

EVALUASI KETAHANAN DAN ANALISIS QUANTITATIVE TRAIT LOCI YANG TERPAUT DENGAN KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT UTAMA PADA TANAMAN KARET

Resistance Evaluation and Quantitative Trait Loci Analysis Linked to Main Disease Resistance on Rubber Plant

Fetrina OKTAVIA* dan Alchemi Putri Juliantika KUSDIANA

Pusat Penelitian Karet. Jl. Raya Palembang – Pangkalan Balai Km. 29, Sembawa, Banyuasin, Sumatera Selatan, 30953
*Email: fetrina_oktavia@yahoo.com

Diterima : 9 November 2020 / Disetujui : 24 Februari 2021

Abstract

The development of plant resistance selection methods against major diseases needs to be done, one of which is selection assisted by molecular markers. The aim of the study was to evaluate the resistance of rubber plants to the main diseases that attack rubber plants, namely Corynespora, Colletotrichum, and Oidium leaf fall disease, as well as white root disease (WRD), furthermore, to identify QTLs associated with these diseases. Analyzed population were 201 F1 progenies obtained from crosses of PB 260 x SP 217 clones. Observation of symptoms each disease carried out every three months until immature period 2. The genetic link maps of population were compiled by using 263 of selected SSR markers. QTLs identification were done by joint the disease observation data on two years old of plant and genetic linkage map using Map QTL software. The observations showed that there were variations of resistance level of F1 progenies to attack of each pathogen. Resistance of F1 to Corynespora and Colletotrichum leaf fall disease as well as to white root disease had a normal distribution with disease severity level of 0-9%, 0-22.5%, and 0-7% respectively. Otherwise to Oidium leaf fall disease, all of F1 progenies had a high resistance level which the disease severity less than 1.5%. Three QTLs related to Corynespora leaf fall disease resistance were identified in LG 10, 14, and 15 with LOD range 3.1 to 5.19 and the highest QTL effect was 17.7%. Four QTLs related to Colletotrichum leaf fall disease resistance were found in LG 1, 3, 10, and 16 with LOD 3 to 4.44 and the highest QTL effect was 11.2%. On LG 8 LOD 2.9, there was a putative QTL

related to WRD resistance, while a QTL related to Oidium leaf fall disease had not been identified. QTLs that have been identified with LOD above 3 are expected to be stable and will be analyzed periodically so that they can be used as a tool for resistance selection.

Keywords: Colletotrichum; Corynespora; Hevea brasiliensis; Oidium; QTL; white root disease

Abstrak

Pengembangan metode seleksi ketahanan tanaman terhadap penyakit utama perlu dilakukan, salah satunya adalah seleksi dengan bantuan marka molekuler. Penelitian bertujuan mengidentifikasi evaluasi ketahanan tanaman karet terhadap penyakit utama yang menyerang tanaman karet yaitu penyakit gugur daun Corynespora, Colletotrichum, dan Oidium, serta penyakit jamur akar putih (JAP) dan identifikasi QTL yang terpaud dengan penyakit tersebut. Populasi yang digunakan adalah 201 progeni F1 hasil persilangan klon PB 260 x SP 217. Pengamatan gejala setiap penyakit dilakukan setiap tiga bulan sekali sampai TBM 2. Peta pautan genetik yang digunakan adalah peta yang dihasilkan dari penelitian sebelumnya dengan menggunakan 263 marka SSR terseleksi. Identifikasi QTL dilakukan dengan menggabungkan data pengamatan penyakit tanaman umur dua tahun dengan peta pautan genetik menggunakan program Map QTL. Pengamatan menunjukkan bahwa terdapat

variasi tingkat ketahanan progeni F1 terhadap serangan setiap patogen. Ketahanan F1 terhadap penyakit gugur daun *Corynespora* dan *Colletotrichum* serta jamur akar putih menyebar secara normal dengan tingkat keparahan serangan berkisar 0-9%, 0-22,5%, dan 0-7% secara berturut-turut. Sebaliknya terhadap penyakit gugur daun *Oidium*, semua progeni F1 memiliki ketahanan yang tinggi dimana keparahan penyakit kurang dari 1,5%. Tiga QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Corynespora* berhasil diidentifikasi pada LG 10, 14, dan 15 dengan LOD berkisar 3,1 - 5,19 dan pengaruh QTL tertinggi sebesar 17,7%. Empat QTL yang terpaut ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Colletotrichum* ditemukan pada LG 1, 3, 10, dan 16 dengan LOD 3 - 4,44 serta pengaruh tertinggi terhadap ketahanan sebesar 11,2%. Pada LG 8 LOD 2,9 berhasil diidentifikasi putatif QTL yang terpaut ketahanan terhadap JAP, sedangkan QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Oidium* belum berhasil diidentifikasi. QTL yang berhasil diidentifikasi dengan LOD di atas 3 diharapkan stabil dan akan dianalisis secara berkala sehingga dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi ketahanan.

Kata kunci: *Colletotrichum*; *Corynespora*; *Hevea brasiliensis*; jamur akar putih; *Oidium*; QTL

PENDAHULUAN

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) merupakan penghasil utama karet alam. Hingga saat ini, Indonesia merupakan negara terbesar kedua penghasil karet alam yang menyumbang lebih dari 90% produksi karet alam dunia bersama dengan negara-negara penghasil karet lainnya di Asia Tenggara. Terjadinya perubahan iklim global yang dapat memengaruhi fisiologi dan ekologi tanaman serta sistem ketahanan tanaman terhadap serangan patogen sehingga terjadi penurunan potensi produksi tanaman karet.

Hingga tahun 2018, terdapat lima penyakit utama yang paling berpengaruh terhadap produksi tanaman karet yaitu penyakit gugur daun *South American Leaf Blight* (SALB) yang disebabkan oleh

cendawan *Microcyclus ulei*, penyakit gugur daun (PGD) *Corynespora* yang disebabkan cendawan *Corynespora cassiicola*, penyakit gugur daun *Colletotrichum* yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum gloeosporioides*, penyakit gugur daun *Oidium* yang disebabkan oleh cendawan *Oidium heveae*, dan penyakit jamur akar putih (JAP) yang disebabkan cendawan *Rigidoporus microporus*. Di daerah asal tanaman karet seperti Brazil dan negara-negara Amerika Selatan, SALB merupakan penyakit utama yang menyerang hampir semua klon sehingga budidaya karet tidak terlalu berkembang di daerah tersebut. Di Asia Tenggara yang merupakan sentra produksi karet alam dunia, SALB juga tidak berkembang, namun PGD *Corynespora*, *Colletotrichum*, *Oidium*, dan JAP menjadi ancaman utama terhadap penurunan produksi (Situmorang et al., 2007; Manju et al., 2015; Mazlan et al., 2019). Kondisi tersebut diperparah oleh terjadinya *outbreak* PGD baru pada tahun 2018 yang menyerang semua klon karet yang mengakibatkan penurunan produksi lateks mencapai 45% (Febbiyanti & Fairuzah, 2019). Penyakit gugur daun yang disebabkan oleh cendawan *Pestalotiopsis microspora* (Kusdiana et al., 2020) menyerang hampir seluruh perkebunan karet di Indonesia dan negara-negara penghasil karet lainnya di Asia Tenggara. Meskipun demikian, serangan penyakit baru tersebut bersifat kompleks, dimana diduga menyerang tanaman karet secara bersamaan dengan PGD lainnya, sehingga tingginya serangan PGD *Pestalotiopsis* sering diikuti dengan tingginya serangan PGD lainnya.

Berbagai upaya pengendalian PGD telah dilakukan, baik dengan cara penggunaan pestisida kimia maupun dengan aplikasi pestisida nabati (Ogbebor & Adekunle, 2005; Evueh et al., 2011) serta peningkatan kesehatan tanaman melalui pemberian pupuk ekstra (Febbiyanti et al., 2020). Berbagai kendala sering dihadapi di lapangan, terutama terkait dengan tingginya tanaman karet yang lebih dari 10 meter sehingga menyulitkan dalam aplikasi pestisida serta biaya yang cukup besar. Salah satu solusi yang cukup efektif adalah dengan menggunakan klon-klon tahan sebagai bahan tanam, sehingga seleksi ketahanan terhadap penyakit utama merupakan salah satu SOP dalam perakitan klon-klon unggul baru tanaman karet.

Program pemuliaan untuk menghasilkan klon-klon unggul baru membutuhkan waktu seleksi yang cukup lama yaitu lebih dari 15 tahun karena karet memiliki siklus hidup yang panjang. Pengembangan metode seleksi ketahanan yang efektif dan efisien melalui pendekatan marka molekuler perlu dilakukan untuk mempercepat program pemuliaan tanaman karet. Pengembangan marka molekuler suatu karakter pada tanaman dilakukan melalui identifikasi bagian genome yang terpaut kuat dengan karakter tersebut melalui identifikasi QTL (*Quantitative Trait Loci*).

Identifikasi QTL yang terpaut kuat dengan suatu karakter dilakukan melalui analisis penggabungan data *genotyping* dengan *phenotyping*. *Genotyping* merupakan penyusunan peta pautan genetik dari populasi bersegregasi, sedangkan *phenotyping* merupakan pengamatan fenotipe dari suatu karakter yang diinginkan. Peta pautan genetik tersebut dapat digunakan untuk analisis QTL berbagai karakter berbeda yaitu dengan cara melakukan pengamatan fenotipe berbagai karakter pada populasi yang sama yang digunakan untuk menyusun peta pautan genetik. QTL berhasil diidentifikasi apabila terdapat pautan yang kuat antara fenotipe dengan genotipe. Tingkat kepercayaan keakuratan QTL akan ditentukan oleh nilai LOD (*logarithmic of odds*), dimana QTL dianggap terpaut kuat dengan suatu karakter pada LOD 3, dan semakin tinggi nilai LOD akan semakin kuat pautan antara karakter dengan genetik. QTL dengan LOD tinggi dan jarak genetik yang dekat dapat digunakan sebagai alat bantu seleksi atau MAS (*marka assisted selection*) (Collard et al., 2005; Semagn et al., 2006; Khan, 2015; Chandra & Pandey, 2017).

Penyusunan peta pautan genetik dari berbagai populasi tanaman karet untuk identifikasi QTL berbagai karakter telah banyak dilaporkan diantaranya adalah QTL yang terpaut ketahanan terhadap penyakit gugur daun SALB (Le Guen et al., 2003; Le Guen et al., 2007; Le Guen et al., 2011; Le Guen et al., 2013) dan penyakit gugur daun *Corynespora* (PGDC) (Tranh et al., 2016; Oktavia et al., 2020). Pertumbuhan tanaman karet (Rattanawong et al. 2009; Novalina & Sagala, 2013; Souza et al., 2011; Souza et al., 2013; Conson et al., 2018; Oktavia 2020),

dan QTL yang terpaut produksi lateks (Chanroj et al., 2017; Rosa et al., 2018; An et al., 2019).

Dalam penelitian sebelumnya telah dihasilkan peta pautan genetik dengan 201 progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 sebagai *mapping population* (populasi pemetaan) untuk mengidentifikasi pertumbuhan awal tanaman karet (Oktavia, 2020). Peta genetik yang sama digunakan dalam penelitian ini untuk identifikasi QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Corynespora*, *Colletotrichum*, dan *Oidium*, serta penyakit jamur akar putih. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan marka molekuler yang terpaut kuat dengan ketahanan terhadap empat penyakit utama pada tanaman karet yang termasuk ke dalam penyakit gugur daun dan jamur akar putih.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Phenotyping ketahanan progeni F1 terhadap penyakit utama tanaman karet dilakukan di Kebun Percobaan Pusat Penelitian Karet, Sembawa, Banyuasin, Sumatera Selatan dari tahun 2016-2018.

Materi Tanaman

Populasi tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah 201 progeni F1 yang dihasilkan dari persilangan klon PB 260 x SP 217. Selain itu digunakan kedua klon tetua dan enam klon kontrol yaitu AVROS 2037, GT 1, IRR 112, IRR 39, PR 261, dan RRIC 100. Populasi dan klon kontrol ditanam pada bulan November 2016. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dimana setiap progeni terdiri atas dua pohon dengan lima ulangan, sehingga total tanaman yang dianalisis adalah 2.090 pohon. Seluruh populasi tanaman ditanam pada areal seluas 5 ha.

Tahapan Penelitian

Terdapat tiga tahapan utama dalam kegiatan analisis QTL yaitu penyiapan peta pautan genetik (*genotyping*) yang telah dilakukan sebelumnya (Oktavia, 2020), evaluasi parameter ketahanan setiap progeni terhadap penyakit utama yang

menyerang tanaman karet di lapangan yaitu penyakit gugur daun *Corynespora*, *Colletotrichum*, *Oidium*, dan jamur akar putih (*phenotyping*), serta identifikasi QTL yang terpaut ketahanan terhadap penyakit utama tanaman karet dengan cara menggabungkan kedua data *phenotyping* dan *genotyping* menggunakan *software* Map QTL.

Pengamatan dilakukan setiap tiga bulan sekali. Pengamatan perkembangan penyakit gugur daun *Corynespora*, *Colletotrichum*, dan *Oidium* dilakukan dengan mengamati bagian tajuk setiap progeni dan melihat tingkat gejala serangan penyakit pada daun. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan skala serangan yang dikelompokkan pada Tabel 1.

Evaluasi Ketahanan Tanaman F1 terhadap Penyakit Utama di Lapangan (*Phenotyping*)

Pengamatan penyakit dilakukan secara visual dengan melihat tingkat serangan penyakit pada setiap pohon.

Pengamatan perkembangan penyakit jamur akar putih dilakukan secara visual dengan cara membongkar bagian pangkal akar lalu mengamati gejala yang muncul. Gejala yang diamati ditentukan berdasarkan skala serangan seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 1. Klasifikasi skala serangan penyakit gugur daun pada tanaman karet
Table 1. Classification of leaf fall disease scale on rubber plants

Skala serangan <i>Attack scale</i>	Klasifikasi <i>Classification</i>
0	tidak terdapat daun yang bergejala penyakit
1	< 20% tajuk tanaman bergejala penyakit gugur daun
2	21% - 40% tajuk tanaman bergejala penyakit gugur daun
3	41% - 60% tajuk tanaman bergejala penyakit gugur daun
4	61% - 80% tajuk tanaman bergejala penyakit gugur daun
5	> 80% tajuk tanaman bergejala penyakit gugur daun

Tabel 2. Klasifikasi skala serangan penyakit jamur akar putih pada tanaman karet
Table 2. Classification of white root disease scale on rubber plants

Skala serangan <i>Attack scale</i>	Klasifikasi <i>Classification</i>
0	tidak ada miselium JAP menempel pada perakaran
1	terdapat miselium JAP menempel pada perakaran
2	terdapat miselium JAP menempel pada perakaran dan telah penetrasi ke dalam jaringan
3	jaringan dalam akar berwarna hitam dan membusuk
4	akar busuk atau tanaman mati

Selanjutnya keparahan penyakit dari semua penyakit ditentukan dengan rumus

sebagai berikut (Townsend dan Heuberger, 1943 *dalam* Sinaga, 2006):

$$KP = \frac{\sum_{i=1}^n n.v}{Z.N} \times 100 \% \quad (1)$$

dimana:

KP : keparahan penyakit

v : skala ke-i

N : jumlah tanaman yang diamati

n : jumlah tanaman berskala v

Z : nilai skor tertinggi.

Data skala serangan dianalisis menggunakan histogram pada program *microsoft excel* untuk mengetahui sebaran keparahan penyakit dari semua genotipe dan klon pembandingan yang ditanam.

Identifikasi QTL yang terpaut Ketahanan terhadap Penyakit Utama Tanaman Karet

Identifikasi QTL dilakukan dengan melakukan penggabungan data *phenotyping* tingkat serangan penyakit utama pada seluruh anggota populasi hasil persilangan PB 260 x SP 217 dan *genotyping* menggunakan *software* Map QTL. Berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Lander & Botstein (1989), identifikasi posisi QTL dilakukan menggunakan analisis interval mapping (IM) dilanjutkan dengan *multiple QTL mapping* (MQM) menggunakan marker cofaktor yang memiliki nilai LOD tertinggi yang ditemukan pada analisis IM. Segregasi setiap lokus dilakukan melalui test nonparametrik Kruskal-Wallis (KW) (Ooijen, 2004). Tingkat signifikansi keberadaan QTL berdasarkan nilai LOD, dimana semakin tinggi nilai LOD maka pengaruh QTL akan semakin signifikan, sedangkan QTL di bawah LOD 3 dianggap

sebagai putative QTL yang memiliki tingkat signifikansi yang masih rendah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Ketahanan Tanaman F1 Hasil Persilangan PB 260 x SP 217 terhadap Penyakit Utama pada Tanaman Belum Menghasilkan (*Phenotyping*)

Evaluasi ketahanan 201 progeni F1 hasil persilangan klon PB 260 x SP 217 terhadap penyakit utama tanaman karet yaitu penyakit gugur daun (PGD) *Corynespora*, *Colletotrichum*, dan *Oidium*, serta penyakit jamur akar putih dilakukan di lapangan selama masa tanaman belum menghasilkan (TBM). Pengamatan ketahanan progeni F1 terhadap penyakit utama dilakukan setiap 3 bulan dengan cara mengukur intensitas serangan setiap penyakit pada setiap progeni yang diamati. Pengamatan sampai tanaman berumur dua tahun secara umum menunjukkan bahwa progeni F1 tumbuh dengan baik (Gambar 1A) dan terdapat variasi ketahanan setiap progeni terhadap serangan penyakit gugur daun (Gambar 1B).



Gambar 1. Pertumbuhan (A) dan variasi performa tajuk (B) populasi F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM 2 tahun di lapangan

Figure 1. Growth (A) and variation of canopy performance (B) of F1 population obtained crossing of PB 260 x SP 217 on immature periode 2 year in the field

Setiap progeni F1 memiliki tingkat ketahanan berbeda terhadap setiap penyakit utama tanaman karet. Adanya variasi tersebut menandakan terjadinya segregasi gen ketahanan dari kedua klon tetua PB 260 dan SP 217 terhadap 201 progeni F1 yang diamati. Sebaran tingkat keparahan PGD *Corynespora*, *Colletotrichum*, dan *Oidium*, serta jamur akar putih masing-masing progeni terlihat pada Gambar 2.

Ketahanan terhadap Serangan PGD *Corynespora*

Serangan PGD *Corynespora* pada tanaman karet ditandai dengan gejala bercak coklat/kelabu yang menyebar pada tulang daun. Berdasarkan pengamatan pada tanaman umur dua tahun terlihat bahwa keparahan serangan PGD *Corynespora* terhadap progeni F1 berkisar 0-9% dengan sebaran jumlah tanaman terbanyak pada keparahan penyakit kurang dari 4,54% (Gambar 2A).

Kondisi tersebut menunjukkan bahwa tanaman progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 relatif tahan terhadap PGD *Corynespora*. Secara umum pola sebaran ketahanan progeni F1 terhadap PGD *Corynespora* adalah normal sehingga terdapat peluang besar teridentifikasinya QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap PGD *Corynespora*. Sebaran normal mengindikasikan bahwa karakter ketahanan terhadap PGD *Corynespora* pada tanaman karet diregulasi oleh banyak gen (poligenik) yang bersifat aditif. Hal ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Hadi & Hartana (2004) serta Oktavia et al. (2020).

Ketahanan terhadap Serangan PGD *Colletotrichum*

PGD *Colletotrichum* menyerang pada saat tanaman karet membentuk daun muda selama musim hujan. Pengamatan keparahan penyakit dilakukan berdasarkan tingkatan gejala berupa bercak hitam yang mengakibatkan daun berlubang, keriput, serta bagian ujungnya mati. Berdasarkan pengamatan terhadap gejala tersebut pada setiap F1, terlihat bahwa tingkat keparahan penyakit PGD *Colletotrichum* pada F1 bervariasi yaitu berkisar 0-22,5% dengan sebaran jumlah tanaman terbanyak pada

keparahan penyakit antara 6,78%-18,07%. Hal tersebut menunjukkan tingkat ketahanan progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 terhadap serangan PGD *Colletotrichum* lebih rendah dibandingkan serangan PGD *Corynespora*.

Gambar 2B menunjukkan pola sebaran ketahanan progeni F1 terhadap serangan PGD *Colletotrichum*. Tidak berbeda jauh dengan ketahanan terhadap PGD *Corynespora*, ketahanan terhadap PGD *Colletotrichum* menyebar normal. Hal ini terkait dengan indikasi gen-gen pengendali ketahanan terhadap PGD *Colletotrichum* yang bersifat poligenik sehingga peluang QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap PGD *Colletotrichum* teridentifikasi lebih tinggi.

Ketahanan terhadap Serangan PGD *Oidium*

Berdasarkan pengamatan gejala serangan PGD *Oidium* pada saat tanaman berumur dua tahun di lapangan terlihat bahwa tingkat serangan penyakit rendah yaitu kurang dari 1,5% (Gambar 2C). Kondisi tersebut berbeda dengan kedua PGD sebelumnya, dimana ketahanan progeni F1 terhadap serangan PGD *Oidium* sangat tinggi. Adanya perbedaan tersebut disebabkan karena pengaruh kondisi iklim, kemungkinan pada saat pengamatan kondisi iklim tidak sesuai dengan perkembangan *Oidium*. Tingkat keparahan *Oidium* akan meningkat pada saat kondisi hujan rintik-rintik yang diikuti oleh panas dan kondisi tersebut terjadi berulang-ulang. Serangan PGD *Oidium* ditunjukkan oleh gejala adanya massa spora cendawan berwarna putih seperti tepung pada permukaan bawah daun.

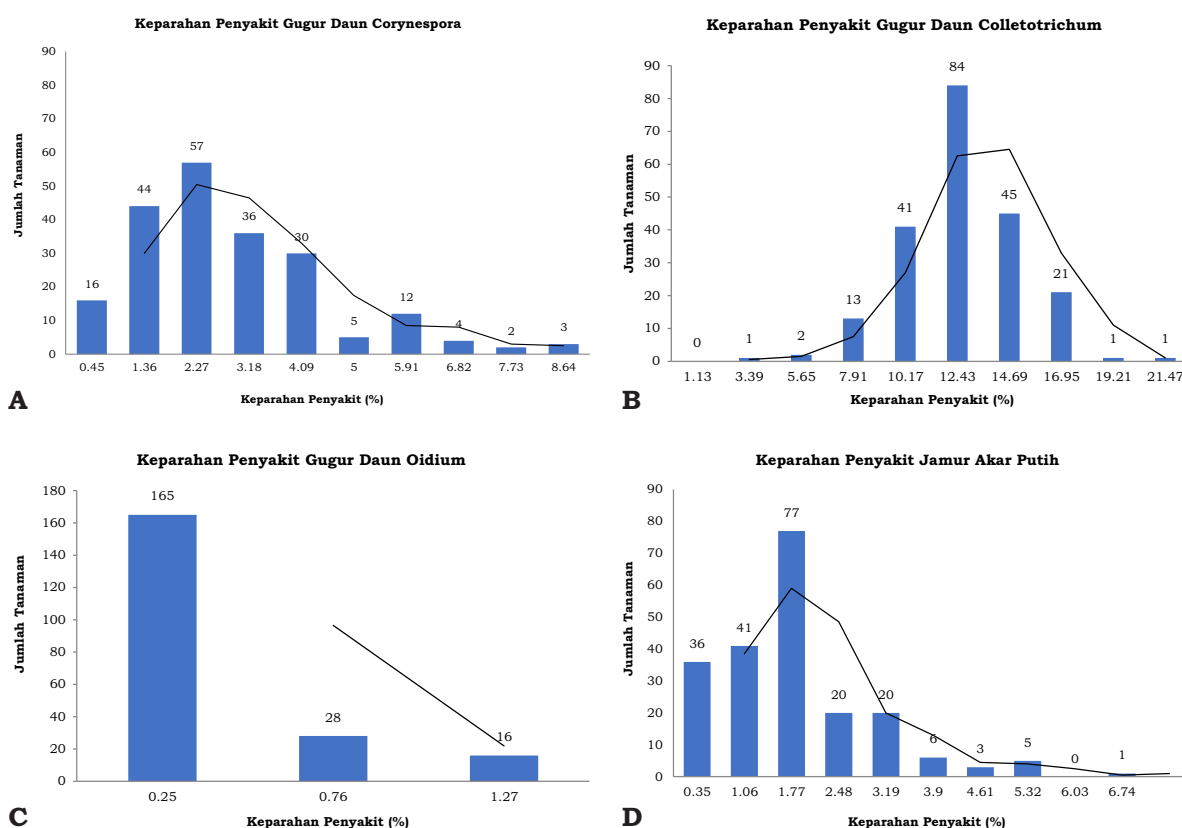
Gambar 2C juga menunjukkan pola sebaran ketahanan terhadap serangan PGD *Oidium* terlihat tidak normal (deskriptif) yang menunjukkan bahwa kemungkinan ketahanan tanaman karet terhadap PGD *Oidium* dikendalikan oleh satu atau beberapa mayor gen (monogenik). Hal ini akan berpengaruh terhadap keberhasilan identifikasi QTL yang akan dilakukan. Banyak faktor yang memengaruhi kondisi tersebut diantaranya adalah pengaruh kondisi lingkungan yang besar sehingga perlu pengamatan dan analisis lebih lanjut.

Ketahanan terhadap Serangan Penyakit Jamur Akar Putih

Analisis ketahanan tanaman terhadap serangan penyakit jamur akar putih dilakukan dengan cara mengamati gejala serangan penyakit pada pangkal batang dan tajuk daun tanaman. Pada kondisi stadia awal, jamur akar putih akan menyerang pangkal batang yang ditandai dengan tempelan hifa/rhizomorfo putih pada pangkal batang. Namun pada kondisi terserang parah, daun akan menguning, ujung daun terlipat ke dalam, muncul buah di luar masa pembungaan dan terjadi kebusukan pada pangkal batang yang dapat mengakibatkan tanaman roboh dan mati. Berdasarkan pengamatan tersebut terlihat bahwa terdapat keragaman keparahan serangan jamur akar putih pada progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 yang diamati di lapangan.

Gambar 2D menunjukkan sebaran keparahan serangan penyakit jamur akar putih pada progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217. Terjadi penyebaran keparahan serangan penyakit jamur akar putih pada F1 yang berkisar 0-7% dengan sebaran jumlah tanaman terbanyak pada keparahan penyakit kurang dari 3,54%. Hal tersebut menunjukkan kejadian penyakit jamur akar putih sampai masa TBM 2 di lokasi pengamatan cukup rendah, namun menyebar secara normal.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya keparahan empat penyakit yang menyerang tanaman karet progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217. Dengan demikian diharapkan terdapat peluang teridentifikasinya QTL yang terpaut ketahanan terhadap PGD dan JAP pada populasi F1 tersebut.



Gambar 2. Sebaran rata-rata keparahan penyakit gugur daun *Corynespora* (A), *Colletotrichum* (B), *Oidium* (C), dan penyakit jamur akar putih (D) pada populasi F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 selama 2 tahun pengamatan

Figure 2. Distribution of leaf fall disease severity of *Corynespora* (A), *Colletotrichum* (B), *Oidium* (C), and white root disease (D) of F1 population obtained crossing of PB 260 x SP 217 for 2 year of observation

Penyusunan Peta Pautan Genetik Menggunakan Marka Molekuler SSR (*Genotyping*)

Peta pautan genetik yang digunakan dalam analisis QTL yang terpaut penyakit gugur daun *Corynespora*, *Colletotrichum*, *Oidium* dan penyakit jamur akar putih adalah sama dengan analisis QTL yang terpaut pertumbuhan tanaman karet seperti yang telah dilaporkan oleh Oktavia (2020). Hal ini karena populasi yang dianalisis adalah sama, progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217.

Pada penelitian tersebut telah berhasil disusun 22 kelompok peta pautan genetik populasi hasil persilangan PB 260 x SP 217 menggunakan 263 marker SSR. Peta pautan tersebut memiliki jarak genetik yang berkisar antara 1–119,2 cM. Berdasarkan jumlah kromosom tanaman karet yaitu 18, maka peta pautan yang terbentuk dapat dikembangkan lagi dengan meningkatkan jumlah marka molekuler yang digunakan. Dengan adanya marka tambahan diharapkan LG yang seharusnya bergabung dapat disatukan sehingga nanti dapat dihasilkan 18 LG. Selain itu, dengan penambahan marka molekuler jarak genetik yang dihasilkan juga akan semakin dekat (kecil) sehingga peluang untuk menemukan QTL akan meningkat dan keterpautan marka dengan karakter yang dianalisis akan semakin kuat.

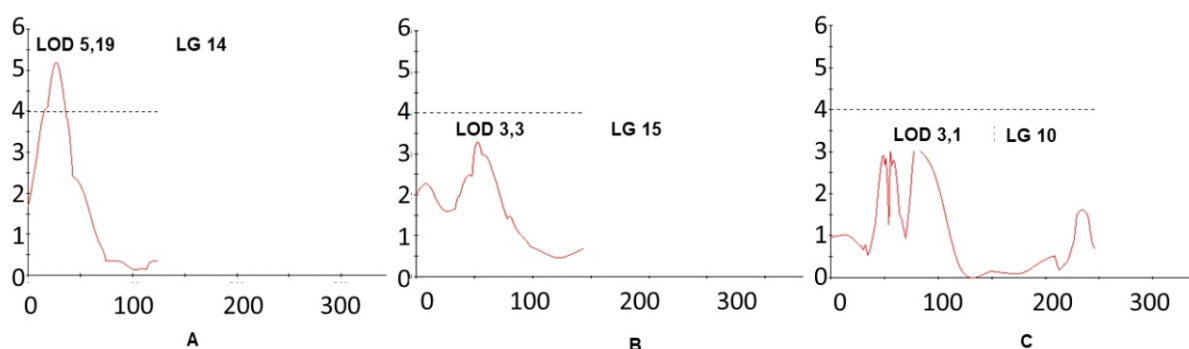
Identifikasi QTL

Analisis keberadaan QTL yang terpaut dengan penyakit utama yang menyerang tanaman karet dilakukan berdasarkan parameter keparahan penyakit di lapangan pada tanaman berumur dua tahun. Beberapa serangan penyakit utama yang diamati di lapangan yaitu penyakit gugur daun *Corynespora*, *Colletotrichum*, *Oidium*, dan jamur akar putih (JAP).

QTL Terpaut Ketahanan terhadap Penyakit Gugur Daun *Corynespora* (PGDC)

Gambar 3 menunjukkan QTL yang terpaut dengan ketahanan tanaman karet terhadap penyakit gugur daun *Corynespora*. Terdapat tiga QTL yang ditemukan pada *linkage group* 14 LOD 5,19; *linkage group* 15 LOD 3,3; dan *linkage group* 10 LOD 3,1. QTL tersebut menginformasikan bahwa terdapat gen atau sekuen DNA pada kromosom no 14, 15, dan 10 yang memberikan pengaruh terhadap ketahanan tanaman karet terhadap penyakit gugur daun *Corynespora*.

Ketiga QTL yang berhasil diidentifikasi memiliki tingkat kepercayaan yang cukup tinggi, yaitu pada LOD di atas 3. Hal ini terlihat juga dari persentase pengaruh yang diberikan oleh masing-masing QTL terhadap sifat ketahanan terhadap PGDC *Corynespora*. QTL pada LOD tertinggi yaitu 5,19 yang ditemukan pada LG



Gambar 3. Posisi QTL yang terpaut dengan ketahanan populasi F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM umur 2 tahun terhadap penyakit gugur daun *Corynespora* di lapangan pada *linkage group* 14 LOD 5,19 (A), *linkage group* 15 LOD 3,3 (B), dan *linkage group* 10 LOD 3,1 (C).

Figure 3. Position of QTLs linked to resistance of F1 population obtained from crossing of PB 260 x SP 217 on immature periode 2 years old to *Corynespora* leaf fall disease in the field on *linkage group* 14 LOD 5.19 (A), *Linkage group* 15 LOD 3.3 (B), and *linkage group* 10 LOD 3.1 (C).

Tabel 3. Persentase pengaruh QTL utama terhadap ketahanan progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM umur 2 tahun terhadap penyakit gugur daun *Corynespora* di lapangan

Table 3. Percentage of main QTLs effect to resistance of F1 progenies obtained crossing of PB 260 x SP 217 immature periode 2 years old to *Corynespora* leaf fall disease in the field

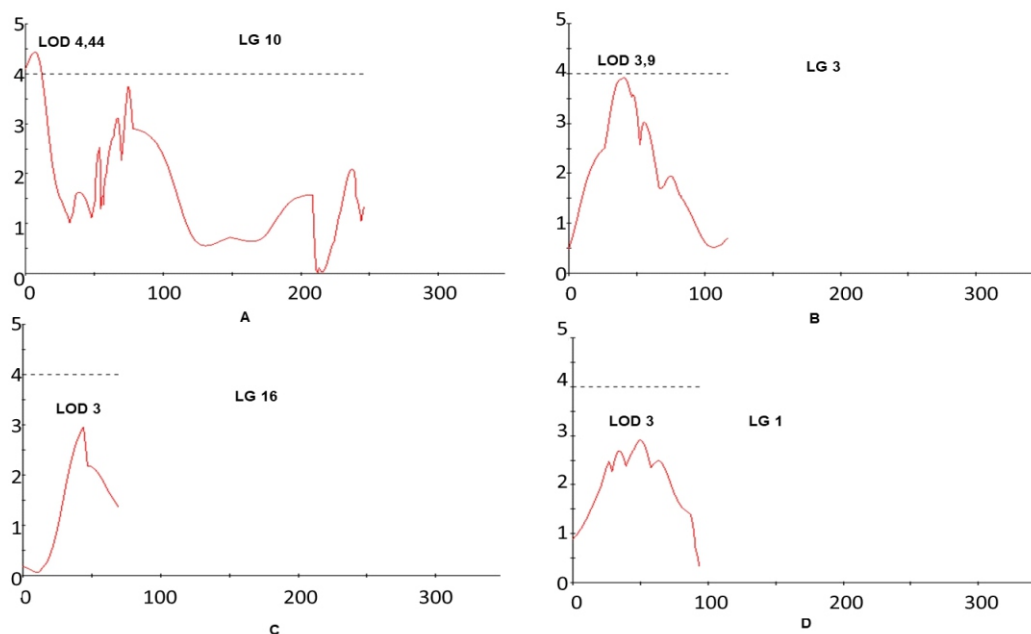
Nr	Group	Position	Locus	LOD	# Iter.	mu_ac(00)	mu_ad(00)	mu_bc(00)	mu_bd(00)	Variance	% Expl.	GIC_1	GIC_2	GIC_m
1831	g14	26.571		5.19	1	0.177394	0.284313	0.152577	0.240406	0.0133468	13.0	0.944	0.769	0.857
1832	g14	27.571		5.19	1	0.176187	0.284289	0.153185	0.240814	0.0133472	13.0	0.972	0.765	0.868
1833	g14	28.382	g14A2423	5.16	1	0.175389	0.283827	0.154025	0.241053	0.0133581	12.9	1.000	0.765	0.883
1830	g14	25.571		5.15	1	0.178802	0.283741	0.152469	0.239880	0.0133610	12.9	0.924	0.779	0.851
1829	g14	24.571		5.08	1	0.180358	0.282609	0.152868	0.239248	0.0133889	12.7	0.911	0.794	0.852

14 memberikan pengaruh terhadap keragaman ketahanan tanaman karet terhadap PGDC sebesar 17,7% (Tabel 3). QTL tersebut ditunjukkan oleh lokus g14A2423. Pengaruh ini tergolong cukup tinggi sehingga dapat digolongkan sebagai gen mayor, yang biasanya stabil dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan seperti yang dijelaskan oleh Collard et al. (2005). Untuk melihat kestabilan QTL tersebut, akan dilakukan pengamatan ketahanan F1 terhadap PGDC *Corynespora* dan analisis QTL yang terpaut penyakit tersebut secara

bertahap sesuai dengan pertumbuhan tanaman. Semua QTL yang stabil tetap ditemukan pada semua tahapan pertumbuhan selanjutnya dapat dijadikan sebagai *marka assisted selection*.

QTL Terpaut Ketahanan terhadap Penyakit Gugur Daun *Colletotrichum*

Gambar 4 menunjukkan QTL yang terpaut dengan ketahanan tanaman karet terhadap penyakit gugur daun



Gambar 4. Posisi QTL yang terpaut dengan ketahanan populasi F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM umur 2 tahun terhadap penyakit gugur daun *Colletotrichum* di lapangan pada linkage group 10 LOD 4,44 (A),

Figure 4. Position of QTLs linked to resistance of F1 population obtained from crossing of PB 260 x SP 217 on immature periode 2 years old to *Colletotrichum* leaf fall disease in the field on linkage group 10 LOD 4.44

Colletotrichum yang berhasil diidentifikasi selama masa TBM 2. Terdapat empat QTL yang ditemukan pada LG berbeda yaitu LG 1, 3, 10, dan 16 pada LOD 3–4,44. Ke empat QTL tersebut tergolong memiliki tingkat kepercayaan yang tinggi dan tergolong kepada gen mayor yang memiliki pengaruh di atas 10% (Tabel 4). Ke empat QTL tersebut perlu diamati kestabilannya dengan cara pengamatan ketahanan penyakit secara

berkala di lapangan dan analisis keterpautan QTL secara berkala sesuai perkembangan umur tanaman. Diharapkan ke empat QTL tersebut bersifat stabil dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan sehingga dapat digunakan sebagai marka molekuler penanda ketahanan terhadap penyakit gugur daun Colletotrichum dalam seleksi ketahanan tanaman karet.

Tabel 4. Persentase pengaruh QTL utama terhadap ketahanan progeni F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM umur 2 tahun terhadap penyakit gugur daun Colletotrichum di lapangan

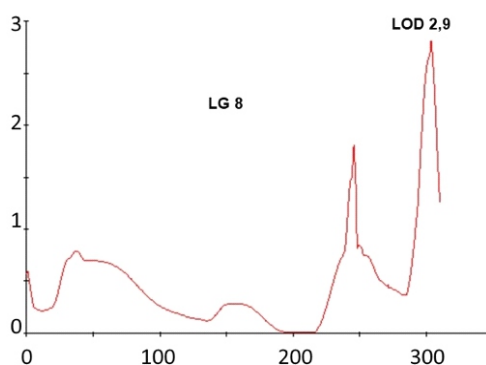
Table 4. Percentage of main QTLs effect to resistance of F1 progenies obtained crossing of PB 260 x SP 217 immature periode 2 years old to Colletotrichum leaf fall disease in the field

Group	Position	Locus	LOD	% Expl.	GIC_1	GIC_2	GIC_m
g10	7.000		4.44	11.20	0.598	0.632	0.615
g10	8.000		4.43	11.20	0.564	0.600	0.582
g10	6.000		4.42	11.20	0.638	0.668	0.653
g10	5.000		4.39	11.10	0.683	0.710	0.696
g10	9.000		4.38	11.10	0.535	0.574	0.554
g10	4.000		4.34	11.00	0.734	0.756	0.745
g10	10.000		4.30	10.90	0.512	0.552	0.532
g10	3.000		4.28	10.80	0.791	0.808	0.800
g10	2.000		4.22	10.70	0.853	0.866	0.860
g10	11.000		4.18	10.60	0.494	0.536	0.515
g10	1.000		4.15	10.50	0.922	0.928	0.925
g10	0.000	g10A2425.L1	4.09	10.40	0.997	0.997	0.997
g10	12.000		4.02	10.20	0.481	0.524	0.502

QTL Terpaut Ketahanan terhadap Penyakit Jamur Akar Putih

Hasil analisis berdasarkan pengamatan intensitas serangan JAP pada seluruh tanaman selama TBM 2 menunjukkan bahwa ditemukan satu *putative* QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap serangan penyakit JAP pada *linkage group* nomor 8 pada LOD 2,9 (Gambar 5). Hal ini terkait dengan nilai LOD suatu QTL, dimana LOD merupakan nilai batas yang menunjukkan tingkat kepercayaan keberadaan suatu QTL. Semakin tinggi LOD teridentifikasinya suatu QTL maka semakin tinggi tingkat kepercayaan kestabilan QTL tersebut. Secara umum LOD 3 dijadikan sebagai nilai suatu QTL memiliki tingkat kepercayaan tinggi, sedangkan QTL dengan LOD di bawah

3 dianggap sebagai *putative* QTL yang kestabilan keberadaannya dapat berubah-ubah. Keberadaan QTL menunjukkan bahwa terdapat gen atau sekuen DNA pada kromosom nomor 8 yang berpengaruh terhadap ketahanan tanaman karet terhadap serangan JAP. QTL tersebut masih memiliki tingkat kepercayaan yang rendah, yaitu LOD di bawah 3, sehingga masih bersifat *putative* dan ada kemungkinan bersifat tidak stabil dan terpengaruh oleh lingkungan. Hal ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh genetik dari batang bawah yang digunakan untuk mendukung sistem perakaran pada tanaman karet yang diperbanyak melalui okulasi, sehingga pada saat JAP menyerang akar tanaman, yang berperan besar dalam sistem pertahanan adalah ekspresi gen-gen pertahanan pada batang bawah yang berasal dari *seedling*.



Gambar 5. Posisi QTL yang terpaut dengan ketahanan populasi F1 hasil persilangan PB 260 x SP 217 TBM umur 2 tahun terhadap penyakit jamur akar putih di lapangan pada linkage group 8 LOD 2,9

Figure 5. Position of QTLs linked to resistance of F1 population obtained from crossing of PB 260 x SP 217 on immature periode 2 years old to white root disease in the field on linkage group 8 LOD 2.9

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis QTL terhadap penyakit utama tanaman karet menunjukkan bahwa terdapat 3 QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Corynespora* yang berhasil diidentifikasi pada LG 10, 14, dan 15 dengan LOD 3,1; 3,3; dan 5,19 dengan pengaruh QTL tertinggi sebesar 17,7%. Empat QTL yang terpaut ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Colletotrichum* berhasil diidentifikasi pada LG berbeda yaitu LG 1, 3, 10, dan 16 dengan LOD 3–4,44 dan pengaruh tertinggi terhadap ketahanan sebesar 11,2%. Putatif QTL yang terpaut ketahanan terhadap JAP berhasil diidentifikasi pada LG 8 dengan LOD 2,9, sedangkan QTL yang terpaut dengan ketahanan terhadap penyakit gugur daun *Oidium* belum berhasil diidentifikasi. QTL yang berhasil diidentifikasi dengan LOD di atas 3 diharapkan stabil dan akan di analisis secara berkala.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Dr. Pascal Montoro dan Dr. Andre Clement-Demange, Cirad, Perancis atas training, diskusi, dan masukan yang diberikan selama penelitian pendahuluan dilakukan.

DAFTAR PUSTAKAA

- An, Z., Zhao, Y., Zhang, X., Huang, X., Hua, Y., Cheng, H., Li, X., & Huang, H. (2019). A high-density genetic map and QTL mapping on growth and latex yield-related traits in *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. *Industrial Crops Production*, 32, 440-448. doi: doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.002.
- Chandra, K., & Pandey, A. (2017). QTL mapping in crop improvement: A basic concept. *International Journal Current Microbiology Applied Science*, 6(12), 835-842.
- Chanroj, V., Rattanawong, R., Phumichai, T., Tangphatsornruang, S., & Ukoskit, K. (2017). Genome-wide association mapping of latex yield and girth in Amazonian accessions of *Hevea brasiliensis* grown in a suboptimal climate zone. *Genomics*, 109, 475-484. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.07.005
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B., & Pang, E.C.K. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142, 169-196.

- Conson, A.R.O., Taniguti, C.H., Amadeu, R.R., Andreotti, I.A.A., de Souza, L.M., dos Santos, L.H.B., Rosa, J.R.B.F., Mantello, C.C., da Silva, C.C., José, S.J.E., Ribeiro, R.V., Le Guen, V., Garcia, A.A.F., de Souza, G.P., & de Souza, A.P. (2018). High-resolution genetic map and QTL analysis of growth-related traits of *Hevea brasiliensis* cultivated under suboptimal temperature and humidity conditions. *Front Plant Science*, 9, 1255. doi: 10.3389/fpls.2018.01255.
- Evueh, A., Okhuoya, J., Osemwegie, O., Attitalla, I., & Ogbemor, O. (2011). Evaluation of phylloplane fungi as biocontrol agent of *Corynespora* leaf fall disease of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *World Journal Fungal Plant Biology*, 2(1), 1-5.
- Febbiyanti, T.R., & Fairuzah, Z. (2019). Identifikasi penyebab kejadian luar biasa penyakit gugur daun karet di Indonesia. *Jurnal Penelitian Karet*, 37(2), 193-206.
- Febbiyanti, T.R., Stevanus, C.T., & Tistama, R. (2020). Peranan pupuk dan fungisida terhadap pemulihan tajuk akibat penyakit gugur daun Pestalotiopsis pada klon GT 1 di kebun percobaan Pusat Penelitian Karet Sembawa. *Jurnal Penelitian Karet*, 38(2), 145-164. doi: 10.22302/ppk.jpk.v2i38.705.
- Hadi, H., & Hartana, A. (2004). Analisis marka molekuler ketahanan terhadap penyakit gugur daun pada tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet*, 22(2), 47-56.
- Khan, S. (2015). QTL mapping: A tool for improvement in crop plants. *Research Journal of Recent Sciences*, 4, 7-12.
- Kusdiana, A.P.J., Sinaga, M.S., & Tondok, E.T. (2020). Diagnosis penyakit gugur daun karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Jurnal Penelitian Karet*, 38(2), 165-178. doi: 10.22302/ppk.jpk.v2i38.728.
- Lander, E.S., & Botstein D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121, 185-199.
- Le Guen, V., Garcia, D., Doaré, F., Mattos, C., Condina, V., Couturier, C., & Seguin, M. (2011). A rubber tree's durable resistance to *Microcyclus ulei* is conferred by a qualitative gene and a major quantitative resistance faktor. *Tree Genetic Genome*, 7, 877-889.
- Le Guen, V., Garcia, D., Mattos, C., Doare, F., Lespinasse, D., & Seguin, M. (2007). By passing of a phyllogenic *Microcyclus ulei* resistance in rubber tree analyzed by QTL detection. *New Phytologist*, 173, 335-345.
- Le Guen, V., Garcia, D., Mattos, C., Fouet, O., Doaré, F., Condina, V., & Seguin, M. (2013). A newly identified locus controls complete resistance to *Microcyclus ulei* in the Fx2784 rubber clone. *Tree Genetic Genome*, 9(3), 805-812. doi: 10.1007/s11295-013-0599-7.
- Le Guen, V., Lespinasse, D., Oliver, G., Rodier-Goud, M., Pinard, F., & Seguin, M. (2003). Molecular mapping of genes conferring field resistance to South American Leaf Blight (*Microcyclus ulei*) in rubber tree. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(1), 160-167. doi: 10.1007/s00122-003-1407-9.
- Manju, M.J., Benagi, V.I., Shankarappa, T.H., Vinod, K.K. & Jacob C.K. (2015). Major Diseases of *Hevea brasiliensis* in Rubber Growing Regions of South India. *Environment & Ecology*, 33(3A), 1299-1302.

- Mazlan, S., Jaafar, N.M., Wahab, A., Sulaiman, Z., Rajandas, H. & Zulperi, D. (2019). Major diseases of rubber (*Hevea brasiliensis*) in Malaysia. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, 5(2), 10-21.
- Novalina & Sagala, A.D. (2013). Construction of *Hevea brasiliensis* genetic linkage map and identification of quantitative trait loci using RAPD markers. *International Journal of Advance and Science Engineering Information Technology*, 3(1), 71-75.
- Ogbebor, N. & Adenkule, A. (2005). Inhibition of conidial germination and mycelial growth of *Corynespora cassiicola* (Berk and Curt) of rubber (*Hevea brasiliensis* muell. Arg.) using extracts of some plants. *African Journal Biotechnology*, 4(9), 996-1000.
- Oktavia, F. (2020). Studi pendahuluan konstruksi peta pautan genetic dan identifikasi quantitative trait loci yang terpaut dengan pertumbuhan awal tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet*, 38(2), 121-132. doi: 10.22302/ppk.jpk.v2i38.733.
- Oktavia, F., Sudarsono, & Dinarti, D. (2020). Preliminary QTL detection for *Corynespora* leaf fall disease resistance in rubber plant. *Nusantara Bioscience*, 13(1), 53-61. doi: 10.13057/nusbiosci/n130108.
- Ooijen, V.J.W. (2004). *MapQTL® 5, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations*. Wageningen, the Netherlands: Kyazma BV.
- Rattanawong, R., Prapan, K., Lekawipat, N., Seguin, M., Clement-Demange, A. (2009). Detection of QTLs association with growth, latex production and rubber quality for the development of Marker Assisted Selection (*Hevea brasiliensis*). *IRRDB Workshop on Genome and Transcriptome*.
- Rosa, J.R.B.F., Mantello, C.C., & Garcia, D. (2018). QTL detection for growth and latex production in a full-sib rubber tree population cultivated under suboptimal climate conditions. *BMC Plant Biology*, 18(223), 1-16. doi: doi.org/10.1186/s12870-018-1450-y.
- Semagn, K., Bjornstad, A., & Ndjiondjop, M. N. (2006). Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25), 2569-2587.
- Sinaga, M.S. (2006). *Dasar-Dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Situmorang, A., Sinaga, M., Suseno, R., Hidayat, S., Siswanto, & Darussamin, A. (2007). Sebaran penyakit gugur daun *Corynespora* di sentra perkebunan karet Indonesia. *Jurnal Penelitian Karet*, 25(1), 76-82.
- Souza, L., Gazaffi, R., Mantello, C., Silva, C., Garcia, D., & Le Guen, V. (2013). QTL mapping of growth-related traits in a full-sib family of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) evaluated in a sub-tropical climate. *PLoS One*, 8(4), 1-10.

- Souza, L., Mantello, C., Suzuki, F., Rodrigo, G., & Le Guen, V. (2011). Development of a genetic linkage map of rubber (*Hevea brasiliensis*) based on microsatellite markers. Paper presented at the *IUFRO Tree Biotechnology Conference*. 26 Jun - 2 Jul 2011, Arraial D'Ajuda, Bahia, Brazil.
- Tran, D. M., Clément-Demange, A., De´on, M., Garcia, D., Le Guen, V., ClémentVidal, A., et al. (2016). Genetic Determinism of sensitivity to *Corynespora cassiicola* exudates in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *P L o S O N E*, 11(10). doi:10.1371/journal.pone.0162807.