

Deteksi Molekuler *Cucumber Mosaic Virus* (Cmv) pada Tanaman Gamal (*Gliricidia Sepium*) Sebagai Barrier pada Pertanaman Cabai

IDA BAGUS GDE PRANATAYANA
I GEDE RAI MAYA TEMAJA*)
KETUT AYU YULIADHI¹
I DEWA NYOMAN NYANA¹
GEDE SUASTIKA²

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

²IPB-Institut Pertanian Bogor

*) Email: tderai@yahoo.com

ABSTRACT

Molecular Detection of *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) In *Gliricidia* Plant (*Gliricidia sepium*) as Barrier at Chili pepper Crop

The aims of the study are in order to symptoms characteristic identity the CMV infection on gliricidia plant and symptoms characteristic the CMV infection on chili pepper plant, and order to presence identity the CMV on gliricidia plant and presence the CMV on chili papper plant at Kerta village base on molecular analysis. The serology method was used to detect CMV virus is DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-Enzyme Link Immunosorbent Assay*) and RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) was used for molecular analysis. The study include 1) the observation of mosaic in field, 2) preservation of plant samples (chili pepper and gliricidia) infected with mosaic virus, 3) serology test with DAS-ELISA, 4) molecular detection with RT-PCR. The research proved that symptoms characteristic the CMV infection on gliricidia plant identical with symptoms characteristic the CMV infection on chili pepper plant and presence the CMV on gliricidia plant identical with presence the CMV on chili pepper plant. symptoms of mosaic characteristic in gliricidia and chili pepper found on the field among others, mosaic (striped), contract and roll with variations of symptoms that light green mosaic with chlorotic and dark green mosaic symptoms in gliricidia and chili pepper plants. DAS-ELISA test results showed gamal and chili pepper samples infected positive of *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). RT-PCR technique successfully amplify the target DNA fragment size of 657 bp. Based on these studies, the farmers need to be aware of the existence of the plant used as a plant barrier on chilli crop, because gliricidia potential as alternative hosts of CMV.

Key word : *Chili pepper, cucumber mosaic virus, gliricidia, molecular*

1. Pendahuluan

Tanaman gamal (*Gliricidia sepium*) merupakan jenis tanaman *leguminosa* yang mempunyai kemampuan tumbuh yang cepat di daerah kering dan mempunyai nilai serbaguna yaitu mampu mengikat nitrogen, sumber kayu bakar, pakan ternak, pupuk

organik, pohon naungan, dan bahan bangunan (Restu dan Mappangaja, 2005). Tanaman gamal dapat dikategorikan sebagai pohon yang selalu hijau (*evergreen*). Stewart (1996) menyatakan bahwa gamal merupakan tanaman yang tidak mudah rusak (toleran) serta relatif aman dari serangan hama berupa aphid dan beberapa jenis serangga, dibandingkan dengan lamtoro yang mudah rusak oleh serangan hama kutu loncat (*Heteropsylla cubana*) di berbagai belahan dunia (Suttie, 2009).

Pada saat dilakukan survei bulan Mei 2014 pada lokasi pertanaman cabai petani di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar, Bali, ditemukan adanya tanaman gamal yang bergejala penyakit mosaik yang hampir sama dengan gejala penyakit mosaik yang disebabkan oleh infeksi virus pada tanaman cabai. Tanaman gamal tersebut biasa digunakan oleh petani sebagai barier pada pertanaman cabai.

Tanaman cabai dengan gejala mosaik pada umumnya diinfeksi oleh beberapa jenis virus seperti CMV (*Cucumber Mosaic Virus*), TMV (*Tobacco Mosaic Virus*) dan ChiVMV (*Chilli Veinal Mottle Virus*). Nyana (2012) menyatakan bahwa CMV memiliki tingkat infeksi paling tinggi di seluruh sentra pertanaman cabai di seluruh Kabupaten dan Kota di Bali dengan rata-rata prevalensi 29,37%, diikuti oleh TMV dan ChiVMV dengan masing 10,05% dan 5,54%. Infeksi virus CMV merupakan salah satu diantara banyak virus yang menginfeksi tanaman cabai dengan gejala mosaik dan penyebab utama kegagalan panen sehingga menyebabkan rata-rata produksi cabai nasional hanya mencapai 4,35 ton/ha, sementara potensi produksi cabai seharusnya dapat mencapai 10 ton/ha (Suryaningsih dkk., 1996).

Hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sejak bulan Juli 2013 sampai dengan bulan September 2013 membuktikan bahwa tanaman gamal sebagai tanaman barier pada pertanaman cabai petani di Dusun Marga Tengan, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar mengandung virus CMV setelah dilakukan uji serologi melalui metode DAS-ELISA dengan menggunakan antiserum spesifik CMV.

Berdasarkan hal tersebut, maka Universitas Udayana bekerjasama dengan Institut Pertanian Bogor (IPB) melakukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk mengetahui keidentikkan karakteristik gejala infeksi CMV pada tanaman gamal dan tanaman cabai dan mengetahui keidentikkan keberadaan CMV pada tanaman gamal dan tanaman cabai secara molekuler.

2. Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa *GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit* (Thermo Scientific, USA). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa mortar, uv transilluminator, elektroforator, timbangan digital, eppendorf eporator, mesin PCR, cawan petri, gunting, cutter, pinset, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, pipet mikro, kamera digital, gunting, dan alat tulis.

Kegiatan penelitian meliputi pengambilan sampel tanaman gamal dan cabai dengan gejala mosaik dilokasi pertanaman cabai petani di Desa Kerta, Payangan,

Gianyar. Identifikasi gejala tanaman sampel (cabai dan gamal) yang diduga terinfeksi virus mosaik dilakukan di Laboratorium Penyakit Konsentrasi Perlindungan Tanaman Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Deteksi molekuler dilakukan di Laboratorium Virologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Institut Pertanian Bogor (IPB).

Deteksi CMV secara molekuler pada tanaman sampel gamal cabai dilakukan melalui teknik RT-PCR. Pelaksanaan RT-PCR meliputi ekstraksi RNA total dari jaringan tanaman gamal 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 tanaman gamal dan cabai, dibentuk cDNA pada reaksi balik atau *Reverse Transcription* (RT) dengan primer CMV-CP-R (5'-TCAAAGTGGGAGCACCCAGATGTG -3'). DNA komplementer (cDNA) yang terbentuk langsung digunakan sebagai cetakan dalam reaksi PCR menggunakan pasangan primer CMV-CP-R dan CMV-CP-F (5'-ATGGACAAATCTGAATCA ACCAGTG -3'). Urutan sikuen primer didesain berdasarkan sikuen nukleotida RNA-2 dari CMV isolat cabai asal Thailand dengan nomor asesi FR820451 yang tersedia di GenBank sehingga dapat mengamplifikasi genom virus pada bagian *coat protein* (CP) dengan produk PCR sebesar 657 bp.

3. Hasil dan Pembahasan

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



Gambar 1. Karakteristik gejala mosaik pada tanaman gamal dan cabai .

Gejala mosaik pada tanaman gamal menunjukkan gejala mosaik hijau tua pada daun serta warna tulang daun yang hijau tua. Selain itu, terdapat juga gejala malformasi pada daun yang menghambat pembentukan lamina daun sehingga menyebabkan daun menjadi menyempit, mengerut, dan menggulung.

Gejala mosaik pada tanaman gamal tersebut sangat identik dengan gejala mosaik pada tanaman cabai yang dapat menyebabkan berbagai perubahan pada daun seperti terjadinya perubahan warna (*mosaic* atau belang). Kadang-kadang disertai dengan perubahan bentuk (malformasi) pada daun seperti menggulung, menyempit, mengerut 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.

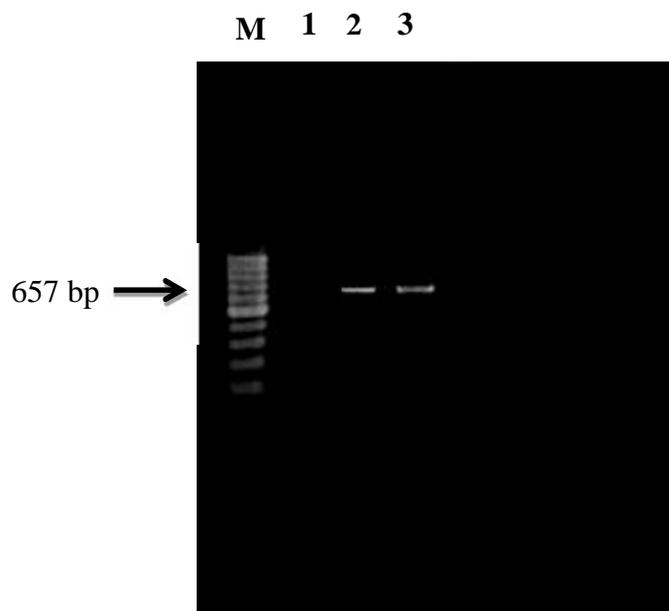
Tanaman gamal dan cabai dengan gejala mosaik yang ditemukan di Dusun Marga Tengah, Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar tersebut sangat identik dengan gejala belang hijau tua dan hijau muda pada daun-daunnya. Nyana *et.al.*, (2010) menyatakan bagian daun cabai yang berwarna belang hijau 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 gamal 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 gamal 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 gamal. 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 gamal berasosiasi dengan virus CMV. 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.

Setelah dilakukan proses identifikasi virus CMV, selanjutnya diagnosis penyebab mosaik pada tanaman gamal dan cabai tersebut dilakukan dengan teknik *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Menggunakan hasil ekstraksi total RNA pada tanaman gamal dan cabai menggunakan *GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit* (Thermo Scientific, USA), diperoleh cDNA pada reaksi *reverse transcriptase*. 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. Teknik RT-PCR dengan menggunakan primer spesifik untuk CMV berhasil mengamplifikasi DNA dengan panjang basa sebesar 657 pasang basa (bp) dari sampel daun tanaman gamal dan cabai (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil visualisasi RT-PCR gen CP CMV isolat gamal dan cabai menggunakan primer CMV-CP-F dan CMV-CP-R. (M) Marker 100 bp (Promega, USA); (1). Kontrol negatif; (2). Isolat gamal; (3). Isolat cabai.

Hasil visualisasi RT-PCR (Gambar 2) tersebut membuktikan bahwa metode RT-PCR dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan CMV penyebab gejala mosaik pada tanaman gamal dan cabai. Taufik *et.al.*, (2010) melaporkan pula deteksi CMV 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 (Nyana, 2012).

Berdasarkan atas pengamatan gejala di lapangan, uji serologi melalui penelitian pendahuluan dan molekuler yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa gejala mosaik pada tanaman gamal dan cabai tersebut diinfeksi oleh CMV. Sastroutomo (1990) menyatakan bahwa gulma yang tumbuh di sekitar pertanaman cabai dapat menjadi inang alternatif yang menjadi sumber inokulum virus yang disebarkan oleh vektor virus pada pertanaman cabai. Infeksi CMV pada tanaman gamal sebagai tanaman barrier pada pertanaman cabai menyebabkan virus memperoleh inang alternatif baru selain gulma untuk bertahan hidup, disamping itu gamal juga merupakan tanaman pohon tahunan sehingga virus dapat hidup bertahun-tahun pada tanaman gamal. Melalui penelitian ini, maka keberadaan gamal sebagai tanaman barrier yang berpotensi sebagai inang alternatif virus pada pertanaman cabai perlu diwaspadai karena keberadaan sepanjang tahun meskipun tanaman cabai serta gulma telah dikendalikan.

4. Kesimpulan

Karakteristik gejala mosaik pada tanaman gamal identik dengan karakteristik gejala mosaik pada tanaman cabai yang diinfeksi oleh CMV (*Cucumber Mosaic Virus*) pada pertanaman cabai petani di Desa Kerta Payangan, Gianyar dan keberadaan CMV pada tanaman gamal identik dengan keberadaan CMV pada tanaman yang ditemukan pada pertanaman cabai petani di Desa Kerta, Payangan, Gianyar.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada bapak Dr. Ir. Gede Suastika M.Sc yang telah mengarahkan, membimbing dan membantu memfasilitasi penelitian ini serta semua staf Laboratorium Fitopatologi Konsentrasi Perlindungan Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana dan Laboratorium Virologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan IPB (Institut Pertanian Bogor) yang telah membantu penelitian ini.

Daftar Pustaka

- 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.
- Restu, M. dan B. Mappangaja. 2005. *Produksi polong dan biji tanaman gamal (Gliricidia sepium) dari berbagai provenansi dengan pemupukan NPK*. <http://journal.unhas.ac.id/index.php/perennial/article/download/12/9>. Diakses tanggal 5 Januari 2014.
- Sastroutomo SS. 1990. *Ekologi Gulma*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Stewart, JL, Allison, GE dan Simons, AJ. 1996. *Gliricidia sepium: Genetik Resources for Farmers*. Oxford Forestry Institute, University of Oxford, Inggris.
- Suryaningsih, Sutarya, R., A.S. Duriat .1996. Penyakit tanaman cabai merah dan pengendaliannya. *Teknologi Produksi Cabai Merah*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. p: 64-84.
- Sutrawati. M. 2010. Deteksi Serologi Virus Penyebab Penyakit Mosaik Pada Tanaman Cabai dengan DAS-ELISA. *Jurnal Agriculture* 17 (1) : 625-630.
- Suttie, J. M. 2009. *Gliricidia sepium*.FAO.URL. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>. Diakses tanggal 5 Januari 2014.
- 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.