Ilmu Pertanian Vol. 16 No.2, 2013 : 42 - 59

INDUKSI KETAHANAN TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.) TERHADAP PENYAKIT BULAI MELALUI SEED TREATMENT SERTA PEWARISANNYA PADA GENERASI S1

INDUCED RESISTANCE OF DOWNY MILDEW ON MAIZE (*Zea mays* L.) *BY SEED TREATMENT AND ITS INHERITANCE IN S1 GENERATION*

Hoerussalam[1], Aziz Purwantoro[2], Andi Khaeruni[3]

ABSTRACT

Resistance to disease is an important trait in breeding influencing quality and ultimately the crop yield. The induction of systemic resistance could be performed to improve plant resistance to disease which is stimulating the plant defense system by using elicitor application. It involves the coordination and expression of a particular gene called SAR genes and characterized by the accumulation of certain compounds such as salycilic acid or jasmonate acid.

The experiment consists of three experiments. First, Selection of promising line. This experiment is aimed to obtain the best line that possess highest raising resistance and most responsive to treatment. This research utilized six F1 hybrids of maize i.e. C02, C05, C13, C19, C20, and SC-139 4D. Four elicitors were tested as treatment namely Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Bio1 dan Bio2, Salicylic acid (Abio1) and Benzothiadiazole-S-Methyl (Abio2) by seed treatment. Experiment was conducted at open field using spreader as inoculum source. Treated seeds then were planted and observed until 42 days after planting. Resistance evaluation was done by comparing origine resistance with induced resistance. Resistant plant was self-pollinated to obtain S1 (F2) generation seed material. Second experiment is verification of induced resistance status. Investigation was conducted by physiological and molecular approach using salycilic acid content estimation and detection of PR-1 gene using PCR technique. Third is inheritance study in S_1 generation from line that possess resistance raising.

In this experiments, exogenously application of salicylic acid, Benzothiadiazole-S- Methyl and PGPR by seed treatment proved to be effective in reducing downy mildew disease incidence (DI) and increasing resistance level in maize plants. F1 hybrid of maize C20 is the most responsive to four kinds of elicitor. Two of them, Bio1 and Abio1 were able to improve to be moderat resistant (MR) status while Bio2 and Abio2 gave

[1]Mahasiswa Pemuliaan Tanaman, Pascasarjana Fakultas Pertanian UGM
[2]Dosen Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian UGM
[3]Dosen Fakultas Pertanian Haluoleo Kendari

resistant (R) status. The inheritance study also showed the increased resistance status could be inherited into populations S1 generation and followed Mendelian inheritance pattern for the ratio 15:1. The measurement and detection indicated that salicylic acid content tends to increase after inoculation by pathogen P. maydis comparing with before inoculation and PR-1 gene was detected respectively.

***Key words**: induced resistance, elicitor, salicylic acid, PGPR, pathogenesis-related protein*

INTISARI

Ketahanan terhadap penyakit merupakan salah satu sifat yang sangat penting dalam pemuliaan tanaman karena mempengaruhi kualitas dan tingkat produksi tanaman. Salah satu upaya untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit adalah melalui induksi ketahanan sistemik yang dipicu oleh pengaplikasian elisitor dengan melibatkan koordinasi dan ekspresi dari gen tertentu (gen SAR) serta ditandai oleh akumulasi senyawa tertentu seperti asam salisilat atau asam jasmonat.

Penelitian terdiri dari tiga bagian percobaan, yaitu: 1. Seleksi galur. Percobaan ini bertujuan untuk mendapatkan galur yang mengalami peningkatan status ketahanan dan memilih satu dari enam galur yang paling responsif terhadap perlakuan (elisitor). Percobaan menggunakan enam varietas jagung hibrida C02, C05, C13, C19, C20 dan SC 4D-139 yang diaplikasikan empat macam elisitor, yaitu Plant Growth Promoting Rhizobakteri (PGPR) Bio1 dan Bio2, asam salisilat (Abio1), serta Benzothiadiazole-S-Methyl (Abio2) melalui *seed treatment*. Percobaan dilakukan di lapang dengan menggunakan tanaman penyebar (*spreader*) sebagai sumber inokulum. Benih yang sudah di *treatment* kemudian ditanam, dan diamati sampai umur 42 hari setelah tanam. Evaluasi perubahan status ketahanan dilakukan dengan cara membandingkan status ketahanan asal (*non treatment*) dengan status ketahanan setelah diinduksi. Tanaman dari varietas yang mengalami peningkatan status ketahanan akan di *selfing* untuk mendapatkan benih generasi S1. 2. Status ketahanan terinduksi yaitu verifikasi ketahanan terimbas di tingkat fisiologis dan molekuler melalui pengukuran asam salisat dan deteksi gen PR-1 menggunakan teknik PCR. 3. Evaluasi pewarisan ketahanan pada generasi hasil selfing (S1) dari varietas yang mengalami peningkatan status ketahanan.

Hasil menunjukkan jagung galur C20 paling responsif terhadap keempat macam elisitor dan mengalami peningkatan status dari agak rentan menjadi agak tahan (perlakuan Bio1 dan Abio1) dan menjadi tahan (perlakuan Bio2 dan Abio2). Verifikasi secara fisiologis dan molekular menunjukan bahwa kandungan asam salisilat cenderung mengalami

peningkatan setelah inokulasi *P. maydis* dibandingkan dengan sebelum inokulasi patogen dan terdeteksi gen PR-1 pada tanaman dari varietas C20 hasil *treatment*. Sementara itu, analisis studi pewarisan menunjukkan peningkatan ketahanan galur jagung C20 diturunkan pada populasi generasi S_1 dan mengikuti pola pewarisan Mendel untuk rasio 15:1.

Kata kunci: induksi ketahanan, elisitor, asam salisilat, PGPR, *pathogenesis-related protein*

PENDAHULUAN

Penyakit bulai pada jagung yang disebabkan oleh cendawan *Peronosclerospora maydis* sangat berbahaya karena tanaman yang terinfeksi patogen tersebut mengalami hambatan dalam berfotosintesis, sehingga dapat menyebabkan kegagalan panen. Di Kabupaten Kediri, Jawa Timur penurunan produksi jagung karena serangan penyakit bulai dapat mencapai 10–90% (Soenartiningsih dan Talanca, 2010).

Pengendalian penyakit bulai yang paling ideal adalah menggunakan varietas tahan. Penggunaan varietas tahan merupakan cara pengendalian yang baik, murah, ramah terhadap lingkungan, mudah dilakukan, dan dapat dipadukan dengan komponen pengendalian lainnya (Saleh, 1993). Meskipun sudah dilakukan cukup lama, menurut Soenartiningsih dan Talanca (2010), varietas yang tahan terhadap penyakit bulai juga tidak terlalu banyak. Upaya perakitan tanaman jagung yang tahan terhadap penyakit bulai melalui penyaringan plasma nutfah dan persilangan, dihadapkan pada kendala sumber daya genetik yang terbatas dan lamanya proses perakitan.

Induksi ketahanan sistemik (*induced resistance*) dapat dijadikan sebagai alternatif cara untuk mendapatkan keragaman genetik khususnya untuk karakter ketahanan terhadap penyakit. Induksi ketahanan sistemik adalah suatu proses stimulasi resistensi tanaman inang tanpa introduksi gen-gen baru. Induksi ketahanan sistemik menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif dan atau menstimulasi mekanisme resistensi alami yang dimiliki oleh inang dengan pengaplikasian bahan penginduksi eksternal. Bahan penginduksi eksternal (elisitor) tersebut dapat

berupa agens biologi, kimia, dan fisika (Agrios, 2005).

Penggunaan PGPR sebagai agens penginduksi biologis telah dilaporkan oleh Kloepper *et al*. (2004), dimana aplikasi *Bacillus* spp. pada tanaman tomat dapat menurunkan kejadian penyakit *Cucumber mosaic virus*. Pada pengujian lain, aplikasi *B. megaterium* pada tanaman timun mempunyai efikasi sebesar 75,78% dalam menghambat kejadian penyakit *damping-off* yang disebabkan oleh *Pythium aphanidermatum* (Liang *et al*., 2011). Aplikasi agens kimia untuk menginduksi ketahanan tanaman sudah dilaporkan oleh Abdel-Monaim *et al.* (2012), dimana aplikasi Benzothiadiazole (BTH) dapat menekan penyakit rebah kecambah pada empat kultivar kedelai. Penggunaan BTH sebagai penginduksi ketahanan melalui aplikasi *seed treatment* telah dievaluasi pada tanaman jagung. Hasil pengujian menunjukkan bahwa tanaman yang diberi perlakuan lebih tahan terhadap serangan penyakit bulai (Morris *et al*., 1998). Pada tanaman buncis, perlakuan BTH dan asam salisilat secara eksogen dapat mereduksi penyakit layu *Fusarium* masing-masing 40% dan 63% (Sarwar *et al*., 2010). Ketahanan terimbas sebagai hasil induksi ketahanan dicirikan oleh akumulasi asam salisilat dan *pathogenesis related-protein* (PR-protein). Chivasa *et al*. (1997) melaporkan bahwa perlakuan asam salisilat dapat menghambat genom replikasi *tobacco mosaic virus* (TMV) pada daun tembakau rentan yang diinokulasi, sehingga terjadi penundaan gejala sistemik pada semua bagian tanaman. Zhu *et al*. (2004) melaporkan bahwa tanaman pepaya yang diinduksi oleh BTH mengalami peningkatan ketahanan terhadap cendawan *Phytophthora palmivora* dengan cara meningkatkan aktivitas ß-1,3 glukanase dan kitinase dengan memicu transkripsi gen SAR PR-1.

Kelemahan atau permasalahan kaitannya dengan ketahanan terimbas adalah menyangkut konsistensi dan *durability*. Beberapa laporan mengindikasikan bahwa pengaruh induksi ketahanan kadang bervariasi, tidak saja karena cara aplikasi yang berbeda. Penelitian yang dilakukan secara paralel oleh Nayar (1996) menyebutkan bahwa induksi ketahanan

dengan menggunakan *Pseudomonas fluorescens* dapat bertahan hingga 60 hari, jika diaplikasikan sebagai *seed treatment*. Persistensinya akan lebih rendah jika aplikasi dilakukan melalui perendaman akar dan penyemprotan daun, yaitu masing-masing 30 dan 15 hari. Pada tanaman timun, PGPR yang diaplikasikan untuk menginduksi ketahanan terhadap penyakit antraknosa pada daun dapat bertahan selama lima minggu (Liu *et al*., 1995). Berbeda dengan laporan-laporan sebelumnya, hasil penelitian terbaru yang dilaporkan oleh Luna *et al*. (2012) mengindikasikan bahwa ketahanan terinduksi melalui jalur SAR dapat diwariskan secara epigenetik. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, gen ketahanan, SA-*inducible*, menjadi aktif pada keturunan arabidopsis yang induknya telah diberi perlakuan, sehingga keturunannya lebih tahan terhadap patogen *Hyaloperonospora arabidopsidis*.

Secara umum, *durability* ketahanan terinduksi yang dipicu oleh PGPR berbeda antar crop (Ramamoorthy *et al*., 2001). Oleh karena itu, menurut Parkunan (2008), untuk mengevaluasi stabilitas elisitor dalam menginduksi ketahanan perlu dilakukan pengujian pada jenis dan macam kultivar tanaman yang berbeda.

Elisitasi untuk menginduksi ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai melalui *seed treatment* belum banyak dilaporkan. Begitu juga dengan pewarisan ketahanan terimbas hasil *seed treatment*. Apabila dapat dibuktikan bahwa induksi ketahanan melalui *seed treatment* dapat meningkatkan status ketahanan tanaman, hal ini akan sangat bermanfaat, sebab ketahanan yang dihasilkan melalui mekanisme induksi ketahanan dapat berspektrum luas, baik terhadap cendawan, bakteri maupun virus (Raupach *et al*., 1996; van Loon *et al*., 1997).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Laboratorium Fisiologi Tanaman, Laboratorium Molekuler Breeding, dan Lahan R&D Field Crop PT BISI International Tbk. Kediri, dari bulan

November 2011 sampai Desember 2012. Tahapan penelitian dimulai dari penyediaan *PGPR* dan perlakuan benih, kemudian penyemaian benih, dan penyediaan sumber inokulum.

Percobaan Seleksi galur terdiri dari uji ketahanan alami dan ketahanan terimbas, dilakukan dengan menggunakan benih dari satu tongkol yang sama, pada waktu dan hamparan yang sama. Ketahanan alami yang dimaksud adalah status ketahanan galur pada kondisi tanpa perlakuan. Sementara itu, ketahanan terimbas adalah status ketahanan galur setelah diberi perlakuan. Percobaan ini menggunakan enam galur uji dan empat macam perlakuan.

Rancangan Acak Kelompok digunakan pada percobaan untuk menganalisis pola pewarisan ketahanan terimbas. Benih hasil selfing pada masing-masing perlakuan ditanam sebanyak 50 biji dan diulang tiga kali.

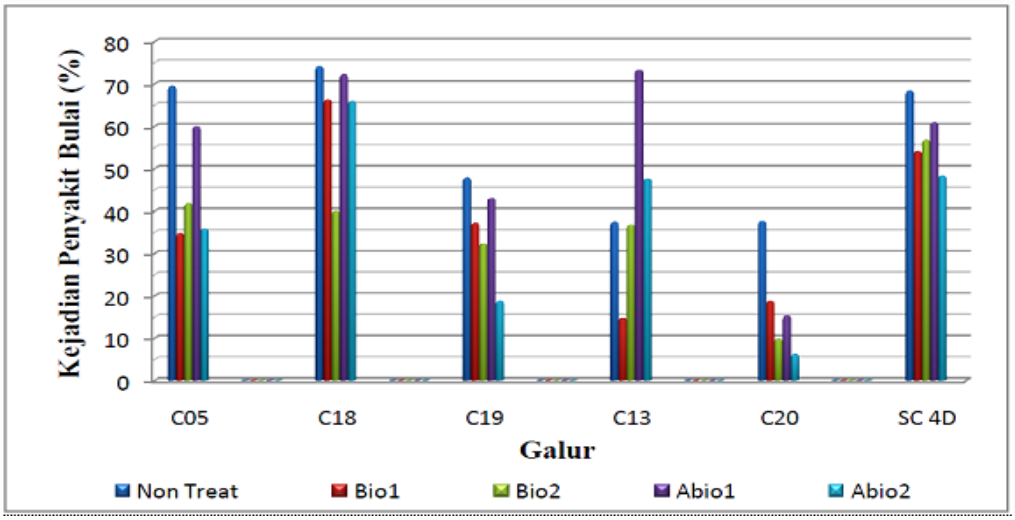
HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase kejadian penyakit pada tanaman perlakuan elisitor biologi, Bio1 (grafik merah) dan Bio2 (grafik hijau) lebih rendah dari pada kejadian penyakit pada tanaman kontrol (grafik biru tua) pada semua galur uji (Gambar 1). Rendahnya kejadian penyakit pada petak perlakuan Bio1 dan Bio2 mengindikasikan bahwa kedua elisitor tersebut berperan dalam terjadinya mekanisme ketahanan terimbas. Menurut Agrios (1997), ketahanan terimbas adalah suatu mekanisme yang secara normal berfungsi membatasi pertumbuhan dan penyebaran patogen. Efektifitas mekanisme ini ditingkatkan oleh infeksi primer dan agen penginduksi (biotik atau abiotik) berupa mikroorganisme patogen, non patogen, metabolit mikrob, ekstrak tumbuhan atau senyawa sintetik seperti asam salisilat.

Peran elisitor kimiawi dalam mekanisme ketahanan terimbas juga diperlihatkan oleh elisitor Abio1 dan Abio2. Secara umum, kejadian penyakit bulai pada perlakuan elisitor kimiawi Abio1 (grafik ungu) dan Abio2 (grafik biru muda) lebih rendah dibandingkan dengan kejadian penyakit bulai pada

kontrol, namun demikian, efektifitas kedua elisitor tersebut masih kurang konsisten. Hal tersebut dapat dilihat pada galur C13, kejadian penyakit bulai setelah perlakuan menggunakan elisitor Abio1 dan Abio2 malah menjadi lebih tinggi dibanding kontrol.

Elisitor kimia yaitu asam salisilat dan BTH memiliki efektifitas yang berbeda untuk menginduksi ketahanan. Kemampuan penghambatan penyakit oleh perlakuan BTH umumnya lebih baik dibandingkan asam salisilat. Hal ini diduga terkait dengan mekanisme kedua bahan tersebut yang berbeda. Asam salisilat biasanya menginduksi ekspresi ketahanan pada jaringan yang diberi perlakuan saja, sementara BTH bergerak secara sistemik ke seluruh bagian tanaman.



Gambar 1. Kejadian Penyakit pada Enam Galur Jagung

Aplikasi asam salisitat potensial untuk meningkatkan ketahanan tanaman, namun demikian, pengaruhnya sangat tergantung pada kecocokan dengan tanaman pada galur yang tidak *comptibel* aplikasi asam salisilat dapat menimbulkan resiko fitotoksisitas.

Elisitor Bio1 dan Bio2 memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan cendawan *P. maydis*. pada enam galur yang diuji persentase penghambatannya 1,68% hingga 73,84% (Tabel 1). Kemampuan

penghambatan Bio1 berkisar antara 10,66 hingga 60,41%. Sementara itu, Bio2 dapat menghambat kejadian penyakit bulai pada enam galur jagung antara 1,68 % hingga 73,84%.

Tabel 1. Penghambat Kejadian Penyakit Bulai pada Enam Galur Jagung

Perlakuan	Penghambatan (%) pada galur					
	C05	C18	C19	C13	C20	SC4D
Bio1	49,99	10,66	22,32	60,41	50,16	20,85
Bio2	39,74	46,10	32,65	1,68	73,84	16,91
Abio1	13,63	2,68	10,06	-96,02	59,12	10,82
Abio2	48,37	11,22	60,71	-27,43	83,39	29,16
Rerata	29,25 ab	17,67 bc	31,44 bc	-15,34 c	66,63 a	14,44 bc

Jika dengan aplikasi elisitor biologi keenam galur jagung memberikan respon dan terjadi efek kompatibilitas, hasil yang sedikit berbeda diperlihatkan pada perlakuan elisitor kimiawi. elisitor Abio1 dan Abio2 memiliki kemampuan penghambatan penyakit bulai hanya pada lima dari enam galur jagung yang diuji. Sementara itu, pada satu galur lainnya, yaitu C13 kedua elisitor kimia tersebut tidak memberikan pengaruh sama sekali. Diduga ada perbedaan morfologi atau karakter fisiologi tertentu dari galur C13 dibanding dengan lima galur lainnya, sehingga tidak kompatibel dan menghambat efektifitas kedua elisitor kimiawi tersebut.

Secara umum galur C20 merupakan galur yang memiliki respon paling baik terhadap semua jenis elisitor baik biologis maupun kimiawi. Rata-rata penghambatan penyakit pada galur C20 adalah yang paling tinggi, yaitu 66,63%, berbeda nyata dengan respon lima galur jagung lainnya. Respon galur C20 juga terbaik pada tiga elisitor yang digunakan yaitu Bio2, Abio1, dan Abio2. Sementara itu, meskipun terhadap tiga elisitor lain tidak memberikan respon yang baik, Galur C13 memberikan respon paling tinggi terhadap elisitor Bio1.

Ketahanan tanaman terhadap penyakit didefinisikan sebagai suatu karakter yang memungkinkan tanaman terhindar, mempunyai daya tahan

atau daya sembuh dari serangan penyakit dalam kondisi yang akan menyebabkan kerusakan lebih besar pada tanaman oleh patogen (Hammerschmidt dan Dann, 2000 *dalam* Firmansyah, 2008).

Ketahanan alami adalah ketahanan yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Ketahanan alami lazimnya dapat diinduksi. Ketahanan alami tanaman dapat berupa ketahanan mekanik dengan terjadinya perubahan struktur organ atau jaringan melalui akumulasi lignin atau selulosa atau ketahanan biokimia melalui sintesis senyawa ketahanan seperti polifenol dan tanin (Marschner, 1990). Peningkatan status ketahanan terhadap penyakit bulai terjadi pada galur jagung yang diuji seteleh diinduksi oleh elisitor. Namun demikian, Peningkatan status ketahanan tersebut berbeda-beda pada jenis elisitor dan macam galur yang diuji.

Perbedaan respon galur terhadap macam elisitor dalam menginduksi ketahanan diduga terkait d engan status alami yang berbeda dari masing-masing galur uji. Galur uji yang memiliki ketahanan alami agak tahan (MS), kemungkinan dapat merespon adanya elisitor yang diperlihatkan oleh peningkatan status ketahanan menjadi agak tahan (MR) hingga tahan (R) tergantung efek kompatibilitas antara keduanya. Sementara itu, jika ketahanan alami suatu galur berada pada kelas yang paling rendah, maka kenaikan kelas ketahanan tidak akan mencapai MR, apalagi R. Pengaruh elisitor terhadap perubahan status ketahanan galur jagung yang diuji ditampilkan pada Tabel 2.

Galur C20 adalah galur terpilih yang akan dilanjutkan pada pengujian untuk mempelajari pola pewarisan ketahanan hasil induksi. Keempat macam elisitor yaitu Bio1, Bio2, Abio1, dan Abio2 dapat meningkatkan status ketahanan galur tersebut yang secara alami ketahanannya masuk dalam kelas agak rentan (MS). Bio1 dan Abio1 dapat meningkatkan status ketahanan tanaman jagung C20 menjadi agak tahan (MR). Sementara itu, induksi ketahanan oleh Bio2 dan Abio2 dapat me naikkan status ketahanan

galur C20 menjadi tahan (R).

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan terhadap Perubahan Status Ketahanan Enam Galur Jagung

Perlakuan	Kejadian penyakit (%) dan status ketahanan pada galur											
	C05		C18		C19		C13		C20		SC 4D	
Kontrol	69,47	**S**	74,21	**S**	47,9	MS	37,41	**MS**	37,62	**MS**	68,38	**S**
Bio1	34,74	MS	66,30	S	37,21	MS	14,81	**MR**	18,75	**MR**	54,12	S
Bio2	41,86	MS	40,00	MS	32,26	MS	36,78	MS	9,84	**R**	56,82	S
Abio1	60,00	S	72,22	S	43,08	MS	73,33	S	15,38	**MR**	60,98	S
Abio2	35,87	MS	65,88	S	18,82	**MR**	47,67	MS	6,25	**R**	48,44	MS

Keterangan: hurup yang dicetak tebal menunjukan perubahan status dari rentan menjadi tahan

Asam salisilat secara umum berkaitan dengan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Hasil pengukuran asam salisilat tanaman jagung menunjukkan bahwa pada tanaman yang diberi perlakuan empat macam elisitor, secara endogen sudah memiliki kandungan asam salisilat meskipun tidak dilakukan inokulasi patogen. Kandunga n asam salisilat tersebut berkisar antara 0,032 hingga 0,064 µg/g. Kondisi ketahanan alami galur C20 yang agak rentan (MS) diduga memungkinkan galur tersebut secara alami memiliki kandungan asam salisilat meskipun relatif kecil.

Terjadi peningkatan kandungan asam salisilat pada pengukuran umur 10 hari setelah perlakuan tanpa *challenge* (infeksi/inokulasi) patogen dan umur 14 hari setelah tanaman diinokulasi *P. maydis*. Hal ini pernah dilaporkan oleh Zhang *et. al*. (2002), dimana kandungan asam salisilat endogenus pada kecambah tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) yang diberi perlakuan tiga strain PGPR meningkat secara signifikan pada minggu pertama setelah perlakuan PGPR. Pada minggu ke-2 kandungan asam salisilat pada kecambah yang diberi perlakuan menjadi lebih rendah, dan ketika dilakukan *challenge* dengan patogen *Peronospora tabacum* kandungan asam salisilat meningkat pada satu hari setelah inokulasi.

Kondisi yang hampir mirip terjadi pada perlakuan Bio1, Bio2, Abio1, dan Abio2, dimana setelah tanaman diinokulasi patogen, kandungan asam salisilatnya meningkat. Kandungan asam salisilat pada perlakuan sebelum dan sesudah inokulasi patogen *P. maydis* ditampilkan pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Kandungan asam salisilat pada galur C20

Perlakuan	Kandungan asam salisilat (µg/g)				
	Tanpa Inokulasi	Status ketahanan	Setelah inokulasi	Status ketahanan	Peningkatan
Bio1	0,050	MS	0,095	MR	0,045
Bio2	0,064	MS	0,087	R	0,023
Abio1	0,032	MS	0,070	MR	0,028
Abio2	0,062	MS	0,136	R	0,074

Keterangan: Pengukuran tanpa inokulasi dilakukan pada tanaman yang tumbuh dari benih yang telah diberi perlakuan, namun tanpa dilakukan inokulasi patogen *P. maydis*. Pengukuran setelah inokulasi dilakukan pada tanaman yang sama pada 4 hari setelah dilakukan inokulasi *P. Maydis.*

Hubungan antara kandungan asam salisilat alami tanaman dan perlakuan sebelum dan setelah dilakukan inokulasi terhadap perubahan status ketahanan, memperlihatkan bahwa semua perlakuan berpengaruh terhadap peningkatan kandungan asam salisilat dan status ketahanan tanaman. Namun, pada kondisi kandungan asam slisilat endogenus lebih rendah, seperti pada perlakuan Bio1 (0,50 µg/g) dan Abio1 (0,032 µg/g) dibandingkan perlakuan Bio2 (0,064 µg/g) dan Abio2 (0,062 µg/g), pengaruhnya juga tak sebaik ketika kandungan asam salisilat endogennya sudah relatif tinggi. Hal ini sebagaimana pada tanaman padi yang memiliki kandungan asam salisilat tinggi pada kondisi alaminya, diketahui juga memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap serangan *blast* (Silverman *et al*., 1995).

Indikator terjadinya induksi resistensi secara sistemik diantaranya akumulasi pembentukan *pathogenesis related protein* (PR-protein) (Chen *et al*., 2000). Kelompok PR-protein yang umum dikenal antara lain peroksidase (Ramamoorthy *et al*., 2002). Fungsi peroksidase adalah

memperkuat dinding sel terhadap degradasi enzim yang dihasilkan oleh patogen melalui pembentukan protein struktural pada dinding sel. Peroksidase adalah enzim yang berperan sebagai katalisator pada tahap akhir proses biosintesis lignin dan hidrogen peroksidase. Beberapa jenis enzim telah dilaporkan meningkat aktifitasnya setelah mendapat perlakuan agen biokontrol, antara lain peroksidase, fenilalanin amonia- liase (PAL), dan polifenol oksidase (Chen *et al*., 2000).

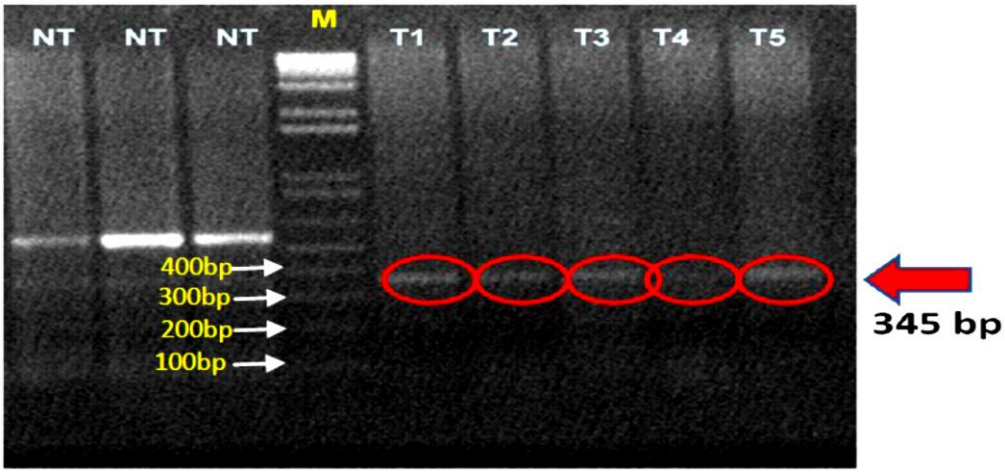
Morris *et al.* (1998) melaporkan bahwa *inducer* kimia dapat berfungsi pada tanaman jagung. Bahan penginduksi tersebut dapat meningkatkan ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai dan mengaktifkan ekspresi gen PR-1 dan PR-5 pada jagung. Gen tersebut juga aktif saat terjadi infeksi oleh patogen dan berfungsi sebagai indikator reaksi pertahanan tanaman.

Pada percobaan ini dapat ditunjukkan bahwa gen PR-1 menjadi aktif pada tanaman yang benihnya sebelum ditanam diberi perlakuan. Pada masing-masing individu tanaman yang mewakili lima jenis perlakuan, DNA target dengan ukuran 345 pasang basa (bp) dapat teramplifikasi, sementara pada tiga individu yang mewakili tanaman kontrol copy DNA tersebut tidak dapat teramplifikasi. Hasil amplifikasi copy DNA pada individu yang mewakili tanaman perlakuan dan kontrol ditampilkan pada Gambar 2.

DNA target yang berukuran 345 bp teramplifikasi cukup jelas pada sampel tanaman yang telah diinduksi. Semua jenis perlakuan sepertinya dapat menginduksi dan menyebabkan gen PR-1 aktif. Sementara itu, pada kontrol DNA target teramplifikasi sangat tipis bahkan cenderung tidak ada. Hasil ini sejalan dengan dasar pemikiran dari induksi resistensi bahwa gen untuk ketahanan atau reaksi pertahanan ada pada semua tanaman. Gen tersebut tidak diekspresikan sebelum induksi resistensi diberikan, ekspresi ketahanan baru akan muncul setelah adanya inokulasi patogen.

Bahan kimia, seperti asam salisilat, etilen, tiamin, dan BTH sudah

sering diuji kemampuannya untuk menginduksi PR protein. Salah satunya hasil penelitian yang dilakukan pada tembakau. Ekspresi beta-glucoromidase, gen (gus), meningkat 5-10 kali setelah 1-3 hari aplikasi asam salisilat. Bahan yang sama dapat menginduksi ekspresi GUS 10 kali setelah 8 hari penyemprotan dalam kondisi lapangan.



Gambar 2. Profil Amplifikasi cDNA Individu yang Mewakili Tanaman Galur C20; NT= non treatment; T1= perlakuan Bio1; T2= Perlakuan Bio2; T3= Perlakuan Abio1; T4= Perlakuan Abio2; dan T5= perlakuan *Existing*; M= 1 Kb+ladder, menggunakan primer PR-1 Maize F: 5'-AGGCTCGCG TGCCTCCTAGCTCT-3' dan R: 5'-GGAGTCGCGCCSCACCACCTGCG-3'

Evaluasi ketahanan yang dilakukan pada populasi hasil *selfing* generasi pertama S1 menunjukan bahwa status ketahanan galur C20 pada semua perlakuan masuk dalam kategori tahan (R) yang berarti ketahanan hasil induksi tetap dan atau meningkat pada generasi berikutnya. Perbandingan status ketahanan alami galur C20, ketahanan hasil induksi dan hasil *selfing* ditampilkan pada Tabel 4 dan Peningkatan status ketahanan pada generasi S1 telah dianalisis pola pewarisannya yang ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 4. Perubahan Status Ketahanan Galur C20 setelah Induksi dan *Selfing*

Perlakuan	Kejadian penyakit pada generasi S_1	Status ketahanan pada		
		F_1 awal	F_1 induksi	S_1
Bio1	2,00	MS	MR	R
Bio2	1,63	MS	R	R
Abio1	0,67	MS	MR	R
Abio2	2,67	MS	R	R
Cek Rentan	25,08	S	S	MS

Keterangan: F_1 awal= status ketahanan alami; F_1 induksi= status ketahanan tanaman setelah diinduksi dan S_1= status ketahanan tanaman pada generasi hasil *selfing*

Tabel 5. Pola Pewarisan ketahanan Terimbas terhadap *P. maydis* pada Tanaman hasil *selfing*

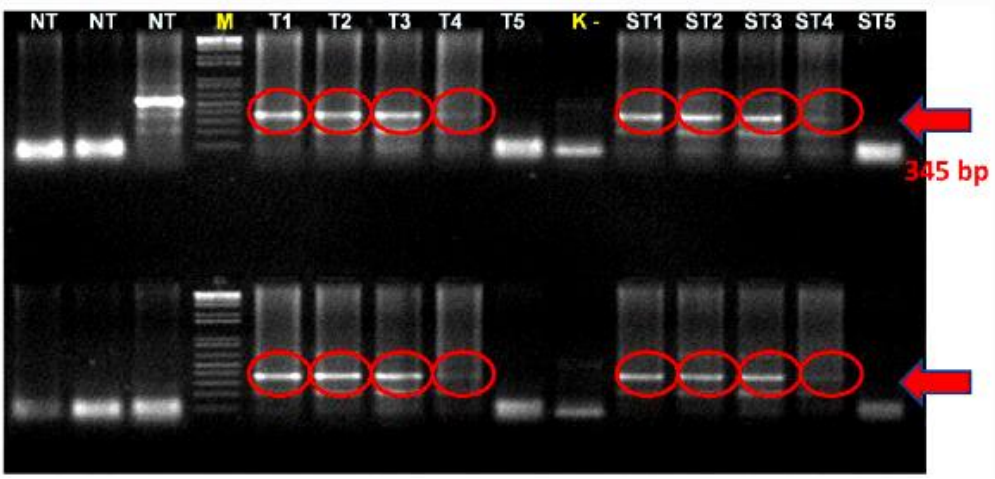
Persilangan	Asal	Kriteria ketahanan		Rasio	X^2 hitung	X^2 0.05
		Tahan	Rentan			
Selfing	C20.A2.S_1	147	3	3 : 1 15 : 1	47,17** 4,00	3,84
	C20.B2.S_1	148	2	3 : 1 15 : 1	45,67** 1,77	
	C20.C2.S_1	149	1	3 : 1 15 : 1	48,25** 1,06	
	C20.D2.S_1	146	4	3 : 1 15 : 1	40,72** 0,47	

Keterangan : ** : Berbeda sangat nyata

Berdasarkan nilai Khi-kuadrat pada Tabel 5, terlihat bahwa pola pewarisan ketahanan tanaman jagung hasil induksi oleh elisitor Bio2 (C20.B2.S_1), Abio1 (C20.C2.S_1), dan Abio2 (C20.D2.S_1) mengikuti nisbah 15:1. Hal ini mengindikasikan bahwa sifat ketahanan jagung terhadap bulai hasil induksi dikendalikan oleh dua pasang gen dengan sifat dominan sempurna. Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya. Pengujian kendali genetik tanaman jagung terhadap penyakit bulai yang dilakukan oleh Takdir *et al*. (2003) menggunakan tiga pasang persilangan yaitu: Ki3 x CML357, Nei9008 x CML270, dan AMATL-COHS-1-1-1-1-1-2B x CML358. Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa pola pewarisan ketahanan jagung terhadap penyakit bulai mengikuti pola segregasi 3 : 1 dengan

derajat dominansi antara -1 dan 0. Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil yang diperoleh Aday (1974), yang menyimpulkan bahwa pola pewarisan ketahanan terhadap *P. phillipinensis* dikendalikan oleh gen-gen dominan dengan derajat dominansi berada dalam *over dominance*. Perbedaan hasil ini diduga karena metode untuk mendapatkan ketahanan tersebut juga berbeda.

Deteksi Gen PR-1 pada tanaman kontrol, hasil induksi dan hasil selfing. Deteksi gen PR-1 pada tanaman hasil *selfing* menunjukan bahwa gen tersebut masih ada pada keturunan tanaman tahan hasil *selfing*.



Gambar 3. Profil Amplifikasi cDNA Individu Tanaman Galur C20 Hasil Induksi dan *Selfing*, menggunakan primer PR-1 Maize F: 5'-AGGCTCGCGTG CCTCCTAGCTCT-3';R: 5'-GGAGTCGCGCCSCACCACCTGCG-3' M= 1 Kb+ Ladder; NT= non treatment; T1-T5= tanaman hasil induksi pada 5 perlakuan berbeda; ST1-ST5= tanaman T1-T5 yang di-*selfing*

KESIMPULAN

1. Elisitor Bio1, Bio2, Abio1, dan Abio2 dapat menginduksi ketahanan tanaman jagung terhadap penyakit bulai.
2. Galur C20 memberikan respon paling baik terhadap empat macam elisitor.
3. Status ketahanan Galur C20 meningkat dari agak rentan menjadi agak tahan hingga tahan, ketahanannya tersebut masih terlihat hingga pada keturunan generasi S_1.

4. Pewarisan ketahanan terimbas pada tanaman jagung mengikuti hukum Mendel untuk rasio 15:1.
5. Sifat ketahanan jagung terhadap bulai hasil induksi ketahanan dikendalikan oleh 2 pasang gen dengan sifat dominan sempurna.

DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Monaim, M.F, M.E Ismail and K.M Morsy. 2012. Induction of systemic resistance in soybean plants against *Fusarium* wilts disease by seed treatment with benzothiadiazole and humic acid. *African Journal of Biotechnology*. 11: 2454-2465. Available online at *http://www.academicjournals.org/AJB.*

Aday, B.A. 1974. The Philippine program in breeding for resistance to downy mildew of maize. Proc. Symposium on Downy Mildew of Maize. *Tokyo. Agric. Res.* 8: 207−244.

Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology. 4th ed. Academic Press, Toronto.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fiveth edition. Academic Press, San Diego.

Chen, C., Belanger R.R., Benhamou N., and Paulitz T.C. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermantum*. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 56: 13-23.

Firmansah, R. 2008. Effectiveness of Endophyte and Phylloplen Bacteria Of Mucuna pruriens Linn Leaves in Promoting Plant Growth and Suppressing Leaf Spot Desease (Cercospora sp.) on Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *http://www.docstoc.com/docs/2324531*. Akses 25 Mei 2009.

Kloepper, J.W., Wei, L., Tuzun, S. 2004. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth promoting rhizobacteria under eld conditions. *Phytopathology*. 86: 221-224.

Liang, J., R. Tao, Z. Hao, L. Wang and X. Zhang. 2011. Induction of resistance in cucumber against seedling daping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. *African Journal of Biotechnology*. 10: 36.

Liu, L., Kloepper, J.W., Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*. 85: 695-698.

Luna, E., Toby J.A.B., M.R. Roberts, V. Flors, and J. Ton. 2012. Next-generation systemic acquired resistance. *Plant Physiology*. 158: 844–853.

Morris, S. W., B. Vernooij, S. Titatarn, M. Starrett, S. Thomas, C.C. Wiltse, R.A. Frederiksen, A. Bhandhufalck, S. Hulbert, and S. Uknes. 1998.

Induced resistance responses in maize. *The American Phytopathological Society MPMI*. 11: 643–658.

Nayar, K., 1996. Development and evaluation of a biopesticide formulation for control of foliar disease of rice. Ph.D. Thesis, TNAU, Coimbatore, India, p. 223.

Pakki, S. dan A. Muis. 2007. Penampilan jagung varietas komposit dan galur hibrida dalam cekaman penyakit bulai Peronosclerospora philippinensis. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVIII Komda Sul-Sel.

Parkunan, V. 2008. Induced disease resistance elicited by acibenzolar-*S*-methyl and plant growth-promoting rhizobacteria in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Dissertation submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Plant Pathology, Physiology and Weed Science. Blacksburg, Virginia.

Ramamoorthy, V., R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasam, and R. Samiyappan. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*. 1: 11.

Raupach, G.S., L. Liu, J.F. Murphy, S. Tuzun, and J.W. Kloepper. 1996. Induced systemic resistance in cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Diseases*. 80: 891-894.

Rebbeca, L., B. Larson, and B.J. Jacobsen. 2007. Biocontrol elicited systemic resistance in sugarbeet is salicylic acid independent and NPR1 dependent. *Journal of Sugarbeet Research*. Vol. 44 Nos 1&2.

Saleh, K.M. 1993. The use of resistant varieties and insecticide applications in controlling insect pests and the effects resistant varieties on parasitoid development. Proceeding of the Symposium on Integrated Pest Management *Control Componenet. Biotrop Special Publication.* No.50: 157-165.

Sarwar, N., M. Hayat Zahid CH and Ikramul Haq. 2010. Seed treatments induced systemic resistance in chikpea against fusarium wilt in wilt sick field. *Pak. J. Bot.*, 42(5): 3323-3326.

Silverman, P., S. Mirjana, K. Dwight, S. Patrick, P.M. Jean, and R. Ilya. 1995. Salicylic acid in rice-biosynthesis, conjugation, and posible role. *Plant Physiol.* 108: 633-639.

Snyder, L. H. and R. P. David. 1957. The Principle Of Heredity. Heath and Co. USA. pp 507.

Soenartiningsih dan A. Talanca: Penyebaran penyakit bulai (*Peronosclerospora maydis*) pada jagung di Kabupaten Kediri. Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XX Komisariat Daerah Sulawesi Selatan, 27 Mei 2010.

Stevic, M., P. Vuska, and I. Elezovic. 2010. Resistance of Venturia

inaequalis to demethylation inhibiting (DMI) fungicides. *Agriculture.* 97: 65-72.

Strickberger, M. W. 1976. Genetics, 2 rd ed. Macmillan Publ Co. Inc. N.Y. pp 914.

Suryo. 1994. Genetika. Gadjah Mada Univ Press, Yogyakarta. pp 344.

Suwarso. 1995. Potensi hasil dan mutu galur harapan tembakau Madura di Kabupaten Sumenep dan Pamekasan. *J. LITTRI* (5): 240-248.

Takdir M. A. 2003. Pola pewarisan ketahanan terhadap patogen bulai Peronosclerospora maydis (Rac.) Shaw. Pada tanaman jagung. Tesis Program Pasca Sarjana Unpad. Tidak dipublikasikan.

Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis –related Proteins. *European Journal of Plant Pathology* 103: 753-765.

Zhang, S., Reddy M.S., Klopper J.W. 2002. Development of assay for assessing induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biol Control.* 23: 79-86.

Zhu, T., Chang S.H., Gil P. 2006. Target preparation for DNA microarray hybridization. *Methods in Molecular Biology*. 323: 349–357.