

Pengaruh Infeksi Beberapa Jenis Virus terhadap Penurunan Hasil pada Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

I WAYAN SUKADA
I MADE SUDANA
I DEWA NYOMAN NYANA*)
GEDE SUASTIKA
KETUT SIADI¹

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali

²IPB-Institut Pertanian Bogor

*)Email: dewanyana@yahoo.com

ABSTRACT

Effect of Infection of Some Viruses to the Decreasing Yield on Rawit Pepper (*Capsicum frutescens* L.)

This study aims to identify the types of viruses that infect the plants of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) in Kerta village, and to know the influence of some kind of viruses infection on yield decline. To verify the type of virus is done by taking a sample of the pepper plant leaf showing symptoms of the virus that has been demonstrated through serological and molecular tests. The results of this study indicate that the mosaic symptomatic chilli pepper plants were infected by some kind of virus such as CMV, TMV, and ChiVMV. Chilli pepper shows asymptomatic yellow were infected by the PepYLCV and chlorosis were infected by Polorovirus. The result of fruit chili harvest were showed the higher yields on the healthy plants with average 16.01 tonnes/ha, while the chilli that showed chlorosis symptoms were 8.42 tonnes/ha, and yellow symptoms were 3.07 tonnes/ha. The lowest were in the plants that shows mosaic symptom with average 2.52 tonnes/ha. The virus infection caused the losses of yield of 47.40% in chlorosis symptomatic plants, 80.82% in the yellow symptomatic plant and 84.25%, in the mosaic symptomatic plants compared to healthy plants. High yield loss in the mosaic symptomatic plants were caused by the highest infection on chilli pepper that infected by some kind of viruses.

Keywords : Chili pepper , mosaic, chlorosis, and yellow

1. Pendahuluan

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura penting di Indonesia yang memiliki rasa pedas karena kandungan capsaicinnya. (Sherly, dkk., 2010). Produksi cabai di Indonesia belum dapat memenuhi kebutuhan cabai nasional sehingga pemerintah harus mengimpor cabai yang mencapai lebih dari 16.000 ton per tahun (DBPH, 2009). Rataan produksi cabai nasional baru mencapai 4,35 ton /ha, sementara potensi produksi cabai dapat

mencapai lebih 10 ton/ha (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2010). Rendahnya produktivitas cabai di Indonesia disebabkan oleh penggunaan varietas berdaya hasil rendah dan rentan terhadap hama penyakit (Kusandriani, 1996). Kendala biologis dari serangan patogen virus pada tanaman cabai, dapat menyebabkan turunnya kualitas dan kuantitas hasil, dan bahkan dapat pula menyebabkan kegagalan panen (Syamsidi *et al.*, 1997).

Hasil penelitian Nyana (2012) yang dilakukan di daerah sentra produksi cabai di seluruh kabupaten dan kota di Bali didapatkan bahwa ada dua jenis penyakit virus utama yang menyerang tanaman cabai yaitu virus dengan gejala mosaik dan kuning. Penyakit virus kuning diketahui diinfeksi oleh PepYLCV, sedangkan tanaman cabai yang menunjukkan gejala mosaik berasosiasi dengan tiga jenis virus yaitu CMV, ChiVMV, dan TMV. Hasil penelitian Suastika dkk., 2012 di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar, Provinsi Bali disamping virus tersebut di atas yang ditemukan menginfeksi tanaman cabai, juga ditemukan virus lain (virus baru di Bali) yang memperlihatkan gejala klorosis, yang berasosiasi dengan *Polerovirus*.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di sentra penanaman cabai milik beberapa petani di Desa Kerta Payangan Gianyar. Penelitian dimulai dari bulan Oktober sampai dengan bulan Desember 2013.

2.2 Survei Lokasi Pertanaman Cabai Yang Terinfeksi Virus

Lokasi sebar penyakit virus pada tanaman cabai rawit perlu dipetakan untuk mengetahui lokasi pertanaman cabai milik petani yang terinfeksi virus. Untuk memetakan sebaran penyakit virus pada tanaman cabai rawit di Desa Kerta maka dalam penelitian ini ditentukan tujuh kebun petani berdasarkan kejadian penyakit virus terbanyak.

2.3 Pengambilan Sampel Tanaman yang Bergejala Virus

Untuk verifikasi jenis virus dilakukan pengambilan sampel daun pucuk dari tanaman cabai yang menunjukkan gejala virus. Jumlah individu tanaman cabai yang diambil sebagai sampel adalah sepuluh persen dari populasi tanaman yang bergejala virus yang ada di kebun tersebut, dan selanjutnya tanaman tersebut ditandai untuk mempermudah melakukan pengambilan sampel panen. Segera setelah dipetik, daun-daun pucuk cabai tersebut secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung gelas berdiameter 2 cm dan panjang 12 cm yang telah diisi separuh volumenya dengan serbuk CaCl_2 kemudian ditutup rapat-rapat sampai kedap udara.

2.4 Pengambilan data panen

Panen dilakukan terhadap jumlah individu tanaman cabai yang diambil sebagai sampel yaitu sepuluh persen (10%) dari populasi tanaman yang bergejala virus dan

sehat yang ada di masing-masing lokasi pengamatan, dan selanjutnya tanaman tersebut ditandai untuk mempermudah melakukan pengambilan sampel panen.

Berat segar buah panen didapat dengan menimbang buah yang baru dipanen per tanaman kemudian dihitung secara kumulatif berat segar dari setiap kali panen sesuai dengan jumlah tanaman sampel yang menunjukkan gejala mosaik, klorosis, kuning, dan tanaman cabai yang sehat.

2.5 Uji Serologi Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Metode serologi yang diterapkan dalam penelitian ini adalah ELISA dengan mengikuti prosedur dalam kit antiserum yang digunakan (Agdia, USA). Pada umumnya prosedur tersebut sebagai berikut. Serum anti-TMV, -CMV, -ChiVMV dan PepYLCV (Agdia, USA) pada pengenceran 2×10^{-2} dalam bufer PBST-PB (PBST yang mengandung 0,2% *bovine serum albumin* dan 2% *polyvinylpyrrolidone*) dimasukkan sebanyak 100 μ l ke dalam sumuran ELISA-plate diinkubasi pada 37°C selama 2 jam. Setelah itu sumuran dicuci dengan PBST (8 mM Na_2HPO_4 , 14 mM KH_2PO_4 , 15 mM NaCl, 0,05% tween-20, pH 7,4) sebanyak lima kali. Sebanyak 0.1 g jaringan daun dilumatkan dengan mortar dalam 1 ml bufer ekstraksi TBS-Tween (0,02 M Tris, 0,5 M NaCl, 0,5% tween-20, pH 7,5). Sap dijernihkan dengan sentrifugasi 15.000 rpm selama 5 menit, lalu dimasukkan ke dalam sumuran ELISA-plate (100 μ l per sumuran) dan diinkubasi pada 37°C selama 2 jam. Setelah itu, sumuran dicuci dengan bufer PBST sebanyak 3 kali. *Alkaline phosphatase* (Sigma, USA) pada pengenceran 10^{-4} dalam bufer ECI sebanyak 100 μ l ditambahkan ke dalam sumuran, diinkubasi pada 37°C selama 2 jam, lalu dicuci dengan PBST. Larutan PNP (1 mg/ml *p-nitrophenyl phosphate* dalam 10% *triethanolamine*, pH 9,8) sebanyak 100 μ l ditambahkan ke dalam sumuran dan diinkubasi sampai muncul warna kuning (sekitar 30 menit). Nilai absorbansi diukur pada 405 nm dengan ELISA Reader.

2.6 Deteksi dengan RT-PCR

2.6.1 Ekstraksi RNA Total

Total RNA diekstraksi dari jaringan daun tanaman cabai bergejala *Palerovirus* menggunakan *RNeasy Plant Mini Kits* (Phile Korea Technology). Sebanyak 0.1 g sampel daun digerus menggunakan pistil dan mortar dengan bantuan Nitrogen cair hingga terbentuk bubuk. Serbuk hasil gerusan ditambahkan 450 μ l bufer lisis (XPRB bufer) yang mengandung *mercaptoethanol* 1%, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* (volume 1.5 ml). Hasil ekstraksi dituang ke dalam *filter column* warna putih yang diletakkan di atas tabung koleksi (*collection tube*), kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan menggunakan alat sentrifuse pada kecepatan 13000 rpm. Supernatan (cairan) dipindah dengan cara dipipet tanpa menyentuh pelet (endapan) dari tabung koleksi ke dalam tabung *ependorf* (volume 2 ml) baru sambil diukur volumenya. Kemudian ditambahkan etanol absolut 96% sebanyak $\frac{1}{2}$ volume dari supernatan dan dicampur dengan rata. Sampel dituangkan ke dalam XPLR *minicolumn* warna merah yang telah diletakkan dalam tabung koleksi (Volume 2 ml), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 1

menit. Cairan hasil sentrifugasi dibuang karena RNA sudah terjerap pada XPPLR *minicolonn*, kemudian ditambahkan *wash buffer* 1 sebanyak 500 µl kedalam XPPLR *minicolonn* dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Selanjutnya cairan dalam tabung koleksi dibuang dan ditambahkan *wash buffer* 2 sebanyak 750 µl kedalam XPPLR *minicolonn*, sentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 1 menit kemudian cairannya dibuang. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 3 menit tanpa penambahan cairan untuk memastikan bahwa XPPLR *minicolonn* benar-benar kering. Kolom dimasukkan ke dalam tabung mikro 2ml baru, kemudian ditambahkan 30 µl RNase free water dan diamkan selama 1 menit. Kolom tersebut kemudian disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 2 menit untuk mendapatkan RNA murni. RNA total yang terbentuk disimpan pada suhu -80°C dan dipakai sebagai bahan RT PCR.

2.6.2 Sintesis Complementary (c) DNA

RNA total yang diperoleh selanjutnya ditranskripsikan menjadi DNA komplemen (cDNA) dengan menggunakan teknik *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) pada mesin PCR. Komposisi reagen RT dengan total volume 10 µl terdiri atas 2 µl templat RNA, 2 µl bufer RT 5_x, 0.35 µl DTT (*dithiothreitol*) 50 mM, 0.5 µl dNTP (*deoksiribonukleotida triphosphate*) 10 mM, 0.35 µl M-MuLV, 0.35 µl ribolok (RNA-se *inhibitor*), 0.75 µl oligo d(T) 10 µM, dan 3.7 µl H₂O. Komposisi ini hanya berlaku untuk satu kali reaksi RT. Reaksi RT dilakukan dalam sebuah *Automated Thermal Cycler* (*Gene Amp PCR System 9700 thermocycler; perkin-Elmercorp.*, Norwalk, CT) diprogram untuk satu siklus pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 60 menit, dan 70°C selama 15 menit. cDNA hasil reaksi digunakan sebagai template pada reaksi PCR.

2.6.3 Amplifikasi Palerovirus

Hasil cDNA dalam proses RT kemudian diperbanyak molekul DNA melalui proses PCR. Beberapa komponen yang dibutuhkan untuk satu kali reaksi PCR antara lain sebanyak 7,5 µl H₂O, 12,5 µl *GoTag Green Master Mix* 2x (Fermentas USA), 1 µl primer PLF, 1 µl primer PLR, dan 3 µl cDNA dengan total 25 µl. Primer yang digunakan yaitu primer F dengan susunan basa atau sekuen nukleotida PLF 5' - : ACDGAYTCYGGTTTYGACTGG - 3' dan primer R dengan sekuen nukleotida PLR : 5' - TCTGAWARASWCGGCCGAASGTGA - 3'. Kedua primer tersebut merupakan primer yang dapat mengamplifikasi bagian coat protein (CP) virus yang berukuran 650 bp (Corre^a *et al.* 2005). Program amplifikasi terdiri dari 35 kali (siklus) dengan beberapa tahap sebagai berikut, denaturasi pada 94°C selama 45 detik, primer annealing pada 55°C selama 45 detik, ekstensi 72 °C selama 90 detik, dilanjutkan dengan ekstensi final pada 72°C selama 10 menit.

2.6.4 Visualisasi Hasil RT-PCR

Elektroforesis gel Agarose dilakukan untuk mengetahui hasil PCR secara visual. Gel Agarose dibuat dengan 0.25 g Agarose dicampur dengan 25 ml bufer TBE 0.5x dan dipanaskan selama 2 sampai 3 menit sampai larut. Setelah tercampur larutan tersebut didiamkan hingga suhunya hangat dan ditambahkan 1.25 µl *Etidium bromide* pada setiap 10 ml larutan Agarose. Larutan dituang ke dalam cetakan dan ditunggu hingga agar mengeras kurang lebih satu jam. Setelah mengeras gel Agarose kemudian dipindahkan pada alat elektroforesis. Produk PCR dan DNAMarker, masing-masing 10 µl dimasukkan kedalam sumuran yang telah disiapkan pada gel Agarose. Elektroforesis dilakukan selama 60 menit

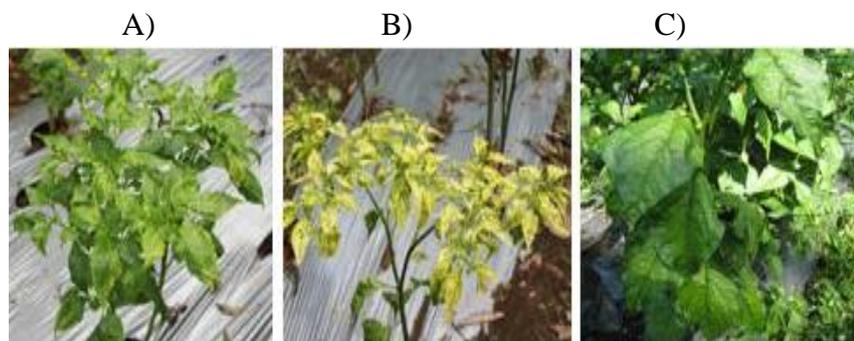
dengan tegangan 50 Volt. DNA yang telah dielektroforesis kemudian divisualisasi dengan *UV transiluminator*.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penentuan Daerah Sebar Penyakit Virus di Desa Kerta, kecamatan Payangan

Hasil pemetaan daerah sebar virus tanaman cabai di Desa Kerta payangan didapatkan bahwa ada tujuh lokasi pertanaman cabai milik petani yang terinfeksi virus di atas 50% yang dijadikan sebagai sentra penelitian.

Selama survei dilakukan untuk memetakan penyakit mosaik, kuning dan klorosis di daerah sentra produksi cabai di Desa Kerta Payangan yaitu: dari lokasi I sampai dengan lokasi VII ditemukan, bahwa ada tiga jenis penyakit virus utama yang menyerang tanaman cabai yaitu virus dengan gejala mosaik, kuning dan klorosis. Seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Virus utama yang menyerang tanaman cabai di Desa Kerta dengan gejala: mosaik (A), kuning (B) dan klorosis (C)

Ke tiga penyakit tersebut tersebar secara merata di seluruh sentra penanaman cabai di Desa Kerta. Berdasarkan pengambilan sampel pada tanaman cabai yang menunjukkan gejala mosaik kuning maupun klorosis di masing-masing sentra penanaman cabai tersebut diperoleh hasil persentase tanaman terserang virus yang menunjukkan gejala mosaik kuning dan klorosis seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penyebaran penyakit virus mosaik kuning dan klorosis di Desa Kerta.

Lokasi	Populasi tanaman	Persentase tanaman bergejala			
		Sehat	Mozaik	Kuning	Klorosis
LOKASI I	1544	32.14	30.57	27.68	9.61
LOKASI II	1116	28.97	37.33	24.83	8.87
LOKASI III	898	30.11	40.21	25.11	4.57
LOKASI IV	2497	22.98	41.11	19.98	15.93
LOKASI V	1132	29.3	32.94	26.21	11.55
LOKASI VI	832	33.91	40.08	19.22	6.79
LOKASI VII	679	27.11	33.32	22.38	17.19
Rata-rata	1242.57	29.21	36.51	23.63	10.64

Penyakit mosaik, kuning dan klorosis tersebar secara merata di seluruh sentra penanaman cabai di Desa Kerta, namun penyebaran penyakit mosaik jauh lebih tinggi dibandingkan dengan penyakit virus kuning dan klorosis. Tingginya tanaman cabai yang menunjukkan gejala mosaik disebabkan karena gejala mosaik diinduksi oleh beberapa jenis virus, seperti CMV (*Cucumber mosaic virus*), TMV (*Tobacco mosaic virus*), dan ChiVMV (*Chilli Veinal Mottle Virus*).

Berdasarkan hasil uji serologi yaitu dengan teknik ELISA pada penelitian ini ditemukan beberapa virus yang berasosiasi dengan penyakit mosaik pada tanaman cabai yaitu TMV, ChiVMV, dan CMV, sedangkan jenis virus yang berasosiasi dengan penyakit kuning adalah PepYLCV (Tabel 2). Sedangkan untuk uji molekuler virus klorosis berasosiasi dengan *Polerovirus* yang dilakukan dengan teknik RT-PCR, seperti terlihat pada Gambar 2.

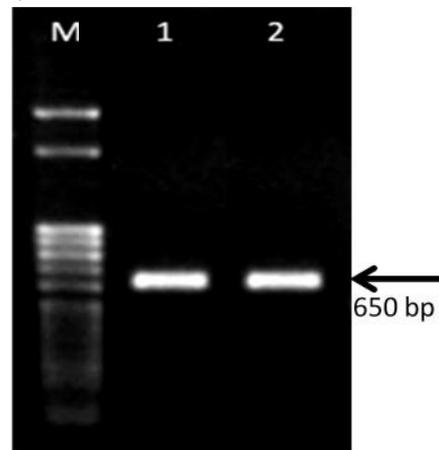
Tabel 2. Rata-rata nilai absorbansi (405 nm) sampel yang berasal dari 7 lokasi pengamatan tanaman cabai di Desa kerta Payangan pada reaksi ELISA dengan menggunakan beberapa antiserum.

Lokasi	Antiserum			
	CMV	TMV	CHIVMV	PEPYLCV
I	0,393	0,342	0,332	0,473
II	0,411	0,321	0,341	0,435
III	0,398	0,338	0,401	0,453
IV	0,381	0,352	0,376	0,466
V	0,420	0,375	0,365	0,475
VI	0,389	0,344	0,412	0,431
VII	0,424	0,365	0,416	0,455
KONTROL NEGATIF	0,106	0,112	0,121	0,118
BUFER	0,124	0,108	0,122	0,116
KONTROL POSITIF	0,417	0,360	0,414	0,480

Keterangan: Reaksi ELISA adalah positif apabila nilai absorbansi sampel sama dengan 2 x atau lebih besar dari nilai absorbansi control negative atau buffer.

Berdasarkan hasil uji ELISA didapatkan bahwa sampel yang dikoleksi berdasarkan atas gejala yang diamati terbukti bahwa untuk gejala mosaik pada tanaman cabai berasosiasi dengan CMV, TMV, dan ChiVMV, sedangkan untuk gejala kuning berasosiasi hanya dengan PepYLCV. Hasil ini sama dengan hasil penelitian Nyana (2012), yang melakukan penelitian tentang insiden penyakit yang menginfeksi tanaman cabai di sentra penanaman cabai diseluruh kabupaten dan kota di Bali, yaitu rata-rata tanaman cabai yang terinfeksi CMV (29,37%), TMV (10,05% dan ChiVMV (5,54%). Untuk uji molekuler terhadap sampel yang bergejala klorosis pada tanaman cabai didapatkan bahwa fragmen DNA berukuran sekitar 650 bp yang

dimiliki oleh *Polerovirus* berhasil diamplifikasi (Gambar 2). Tanaman cabai yang memperlihatkan gejala menguning karena klorosis antar tulang daun yang banyak ditemukan di daerah Payangan, Bali berasosiasi dengan infeksi *Polerovirus* (Suwastika dkk., 2012).



Gambar 2. Visualisasi fragmen Gen Coat Protein hasil RT-PCR menggunakan primer spesifik untuk *Luteovirus* dari sampel tanaman cabai yang memperlihatkan gejala (kolom 1 dan 2). M, penanda DNA, 1 kb (Promega, USA).

3.2 Hasil Panen Tanaman Cabai (ton/ha)

Rata-rata hasil buah panen cabai menunjukkan bahwa hasil panen tertinggi didapatkan pada tanaman sehat (16,01 ton/ha), gejala klorosis (8,42 ton/ha), gejala kuning (3,07 ton/ha), dan paling rendah ditunjukkan oleh gejala mosaik (2,52 ton/ha) seperti terlihat pada Tabel 3. Terjadinya kehilangan hasil akibat infeksi virus dibandingkan dengan tanaman sehat adalah untuk gejala klorosis sebesar 47,40%, kuning 80,82% dan mosaik 84,25%. Tingginya kehilangan hasil akibat dari infeksi virus mosaik, karena sesuai dengan hasil pengamatan gejala mosaik memiliki nilai infeksi yang tertinggi.

Tabel 3. Rata-rata hasil tanaman cabai yang berasal dari 7 lokasi di Desa kerta Payangan.

Lokasi pengambilan sampel	Rata-rata hasil/ha (ton/ha)			
	Sehat	Mosaik	Kuning	Klorosis
LOKASI I	5,75	2,69	2,99	5,50
LOKASI II	5,31	2,57	2,66	6,12
LOKASI III	8,25	2,05	3,25	10,95
LOKASI IV	5,41	2,02	2,68	5,78
LOKASI V	5,16	2,78	3,49	5,23
LOKASI VI	6,28	2,34	3,76	12,42
LOKASI VII	5,89	3,19	2,65	12,97
Rata-rata	6,01	2,52	3,07	8,42

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Tanaman cabai di Desa Kerta yang bergejala mosaik diinfeksi oleh virus CMV, TMV dan ChiVMV; yang bergejala kuning diinfeksi oleh PepYLCV dan yang berejala klorosis diinfeksi oleh *Polerovirus*.
2. Tanaman cabai dengan gejala mosaik terjadi kehilangan hasil yang teringgi yaitu sebesar 84,25%, kemudian diikuti oleh gejala kuning 80,82% dan gejala klorosis 47,40%.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian serupa di sentra penanaman cabai di seluruh kabupaten dan kota di Bali untuk mengetahui lebih pasti tentang dominasi virus yang menginfeksi tanaman cabai.

Daftar Pustaka

- [DBPH] Direktorat Jenderal Bina Produksi Hortikultura, 2009, Luas Panen, Rata-rata Hasil dan Produksi Tanaman Hortikultura di Indonesia, Departemen Pertanian, Jakarta, Balai Penelitian Hortikultura Lembang 1982/1983.
- Direktorat Jenderal Hortikultura, 2010, Statistik Hortikultura Tahun 2010, Direktorat Jenderal Hortikultura, Departemen Pertanian.
- Kusandriani, Y. 1996. Botani Tanaman Cabai Merah. hal.20-27. Dalam Duriat, A.S., A.W.W. Hadisoeganda., T.A.Soetiaso dan L. Prabaningrum. 1996. Teknologi Produksi Cabai Merah. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura.
- Nyana, D, N. 2012. Isolasi dan Identifikasi *Cucumber Mosaic Virus* untuk Mengendalikan Penyakit Mosaik pada Tanaman Cabai (*Capsicum spp.*), Disertasi Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Sherly, S.P., T. Ariarti, E. Yuni, F. P. H. Rudi. 2010. Budidaya dan Pascapanen Cabai Merah, Badan Pengembangan dan Penelitian Balai Pertanian Balai Pengkajian Teknologi Jawa Tengah, 68 hal.
- Suastika, G., H. Sedyo, I D.N. Nyana, T. Natsuaski. 2012. Laporan Pertama tentang Infeksi *Polerovirus* pada Tanaman Cabai di Daerah Bali, Indonesia, J, Fitopatologi Indonesia (20) 5 : 151-154.
- Syamsidi, S., R. T. Hasdiatono, dan S. S. Putra, 1997, Ketahanan cabai merah terhadap *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), pada umur tanaman pada saat inokulasi.