

Uji Viabilitas Cendawan *Peronospora Manshurica* Pada Biji Kedelai Impor Penyebab Penyakit Bulai (*Downy Mildew*)

Islah Hayati¹, Ani Ardiana Susanti^{2*}, Husda Marwan¹, Mapegau Mapegau¹

¹Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Indonesia

²Balai Karantina Pertanian Kelas I Jambi, Indonesia

Email korespondensi: ann_dewe@yahoo.co.id

ABSTRACT

Downy mildew disease in soybeans is caused by the obligate fungus *Peronospora manshurica*. The existence of this fungus is still limited in Indonesia. This study aimed to determine the viability of the fungus oospore *P. manshurica* on seeds carried on imported soybeans from Malaysia. Detection of oospores in soybean seeds was carried out by two methods: 1) Detection of soybean seeds without scale symptoms was carried out by washing or washing test techniques, and 2) Detection of soybean seeds with crust symptoms was carried out by direct examination. Oospores of *P. manshurica* obtained was tested for viability at the Mycology Laboratory of the Class I Agricultural Quarantine Center Jambi. Morphology observations included Oospore size, Oospore color, Oospore shape, and hyphae shape using a multi-media compound microscope (Olympus BX 51 and Olympus DP 20 camera). Oospores were observed in 10 drops of 10 l each of the precipitate suspension of each test sample. The results showed that the fungus *P. manshurica* on imported soybeans from Malaysia still had potential as an inoculum causing Downy mildew in soybean plants with a viability level of 3.35 - 9.93%. Morphology of Oospore *P. manshurica* were, diameter of 24 - 38µm, smooth and spherical shape with an irregular surface, hyaline to light brown in color. Hyphae were thick and thin-walled with varying densities. Viable oospores were marked with a reddish-orange color.

Keywords: Viability, *Peronospora manshurica*, imported soybean

ABSTRAK

Penyakit downy mildew pada tanaman kedelai disebabkan oleh cendawan *Peronospora manshurica* yang merupakan cendawan obligat. Keberadaan cendawan ini masih terbatas di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui viabilitas cendawan *Peronospora manshurica* pada biji kedelai impor menggunakan oospora *Peronospora manshurica* yang terbawa pada kedelai impor asal malaysia. Deteksi oospora pada biji kedelai dilakukan dengan dua metode: 1) Deteksi biji kedelai tanpa gejala kerak dilakukan dengan tehnik pencucian atau washing test, 2) Deteksi biji kedelai dengan gejala kerak, dilakukan dengan pemeriksaan langsung. Oospora *Peronospora manshurica* yang diperoleh diuji viabilitasnya di Laboratorium Mikologi Balai Karantina Pertanian Kelas I Jambi. Pengamatan morfologi Oospora meliputi ukuran Oospora, warna Oospora, bentuk Oospora, dan bentuk hifa menggunakan mikroskop coumpound multi media (Olympus BX 51 dan kamera Olympus DP 20). Oospora diamati dalam 10 tetes masing masing 10 µl dari suspensi endapan setiap masing-masing sampel uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cendawan *Peronospora manshurica* pada kedelai impor asal malaysia masih berpotensi sebagai inokulum penyebab penyakit bulai (*Downy mildew*) pada tanaman kedelai dengan tingkat viabilitas 3,35 - 9,93 %. Morfologi Oospora *Peronospora manshurica* berdiameter 24 - 38µm, bentuk halus dan membentuk bola dengan permukaan yang tidak teratur, warna hialin sampai coklat muda, dan hifa berdinding tebal dan tipis dengan kepadatan yang bervariasi. Oospora yang masih viabil ditandai dengan warna orange kemerahan.

Kata kunci: Viabilitas, *Peronospora manshurica*, kedelai impor

PENDAHULUAN

Peningkatan konsumsi kedelai dewasa ini belum dapat diimbangi oleh produksi kedelai dalam negeri. Sebagai gambaran dapat dikemukakan bahwa produksi kedelai saat ini mencapai 1,5 juta ton/tahun dan hanya mampu memenuhi sekitar 80 % dari kebutuhan kedelai. Untuk memenuhi kebutuhan kedelai di Indonesia sejauh ini ditempuh dengan cara impor kedelai. Impor kedelai menduduki posisi kedua setelah gandum (Destasari *et. al.*, 2015). Menurut Aimon *et al.*, 2014) impor kedelai pada tahun 2020 diprediksi mencapai nilai 3.398.008 ton.

Impor biji kedelai merupakan salah satu cara patogen dapat meyebar dari tempat asalnya menuju tempat yang baru. Tingginya Kegiatan impor kedelai dapat menimbulkan resiko yang besar bagi penyebaran penyakit, khususnya peyakit yang terbawa benih (*seed borne*). Salah satu dampak penyakit yang terbawa benih adalah munculnya peluang terjadinya penyakit di daerah yang baru (Agarwal dan Sinclair, 1996). *Peronospora manshurica* merupakan cendawan seed borne, yaitu cendawan yang dapat terbawa benih baik dipermukaan benih,

didalam atau bersama benih (Roongruangsree *et al.* 1987; Pap, *et al.*, 2007). Cendawan ini bersifat parasit obligat yang menyebabkan penyakit bulai (*Downy mildew*) pada kedelai. Di negara-negara penghasil kedelai seperti Brazil, Amerika, dan China penyakit ini berstatus penting menyebabkan kerusakan sebesar 8 - 14 % (Silva *et al.*, 2016). Sedangkan di India cendawan ini menjadi target dilarang masuk. Di Indonesia sendiri keberadaan penyakit ini masih terbatas.

Peronospora manshurica merupakan cendawan dengan tingkat sporulasi yang sangat tinggi dan mudah terbawa melalui udara untuk jarak yang jauh. Apabila patogen ini masuk dapat menyebabkan epidemi, karena itu penyakit ini termasuk penyakit yang beresiko tinggi. Dengan demikian dikhawatirkan biji kedelai impor yang terinfeksi *Peronospora manshurica* meskipun hanya untuk konsumsi masih berpeluang menjadi sumber inokulum.

Peronospora manshurica dapat bertahan selama 5 tahun sebagai oospora pada biji kedelai (Naumova *et. al.*, 1988). Berdasarkan penelitian (Pathak *et. al.*, 1978), oospora yang berumur 1 sampai 2 tahun masih mempunyai viabilitas 30 - 39 % dan koleksi oospora berumur 8 tahun masih memiliki 20 *Oospora* yang layak berkecambah. Dengan demikian kemungkinan besar *Oospora* yang terbawa pada biji kedelai impor masih mempunyai viabilitas yang tinggi sehingga masih mampu menginfeksi tanaman kedelai.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikologi Balai Karantina Pertanian (BKP) Kelas I Jambi. Pengujian patogenitas dilakukan di rumah kaca BKP kelas I Jambi. Penelitian dilakukan mulai bulan Mei sampai dengan bulan November 2018.

Bahan dan Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah mikroskop stereo olympus Szx 20, mikroskop compound multimedia olympus BX 51 dengan kamera olympus DP 20, shaker (IKA), inkubator (Memmert), oven (Memmert), sentrifuse (Hecthic), autoclaf (Tomy), timbangan analitik (Kern), mikropipet (Eppendorf), tabung reaksi, cawan petri, scapel, jarum suntik, gelas objek, gelas penutup, pinset, nobbe trier, pipet, erlenmeyer, plastik sampel dan nampan. Bahan yang digunakan adalah sarung tangan, aquades, alkohol, karung goni, tisu, kertas saring, aquades steril, tween, laktovenol, 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium klorida, biji kedelai impor, plastik.

Sampel pengujian

Sampel pengujian diperoleh dari biji kedelai yang diimpor oleh PT. Budiman Sukses di Kabupaten Tanjung Jabung Barat. Kedelai impor berasal dari Malaysia yang masuk melalui pelabuhan Kuala Tungkal pada tahun 2018. Pengambilan biji kedelai impor dilakukan secara acak di gudang PT. Budiman sukses sebanyak 2 kali kedatangan kapal. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah pengambilan sampel dari dalam tumpukan atau gudang dalam kemasan karung (SNI 19-0428 tahun 1998). Setiap satu lot maksimal 900 karung. Dari 900 karung diambil secara acak 30 karung sebagai sampel primer. Sampel primer dicampur sampai homogen, setelah homogen diambil 1 kg untuk dijadikan sampel uji di laboratorium.

Deteksi cendawan *Peronospora manshurica* pada biji kedelai

Deteksi oospora pada biji kedelai dilakukan dengan dua metode. Deteksi biji kedelai tanpa gejala kerak dilakukan dengan tehnik pencucian atau washing test dan deteksi biji kedelai dengan gejala kerak dilakukan dengan pemeriksaan langsung. Pengamatan ini dilakukan pada masing-masing sampel setiap lot dan diulang 3 kali ulangan.

Pemeriksaan dengan tehnik Washing test dilakukan dengan cara mengambil 50 biji kedelai secara acak kemudian dimasukkan dalam 10 ml aquades steril dan shaker selama 5- 10 menit, setelah dishaker larutan dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse untuk disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Larutan kemudian didiamkan beberapa menit agar dapat mengendap, setelah mengendap supernatan dibuang dan endapan diamati di bawah mikroskop coumpound multi media (Olympus BX 51 dan kamera Olympus DP 20). Oospora diamati dalam 10 tetes masing masing 10 μ l dari suspensi endapan setiap masing-masing sampel uji.

Pemeriksaan langsung dilakukan terhadap 3 biji kedelai yang memiliki gejala berkerak. Bagian pericarp biji kedelai ditetesi dengan aquades steril dibiarkan beberapa menit kemudian dikorek dengan menggunakan jarum suntik. Oospora yang tampak kemudian diletakkan pada cover glass yang telah ditetesi aquades steril kemudian diamati pada mikroskop coumpound multi media (Olympus BX 51 dan kamera Olympus DP 20).

Pengamatan morfologi meliputi ukuran oospora, warna oospora, bentuk oospora dan juga bentuk hifa. Pengukuran oospora dilakukan secara mikroskopis dengan mikroskop multimedia dan alat ukur mikrometer okuler dengan satuan pengukuran μ ($1 \mu = 0,001 \text{ mm} = 1000 \mu$).

Uji viabilitas Oospora

Pengujian viabilitas oospora *Peronospora manshurica* dilakukan menggunakan oospora dari hasil pemeriksaan langsung. Oospora *Peronospora manshurica* dikumpulkan dari biji kedelai yang terinfeksi pada setiap lot masing-masing sebanyak 500 spora/ml. Pengujian viabilitas oospora *Peronospora manshurica* pada biji kedelai diulang 6 ulangan. Perhitungan kerapatan oospora dilakukan secara manual menggunakan haemocytometer dan untuk memudahkan perhitungan digunakan hand counter.

Pengujian viabilitas oospora *Peronospora manshurica* menggunakan metode Triphenyltetrazolium klorida (TTC). Sebanyak 500 spora disuspensi dalam 1 ml aquades steril kemudian di inkubasi selama 48 jam pada suhu 30 ° C. Setelah diinkubasi kemudian ditambah dengan larutan 2, 3, 5-Triphenyltetrazolium klorida 1 % sebanyak 1 ml dan diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu 30 ° C. Pengamatan dilakukan dengan cara meneteskan suspensi diatas gelas objek kemudian ditutup dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop multimedia olympus BX 51 dengan kamera olympus DP 20.

Viabilitas oospora *Peronospora manshurica* di hitung dengan cara melihat oospora yang telah dilakukan uji viabilitas. Oospora yang mempunyai viabilitas ditandai dengan Oospora berwarna merah ke unguan, atau kuning yang berarti oospora *Peronospora manshurica* masih mampu berkecambah. Sedangkan oospora yang tidak dapat berkecambah ditandai dengan oospora bening atau tidak berwarna. Perkecambahan oospora ini menunjukkan viabilitas oospora. Persen spora yang berkecambah di hitung dengan cara jumlah spora yang berkecambah di bagi dengan spora yang diamati (Chandel dan Pimpalgaonkar, 2014) dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Spora berkecambah} = \frac{\text{Jumlah spora berkecambah}}{\text{Total spora yang diamati}} \times 100 \%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi cendawan *Peronospora manshurica* pada biji kedelai

Sebanyak 5 sampel uji yang terdiri dari 2 sampel uji pada kedatangan kapal pertama (Lot 1 dan lot 2) dan 3 sampel uji dari kedatangan kapal ke dua (Lot 1, lot 2 dan lot 3) terdeteksi adanya *Peronospora manshurica* (Tabel 1).

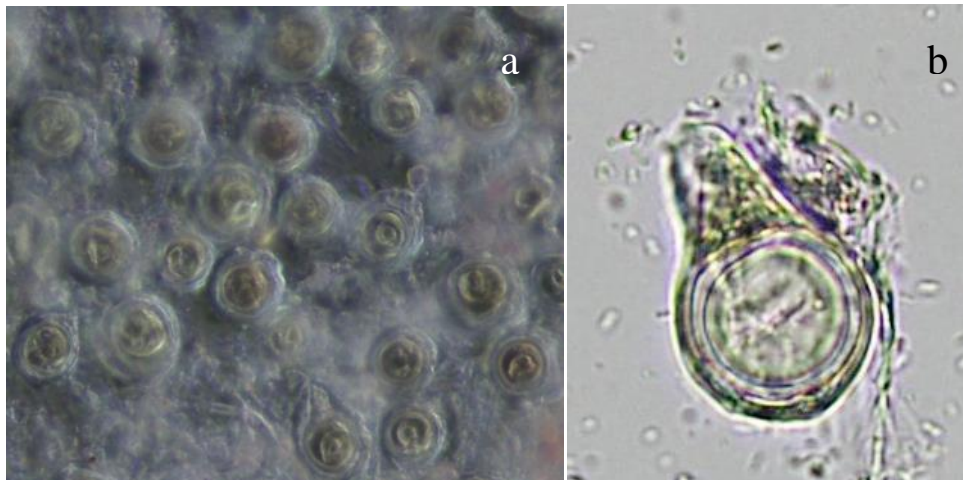
Tabel 1. Hasil deteksi oospora *Peronospora manshurica* pada biji kedelai impor

Sampel uji	Deteksi langsung		Washing test	
	Total oospora	Rata-rata/biji	Total oospora	Rata-rata/biji
Kedatangan pertama				
Lot 1	1185	395	61	6
Lot 2	667	222	54	5
Kedatangan kedua				
Lot 1	553	184	54	5
Lot 2	731	244	61	6
Lot 3	685	228	57	6

Hasil pengamatan setiap sampel 1 kg biji kedelai terdapat 30- 80 biji kedelai yang berkerak, dengan luasan kerak bervariasi. Biji kedelai yang terinfeksi *Peronospora manshurica* ditandai dengan bagian permukaan kulit biji kedelai terdapat kerak berwarna putih keabu-abuan (Gambar 1). Kerak yang menempel pada permukaan biji kedelai merupakan kumpulan miselium dan oospora *Peronospora manshurica*. Oospora *Peronospora manshurica* yang ditetesi dengan aquades beberapa saat akan mengembang terlihat seperti bola-bola kecil berwarna putih kekuningan. Lapisan dinding paling dalam oospora halus dan membentuk bola dengan permukaan oospora tidak teratur (Gambar 2). Oospora berwarna hialin sampai coklat muda, tebal, berdinding halus dan mempunyai diameter 24 - 38 µm. Miselium pada permukaan biji terdiri dari hifa berdinding tebal dan tipis yang terjalin menjadi retikulum dengan kepadatan yang bervariasi (Gambar 3).



Gambar 1. *Peronospora manshurica* yang menempel pada kulit biji kedelai Impor (1,5 X)



Gambar 2. (a). Kumpulan Bentuk Oospora *Peronospora manshurica* (20 x), (b) Oospora tunggal (40x)



Gambar 3. Miselium *Peronospora manshurica* (40x)

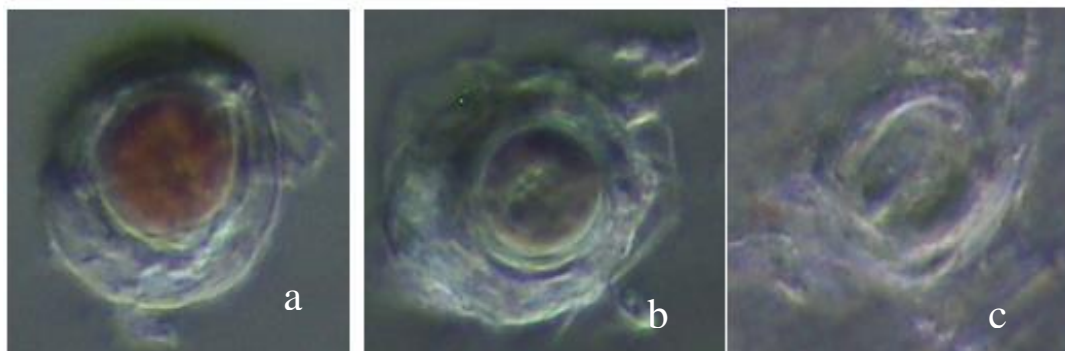
Viabilitas oospora *Peronospora manshurica*

Dari semua sampel yang dilakukan uji viabilitas dengan menggunakan TTC masih menunjukkan ada oospora yang masih dapat hidup (viabil) dengan kisaran 3,35 - 9,93 %. Oospora yang masih viabil ditandai dengan warna orange kemerahan

setelah diinkubasi selama 48 jam (Gambar 4). Berikut ini adalah hasil perhitungan persentase viabilitas oospora *Peronospora manshurica*.(Tabel 2).

Tabel 2. Persentase viabilitas oopora *Peronospora manshurica*

Sampel Uji	% Viabilitas Oospora
Kedatangan Pertama	
Lot 1	9,93 %
Lot 2	6,83%
Kedatangan kedua	
Lot 1	3,53%
Lot 2	8,79%
Lot 3	6,93%



Gambar 4. Oospora yang viabil (a), abnormal (b), dan mati (c) (40 x)

Viabilitas paling tinggi terjadi pada kedatangan pertama lot 1 sebanyak 9,93% dan paling rendah yaitu pada kedatangan kedua lot 1 sebanyak 3,53%. Hal ini menunjukkan terbawanya inokulum *Peronospora manshurica* pada biji kedelai impor yang dapat menimbulkan penyakit baru pada tanaman kedelai. *Peronospora manshurica* merupakan cendawan dengan tingkat sporulasi yang sangat tinggi dan mudah terbawa melalui udara untuk jarak yang jauh. Apabila patogen ini masuk dapat meyebabkan epedimi, karena itu penyakit ini termasuk penyakit yang beresiko tinggi. Dengan demikian dikhawatirkan biji kedelai impor yang terinfeksi *Peronospora manshurica* meskipun hanya untuk konsumsi masih berpeluang menjadi sumber inokulum.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dikemukakan di atas dapat disimpulkan bahwa *Peronospora manshurica* pada biji kedelai impor masih mempunyai

vibilitas 3,35 - 9,93 % sehingga dapat menjadi sumber inokulum yang dapat menyebarkan penyakit downy mildew pada tanaman kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Aimon, H., Satrianto, A. 2014. Prospek Konsumsi dan Impor Kedelai Indonesia tahun 2015-2020. *Jurnal Kajian Ekonomi*. 3 (5).
- Agarwal, P.C. 1996. Technique for the detection of seed borne fungi. *Seed Res.*4 : 24-31
- Chand, G., dan Kumar, S., 2016. *Crop Diseases and Their Manajemen*. Apple Academi Press. India
- Destasari, A., M., Suharyono dan Yulianto, E., 2015. Pengaruh produksi kedelai dalam negeri dan harga kedelai dunia terhadap volume impor kedelai di Indonesia (Studi terhadap volume import kedelai tahun 1996-2013). *Jurnal Administrasi Bisnis*. Volume 1 no.1
- Naumova, E.S., Obtemperanskaya, M.S., 1988. Modes of survival of the causal agent of Peronospora disease of soyadean, *Peronospora manshurica* (Naum) Syd., in the intervegetative period. *Mikology Fitopatologiya* 22(6) : 500-502
- Pap., S., M., Milosevic, M., dan Jasnic, S., 2007. Soybean Seed Borne Fungi in the Vojvodina Province. *Phytopathol.* 45 : 55-65
- Pathak, V., K., Mathur, S., B., dan Neergaard, P., 1978. Detection of *Peronospora manshurica* (Naum) Syd. in Seeds of Soybean. *Glycine max*. *Eppo Bulletin*. 8 (1): 21-28
- Roongruangsree, U., T., Olon, L.W. dan Lange, L. 1988. The seed borne inoculum of *Peronospora manshurica*, causal agent of soybean downy mildew. *Jurnal Phytopathology*. Paul Parey Scientific Publisher.
- Silva, O.C.D., Santos, H.A.A., Pria, M.D., dan Mio, L.L.M.D., 2016. Damage to Soybean Caused by Downy mildew. *Ciencia Rural*.46 (3). Maret 2016