

Peningkatan Ketahanan Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Terhadap Penyakit Antraknosa Melalui Induksi Mutasi Sodium Azide

*Increasing the Resistance of Soybean Plants (*Glycine max* (L.) Merrill) to Anthracnose Disease Through Sodium Azide Mutation Induction*

Rizal Dwi Fathoni^{a*}, Sri Hartatik^b, Didik Pudji Restanto^b

^a Pascasarjana Agronomi, Universitas Jember, Indonesia

^b Program Studi Agronomi, Universitas Jember, Indonesia

INFORMASI

Keyword:

Antraknosa
Kedelai
Mutasi

Corresponding Author:

Rizal Dwi Fathoni
Universitas Jember

*email: fathonirizal71@gmail.com

ABSTRAK

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan tanaman dengan kandungan nutrisi yang tinggi, tapi produktivitas kedelai cukup rendah, hal ini disebabkan oleh serangan penyakit Antraknosa. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan ketahanan tanaman melalui induksi mutasi sodium azide. Percobaan dilakukan pada Februari 2021 - Juli 2022 di Greenhouse Jl. Prajurit Syakur, Kecamatan Srono, Kabupaten Banyuwangi. Percobaan ini dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu; Perendaman benih kedelai varietas Wilis dan Grobogan dengan larutan sodium azide pada konsentrasi 0mM dan 0,663mM, Penanaman benih kedelai hasil induksi mutasi, Inokulasi Antraknosa, dan Pengamatan ketahanan tanaman. Data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan data deskriptif. Induksi mutasi sodium azide pada 0,663mM dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit Antraknosa. Ketahanan tanaman dilihat dari persentase tingkat keparahan penyakit. Terdapat 2 kriteria tingkat keparahan penyakit yaitu Moderate (Wilis dan Grobogan 0mM, Grobogan 0,663mM) dan Resisten (Wilis 0,663mM).

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is a plant with high nutritional content but soybean productivity is quite low, this is caused by anthracnose disease attacks. This study aims to increase plant resistance through sodium azide mutation induction. The experiment was conducted in February 2021 - July 2022 at the Greenhouse Jl. Prajurit Syakur, Srono District, Banyuwangi Regency. This experiment was carried out through several stages, namely; Soaking soybean seeds of Wilis and Grobogan varieties with sodium azide solution at concentrations of 0 mM and 0.663 mM, Planting soybean seeds resulting from mutation induction, Anthracnose inoculation, and Observation of plant resistance. The data obtained were analyzed using descriptive data. Sodium azide mutation induction at 0.663 mM can increase plant resistance to anthracnose disease. Plant resistance is seen from the percentage of disease severity. There are two criteria for disease severity: Moderate (Wilis and Grobogan 0 mM, Grobogan 0.663 mM) and Resistant (Wilis 0.663 mM).

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) adalah tanaman palawija dengan kandungan nutrisi 35% karbohidrat larut, 20% minyak, dan 40% protein. Di Indonesia, kedelai banyak dikonsumsi menjadi makanan olahan, pakan ternak, antibiotik, dan biofuel dalam bidang energi terbarukan. Pada jangka waktu 2020 - 2024 produksi kedelai nasional terus mengalami penurunan, lima tahun terakhir produksi kedelai nasional turun 3,06% per tahun. Dengan menggunakan metode OLS (*Ordinary Least Square*) bahwa konsumsi kedelai akan terus meningkat sampai dengan tahun 2025 (Aldillah, 2015; Krisnawati, 2017). Produksi kedelai nasional hanya mampu memenuhi kebutuhan sebesar 65%, sisanya dipenuhi melalui kedelai impor.

Faktor utama penyebab rendahnya produktivitas kedelai nasional adalah serangan hama, dan penyakit Antraknosa pada tanaman kedelai (Aldillah, 2015). Antraknosa merupakan penyakit kedelai yang ditimbulkan oleh patogen jamur *Colletotrichum dematium* var. *truncatum*. Patogen jamur *C. dematium* dapat menyerang tanaman kedelai pada setiap tahap perkembangan, sehingga dapat menyebabkan penurunan perkecambahan, penurunan kualitas benih, dan penurunan produktivitas /kehilangan hasil hingga 50% (Subedi et al., 2015). Taksiran kehilangan hasil oleh jamur *C. dematium* adalah 25,4 juta ton di delapan negara penghasil kedelai teratas dunia (Yang dan Hartman, 2015; Dias et al., 2019).

Upaya peningkatan ketahanan tanaman terhadap *C. dematium* adalah dengan menyediakan varietas baru yang tahan. Perakitan varietas baru dapat dilakukan dengan efisien jika tersedia sumber genetik yang cukup beragam. Salah satu peningkatan keragaman dapat dilakukan melalui induksi mutasi. Mutasi didefinisikan sebagai perubahan materi genetik yang dapat diturunkan dalam susunan nukleotida genome suatu tanaman. Induksi mutasi lebih menguntungkan diterapkan terhadap benih tanaman dibandingkan dengan bagian lainnya. Karena faktor lingkungan lebih mudah untuk dikendalikan seperti kelembaban, suhu, dan kandungan oksigen. Penggunaan mutagen kimia biasanya dilakukan dengan merendam benih dalam larutan dan selanjutnya ditanam.

Induksi mutasi dengan bahan kimia dapat dilakukan menggunakan sodium azide. Sodium azide merupakan bahan mutagen yang dikenal kuat dalam meningkatkan keragaman genetik, dan biasanya digunakan untuk menghasilkan resistensi di berbagai tanaman yang rentan, meningkatkan produktivitas, dan kualitas terhadap patogen berbahaya. Selain itu sodium azide banyak digunakan untuk menciptakan tanaman resisten, yang sebelumnya berasal dari tanaman yang peka terhadap penyakit Antraknosa (Gruszka et al., 2012). Terdapat beberapa studi yang mengevaluasi induksi mutasi sodium azide terhadap resistensi penyakit Antraknosa. Induksi mutasi menggunakan bahan kimia diperlukan dosis yang tepat. Letal dosis median adalah dosis aman 50% benih dapat bertahan hidup setelah di induksi mutasi dengan mutagen kimia. Nilai LD₅₀ dapat berfungsi sebagai parameter tingkat sensitivitas suatu jaringan tanaman yang di mutasi.

Tanaman yang di induksi dengan sodium azide dapat menyebabkan perubahan secara morfologi, itu merupakan informasi awal untuk menemukan karakter unggul pada suatu keragaman populasi hasil mutasi. Evaluasi morfologi merupakan salah satu cara untuk mendeteksi terjadinya perubahan fenotipe pada tanaman, tipe pertumbuhan, dan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Peningkatan keragaman genetik melalui induksi mutasi dilakukan guna menyediakan varietas baru, yang resisten terhadap penyakit Antraknosa (Khan dan Tyagi, 2013; Dias et al., 2018).

Sodium azide telah banyak digunakan secara luas sebagai bahan mutagen kimia untuk meningkatkan keragaman genetik dan ketahanan tanaman terhadap patogen, penelitian yang secara spesifik menentukan nilai LD₅₀ sodium azide serta mengevaluasi perubahan morfologi tanaman kedelai yang berkaitan dengan ketahanan terhadap penyakit Antraknosa masih terbatas. Keterbatasan informasi ini menjadi kendala dalam pengembangan varietas kedelai baru yang memiliki ketahanan lebih baik

terhadap penyakit Antraknosa, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut melalui pemuliaan tanaman dengan pendekatan induksi mutasi kimia.

Tujuan dari percobaan ini adalah untuk meningkatkan keragaman genetik, sehingga diperoleh karakter atau sifat yang diharapkan dalam meningkatkan ketahanan tanaman kedelai terhadap penyakit Antraknosa melalui induksi mutasi sodium azide.

METODE

Percobaan ini dilakukan pada bulan Februari 2021 - Juli 2022 di Greenhouse Jl. Prajurit Syakur, Kecamatan Srono, Kabupaten Banyuwangi dengan ketinggian 89 mdpl. Alat-alat yang digunakan antara lain: timbangan analitik, petridish, pinset, tabung reaksi, laminar air flow (LAF), water bath, pipet, erlenmeyer, timba dan sprayer. Bahan-bahan yang digunakan meliputi: benih kedelai varietas Grobogan dan Wilis, PDA, sodium azide, isolate Antraknosa, aquades, dan NaOH.

Metode percobaan yang dilakukan yaitu; Perendaman benih kedelai menggunakan larutan kimia sodium azide pada varietas Wilis dan Grobogan yang terdiri dari 4 perlakuan dengan menyediakan 120 benih, meliputi 30 benih di setiap perlakuan; Wilis (0 mM), Wilis (0,663 mM), Grobogan (0 mM), dan Grobogan (0,663 mM). Benih kedelai direndam dalam beaker glas berisi aquades selama 3 jam (Fajriyah et al., 2019). Penanaman benih kedelai hasil induksi mutasi pada polybag ukuran 22 x 35 cm dengan jarak tanam 15 x 15 cm, setiap lubang berisi satu benih kedelai. Media tanam berupa campuran tanah dan kompos (1:1) (Ratnasari et al., 2015). Inokulasi Antraknosa dilakukan pada fase generatif R3 (stadia berpolong) menggunakan konidia *Colletotrichum dematium* var. *truncatum* dengan cara penyemprotan pada kedua sisi daun (Hong and Hwang, 1998). Konidia dihitung dan diencerkan menjadi konsentrasi akhir 3×10^6 konidia/ml (Sari et al., 2001; Saleh dan Hardaningsih, 2013; Rohmah, 2014). Setelah dilakukan pengamatan, data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan data deskriptif.

Tingkat keparahan penyakit didasarkan pada penilaian visual berdasarkan skor persentase bagian tanaman yang terinfeksi relatif terhadap bagian yang sehat (Suryotomo, 2006). Berdasarkan rumus intensitas keparahan penyakit (Towsend dan Heuberger, 1943) bahwa persentase keparahan penyakit dapat dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$DS = \frac{\sum(n_i - v_i)}{X.N} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

Dimana DS adalah : Tingkat keparahan penyakit, n_i : Jumlah daun dari setiap kategori serangan, v_i : Nilai skor tiap kategori serangan, N : Jumlah seluruh daun yang diamati dan X adalah Nilai skor serangan tertinggi. Tingkat keparahan penyakit dinilai pada seluruh tanaman setiap hari dari 4 hingga 10 hari setelah inokulasi. Kejadian penyakit dihitung sebagai persentase dari jumlah daun terinfeksi yang diamati pada satu tanaman. Skoring dan pengelompokan tingkat keparahan penyakit antraknosa pada tanaman kedelai dapat dilihat pada Tabel 1.

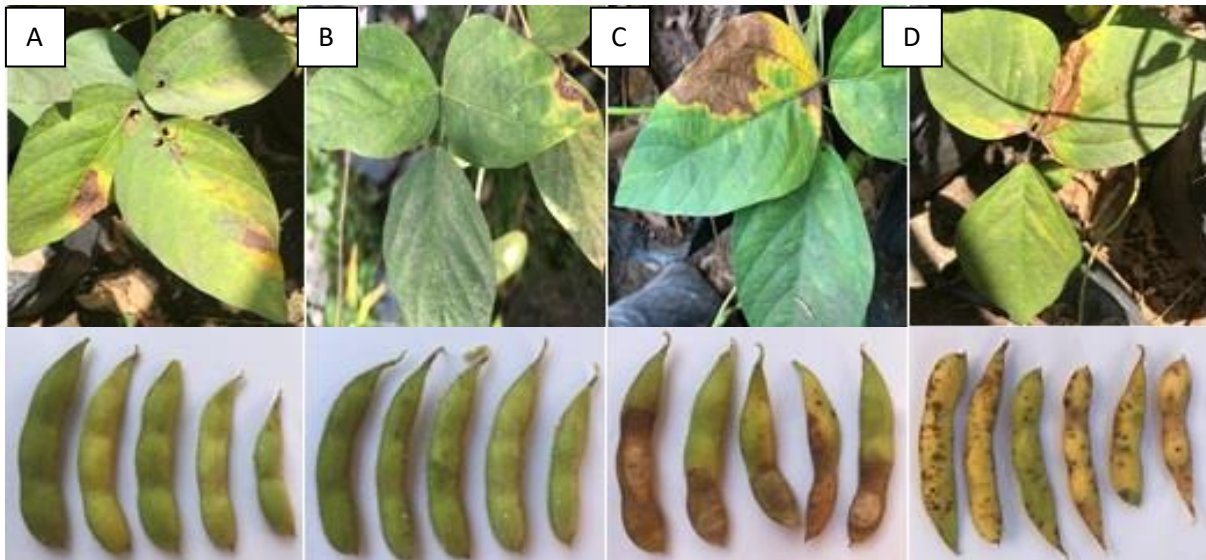
Tabel 1. Skoring dan Pengelompokan Tingkat Keparahen Penyakit Antraknosa pada Kedelai.

Skor	Reaksi	Deskripsi
0	Imun	Tidak ada lesi/perubahan warna
1	Resisten	1-10% area ditutupi dengan lesi /bintik/ perubahan warna
2	Moderat	10,1-25% area ditutupi dengan lesi /bintik/perubahan warna
3	Rentan	25,1-50% area ditutupi dengan lesi /bintik/perubahan warna
4	Sangat rentan	>50% area yang tertutup lesi /bintik/perubahan warna

Sumber : (Nagaraj, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada kedelai varietas Wilis dan Grobogan yang telah di induksi mutasi sodium azide dengan konsentrasi 0 mM dan 0,663 mM menunjukkan respon perkembangan penyakit yang berbeda. Gejala serangan menyebabkan bercak coklat berbentuk tidak teratur pada daun dan polong tanaman. Ketika infeksi pada tahap awal pembentukan polong, maka menyebabkan perkembangan biji kedelai menjadi terhambat (Yang dan Hartman, 2015). Gejala serangan penyakit antraknosa yang menyebabkan bercak coklat berbentuk tidak beraturan pada daun dan polong ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Gejala serangan penyakit antraknosa A: Wilis 0 mM, B: Wilis 0,663 mM, C: Grobogan 0mM, D: Grobogan 0,663 mM.

Serangan penyakit pada kedelai ditandai dengan munculnya bercak coklat sekitar 1-10% dikelilingi warna kuning seperti pada Gambar 1B yang timbul bercak pada ujung daun tanaman. Sedangkan pada kategori moderate yaitu 10,1-25% serangan pada daun tanaman dan ditutupi dengan bercak coklat, seperti pada Gambar 1A 1C dan 1D yang timbul bercak pada pangkal dan tepi daun.

Penyakit antraknosa stadium lanjut dapat terjadi selama akhir reproduksi, jamur akan menghasilkan *acervuli* pada jaringan yang terinfeksi dan menghasilkan duri hitam kecil (*setae*). *Setae* adalah gejala diagnostik penyakit antraknosa yang dapat dilihat langsung dengan mata. Hal ini dapat digunakan untuk identifikasi awal sebelum identifikasi lebih mendalam dalam laboratorium (Khan dan Tyagi, 2013; Gunther, 2015). Kategori tingkat keparahan serangan antraknosa pada daun kedelai di tampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Keparahannya Penyakit Antraknosa pada Kedelai

Varietas	Keparahan (%)	Kategori
Wilis 0 mM SA	12.23 ± 0.083	Moderate
Wilis 0,663 mM SA	6.26 ± 0.040	Resistant
Grobogan 0 mM SA	19.07 ± 0.059	Moderate
Grobogan 0,663 mM SA	14.69 ± 0.053	Moderate

Keterangan: ± = Nilai Standart Deviasi

Tabel 1 menampilkan varietas Wilis pada mutasi induksi 0,663 mM adalah varietas yang resisten terhadap serangan penyakit antraknosa, pada perlakuan ini dapat menghentikan pertumbuhan bercak yang muncul pada daun tanaman dan skor keparahan pada varietas resisten adalah 6,26%. Sedangkan

pada 0mM varietas Wilis dan Grobogan maupun Grobogan 0,663 mM termasuk dalam kategori moderat dengan skor keparahan berturut-turut 12,23%, 19,07%, dan 14,69%.

Gejala bercak pada daun tanaman berkembang dari hari ke-4 hingga hari ke-9 pada permukaan daun. Tanaman yang tahan secara fenotipe dapat dilihat dari tingkat ketahanan daun, tangkai, dan polong yang baik. Inokulasi dengan *C. dematium* pada tahap reproduktif R3 ke R4 atau R4 ke R5 akan mengembangkan lesi sampai enam hari setelah inokulasi, meskipun lesi diamati sebagai bercak coklat tak beraturan mulai muncul dari empat hari setelah inokulasi (Eze dan Dambo, 2015; Fadhilah, 2018).

Sodium azide memiliki beberapa manfaat, salah satunya untuk meningkatkan resistensi pada tanaman kedelai. Resistensi pada tanaman kedelai yang didapatkan dari proses perendaman menggunakan sodium azide dengan konsentrasi dan waktu perendaman yang berbeda menghasilkan tingkat resistensi yang berbeda (Fajriyah, 2018). (Dias *et al.*, 2019) melaporkan bahwa sodium azide dapat meningkatkan hasil dan kualitas terhadap patogen berbahaya, karena sodium azide berperan dalam meningkatkan ketahanan biokimia salah satunya melalui senyawa fenol yang merupakan hasil dari respon terhadap serangan penyakit antraknosa. Secara biologis tanaman, sodium azide dikenal sebagai mutagen kimia. Senyawa ini dapat menginduksi mutasi dalam genom tanaman, yang secara tidak langsung dapat berpengaruh terhadap jalur biosintesis senyawa fenol, mengubah jumlah atau jenis fenolik yang diproduksi oleh tanaman dan mencegah degradasi enzimatis.

Meskipun fenol tidak menghambat pertumbuhan patogen, namun berperan dalam menghambat enzim pektinolitik sehingga fenol berperan dalam sistem pertahanan tanaman. Enzim pektinolitik dihasilkan oleh spora yang berkecambah dan berperan dalam penetrasi patogen ke dalam tanaman inang. Perombakan pektinolitik menghasilkan kumpulan cairan zat pektin yang menyatukan sel-sel tumbuhan bersamaan dengan melemahnya dinding sel, sehingga mendorong maserasi jaringan. Maserasi jaringan dapat memberi peluang terjadinya penyerangan jaringan tanaman oleh patogen (Gunther, 2015). Senyawa fenol bersifat toksin bagi protoplasma patogen, merusak dan menembus dinding sel, yang secara tidak langsung mengurangi produksi dan aktivitas enzim pektinolitik yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Varietas kedelai yang resisten akan memiliki persentase keparahan penyakit yang rendah, hal tersebut dikarenakan meningkatnya enzim Phenylalanine Ammonium Lyase (PAL) yang berfungsi melindungi tanaman dari serangan patogen dan mensintesis enzim kitinase yang secara fungsional berfungsi dalam sifat ketahanan tanaman, yaitu menghambat pertumbuhan jamur *C. dematium* pada tanaman kedelai (Khan *et al.*, 2009; Fajriyah, 2018).

Peningkatan ketahanan tanaman kedelai melalui induksi mutasi dengan menggunakan sodium azide terjadi melalui beberapa proses perubahan susunan genetik yang menjadi proses dominan (Nur dan Syahrudin, 2016; Fajriyah, 2018). Didukung oleh (Khan *et al.*, 2009) bahwa sodium azide banyak digunakan untuk menciptakan tanaman resisten pada hama penyakit, yang sebelumnya berasal dari tanaman yang peka.

Peran sodium azide mampu meningkatkan ketahanan tanaman dengan mensintesis metabolit sekunder berupa senyawa fenolik dan menghambat aktivitas enzim pektinolitik yang dihasilkan oleh patogen jamur *C. dematium*. Secara spesifik informasi mengenai mekanisme ketahanan tanaman kedelai terhadap Antraknosa masih terbatas, sehingga perlu kajian lanjut melalui pendekatan biokimia dan genetik tanaman kedelai hasil induksi mutasi sodium azide.

KESIMPULAN

Induksi mutasi sodium azide 0,663 mM dengan perendaman 3 jam, dapat meningkatkan resistensi tanaman kedelai varietas Wilis dengan skor keparahan penyakit 6,26%. Sedangkan pada

kedelai varietas Grobogan 0,663 mM tergolong kategori Moderat dengan skor 14,69%. Sehingga perlu di kaji lebih lanjut melalui pendekatan kandungan biokimia dan susunan genetik tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldillah, R. 2015. Proyeksi Produksi Dan Konsumsi Kedelai Indonesia Rizma. *Ekonomi Kuantitatif Terapan*. 8(1):1–15.
- Dias, M. D., J. J. Dias-Neto, M. D. M. Santos, A. N. Formento, L. V. A. S. Bizerra, M. E. N. Fonseca, L. S. Boiteux, dan A. C. Café-Filho. 2019. Current Status Of Soybean Anthracnose Associated With *Colletotrichum Truncatum* In Brazil And Argentina. *Plants*. 8(11):1–19. <https://doi.org/10.3390/plants8110459>.
- Dias, M. D., M. E. N. Fonseca, J. J. Dias-Neto, M. D. M. Santos, G. M. Pandolfo, L. S. Boiteux, dan A. C. Café-Filho. 2018. Biology, Pathogenicity, And Haplotype Analyses Of *Colletotrichum Cliviae*: A Novel Soybean Anthracnose Agent In Warm Tropical Areas. *Tropical Plant Pathology*. 43(5):439–451. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0249-6>.
- Eze, J. J. dan A. Dambo. 2015. Mutagenic Effects Of Sodium Azide On The Quality Of Maize Seeds. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*. 6(3):76–82.
- Fajriyah, N. 2018. Karakter Agronomi Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Hasil Induksi Mutasi Dengan Sodium Azida Pada Tanah Salin. 1. *Energies*. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2018.06.001>.
- Fajriyah, N., K. Karno, dan F. Kusmiyati. 2019. Induksi Mutasi Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Dengan Sodium Azida Pada Tanah Salin. *Journal of Agro Complex*. 3(1):1–8. <https://doi.org/10.14710/joac.3.1.1-8>.
- Gruszka, D., I. Szarejko, dan M. Maluszynski. 2012. Sodium Azide As A Mutagen. *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. xx(x):159–166. <https://doi.org/10.1079/9781780640853.0159>.
- Gunther, J. W. 2015. *Developing Chemically Mutagenized Ems Forrest Soybean Population For High Oil Profile*.
- Hong, J. K. dan B. K. Hwang. 1998. Influence Of Inoculum Density, Wetness Duration, Plant Age, Inoculation Method, And Cultivar Resistance On Infection Of Pepper Plants By *Colletotrichum Coccodes*. *Plant Disease*. 82(10):1079–1083. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.10.1079>.
- Khan, M. H. dan S. D. Tyagi. 2013. A Review On Induced Mutagenesis In Soybean. *Journal of Cereals and Oilseeds*. 4(2):19–25. <https://doi.org/10.5897/jco10.004>.
- Khan, S., F. Al-Qurainy, dan F. Anwar. 2009. Sodium Azide: A Chemical Mutagen For Enhancement Of Agronomic Traits Of Crop Plants. *Environ*. 4(4):1–21. <https://doi.org/10.4172/2155-9597.c1.014>.
- Krisnawati, A. 2017. Soybean As Source Of Functional Food. *Iptek Tanaman Pangan*. 12(1):57–65.
- Nagaraj, B. T. 2013. Studies On Anthracnose Of Soybean Caused By *Colletotrichum Truncatum* (Schw.) Andrus And Moore.
- Nur, A. dan K. Syahrudin. 2016. Aplikasi Teknologi Mutasi Dalam Pembentukan Varietas Gandum Tropis. *Puslitbang Tanaman Pangan*. (1895):185–202.
- Ratnasari, D., M. K. Bangun, dan R. I. M. Damanik. 2015. Respons Dua Varietas Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Pada Pemberian Pupuk Hayati Dan Npk Majemuk Response. *Agroekoteknologi*. 3(1):1–23.
- Rohmah, A. N. 2014. *Respon Pertumbuhan Hasil Dan Kandungan Karbohidrat Kedelai (Glycine Max (L.) Merrill) Akibat Mutasi Dengan Menggunakan Sodium Azide (SA)*.
- Townsend G.R, Heuberger J.V. 1943. Methods for Estimating Losses Caused by Diseases in Fungicide. *Plant diseases report*. 24(1): 340-343.
- Saleh, N. dan S. Hardaningsih. 2013. Pengendalian Penyakit Terpadu Pada Tanaman Kedelai. *Kedelai: Teknik Produksi Dan Pengembangan*. 296–318.
- Sari, N. K. Y., M. Pharmawati, dan I. K. Junitha. 2001. Pengaruh Mutagen Kimia Sodium Azida Terhadap Morfologi Tanaman Cabai Besar (*Capsicum Annuum L.*) Effects. *Metamorfosa*. 1(1):25–28.
- Subedi, S., D. B. Gharti, S. Neupane, dan T. Ghimire. 2015. Management Of Anthracnose In Soybean Using Fungicide. *Journal of Nepal Agricultural Research Council*. 1(8):29–32. <https://doi.org/10.3126/jnarc.v1i0.15721>.

- Suryotomo, B. 2006. Ketahanan Alami Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum Annuum* L.). *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*. 8(1):1–6.
- Yang, H. C. dan G. L. Hartman. 2015. Methods And Evaluation Of Soybean Genotypes For Resistance To *Colletotrichum Truncatum*. *Plant Disease*. 99(1):143–148. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-14-0228-RE>.