV merupakan cara terbaik dan ramah lingkungan. Namun sampai saat ini belum ada varietas kedelai yang tahan SSV, karena program pemuliaan kedelai tidak ditujukan untuk ketahanan terhadap penyakit SSV tetapi lebih difokuskan pada perbaikan hasil. Mengingat penyebaran penyakit SSV di Indonesia cukup luas, sementara varietas unggul kedelai tahan SSV belum tersedia, maka perakitan varietas kedelai tahan SSV dan berdaya hasil tinggi perlu dilakukan. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi dan memperoleh aksesori kedelai sebagai sumber gen tahan untuk mendukung program pemuliaan tanaman tahan SSV.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium dan kuarung kawat Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Penelitian diawali dengan pengujian virulensi isolat SSV, kemudian diteruskan dengan identifikasi plasma nutfah kedelai untuk ketahanan terhadap SSV yang dilakukan secara bertahap.

Pengujian Virulensi Isolat SSV

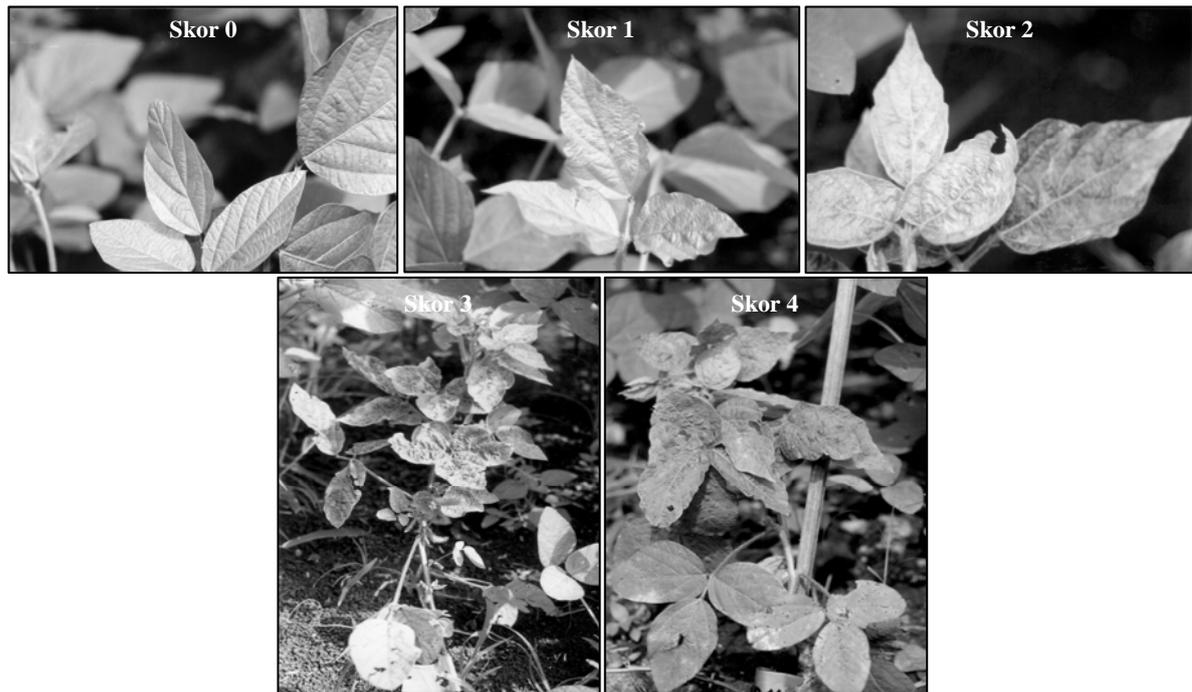
Dua isolat SSV, yaitu isolat Jakarta (J) dan Bogor (B) yang dikoleksi di Laboratorium Biokimia BB-Biogen diuji virulensinya terhadap dua varietas kedelai rentan SSV (Wilis dan Orba). Masing-masing varietas ditanam dalam 12 pot, 5-10 tanaman/pot (enam pot untuk inokulasi SSV isolat J dan enam pot untuk inokulasi isolat B). Seminggu setelah tanam, daun pertama diinokulasi secara mekanis (olesan). Isolat SSV (pada daun kedelai) yang disimpan di dalam ampul dikeluarkan dengan cara memecah ampul, kemudian digiling dalam mortar berisi larutan bufer fosfat 0,05 M, pH 7,2, dan 0,02% NaCl. Larutan (sap) dioleskan pada permukaan daun yang telah ditaburi karborandum 600 mesh dengan menggunakan kapas. Empat minggu setelah inokulasi dilakukan penilaian tingkat ketahanan SSV pada kedua varietas berdasarkan gejala serangan (Roechan, 1992, 1998) (komunikasi pribadi) (Tabel 1 dan Gambar 1).

Identifikasi Sumber Daya Genetik Kedelai untuk Ketahanan terhadap SSV

Penelitian terdiri atas tiga tahap. Tahap pertama adalah penjarangan plasma nutfah kedelai koleksi Bank Gen BB-Biogen. Materi yang dievaluasi adalah 900 aksesori plasma nutfah kedelai koleksi

Tabel 1. Penilaian gejala serangan virus kerdil kedelai (SSV).

Skor serangan	Gejala	Tingkat ketahanan
0	Tidak ada gejala	Tahan
1	Gejala mosaik pada daun	Agak tahan
2	Gejala mosaik, daun agak keriting	Agak rentan
3	Gejala mosaik, daun keriting, batang agak kerdil	Rentan
4	Gejala mosaik, daun keriting, batang kerdil	Sangat rentan



Gambar 1. Tingkat serangan penyakit virus kerdil pada tanaman kedelai (*soybean stunt virus*).

Bank Gen BB-Biogen. Penelitian dilakukan di kurungan kawat. Setiap aksesori ditanam dalam pot (8-14 tanaman/pot). Pada umur satu minggu daun tanaman di inokulasi secara mekanik dengan SSV isolat J yang telah dipersiapkan sebelumnya. Empat minggu setelah inokulasi dilakukan pengamatan gejala SSV pada tanaman secara visual berdasarkan persentase tanaman yang terserang. Persentase serangan dihitung berdasarkan jumlah tanaman terserang (skor >1)/jumlah total tanaman x 100%. Skor 0 (tidak ada gejala) = sangat tahan, 1 (gejala 1-15%) = tahan, 3 (gejala 16-30%) = agak tahan, 5 (gejala 31-45%) = agak rentan, 7 (gejala 46-60%) = rentan, 9 (gejala 61-100%) = sangat rentan. Genotipe dengan skor 0-3 (persentase serangan 0-30%) diuji kembali pada evaluasi berikutnya (Roechan, 1998) (komunikasi pribadi).

Kedua, Identifikasi sumber daya genetik pilihan (tahan-agak tahan) dan uji konfirmasi ketahanan terhadap SSV. Penelitian dilakukan di lokasi yang sama dengan kegiatan tahap pertama. Aksesori terpilih pada penelitian tahap pertama, bersama tiga varietas cek rentan (Wilis, Galunggung, Pangrango) ditanam di pot (5 tanaman/pot, 2 pot/genotipe). Inokulasi SSV isolat J dilakukan 1 minggu setelah tanam. Pengendalian hama tidak dilaku-

kan sampai tanaman berbunga. Agar deteksi SSV lebih akurat, dan menghindari kekeliruan dalam pengamatan gejala SSV (karena gejala infeksi oleh berbagai jenis virus sangat mirip) maka dilakukan deteksi secara serologi. Sampel daun diinokulasi pada umur 7 hari setelah tanam. Sepuluh hari setelah inokulasi dilakukan deteksi SSV secara serologis dengan metode *Dot-Enzyme linked immunosorbant assay* (Dot-ELISA) menurut Nakano (1998). Metode Dot-ELISA merupakan perbaikan dari teknik ELISA menggunakan membran nitroselulosa sebagai pemegang antigen. Cairan/sap tanaman (antigen) diteteskan pada permukaan membran. Setelah pencucian ditambahkan antibodi 1 (antiserum SSV), kemudian diinkubasi. Membran dicuci lagi, dan ditambahkan antibodi 2 (*goat anti rabbit alkaline phosphatase conjugate*), inkubasi 1 jam, cuci, terakhir ditambahkan enzim substrat *5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate* (BCIP) + *Nitroblue tetrazolium* (NBT). Penilaian ketahanan tanaman terhadap SSV berdasarkan tampilan warna pada kertas membran nitroselulosa, reaksi antigen dengan antibodi positif bila muncul warna ungu (semakin tua warna ungu semakin rentan tanaman), sebaliknya negatif bila tidak keluar warna.

Tahap ketiga, uji konfirmasi. Aksesori yang terpilih pada evaluasi tahap kedua dengan cara yang sama dievaluasi kembali. Beberapa aksesori tahan SSV menurut uji Dot-ELISA dengan sifat-sifat agronomis baik bersama lima varietas unggul nasional (Galunggung, Kerinci, Pangrango, Wilis, dan Orba) pada lokasi dan cara yang sama diuji kembali ketahanannya terhadap SSV.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengujian Virulensi Isolat SSV

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari dua isolat yang diuji virulensinya, gejala SSV isolat Jakarta (J) sangat jelas (skor 3-4) terlihat pada varietas Wilis dan Orba. Hampir semua tanaman memperlihatkan gejala yang sama. Sebaliknya, isolat Bogor (B) memperlihatkan virulensi yang rendah, mulai dari tidak bergejala sampai gejala ringan (skor 0-1). Berdasarkan reaksi terhadap varietas Orba dan Wilis tersebut, maka isolat J digolongkan sebagai isolat yang virulen, dan digunakan sebagai sumber inokulum untuk penelitian selanjutnya.

Identifikasi Sumber Daya Kedelai untuk Ketahanan terhadap Virus Kerdil (SSV)

Tahap pertama, penjarangan plasma nutfah kedelai koleksi Bank Gen BB-Biogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari hasil evaluasi semua tanaman uji berdasarkan pengamatan visual, 93 aksesori bereaksi tahan hingga agak tahan terhadap SSV dengan persentase tanaman terserang 0-30%. Di antara 84 aksesori ini, 13 genotipe bereaksi sangat tahan (tidak ada gejala) (Tabel 2). Aksesori sangat tahan tersebut adalah GM-401, Lompobatang, LB2, Mlg2579, Mlg2585, Mlg3035, Mlg3180, B76-4926/PI230970-2-188, B3702, B3885, Jayawijaya, Taichung, LB87. Genotipe-genotipe sangat tahan

tersebut dievaluasi kembali pada pengujian berikutnya.

Tahap kedua, identifikasi sumber daya genetik pilihan (tahan-agak tahan) dan uji konfirmasi ketahanan terhadap SSV. Uji serologis (Dot-ELISA) menggunakan antiserum SSV isolat J menunjukkan bahwa dari 98 aksesori yang diuji (84 aksesori pilihan, tiga varietas cek rentan Wilis, Galunggung, Pangrango, dua varietas introduksi, yaitu Engopa 305 dan UFV-10, ditemukan 17 aksesori bereaksi negatif (skor 0) terhadap SSV (Tabel 3).

Tahap ketiga, uji konfirmasi. Lima dari 17 aksesori terpilih (B3570, Mlg2521, Engopa 305, UFV-10, dan Taichung) bereaksi tahan menurut hasil analisis Dot-ELISA, tidak memperlihatkan gejala serangan virus pada tanaman, dan memiliki penampilan agronomis lebih baik dari enam varietas unggul nasional (Galunggung, Kerinci, Pangrango, Wilis, Orba, dan Lompobatang) sebagai pembandingan, diuji kembali ketahanannya terhadap SSV (Tabel 4). Hasil penelitian menunjukkan bahwa B3570, Mlg 2521, Engopa 305, dan UFV-10-1 sangat tahan terhadap SSV. Analisis Dot-ELISA memperlihatkan reaksi negatif (skor 0) pada keempat genotipe ini, Taichung tidak menunjukkan hasil yang konsisten dengan pengujian sebelumnya karena dari 16 sampel tanaman yang dianalisis, dua di antaranya memperlihatkan gejala positif (12% terserang).

Berdasarkan penampilan karakter agronomisnya, B3570, Mlg2521, dan Taichung telah diidentifikasi sebagai sumber gen/tetua tahan SSV. Walaupun Taichung menunjukkan respon yang kurang konsisten terhadap SSV tetapi memiliki penampilan agronomis yang lebih baik, seperti bobot 100 biji lebih besar (≥ 10 g/100 biji). Wilis dan Orba tergolong varietas yang rentan terhadap SSV, deteksi Dot-ELISA menunjukkan dari 18 sampel yang dideteksi 10 di antaranya bereaksi positif, yaitu 55% terserang SSV pada varietas Wilis dan 60% pada varietas Orba, sementara varietas Pangrango dan

Tabel 2. Jumlah aksesori kedelai pilihan pada tiap tingkat ketahanan terhadap SSV.

Persentase serangan SSV (%)	Tingkat ketahanan	Jumlah aksesori
0	Sangat tahan	13
1-15	Tahan	18
16-30	Agak tahan	53

Tabel 3. Sifat agronomi beberapa aksesori kedelai pilihan tahan SSV (skor 0).

Aksesori	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah polong/tanaman	Bobot 100 biji (g)
Lompobatang	68	37	6,65
Mlg2521	73	37	6,20
Hitam local	62	16	3,35
Mlg2579	71	31	6,05
Acc2120	65	41	6,40
C73-01-1278-e-pop	65	22	9,40
B3900	62	21	7,70
Mlg2778	75	25	7,75
Xw-61	69	25	2,45
B3570	59	36	7,10
Mlg2551	67	30	9,10
Mlg2661	55	18	7,50
No483Si	52	26	6,95
Ags85	66	14	6,75
Taichung	38	12	10,15
Engopa305	57	11	6,35
UFV-10	45	17	9,60

Tabel 4. Hasil uji konfirmasi ketahanan terhadap SSV berdasarkan metode Dot-ELISA pada beberapa aksesori kedelai.

Aksesori	Tanaman terinfeksi/diinokulasi	Persentase tanaman terinfeksi
B3570	0/16	0
Mlg2521	0/16	0
Engopa 305	0/16	0
UFV-10	0/15	0
Taichung	2/16	12,5
Galunggung	3/16	18,7
Kerinci	4/17	23,5
Pangrango	3/16	18,7
Wilis	10/18	55,5
Orba	9/15	60,0
Lompobatang	1/14	7,1

Galunggung masing-masing hanya 19% terinfeksi SSV.

KESIMPULAN

Isolat J (Jakarta) merupakan isolat yang virulen dan telah digunakan sebagai sumber inokulum pada evaluasi/identifikasi ketahanan terhadap SSV. Berdasarkan evaluasi terhadap 900 genotipe kedelai yang dilakukan secara bertahap, diperoleh 17 genotipe tahan SSV, tiga di antaranya memperlihatkan penampilan agronomis baik, yaitu Mlg2521, B3570, dan Taichung. Ketiga aksesori diidentifikasi sebagai sumber gen/tetua tahan SSV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Jumanto Harjosudarmo dan Dr. M. Roechan sebagai virologis, Dr. Darman M. Arsyad sebagai pemulia kedelai atas segala saran dan kerjasamanya, kepada Dr. H. Sawahata sebagai JICA *Expert* atas bantuan dana dan sarannya sehingga penelitian ini dapat terselenggara dengan baik. Ucapan yang sama juga kami sampaikan kepada saudara Wawan, SP dan Ratna Utari yang telah membantu mulai dari persiapan inokulum, penanaman, inokulasi, dan analisis Dot-ELISA.

DAFTAR PUSTAKA

- Honda, Y., M. Muhsin, N. Iizuka, and K. Yoshida. 1988. Comparisons among Indonesian isolates and Japanese strains of soybean stunt virus. *JARQ* 22(1).
- Iwaki, M., M. Roechan, and D.M. Tantera. 1979. Virus diseases of soybean in Indonesia. Kongres Fitopatologi Nasional III, Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Cibogo, Bogor, 1979.
- Muhsin, M., R. Suseno, A. Rauf, dan J. Harjosudarmo. 1997. Identifikasi virus penyebab penyakit mosaik lepuh pada kedelai. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 15(2).
- Nakano 1999. Soybean virus in Northeast China. <http://SS.jircas.affrc.go.jp/kanko/newsletter/nl1999/no.20/04Nakano.htm>.
- Nakano, M., H. Sawahata, Asadi, Roechan, M. Muhsin, D.M. Arsyad, N. Saleh, and Jumanto. 1998. Distribution of soybean virus diseases in Indonesia. Tentative report of JICA-RIFCB Project on Breeding of Virus Resistant on Soybean.
- Roechan, M. 1992. Viruses of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) in Java and Lampung. Identification, distribution and control. Universitas Padjadjaran Bandung.
- Sumarno, D.M. Arsyad, dan I. Manwan. 1983. Teknologi usahatani kedelai. Lokakarya Pengembangan Kedelai. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor, 13 Desember 1983.
- Sumarno. 2002. Penggunaan bioteknologi dalam pemanfaatan dan pelestarian plasma nutfah tumbuhan untuk perakitan varietas unggul. Seminar Nasional Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah. Bogor, 3-4 September 2002.
- Tamada, T. 1977. The virus diseases of soybean in Japan. Food and Fertilizer Technology Center. Technical Bulletin 33.