

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Jagung merupakan salah satu bahan pangan utama setelah padi. Kebutuhan penduduk akan jagung semakin meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan penduduk dan perkembangan industri pakan dan pangan. Pusat Data Pertanian Nasional (2009) melaporkan bahwa kebutuhan jagung domestik rata-rata meningkat 10% pertahunnya sedangkan produksi relatif masih lamban sehingga nilai dan volume impor jagung cenderung meningkat. Laju produksi yang rendah tersebut disebabkan karena berbagai faktor di antaranya adalah terbatasnya penggunaan benih unggul di kalangan petani, teknik budidaya yang tidak sesuai dengan anjuran dan gangguan yang disebabkan serangan hama dan penyakit.

Jenis penyakit yang sering menimbulkan kerusakan pada tanaman jagung adalah penyakit bulai (*downy mildew*) yang disebabkan oleh *Peronosclerospora* spp.. Di Indonesia, penyakit ini disebabkan oleh 3 jenis spesies yang berbeda yaitu *Peronosclerospora maydis* yang ditemui di Pulau Jawa dan Kalimantan, *P. philippinensis* yang ditemui di Pulau Sulawesi serta *P. sorghi* yang dominan menyerang tanaman jagung di daerah Sumatra (Wakman, 2002). Patogen tersebut sangat berbahaya karena dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 100 persen atau puso seperti yang pernah terjadi di Lampung, Sulawesi Selatan, daerah Jawa serta beberapa daerah lainnya di Indonesia (Subandi, 1996 ; Wakman, 2002).

Karakteristik umum yang digunakan untuk membedakan antar spesies *Peronosclerospora* dapat dilihat dari bentuk dan dimensi konidia, meliputi: ukuran,

jenis dan derajat cabang dari konidia/konidiospora. Morfologi dan warna dari oospora juga diamati karena memiliki ukuran dan bentuk yang berbeda (White, 1999; Wakman, 2002). Di samping itu, uji patotipe dapat dilakukan untuk mengetahui perbandingan respon penyakit pada beberapa kultivar diferensial (Bock *et al.*, 2000). Akan tetapi, metodologi konvensional untuk mendeteksi perbedaan patotipe pada tanaman sereal tidak memberikan hasil yang memuaskan karena jumlah propagula yang sangat sedikit dan sifatnya yang bersifat parasit obligat. Selain itu, kondisi iklim tropis menyebabkan analisa gejala dari *Peronosclerospora* sangat membingungkan dari beberapa patogen seperti *P. maydis* dan *P. philippinensis*.

Keterbatasan analisis morfologi, perbedaan patotipe, dan gejala yang sulit dibedakan pada *Peronosclerospora* spp. berakibat pada proses penentuan tingkat virulensi, sifat ketahanan dan pengendalian untuk masing-masing varietas jagung yang ditanam di Indonesia. Pemanfaatan teknologi DNA merupakan solusi alternatif untuk identifikasi dan pengklasifikasian secara akurat serta mempelajari keragaman genetik pada mikroorganisme yang bersifat patogenik tersebut tanpa dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Berbagai teknik molekuler yang telah diaplikasikan untuk studi genetik dari spesies penyakit bulai ini diantaranya yaitu teknik RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) yang dilakukan oleh Yao *et al.* (1991) dan karakterisasi daerah ITS-2 (Yao *et al.*, 1992) untuk mendeteksi variasi *P. sorghi* dan spesies yang lain pada tingkat DNA. Akan tetapi teknik ini memiliki kelemahan karena hanya menghasilkan sedikit variasi antara spesies *Peronosclerospora* yang diamati. Pemanfaatan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*) juga telah dilakukan untuk melihat keragaman pada patotipe *P. sorghi* yang berbeda (Perumal *et al.*, 2006). Hasil penelitian

memperlihatkan bahwa selain pola monomorf yang dihasilkan cukup banyak, reproduibilitas pola DNA sangat rendah karena menggunakan primer pendek dan bersifat acak sehingga dapat dengan mudah mengamplifikasi fragmen yang ada di genom. Oleh karena itu perlu dipertimbangkan pemilihan teknik molekuler yang didasarkan pada kemudahan, kestabilan dan reproduibilitas pola genetik, serta tingkat polimorfisme yang dihasilkan yaitu penanda mikrosatelit dan ARDRA.

Mikrosatelit adalah urutan sederhana yang berulang-ulang dan terdapat melimpah dalam genom suatu spesies (Tautz *et al.*, 1984; Lagercrantz *et al.*, 1993). Penanda ini bersifat *multiallelic*, kodominan, sehingga dapat mendeteksi keragaman alel pada level yang tinggi, mudah dan ekonomis dalam pengaplikasiannya (Morgante *et al.*, 2002; Capote *et al.*, 2011). Oleh karena itu penanda ini banyak dimanfaatkan secara luas untuk pemetaan genetik, analisis keragaman genetik dan studi evolusi di beberapa cendawan yang bersifat patogenik (Lees *et al.*, 2006; Brondani *et al.*, 2000; Kaye *et al.*, 2003).

Penggunaan tehnik mikrosatelit untuk karakterisasi genetik *P. sorghi* dan beberapa spesies lainnya telah diaplikasikan oleh Perumal *et al.* (2008) dengan mendesain dan mengembangkan primer SSR melalui proses *biotylated-oligonucleotide capture* pada DNA genom *P. sorghi*. Dari fragmen-fragmen DNA yang telah disekuens, didapatkan 55 pasang primer SSR yang digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan di beberapa spesies *Peronosclerospora*.

Urutan daerah ITS1-5.8S-ITS2 dan D1-D2 28S rDNA merupakan daerah ribosomal DNA yang bersifat lestari dan bervariasi dan digunakan untuk membedakan antar spesies dari suatu mikroorganisme serta mempelajari kedekatan genetik antara spesies yang satu dengan yang lain (Alves *et al.*, 2005). Teknik analisis restriksi DNA

ribosom yang teramplifikasi (ARDRA) merupakan metode yang cepat dan sesuai untuk studi taksonomi cendawan. Metode ini didasarkan pada amplifikasi daerah DNA ribosom yang diikuti dengan pemotongan ampikon menggunakan enzim restriksi endonuklease yang bersifat *frequently cutting* (Guarro *et al.*, 1999).

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi genetik terhadap isolat-isolat *Peronosclerospora* spp. yang ada di beberapa wilayah Indonesia menggunakan penanda mikrosatelit dan ARDRA sehingga diharapkan dapat mengetahui keragaman genetik antara isolat *Peronosclerospora* spp. yang dikoleksi. Disamping itu, juga akan dilakukan analisa penggabungan dan perbandingan antara dendogram yang dihasilkan untuk mengetahui keefektifan dari penanda yang digunakan.

1.2 Rumusan masalah

Dari latar belakang masalah yang telah diuraikan dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah keragaman genetik antara isolat-isolat *Peronosclerospora* spp. menggunakan penanda mikrosatelit dan ARDRA?
2. Bagaimanakah perbandingan dendogram antara penanda mikrosatelit dan ARDRA untuk mengetahui kemiripan genetik di antara isolat yang dikoleksi?
3. Bagaimanakah keragaman genetik antar isolat berdasarkan penggabungan dendogram mikrosatelit dan ARDRA?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui keragaman genetik isolat-isolat *Peronosclerospora* spp. di beberapa wilayah Indonesia menggunakan penanda mikrosatelit dan ARDRA.
2. Mengetahui perbandingan dendogram antara penanda mikrosatelit dan ARDRA untuk melihat kemiripan genetik antar isolat.
3. Mengetahui keragaman genetik isolat-isolat *Peronosclerospora* spp. berdasarkan penggabungan dendogram mikrosatelit dan ARDRA.

1.4. Manfaat Penelitian

Keberhasilan penelitian ini diharapkan dapat memberikan data yang cukup akurat mengenai keragaman genetik antara *Peronosclerospora* spp. di beberapa wilayah Indonesia sehingga dapat dirakit varietas-varietas jagung yang tahan terhadap penyakit bulai.