

Deteksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) pada Gulma *Commelina* spp. di Pertanaman Cabai (*Capsicum* spp.) Melalui Teknik Uji Serologi dan Molekuler

NI KADEK VENIARI¹
KETUT AYU YULIADHI¹
I DEWA NYOMAN NYANA^{1*)}
GEDE SUASTIKA²

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

²IPB-Institut Pertanian Bogor

*) Email: dewanyana@yahoo.com

ABSTRACT

Detection of *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) and *Chilli Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) on Weed *Commelina* spp. in Cropping Chilli Pepper (*Capsicum* spp.) Through Serology and Molecular Test

This study aims to determine the type of weed *Commelina* spp. which became an alternative host *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Chili veinal mottle virus* (ChiVMV) in pepper, as well as the detection of CMV and ChiVMV which infects the weed *Commelina* spp. use molecular methods. DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) and molecular techniques through RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) are used. Research activities include (1) Survey mosaic symptoms and disease incidence in the field; (2) Identification the type of weed that grows on pepper plants area; (3) Preservation of samples *Commelina* spp. weed and chili which virus symptomatic; (4) Test through DAS-ELISA serology; (5) Molecular detection by RT-PCR.

The research proves that the weed *Commelina* spp. can be alternate hosts ChiVMV and CMV, also CMV and ChiVMV can infect weeds *Commelina* spp in chili cropping. DAS-ELISA test results show samples of the weed *Commelina* spp. and chili infected with *Cucumber mosaic virus* (CMV) and *Chili veinal mottle virus* (ChiVMV). RT-PCR technique successfully applying DNA target fragment size of 657 bp and 900 bp for CMV and ChiVMV accordance with the specific primers used.

Keyword : *Chili pepper, CMV, ChiVMV, weeds commelina*

I. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

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). Salah satu masalah dalam peningkatan produksi dan kualitas

cabai adalah adanya serangan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) yang terjadi mulai dari persemaian sampai pasca panen. Diantara OPT utama yang paling besar menurunkan produksi dalam usahatani cabai adalah adanya serangan patogen dari golongan virus. Penurunan hasil panen akibat infeksi virus pada cabai berkisar antara 32% sampai 75% (Sulyo, 1984). Hasil penelitian Sari dkk. (1997) menunjukkan bahwa infeksi virus dapat menurunkan jumlah dan bobot buah per tanaman berturut-turut sebesar 81,4% dan 82,3%. Nyana (2012) menyatakan bahwa infeksi virus pada tanaman cabai dapat menurunkan hasil mencapai 68,22%.

Hasil penelitian Nyana (2012) menyatakan bahwa ada dua jenis virus utama yang menyerang tanaman cabai, yaitu dengan gejala mosaik (57,4%) yang berasosiasi dengan infeksi tiga jenis virus yang berbeda, yaitu *Tobacco mosaic virus* (TMV) dari golongan *Tobamovirus*, *Cucumber mosaic virus* (CMV) dari golongan *Cucumovirus* atau *Chili veinal mottle virus* (ChiVMV) dari golongan *Potyvirus* dan, gejala kuning. (9,2%) yang di induksi oleh *Pepper yellow leaf curl virus* (PepYLCV), dari golongan *Begomovirus*. Tanaman yang terinfeksi virus sangat sulit untuk dikendalikan walaupun tanaman inangnya telah dimusnahkan, karena sumber inokulum dan vektor banyak terdapat di luar pertanaman cabai.

Virus penyebab penyakit mosaik mempunyai kisaran inang yang luas termasuk beberapa gulma yang dapat menjadi inang perantara dan dapat menyediakan sumber inokulum kapan saja. Gulma yang tumbuh berdekatan dengan tanaman budidaya dapat menyebabkan adanya persaingan atau kompetisi sebagai interaksi dari tanaman dengan gulma (Moenandir, 2010).

Sembiring (2007) menemukan 35 jenis gulma yang berasosiasi dengan tanaman cabai yaitu *A. conyzoides*, *Borreria alata*, *B. leavis*, *Cleome rutidosprema*, *Croton hirtus*, *Callopogonium muconoides*, *Mikania micrantha*, *Mimosa invisa*, *Oxalis barrelieli*, *Phyllanthus niruri*, *Physalis angulata*, *Stachytarpetta indica*, *Spigelia anthelmia*, *Synedrella nodiflora*, *Axonophus compressus*, *Eliusine indica*, dan *Eragrotis tanela*. Gulma yang terinfeksi virus memiliki gejala yang berbeda-beda, tergantung dari jenis virus yang menginfeksi (Palukaitis, 1997).

Berdasarkan penelitian pendahuluan, ditemukan jenis gulma *Commelina* spp. yang berada di sekitar pertanaman cabai di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar yang bergejala mosaik, yang diduga diinduksi oleh CMV atau ChiVMV dengan gejala yang mirip dengan gejala mosaik yang dijumpai pada tanaman cabai.

Informasi tentang kisaran inang virus pada kelompok gulma yang umumnya tumbuh di sekitar pertanaman cabai masih terbatas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah virus dengan gejala mosaik yang dijumpai pada gulma *Commelina* spp. sama dengan gejala virus yang dijumpai pada tanaman cabai. Penelitian ini selanjutnya diuji dengan uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) maupun uji molekuler dengan teknik *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Berdasarkan hal tersebut, maka Universitas Udayana bekerjasama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB) melakukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk mengetahui kesamaan karakteristik gejala infeksi virus CMV dan ChiVMV pada gulma *Commelina* spp. dan tanaman cabai serta mengetahui bahwa gulma *Commelina* spp. yang berpotensi sebagai inang alternatif *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Chili veinal mottle virus* (ChiVMV) pada tanaman cabai.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dirumuskan dalam penelitian ini yaitu apakah CMV dan ChiVMV pada gulma *Commelina* spp. identik dengan CMV dan ChiVMV pada tanaman cabai secara serologi dan molekuler? dan apakah gulma *Commelina* spp. dapat menjadi inang alternatif *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) pada pertanaman cabai?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mendeteksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) yang menginfeksi gulma *Commelina* spp. pada pertanaman cabai secara serologi dan molekuler dan mengetahui bahwa gulma *Commelina* spp. yang berpotensi sebagai inang alternatif *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) pada tanaman cabai.

1.4 Hipotesis

Beberapa hipotesis yang diajukan dan akan dibuktikan dalam penelitian ini adalah CMV dan ChiVMV pada gulma *Commelina* spp. identik dengan CMV dan ChiVMV pada pertanaman cabai secara serologi dan molekuler dan Gulma *Commelina* spp. dapat berpotensi menjadi inang alternatif *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) pada cabai.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian diawali dengan survei ke beberapa pertanaman cabai di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar, dilanjutkan dengan kegiatan identifikasi dan deteksi di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Unud, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilaksanakan sejak bulan Oktober sampai Desember 2013.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa satu set cawan petri, CaCl₂ (silica gel), kertas saring, *GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit* (Thermo Scientific, USA), Reagen DAS-ELISA, RT-PCR, dan PCR. Alat-alat yang digunakan

dalam penelitian ini berupa mortar, uv transilluminator, elektroforator, timbangan digital, eppendorf eporator, mesin PCR, satu set cawan petri, gunting, cutter, pinset, gelas ukur, erlenmeyer, becker glass, pipet mikro, lemari es, kamera digital, dan alat tulis.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan penelitian meliputi pengambilan sampel gulma *Commelina* spp. dan cabai dengan gejala mosaik dilokasi pertanaman cabai petani di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. Identifikasi tanaman sampel (cabai dan *Commelina* spp.) yang diduga terinfeksi virus mosaik dilakukan di Laboratorium Fitopatologi Konsentrasi Perlindungan Tanaman Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Deteksi serologi dan molekuler dilakukan di Laboratorium Virologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Institut Pertanian Bogor (IPB).

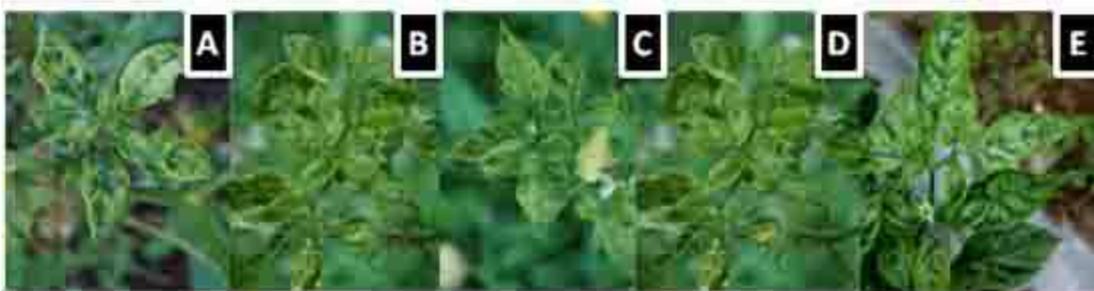
Deteksi CMV dan ChiVMV secara molekuler pada tanaman sampel gulma *Commelina* spp. dan cabai dilakukan melalui teknik RT-PCR. Pelaksanaan RT-PCR meliputi ekstraksi RNA total dari jaringan gulma *Commelina* spp. dan cabai yang bergejala mosaik untuk memisahkan RNA tanaman dan RNA virus dengan menggunakan reagen *GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, USA)*, dengan menggunakan hasil ekstraksi total RNA yang diekstraksi dari gulma *Commelina* spp. dan cabai, dibentuk cDNA pada reaksi balik atau *Reverse Transcription (RT)* dengan sikuen nukleotida primer yang spesifik untuk CMV yaitu CMV-IF (5'-ATGGACAAATCTGAATCAACCAGTG-3') dan CMV-IR (5'-TCAA ACTGGGAGCACCCCAGATGTG-3') dengan panjang basa sebesar 480 bp, sedangkan pasangan primer untuk ChiVMV yaitu : *ChiVMV F Ind* (5'- AACCTGAG CGTATAGTTTCA-3') dan *ChiVMV R Ind* (5'- TACGCTTCAGCAA GATTGCT-3') dengan panjang basa sebesar 900 bp. Urutan sikuen primer didesain berdasarkan sikuen nukleotida RNA-2 dari CMV isolat cabai asal Thailand dengan nomor aksesori FR820451 yang tersedia di GenBank.

3. Hasil dan Pembahasan

Sampel *Commelina* spp. dan cabai diperoleh di lahan petani di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil gulma *Commelina* spp. dan cabai yang bergejala mosaik seperti terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Karakteristik gejala mosaik pada gulma *Commelina* spp.



Gambar 2. Karakteristik gejala mosaik pada tanaman cabai

Gejala mosaik pada gulma *Commelina* spp. menunjukkan gejala mosaik hijau tua pada daun serta warna tulang daun yang hijau tua. Gejala mosaik pada gulma *Commelina* spp. tersebut sangat identik dengan gejala mosaik pada tanaman cabai yang dapat menyebabkan berbagai perubahan pada daun seperti terjadinya perubahan warna (mosaik atau belang). Kadang-kadang disertai dengan perubahan bentuk (malformasi) pada daun seperti menggulung, menyempit, mengkerut atau berubah seperti tali sepatu atau *shoestring*, berukuran lebih kecil dan mengalami nekrosis (membentuk cincin-cincin nekrotik). Jika menyerang tanaman muda, pertumbuhan tanaman terhambat dan akhirnya mati (MacNab *et al.*, 1983). Gejala yang diamati pada tanaman cabai di lapangan berupa gejala mosaik hijau tua dan muda pada daun serta sekitar tulang daun berwarna lebih hijau dari pada lamina daun. Lamina daun seperti melepuh pada daun yang berwarna lebih hijau muda. Daun pada tanaman cabai juga menunjukkan gejala malformasi dimana pertumbuhan lamina terhambat bahkan tidak terbentuk sama sekali sehingga bentuk daun mirip seperti tali sepatu.

Gulma *Commelina* spp. dan cabai dengan gejala mosaik yang ditemukan di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar tersebut sangat identik dengan gejala belang hijau tua dan hijau muda pada daun-daunnya. Nyana *et al.*, (2010) menyatakan bagian daun cabai yang berwarna belang hijau tua cenderung agak lebih tebal disertai dengan perubahan bentuk daun (cekung, keriting atau menggulung) dibandingkan dengan daerah daun berwarna hijau muda. Gejala tersebut tidak berbeda jauh dengan gejala pada daun cabai dan gulma *Commelina* spp. yang telah berhasil ditemukan dan diidentifikasi di lapangan. Bagian daun cabai yang berwarna belang hijau tua yang disertai daun menggulung keatas akan terasa lebih

tebal. Begitu juga dengan daun gulma *Commelina* spp. yang berwarna belang hijau tua yang disertai tulang daun menonjol berwarna hijau dan daun menggulung keatas akan terasa agak lebih tebal dibandingkan dengan daun yang berwarna hijau muda.

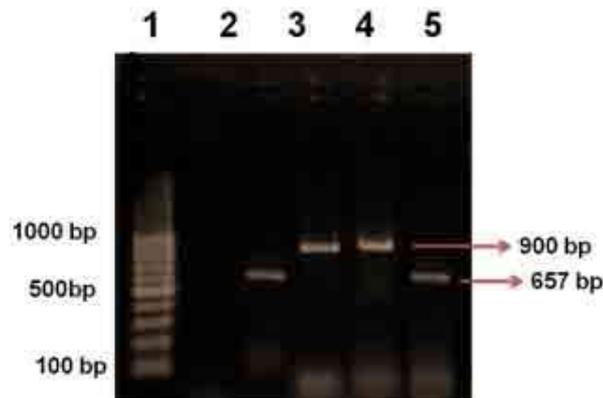
Variasi gejala mosaik tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur tanaman, jenis tanaman, serta genotip tanaman. Hal tersebut yang menyebabkan perbedaan gejala mosaik yang muncul pada tanaman cabai dan gulma *Commelina* spp. Hal lain yang menyebabkan variasi gejala adalah faktor lingkungan diantaranya kesuburan tanah dan iklim (Matthews, 1992). Berdasarkan pengamatan di lapangan, diperoleh diagnosis identifikasi suatu penyakit yaitu gejala mosaik pada tanaman cabai dan gulma *Commelina* spp. berasosiasi dengan virus CMV dan ChiVMV. Namun, proses pengamatan gejala saja belum mampu dalam menentukan virus penyebab suatu penyakit pada tanaman, karena gejala yang diduga disebabkan oleh virus saat pengamatan bisa saja disebabkan oleh patogen lain, toksisitas serangga maupun pengaruh faktor abiotik seperti kelebihan atau kekurangan unsur hara, stress lingkungan dan sebagainya (Agrios, 2005). Selain itu, penyakit pada tanaman dapat terinfeksi oleh lebih dari satu macam virus, serta virus yang sama dapat menyebabkan gejala yang berbeda, oleh karena itu diperlukan deteksi virus pada jaringan tanaman (Sutrawati, 2010). Deteksi virus dapat dilakukan dengan metode RT-PCR.

3.1 Hasil Deteksi CMV dengan RT-PCR

Setelah dilakukan proses deteksi virus CMV dengan uji ELISA, selanjutnya diagnosis penyebab mosaik pada tanaman gamal dan cabai tersebut dilakukan dengan teknik *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan menggunakan tanaman sampel yang memiliki nilai rata-rata absorban tertinggi dari uji ELISA sebelumnya. Menggunakan hasil ekstraksi total RNA pada gulma *Commelina* spp. dan cabai menggunakan *GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit* (Thermo Scientific, USA), diperoleh cDNA pada reaksi *reverse transcriptase*. Kemudian selanjutnya cDNA yang telah terbentuk akan digunakan sebagai template dalam reaksi PCR dengan pasangan primer CMV-CP-F dan CMV-CP-R dengan produk PCR 657 bp serta ChiVMV-CP-R dan ChiVMV-CP-F dengan produk PCR 900 bp. Teknik RT-PCR dengan menggunakan primer spesifik untuk CMV berhasil mengamplifikasi DNA dengan panjang basa sebesar 657 bp dan 900 bp dari sampel daun gulma *Commelina* spp. dan cabai (Gambar 3).

Pada hasil visualisasi RT-PCR (Gambar 3) tersebut membuktikan bahwa metode RT-PCR dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan CMV dan ChiVMV penyebab gejala mosaik pada gulma *Commelina* spp. dan cabai. Taufik *et al.*, (2010) melaporkan pula deteksi CMV dan ChiVMV melalui teknik RT-PCR menggunakan primer spesifik yang berhasil mengamplifikasi DNA virus dari beberapa sampel tanaman cabai. Teknik tersebut memiliki keunggulan karena cukup akurat, cepat dan sangat sensitif untuk mendeteksi virus tanaman termasuk *Cucumovirus* dalam konsentrasi rendah (Nakara *et al.*, 1999). Pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi virus

CMV pada tanaman gamal dan cabai tersebut berdasarkan sekuen gen CP dari CMV secara utuh sehingga produk PCR diprediksi sepanjang 657 bp dan gen CP ChiVMV (Nyana, 2012).



Gambar 3. Hasil visualisasi RT-PCR gen CP CMV dan ChiVMV isolate *Commelina* spp. dan cabai dengan menggunakan primer CMV-CP-F dan CMV-CP-R serta ChiVMV-CP-F dan ChiVMV-CP-R. (1). Marker DNA 100bp (Promega, USA), (2). Kontrol negatif; (3). Isolat *Commelina diffusa* CMV; (4). Isolat *Commelina erecta* ChiVMV; (5). Isolat cabai ChiVMV; (6). Isolat cabai CMV.

Berdasarkan atas pengamatan gejala di lapangan, uji serologi dan molekuler yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa gejala mosaik pada gulma *Commelina* spp. dan cabai tersebut diinfeksi oleh virus CMV dan ChiVMV. Melalui penelitian ini, maka keberadaan gulma *Commelina* spp. sebagai gulma yang berpotensi sebagai inang alternatif virus pada pertanaman cabai perlu diwaspadai karena keberadaan sepanjang tahun meskipun tanaman cabai serta gulma telah dikendalikan.

4. Kesimpulan

Gulma *Commelina* spp. di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar dengan gejala mosaik diinduksi oleh CMV (*Cucumber Mosaic Virus*) dan ChiVMV (*Chili vein mottle virus*). Dan Virus CMV dan ChiVMV yang menginfeksi gulma *Commelina* spp. di Dusun Marga, Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar identik dengan virus CMV dan ChiVMV yang menginfeksi tanaman cabai.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Fitrianingrum Kurniawati, S.P., M.Si yang telah mengarahkan, membimbing dan membantu memfasilitasi penelitian tersebut serta semua team Laboratorium Fitopatologi Konsentrasi Perlindungan Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan

Laboratorium Virologi Jurusan Hama dan Penyakit IPB (Institut Pertanian Bogor) telah membantu penelitian tersebut.

Daftar Pustaka

- [DBPH] Direktorat Jenderal Bina Produksi Hortikultura. 2008. Luas panen, Ratarata Hasil dan Produksi Tanaman Hortikultura di Indonesia. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Agrios, G.N., 2005, *Plant Pathology*, 5th edn, Elsevier Academic Press, Burlington, Mass.
- MacNab, A.A., A.F. Sherf and J.K. Springer. 1983. *Identifying Diseases of Vegetables*. The Pennsylvania State University.
- Matthews, R.E.F. 1992. *Fundamentals of Plant Virology*. Academic Press Inc. San Diego. 403p.
- Nakara, K., T. Hataya, and L. Uyeda. 1999. A Simple, Rapid Method of Nucleic Acid Extraction without Tissue Homogenization for Detecting Viroids by Hybridization and RT-PCR. *Jurnal Virol. Methods*. 77:47-59.
- Nyana, D, N, 2012, Isolasi dan Identifikasi *Cucumber Mosaic Virus* untuk Mengendalikan Penyakit Mosaik pada Tanaman Cabai (*Capsicum spp.*), Disertasi Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Nyana, D.N., G. Suastika, I.G.R.M. Temaja dan D.N. Suprpta. 2012. Protective Mild Isolates of Cucumber Mosaic Virus Obtained from Chili pepper in Bali. *Jurnal Agricultural Science Research*. 2(6): 280-284.
- Sari, C. I. N., R. Suseno, Sudarsono, M. Sinaga. 1997. Reaksi Sepuluh GalurCabai Terhadap Infeksi Isolat *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potatovirus Y* (PVY) asal Indonesia. In: *Prosiding Konges Nasional XIV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Palembang 27-29Oktober 1997. pp: 116-119..
- Sembiring L. Setyowati N, Nurjanah U. 2007. Pergeseran gulma pada tanaman cabai besar akibat perbedaan waktu pengendalian gulma. *Jurnal Ilmu-ilmuPertanian Indonesia* No.1:21-27.
- Sutrawati. M. 2010. Deteksi Serologi Virus Penyebab Penyakit Mosaik Pada Tanaman Cabai dengan DAS-ELISA. *Jurnal Agriculture* 17 (1) : 625-630.
- Taufik, M., Rahman. A., Wahab. A., dan Hidayat. S.H. 2010. Mekanisme Ketahanan Terinduksi oleh Plant Growth Promotting Rhizobacteria (PGPR) pada Tanaman Cabai Terinfeksi Cucumber Mosaic Virus (CMV). *Jurnal Hortikultura*. 20 (3):274-283.