

**TANGGAPAN PLANLET VANILI YANG DIIRADIASI
DENGAN SINAR GAMMA DAN KERAGAANNYA SETELAH DIINOKULASI
DENGAN JAMUR *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *VANILLAE***

***RESPONSE OF VANILLA PLANTLETS IRRADIATED BY GAMMA RAYS
AND ITS PERFORMANCE AFTER BEING INOCULATED
WITH *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *VANILLAE****

**Woerjono Mangoendidjojo, Bambang Hadisutrisno, dan Alfi Inayati
Fakultas Pertanian UGM**

ABSTRACT

*Vanilla is one of spice crops and important to world commerce. Indonesia is one of producing and exporting countries for decades. Recently, the planted area tends to decrease due to several factors. One of them is fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. The disease ranked among the most devastating disease attacking vanilla plants. The most effective method controlling fusarium wilt is the use of resistant varieties.*

*The study aimed to know responses of vanilla plantlets irradiated by Gamma rays at several doses (0-4 krad). Five months after irradiation, the survival mutant plantlets were inoculated with suspension of the *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* to evaluate their resistance. Data of first concern taken were survival plantlets; number of leave, root, and sucker initiation; and infection intensity.*

The results indicated that higher the doses, decreased the survival plantlets. The applied doses performed significantly differences on the number of leave, root, and sucker initiation. The untreated plantlets showed better responses as compared to those treated. Evaluation on their resistance after inoculation indicated that the survival plantlets irradiated at 3 and 1 krad showed lower infection intensity, eventhough variation within a treatment was observed. Evaluation on the individual plantlet basis seemed to be more helpful in order to identify mutant plantlets with better resistance.

Key words: mutant, resistance, fusarium wilt

INTISARI

Vanili merupakan salah satu rempah-rempah yang mempunyai arti penting dalam perdagangan dunia. Indonesia yang merupakan salah satu negara penghasil dan pengeksport untuk beberapa puluh tahun terakhir, saat ini areal pertanaman cenderung menurun karena berbagai faktor. Salah satu di antaranya adalah gangguan busuk batang yang disebabkan oleh jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* yang merupakan penyakit yang paling merugikan. Usaha-usaha pengendalian dengan menggunakan bahan-bahan kimia menunjukkan keberhasilan pada pengujian di tingkat laboratorium atau skala terbatas pada percobaan pot. Tetapi belum demikian halnya secara ekonomik pada pertanaman di lapang. Suatu cara pengendalian yang paling murah adalah dengan penggunaan varietas atau klon yang tahan.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui seberapa jauh tanggapan planlet vanili yang diberi perlakuan iradiasi dengan sinar Gamma pada kisaran dosis 0-4 krad. Lima bulan setelah perlakuan iradiasi, planlet yang masih bertahan hidup diinokulasi dengan suspensi spora dengan kerapatan 10⁶/ml untuk mengetahui tingkat ketahanannya. Data yang diamati adalah persentase tanaman yang bertahan hidup, jumlah pembentukan daun, akar, dan tunas serta intensitas penyakit.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa makin tinggi dosis iradiasi akan menurunkan jumlah planlet yang hidup. Dosis perlakuan juga mengakibatkan perbedaan yang nyata terhadap pembentukan jumlah daun, akar, dan tunas. Planlet tanpa perlakuan memberikan tanggapan yang paling baik untuk ketiga parameter tersebut. Tetapi hasil evaluasi ketahanan

terhadap serangan layu fusarium menunjukkan bahwa perlakuan 3 krad dan 1 krad memberikan tingkat infeksi yang paling rendah, meskipun keragaman antarmutan planlet dijumpai pada perlakuan yang sama. Evaluasi ketahanan planlet secara individual tampaknya akan lebih efektif dalam menilai ketahanannya, meskipun secara agronomik keragaan mutan baru dapat dilihat setelah ditanam di lapang.

Kata kunci: mutan, ketahanan, layu fusarium

PENGANTAR

Vanili termasuk salah satu tanaman rempah-rempah yang mempunyai arti penting dalam perdagangan dunia. Tanaman ini masuk Indonesia (Jawa) pada awal abad ke-19, dan berkembang. Bahkan pada beberapa dasawarsa yang lalu Indonesia merupakan negara penghasil dan pengekspor utama setelah Madagaskar. Akhir-akhir ini areal pertanaman vanili cenderung menurun, bahkan di daerah Temanggung yang dulu merupakan sentra produksi vanili, saat ini petani enggan untuk menanamnya. Salah satu faktor yang menyebabkannya adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium batatatis* (Hadisutrisno *et al.*, 1991) yang sekarang disebut *F. oxysporum* f.sp. *vanillae*.

Penyakit ini merupakan penyakit yang paling merusak karena menyebabkan kematian tanaman, dan keberadaan penyakit ini di sentra produksi vanili di Indonesia menyebabkan kerugian yang sangat besar, intensitas serangan dapat mencapai 80% (Tombe, 1990). Usaha pengembangan dengan menggunakan stek yang bebas penyakit banyak diusahakan, namun peluang masih terbawanya penyakit tersebut dilaporkan masih besar (Tombe & Sitepu, 1987). Usaha pengembangan bahan pertanaman dengan biji yang bebas penyakit masih perlu dilanjutkan dengan penelitian lain misalnya dengan mendapatkan ketahanan terimbas dengan isolat avirulen, atau dengan cara lain (Hadisutrisno, 1987a; b; 1995). Hal tersebut disebabkan faktor interaksi antara

genetik tanaman inang, lingkungan, dan patogennya sendiri sangat menentukan. Apalagi strain-strain *F. oxysporum* ini dijumpai dapat menyerang tanaman lain seperti *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* pada tanaman kapas, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada tanaman tomat, *F. oxysporum* f.sp. *cubense* pada tanaman pisang (Sparrow, 1979; Thurston, 1984).

Usaha pengendalian dengan menggunakan bahan kimia menunjukkan keberhasilan pada pengujian di tingkat laboratorium atau skala terbatas pada percobaan pot. Tetapi belum demikian halnya secara ekonomis pada pertanaman di lapang. Usaha pengendalian yang paling mudah dan murah adalah penggunaan varietas atau klon yang mempunyai ketahanan secara genetik.

Vanili dapat dikelompokkan sebagai tanaman tahunan (*perennial crop*) sehingga usaha pemuliaan dengan cara konvensional khususnya dengan mengakumulasi gen-gen yang dikehendaki termasuk gen yang tahan terhadap penyakit layu fusarium butuh waktu yang lama apalagi bila model pewarisan sifat tersebut belum diketahui. Pemuliaan secara mutasi lebih mudah dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetiknya, hanya saja dengan cara ini sulit diperkirakan bentuk mutan yang akan diperoleh. Meskipun demikian dengan mutasi telah diperoleh beberapa varietas unggul baru, termasuk dapat meningkatkan ketahanannya terhadap suatu penyakit. Misalnya Sigurbjorsson (1983) melaporkan bahwa dari 137 kultivar kelompok sereal yang diperlakukan dengan mutagen tertentu, ada 24,8% yang meningkat ke-

tahanannya terhadap jamur yang menyerang. Hal yang sama sebelumnya juga dilaporkan oleh Sparrow (1979).

Berdasarkan hal tersebut, dengan melakukan penyinaran terhadap planlet vanili dengan sinar Gamma kemudian mutan planlet yang hidup diinokulasi dengan suspensi *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* diharapkan diperoleh mutan yang mempunyai ketahanan lebih baik.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Penelitian ini menggunakan planlet vanili umur satu bulan hasil biakan biji secara *in vitro* yang kemudian diiradiasi dengan sinar Gamma dengan perlakuan dosis 1, 2, 3, dan 4 krad serta satu perlakuan tanpa penyinaran sebagai kontrol. Iradiasi dilakukan di Pusat Aplikasi dan Radiasi Isotop, BATAN, Pasar Jumat, Jakarta.

Mutan planlet yang bertahan hidup kemudian diinokulasi dengan suspensi jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* hasil biakan murni. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Taman Anggrek Borobudur dari bulan April 1999 sampai dengan bulan Maret 2000.

Metode. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap pertama melakukan iradiasi terhadap planlet vanili tersebut dengan dosis sebagai perlakuan, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dosis terhadap pertumbuhan planlet. Dua puluh planlet untuk setiap perlakuan setelah diiradiasi ditanam di dalam botol-botol dengan medium Vacin dan Went (VW) yang telah ditambah ekstrak pisang ambon dan air kelapa. Setiap perlakuan ada lima botol dengan 4 planlet untuk setiap botolnya. Pada bulan kelima diamati persen planlet yang masih bertahan hidup,

pembentukan jumlah daun, akar, dan tunas atau anakan.

Penelitian tahap kedua adalah evaluasi mutan planlet vanili setelah diinokulasi dengan suspensi spora jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae*. Mutan vanili yang telah berumur lima bulan tersebut untuk setiap perlakuannya dipilih yang pertumbuhannya normal, kemudian dipindahkan ke botol lain dengan medium VW, satu planlet untuk setiap botol sebagai ulangan. Setiap perlakuan iradiasi ulangan tidak sama, berkisar antara 4–6 botol. Pada 3 minggu setelah dipindahkan ke botol lain tersebut, planlet diinokulasi dengan spora dengan kerapatan 10^6 /ml. Inokulasi dilakukan pada daun permukaan bawah dan dijaga agar inokulum tidak mengenai medium tumbuhnya, caranya mengikuti teknik Hadisutrisno (1987).

Dua minggu setelah inokulasi dilakukan pengamatan intensitas penyakitnya berdasarkan pada infeksi yang terjadi di bagian daun, akar, dan batang dengan skoring sebagai berikut:

- 0 - tidak ada infeksi atau serangan
- 1 - kisaran serangan antara 1–25%
- 2 - kisaran serangan antara 26–50%
- 3 - kisaran serangan antara 51–75%
- 4 - kisaran serangan antara 76–100%

Berdasarkan skor yang diperoleh kemudian dihitung intensitas penyakitnya dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Tombe & Oniki, 1988):

$$I_p = \frac{\sum nv}{NV} \times 100 \%$$

I_p : intensitas penyakit

n : jumlah pengamatan pada tiap kategori serangan

v : nilai skala tiap kategori serangan

N : jumlah planlet tiap perlakuan

V : skala tertinggi

Pendekatan analisis. Pengamatan planlet yang bertahan hidup hanya dilihat secara visual dengan membandingkan dengan jumlah planlet awal yang diiradiasi. Data pengamatan pembentukan jumlah daun, akar, dan tunas/anakan dianalisis mengikuti model:

$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$: dengan ulangan yang tidak sama, di mana:

Y_{ij} : angka pengamatan dari perlakuan yang ke-i, ulangan ke-j

μ : angka rata-rata pengamatan

τ_i : efek yang ditimbulkan oleh perlakuan yang ke-i

ε_{ij} : efek yang ditimbulkan oleh perlakuan yang ke-i dan ulangan yang ke-j

i : 1, 2,t

j : 1, 2,n_i

Data ditransformasi ke $\sqrt{x + 0.5}$ bila angka pengamatan kecil dan ada angka 0 (Stell & Torrie, 1960). Intensitas infeksi (I_p) dibandingkan antara yang terjadi pada bagian akar, batang, dan daun menggunakan rumus di atas. Analisis varian tidak dapat dilakukan karena sebaran data tidak memenuhi asumsi normalitasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian tahap pertama, jumlah planlet yang bertahan hidup sampai bulan kelima sangat bervariasi (Tabel 1). Ada kecenderungan makin tinggi dosis makin turun jumlah planlet yang bertahan hidup (umur satu bulan). Pada dosis 1 dan 2 krad, jumlah makin menurun seiring umurnya, bahkan pada dosis 2 krad pertumbuhan planlet tidak normal hingga tidak

digunakan pada penelitian tahap kedua. Perlakuan dosis 0, 3, dan 4 krad khususnya, jumlah planlet makin bertambah karena terjadinya pembentukan tunas/anakan baru.

Tabel 1. Jumlah planlet yang bertahan hidup sampai dengan bulan kelima setelah iradiasi

Dosis (krad)	Jumlah planlet hidup pada bulan ke-				
	1	2	3	4	5
0	20	18	20	21	22
1	18	8	5	6	7
2	20	6	8	6	6
3	16	19	20	20	23
4	10	11	11	11	15

Hasil analisis untuk data pengamatan pembentukan jumlah daun, akar, dan tunas dapat dilihat pada Tabel 2. Tampak bahwa dosis iradiasi memberikan pengaruh yang nyata sekali terhadap pembentukan jumlah daun, akar, tetapi tidak untuk pembentukan tunas. Pada dosis 4 krad ada beberapa ulangan yang pembentukan tunasnya tidak jelas, masih berupa *protocorm* sehingga tidak diperhitungkan sebagai tunas. Rerata dari 3 pengamatan data tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Meskipun ada perbedaan nyata antarperlakuan, pembentukan jumlah daun, akar dengan 0 krad menunjukkan jumlah yang terbanyak, dan ini dijumpai sejak berumur satu bulan setelah iradiasi. Jumlah tunas terbanyak diberikan oleh perlakuan dengan dosis satu krad; dosis 2 krad masih menunjukkan pertambahan diferensiasi pembentukan tunas, namun karena pertumbuhannya tidak normal seperti disebutkan kemudian tidak digunakan untuk penelitian tahap kedua.

Table 2. Ringkasan analisis varian untuk pembentukan jumlah daun, akar dan tunas pada bulan kelima (data transformasi $\sqrt{x + 0,5}$)

Sumber variasi	DF	Kuadrat tengah		
		Jumlah daun	Jumlah akar	Jumlah tunas
Perlakuan	4	1,2848 **	1,0875 **	0,0738 ^{ns}
Galat	14	0,1794	0,2300	0,2147
	\bar{x}	1,8680	1,6050	1,4817
	SD	0,4236	0,4796	0,4633
	CV	22,67%	29,88%	31,27%

Tabel 3. Rerata pengamatan pembentukan jumlah daun, akar, dan tunas pada bulan kelima (data asli)

Dosis (krad)	Jumlah Daun	Jumlah Akar	Jumlah Tunas
0	5,44	4,13	1,37
1	3,48	3,94	2,30
2	0,00	0,00	1,00
3	2,00	1,08	1,99
4	3,82	2,27	1,47

Tabel 4. Intensitas serangan (%) cendawan *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* pada mutan planlet setelah diinokulasi

Dosis (krad)	Intensitas serangan pada bagian		
	Akar	Batang	Daun
0	75,00	25,00	6,25
1	65,00	20,00	10,00
3	50,00	20,00	15,00
4	83,38	41,67	45,83

Rerata intensitas serangan hasil pengamatan tahap kedua (Tabel 4) menunjukkan bahwa infeksi jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* tertinggi terjadi pada bagian akarnya. Gejala ini sudah tampak sejak minggu pertama setelah inokulasi dan berkembang seiring dengan bertambahnya waktu. Gejala pada bagian batang dan daun mulai tampak pada 6 minggu setelah inokulasi; dan pada serangan lanjut bagian tersebut menjadi busuk berwarna cokelat tua. Meskipun bagian akar menunjukkan infeksi yang paling berat, planlet sebagai ulangan pada suatu perlakuan menunjukkan keragaman yang tinggi (Tabel 5).

Bila dilihat secara keseluruhan, tampak bahwa perlakuan dosis 3 krad memberikan intensitas penyakit yang paling rendah, diikuti oleh perlakuan dosis 1 krad. Dibandingkan dengan kontrol, tampaknya ada planlet hasil iradiasi 3 krad dan 1 krad yang memberikan mutan dengan ketahanan yang lebih baik.

Berdasarkan parameter pengamatan yang dilakukan, planlet hasil iradiasi menunjukkan keragaman yang tinggi, bahkan seperti tersebut untuk intensitas serangan antarindividu pada satu perlakuan demikian pula. Ini memberikan petunjuk bahwa penilaian terhadap mutan yang diperoleh akan lebih efektif dilakukan secara individual. Hal yang sama juga diperoleh oleh Mangoendidjojo (1999) mengenai kandungan lemak pada mutan-mutan tanaman kakao hasil iradiasi.

Mutan-mutan yang terjadi sangat tergantung pada kondisi atau stadium sel pada waktu mendapatkan perlakuan; sehingga meskipun pada dosis yang sama, mutan planlet yang terjadi akan ada keragaman. Pai (1985) mengatakan bahwa bila waktu perlakuan stadium sel sedang aktif membelah (mitosis) akan lain bila stadium sel tersebut pada kondisi replikasi DNA sedang berlangsung atau stadium sel dalam kondisi istirahat. Pengaruhnya dapat mengakibatkan adanya delesi atau fragmentasi atau lainnya yang dapat berakibat pertumbuhan tidak normal atau bahkan kematian akibat gangguan proses fisiologis yang terjadi seperti dinyatakan oleh Gaul *et al.* (1971) dan Sigurbjorsson (1983).

Tabel 5. Data pengamatan serangan *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* pada mutan planlet

Dosis (krad)	Ulangan	Bagian Yang Terserang						Intensitas Serangan (%)		
		Akar		Batang		Daun		Akar	Batang	Daun
		%	Skor	%	Skor	%	Skor			
0	1	90,90	4	33,33	2	16,67	1	75,00	25,00	6,25
	2	66,67	3	16,67	1	0	0			
	3	25,00	1	12,50	1	0	0			
	4	88,89	4	0	0	0	0			
1	1	70,00	3	12,50	1	37,50	2	65,00	20,00	10,00
	2	50,00	2	0	0	0	0			
	3	75,00	3	16,67	1	0	0			
	4	25,00	1	0	0	0	0			
3	5	100,00	4	50,00	2	0	0	50,00	20,00	15,00
	1	70,00	3	16,67	1	0	0			
	2	44,40	2	50,00	2	66,67	3			
	3	13,33	1	0	0	0	0			
4	4	83,33	4	33,33	2	0	0	83,33	41,67	45,83
	5	0	0	0	0	0	0			
	1	50,00	2	0	0	60,00	3			
	2	50,00	2	12,50	1	0	0			
	3	100,00	4	75,00	3	100,00	4			
	4	100,00	4	100,00	4	100,00	4			
5	100,00	4	33,33	2	0	0				
6	100,00	4	0	0	0	0				

Meskipun demikian perlakuan dengan mutagen dapat meningkatkan ketahanan terhadap suatu jamur penyebab penyakit tertentu seperti disebutkan di muka. Jadi tidak menutup kemungkinan bahwa planlet-planlet yang masih bertahan hidup dalam kondisi aseptik meskipun terkena infeksi setelah dipindahkan di lapang akan memberikan keragaan yang lebih bagus karena adanya interaksi antara genetik, lingkungan, dan patogennya.

Diharapkan dari hasil penelitian ini mutan-mutan planlet yang masih bertahan hidup setelah diinokulasi dapat memberikan atau meningkat ketahanannya terhadap layu fusarium setelah ditanam di lapang. Penampilan mutan-mutan tersebut secara agronomik baru dapat diketahui setelah tanaman tersebut berbuah.

DAFTAR PUSTAKA

Gaul, H., G. Erickson, D. Lindgreen & R.W. Briggs. 1977. Generation after Seed Treatments in Manual on Mutation Breeding Programmes, p. 87-105.

Hadisutrisno, B. 1987a. Etude de la Variabilite Intraclonale du Pouvoir Pathogene *Verticillium dahliae* Klebahn vis-à-vis de la Tomate et du Cotonnier. *These de Docteur Ingenieur de l'ENSA de Montpellier*. (unpublished). 101p.

———. 1987b. Kajian Variabilitas *Fusarium batatis* Tucker. Penyebab Penyakit Busuk Batang Vanili. *Laporan Penelitian Lemb.Lit.UGM*. 41 hlm.

———. 1995. Kajian Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Batang Vanili dengan Isolat Lemah *Fusarium batatis* Tucker. *Buletin Jurnal Ilmiah Azolla* 6 (2): 27-35.

- Hadisutrisno, B., Soetarso & S. Soekodarmodjo. 1991. *Pengendalian Penyakit Busuk Batang Vanili. Agihan Penyakit Pada Berbagai Jenis Tanah*. Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. 24 hlm.
- Mangoendidjojo, W. 1999. *Evaluasi Pendahuluan Kandungan Lemak Biji Kakao Hasil Tanaman Iradiasi dengan Sinar Gamma* (tidak diterbitkan). 10 hlm.
- Sigurbjorsson, B. 1983. Induced Mutation, p. 153–173. In Wood, D.R., K.M. Rowal & M.N. Wood (eds.), *Crop Breeding*. ASA, CSSA, Madison, Wisconsin.
- Sparrow, D.H.B. 1979. Breeding for Disease Resistance, p. 125–156. In R. Knight (ed.), *Plant Breeding*. AAUCS, Australia.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1960. *Principles and Procedures of Statistic*. McGraw-Hill Book, New York. 481 p.
- Thurston, H.D. 1984. Tropical Plant Disease. *The American Phytopathological Society*, St. Paul, Minnesota. 208 p.
- Tombe, M. & D. Sitepu. 1987. Penyakit Tanaman Vanili di Indonesia. Edisi Khusus *Litro III* (2): 103–108.
- Tombe, M. & Oniki. 1988. Pengendalian Biologi *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* pada Vanili dengan Menggunakan Tanah Asal Tanaman Bawang dan Tiga Isolat *Rhizoctonia* sp. Avirulen. *Fungal Disease of Industrial Crops Interim Report*, p. 45–50.
- Tombe, M. 1990. Masalah Penyakit Busuk Pangkal Batang dalam Pengembangan Tanaman Vanili di Indonesia. *Prosiding Simposium Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 1990. Buku VIII, p. 1205–1211.