

INFEKSI GANDA SPESIES BEGOMOVIRUS PADA TANAMAN TERUNG DAN CABAI DI SLEMAN, YOGYAKARTA

Sidik EA^{1*}, Hartono S², Sulandari S²

¹ Pusat Riset Tanaman Pangan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Raya Bogor-Jakarta, Cibinong Bogor, Jawa Barat, Indonesia

² Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora 1 Bulaksumur Yogyakarta

*Email: effi.alfiani.s@gmail.com

Abstrak

Terung dan cabai merupakan jenis tanaman populer yang banyak dibudidayakan di berbagai daerah terutama Yogyakarta. Semakin meluasnya gejala infeksi penyakit kuning yang disebabkan oleh Begomovirus selalu menjadi kendala di lapang, sehingga perlu diidentifikasi lebih lanjut infeksi campuran penyebab keparahan. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi penyebab penyakit kuning pada terung dan cabai menggunakan primer spesifik. Koleksi sampel di daerah Minomartani, Sleman, Yogyakarta menggunakan metode judgmental sampling dengan kriteria infeksi tertentu, masing-masing diambil sebanyak 10 sampel daun. Identifikasi molekuler menggunakan PCR dengan dua jenis primer spesifik yaitu PepYLCV-R/PepYLCV-F dan TLCV-CPT/TLCV-CPI. Insidensi penyakit kuning pada kedua sampel hingga 100% dengan gejala menguning, malformasi daun, mosaik, dan kerdil. Pita DNA hasil amplikasi isolat terung dan cabai telah berhasil divisualisasi dengan fragmen berukuran ± 850 bp untuk infeksi Pepper yellow leaf curl virus dan ± 700 bp untuk Tomato leaf curl virus. Timbulnya gejala bervariasi tersebut dihasilkan dari infeksi ganda dua spesies Begomovirus yang terjadi secara alami pada pertanaman. Telah terbukti bahwa tanaman terung dan cabai dapat diinfeksi oleh dua spesies virus yang sama, sehingga dapat digunakan sebagai dasar rekomendasi dalam penentuan jenis tanaman yang boleh dan tidak boleh ditanam di sekitar pertanaman utama atau sebagai rotasi tanamnya.

Kata kunci: PCR, primer spesifik, PYLCV, TLCV, virus Gemini

PENDAHULUAN

Kutu kebul (*Bemesia tabaci*) merupakan vektor penyebaran berbagai macam spesies dari genus begomovirus secara persisten sirkulatif (Amin *et al.*, 2021). Lebih dari 31 spesies kutu kebul telah terdeteksi, biotipe B dan Q adalah yang paling banyak ditemukan, memiliki kemampuan tinggi dalam laju pergerakannya sehingga makin membantu penyebaran penyakit kuning di berbagai tanaman (Pandey *et al.*, 2021). Banyak dari spesies begomovirus menjadi salah satu virus tanaman yang merupakan kontributor utama dalam merusak tanaman hortikultura (Pratap *et al.*, 2011). Infeksi spesies begomovirus hingga saat ini masih terus dilaporkan terjadi di banyak tempat yaitu pada tanaman mentimun (Haerunisa *et al.*, 2016; Wiratama *et al.*, 2015), cabai (Annisaa *et al.*, 2021; Barchenger *et al.*, 2019; Selangga and Listihani, 2021; Wilisiani, 2019), terung (Annisaa *et al.*, 2021; Pratap *et al.*, 2011; Setiyobudi *et al.*, 2023), kacang panjang (Sidik *et al.*, 2022), tomat (Lukman *et al.*, 2019; Sidik *et al.*, 2023), melon (Setiyobudi *et al.*, 2023; Wilisiani *et al.*, 2014), semangka (Setiyobudi *et al.*, 2023), dan gulma (Sidik *et al.*, 2022).

Keparahan penyakit kuning yang disebabkan begomovirus dapat menggambarkan terjadinya asosiasi antar spesies begomovirus maupun spesies virus lainnya untuk menyebabkan penyakit lebih kompleks. Asosiasi tersebut dapat berupa infeksi campuran yang dapat memicu terjadinya rekombinasi dan mutasi, akhirnya makin sulit dilakukan pengendalian (Pandey *et al.*, 2021). Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan adanya infeksi campuran spesies begomovirus di India (Gireeshbai *et al.*, 2022), Sumatera (Koeda *et al.*, 2016), Jawa Timur (Lukman *et al.*, 2019; Sidik *et al.*, 2023). Kisaran inang begomovirus makin meluas dengan tampilan gejala infeksi lebih bervariasi dan

komplek (Pandey *et al.*, 2021). Tampilan kompleks gejala memberikan ragam variasi pada inang begomovirus, akibatnya sulit dilakukan pengendalian yang efektif. Langkah awal yang dapat diambil adalah dengan mengetahui spesies begomovirus yang menginfeksi. Penelitian dilakukan dengan tujuan mendeteksi penyakit kuning pada terung dan cabai menggunakan dua macam primer spesifik.

METODE

Pengambilan Sampel Daun Terung dan Cabai

Pengambilan sampel daun terung dan cabai dilakukan secara terpilih atau *judgmental sampling* setelah dilakukan survei lokasi terkait dugaan keberadaan infeksi spesies begomovirus yang berlokasi di Minomartani, Sleman, Yogyakarta. Sampel yang diambil berdasarkan kriteria penampakan gejala umum begomovirus yaitu mosaik, malformasi daun, menguning serta kerdil. Sebanyak 10 sampel diambil untuk masing-masing tanaman agar dapat menggambarkan infeksi campuran kedua spesies begomovirus yang akan dideteksi nantinya. Daun terung dan cabai yang diambil sebagai sampel terletak di tiga titik terdiri yaitu daun paling atas atau yang termuda, daun kedua di bawahnya, dan daun ketiga di bawahnya lagi yang selanjutnya dicampur. Sampel ditempatkan pada plastik kedap udara dan disimpan dalam freezer sebelum tahap ekstraksi DNA.

Identifikasi Gejala dan Insidensi Penyakit

Identifikasi variasi gejala dan insidensi penyakit dilakukan bersamaan dengan pengambilan sampel di lapang. Insidensi penyakit kuning pada terung dan cabai ditampilkan dalam bentuk persen (%), dihitung berdasarkan jumlah tanaman yang diduga terinfeksi dibagi dengan jumlah total tanaman yang teramati dan hasilnya dikali 100%.

Ekstraksi DNA Daun Terung dan Cabai

Deteksi molekuler dua spesies begomovirus dilakukan dengan bantuan PCR yang melalui tahapan ekstraksi DNA sampel daun, tahap amplifikasi PCR, dan elektroforesis. Sampel daun yang didapat dilakukan ekstraksi DNA total menggunakan protokol sesuai (Doyle and Doyle, 1990). Tahap pengerusan daun sebanyak 0,3 g dibantu oleh nitrogen cair untuk menghasilkan produk gerusan yang halus. Modifikasi dilakukan dengan penambahan volume mercaptoethanol menjadi 10 μ l dan pada proses akhir pengeringan pelet dengan oven. Perlakuan suhu oven 60°C selama 10 menit diterapkan saat pengeringan pelet (tube terbuka) dan setelah penambahan TE bufer (tube tertutup). Hasil akhir ekstraksi DNA disimpan dalam suhu -20 °C.

Amplifikasi DNA menggunakan Teknik PCR

Hasil ekstraksi DNA terung dan cabai digunakan sebagai cetakan (templat) untuk mendeteksi keberadaan dua spesies begomovirus menggunakan PCR. Amplifikasi DNA menggunakan dua pasang primer yaitu PepYLCV-F/PepYLCV-R dan TLCV-CPI/TLCV-CPT pada Tabel 1, master mix PCR yang digunakan adalah New England Biolabs dengan volume total 20 μ l dan konsentrasi $MgCl_2$ 3 mM (Tabel 2).

Tabel 1. Sekuen primer spesifik yang digunakan

Nama Primer	Sekuen	Target	Amplikon	Referensi
PepYLCV-F	ATGCCGAAGCGTTCCATCGA	<i>Pepper yellow leaf</i>		Koleksi
PepYLCV-R	TGGGATGTACTTGAACA	<i>curl virus</i> (PepYLCV)	850 bp	laboratorium UGM
TLCV-CPI	ATGGCGAAGCGACCAG	<i>Tomato leaf curl</i>		(Hallan, 1998)
TLCV-CPT	TTAATTTGTGACCGAATCAT	<i>virus</i> (TLCV)	700 bp	

Proses PCR diseting dengan perlakuan berbagai macam suhu dan beberapa tahapan. Tahap pertama adalah proses denaturasi awal selama 4 menit dengan suhu 94°C, sebanyak 30 siklus pada proses denaturasi selama 30 detik suhu 94°C, *annealing* selama 1 menit suhu 55°C, ekstensi selama 1 menit suhu 72°C, final ekstensi selama 1 menit suhu 72°C. Mesin PCR yang digunakan adalah mini *Thermal Cycler* yaitu MJ Research PTC-150.

Visualisasi Hasil Amplifikasi menggunakan Elektroforesis

Hasil amplifikasi (prodak PCR) divisualisasi menggunakan elektroforesis melalui gel agaros (BioRad) dengan konsentrasi 1.5% yang terlarut dalam TBE 1X. Penambahan ethidium bromida (EtBR) sebanyak 5 µl dilakukan sebelum larutan agaros dituang ke dalam cetakan. Sumuran gel pertama berisi 5 µl Marker 1 kb dan sumuran selanjutnya berisi campuran 1 µl 6X loading dye dan 10 µl prodak PCR. Selanjutnya dielektroforesis selama 60 menit dengan tegangan 150 volt, dan divisualisasi langsung menggunakan *gel documentation*.

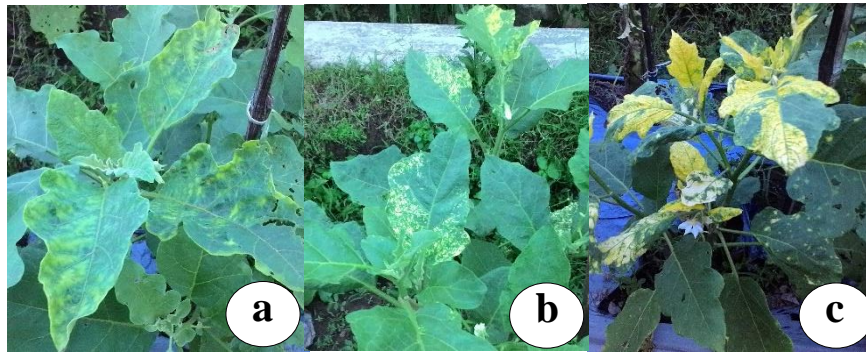
Tabel 2. Master mix PCR dengan konsentrasi MgCl₂ 3 mM

Komposisi	Konsentrasi		Volume
	Stok	Ahir	
ddH ₂ O			14.5 µl
PCR buffer + MgCl ₂ 1,5 mM	10X	1X	2 µl
MgCl ₂	100 mM	1.5 mM	0.3 µl
dNTP mix	10 mM	0.2 mM	0.4 µl
Primer F	5 mM	0.2 mM	@ 0.8 µl
Primer R			
Taq polymerase	5 U/ µl	1 U	0.2 µl
Templat		10-15 ng	1 µl
	Volume total		20 µl

HASIL DAN PEMBAHASAN

Insidensi penyakit kuning pada tanaman terung dan cabai mencapai 100% dengan tingkat keparahan berbeda untuk masing-masing tanaman. Tingkat insidensi penyakit yang tinggi tersebut diduga dapat terjadi karena pengaruh tingginya populasi kutu kebul. Adanya keberadaan inang alternatif di sekitar pertanaman dan sejarah pertanaman ikut menyumbang tingginya insidensi penyakit. Selain itu kurangnya sanitasi tidak mampu mencegah pertumbuhan gulma yang kemungkinan berperan sebagai inang alternatif dan tempat bernaung kutu kebul. Jika jenis tanaman sama atau masih merupakan inang yang sama maka akan menyebabkan terjadinya interaksi/asosiasi antar spesies begomovirus. Adanya asosiasi dan kisaran inang antar spesies begomovirus dapat memicu pola keragaman genetik baru atau strain baru yang lebih virulen (Pandey *et al.*, 2021).

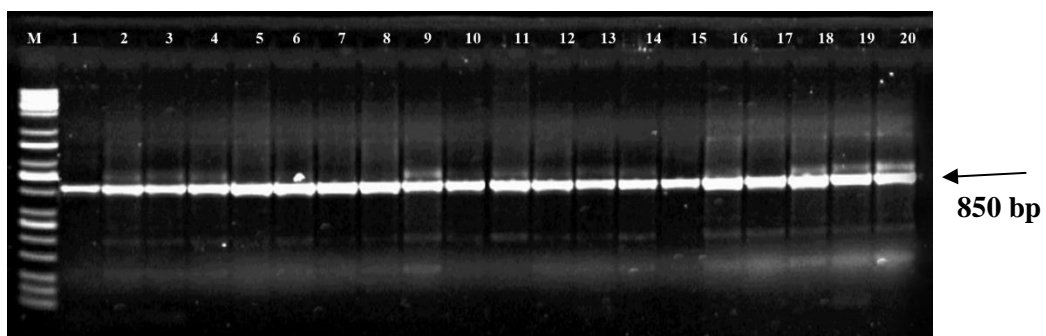
Berdasarkan hasil survei pengamatan gejala didapatkan bahwa tanaman terung dan cabai menampilkan gejala yang sangat bervariasi. Penampakan gejala dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 sebagai perwakilan untuk keseluruhan gejala yang timbul di lapang. Variasi gejala tanaman terung yang diinfeksi oleh campuran spesies begomovirus berupa mosaik, mosaik dengan spot kuning, belang (putih kekuningan dan hijau), *bleaching* (memutihnya daun), pola marbel kuning dan hijau, malformasi (ukuran daun mengecil, sedikit mengeriting, dan melengkung ke atas). Sedangkan variasi gejala tanaman cabai adalah mosaik, mosaik hijau, klorosis, daun kuning terang (*bright yellow leaf*), cuping (berbentuk mangkok/melengkung ke atas ke bawah), malformasi (daun mengecil), dan kerdil. Berdasarkan hasil pengamatan, ditemukan gejala khas pada tanaman terung dan cabai yaitu mosaik dan daun terlihat menguning.



Gambar 1. Variasi gejala infeksi begomovirus pada terung (a) mosaik dengan spot kuning, malformasi (daun sedikit mengeriting dan melengkung ke atas), (b) mosaik, belang (putih kekuningan dan hijau), malformasi (ukuran daun sedikit mengecil), (c) mosaik, menguning, *bleaching* (memutihnya daun), pola marble kuning dan hijau, malformasi (ukuran daun mengecil).



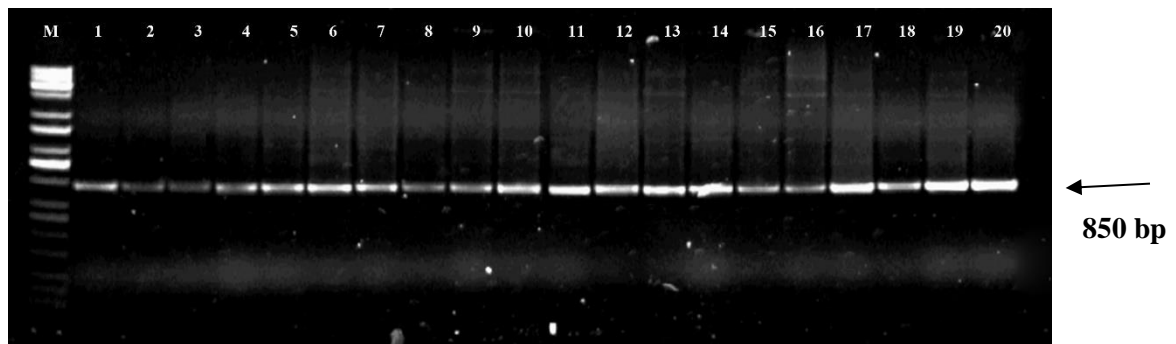
Gambar 2. Variasi gejala infeksi Begomovirus pada tanaman cabai (a) mosaik hijau, malformasi (daun mengecil dan melengkung ke atas), (b) mosaik, klorosis, malformasi (daun mengecil), cuping (melengkung ke atas ke bawah), (c) mosaik, daun kuning terang, mengeriting, malformasi (daun mengecil), cuping (melengkung ke atas ke bawah), kerdil.



Gambar 3. Hasil amplifikasi isolat daun terung dan cabai menggunakan primer PepYLCV. (M) DNA marker 1 kb, (1-10) tanaman terung, (11-20) tanaman cabai.

Banyak faktor yang berpeluang memberikan pengaruh timbulnya variasi gejala. Misalnya vegetasi sekitar tanaman terutama yang masih termasuk inang Begomovirus, sehingga memiliki peluang sebagai sumber inokulum lainnya. Kondisi tersebut dapat memfasilitasi perkembangan dan penyebaran vektor (kutu kebul), sehingga mampu memperparah infeksi. Perbedaan gejala yang timbul juga dapat disebabkan karena perbedaan jenis spesies begomovirus, strain virus, tanaman

inang, vektor virus, sejarah pertanaman, dan lokasi sampel. Infeksi oleh spesies begomovirus pada tanaman yang sama dapat menampilkan gejala sedikit berbeda pada lokasi yang berlainan. Berdasarkan temuan Selangga dan Listihani (2021) tanaman cabai yang terinfeksi PepYLCV menunjukkan gejala mosaik, menguning, belang (pola putih dan hijau), dan gejalanya sistemik pada seluruh bagian daun. Sedangkan pada penelitian ini, tidak semua sampel tanaman cabai mengalami gejala mosaik di seluruh bagian daun tetapi hanya pada daun muda, serta semua sampel tidak bergejala belang. Umur tanaman saat terjadi infeksi diduga dapat meningkatkan resiko gejala yang parah disertai kekerdilan. Semakin dini tanaman terinfeksi, semakin besar pula dampak kerusakannya. Menyebabkan tanaman tidak berbuah, atau buahnya kecil dan rusah, bahkan sulit untuk dipanen (Pandey *et al.*, 2021).



Gambar 4. Hasil amplifikasi isolat daun terung dan cabai menggunakan primer TLCV.
(M) DNA marker 1 kb, (1-10) tanaman terung, (11-20) tanaman cabai.

Sampel tanaman terung dan cabai dideteksi menggunakan dua jenis primer spesifik untuk mendeteksi infeksi PepYLCV dan TLCV. Pemilihan primer PepYLCV didasarkan pada penelitian terdahulu yang mengungkapkan bahwa spesies tersebut lebih banyak menginfeksi jenis tanaman inang famili solanaceae. Sedangkan primer TLCV digunakan atas dasar sejarah pertanaman dan jenis inang disekitarnya, dimana TLCV merupakan spesies begomovirus yang banyak menginfeksi tanaman dari famili cucurbitaceae. Penggunaan primer spesifik dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas metode deteksi sehingga spesies yang terlibat diketahui dengan jelas. Selain itu identifikasi penyakit yang disebabkan begomovirus tidak dapat hanya berdasarkan tampilan gejala tetapi perlu adanya bukti secara molekuler kehadiran spesiesnya beserta jenis yang berasosiasi. Kesepuluh sampel daun tanaman terung dan cabai menampilkan hasil positif PCR untuk PepYLCV (Gambar 3) dan TLCV (Gambar 4). Sehingga dapat dibuktikan bahwa kedua spesies begomovirus tersebut mampu menginfeksi tanaman terung dan cabai bersamaan secara alami di lapang.

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, jenis spesies begomovirus yang kemungkinan berkontribusi dalam menimbulkan gejala penyakit kuning dipengaruhi oleh jenis tanaman di sekitar tanaman inang dan jenis rotasi tanamnya. Hal ini berhubungan dengan siklus hidup begomovirus dalam kutu kebul yang dapat bertahan hingga beberapa generasi. Begomovirus mampu bereplikasi di dalam tubuh kutu kebul, selanjutnya penularan dapat terjadi secara transovarial (penularan induk ke keturunannya melalui telur) (Guo *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021). Maka begomovirus akan terkandung pada keturunan berikutnya hingga menjelang pergantian tanaman baru, pada akhirnya siklus infeksi akan terus berlangsung. Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa tanaman terung dan cabai tidak dianjurkan untuk ditanam bersebelahan maupun sebagai salah satu jenis rotasi tanam yang dipilih.

KESIMPULAN

Gejala yang ditimbulkan sangat bervariasi pada kedua tanaman. Tanaman terung dan cabai terbukti dapat diinfeksi oleh dua spesies begomovirus yaitu *Pepper yellow leaf curl virus* dan *Tomato leaf curl virus*. Tanaman cabai dan terung tidak dapat ditanam secara berdampingan atau sebagai rotasi tanam.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, I., Ahmed, N., Kamal, H. and Mansoor, S. (2021), Chapter 7 - Geminiviruses and their interaction with host proteins, in Gaur, R.K., Khurana, S.M.P., Sharma, P. and Hohn, T. (Eds.), *Plant Virus-Host Interaction (Second Edition)*, Second Edi., Academic Press, Boston, pp. 191–229, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821629-3.00024-5>.
- Annisaa, N.W., Hidayat, P., Giyanto, Hidayat, S.H. and Lee, S. (2021), Multiple Infections of Begomovirus on Its Host Plants, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 694(1), p. 012047, doi: 10.1088/1755-1315/694/1/012047.
- Barchenger, D.W., Yule, S., Jeeatid, N., Lin, S.W., Wang, Y.W., Lin, T.H., Chan, Y.L., et al. (2019), A Novel Source of Resistance to *Pepper yellow leaf curl Thailand virus* (PepYLCThV) (Begomovirus) in Chile Pepper, *HortScience*, 54(12), pp. 2146–2149, doi: 10.21273/HORTSCI14484-19.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. (1990), Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue, *Focus.*, 12, pp. 13–15.
- Gireeshbai, S., Prabhudas, S.K., Sharma, S.K., Mandal, B., Roy, A. and Geetanjali, A.S. (2022), Mixed infection of a New Begomovirus, *Jatropha leaf curl Guntur virus* and Recombinant/Chimeric *jatropha leaf curl Gujarat virus* in *Jatropha gossypifolia*, *Letters in Applied Microbiology*, 75(4), pp. 1000–1009, doi: 10.1111/lam.13774.
- Guo, Q., Shu, Y.-N., Liu, C., Chi, Y., Liu, Y.-Q. and Wang, X.-W. (2019), Transovarial Transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by Seven Species of the *Bemisia tabaci* Complex Indigenous to China: Not all Whiteflies are the Same, *Virology*, 531, pp. 240–247, doi: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.03.009>.
- Haerunisa, R., Suastika, G. and Damayanti, T.A. (2016), Identifikasi Begomovirus yang Berasosiasi dengan Penyakit Kuning pada Mentimun di Jawa Barat dan Bali, *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 7(1), pp. 9–20, doi: 10.29244/jhi.7.1.9-20.
- Hallan, V. (1998), Genome organization of a geminivirus causing leaf curl in tomato (*Lycopersicon esculentum*), *PhD Thesis.*, University of Lucknow.
- Koeda, S., Kesumawati, E., Hosokawa, M. and Doi, M. (2016), Mixed Infection of Begomoviruses on Pepper Plants at Northern Sumatra, Indonesia, *Trop. Agr. Develop.*, 60(2), pp. 59–64.
- Li, W.-H., Mou, D.-F., Hsieh, C.-K., Weng, S.-H., Tsai, W.-S. and Tsai, C.-W. (2021), Vector Transmission of *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* by the Whitefly *Bemisia tabaci*: Circulative or Propagative?, *Insects*, 12(2), p. 181, doi: 10.3390/insects12020181.
- Lukman, R., Afifuddin, A., Van Deynze, A., Hill, T. and Jimenez, R. (2019), A survey of mixed Begomovirus infection in solanaceae and fabaceae at different altitudes in East Java, Indonesia, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, Taylor & Francis, 52(3–4), pp. 385–406, doi: 10.1080/03235408.2019.1625590.
- Pandey, V., Srivastava, A. and Gaur, R.K. (2021), Begomovirus: a Curse for the Agricultural Crops, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, Taylor & Francis, 54(15–16), pp. 949–978, doi: 10.1080/03235408.2020.1868909.
- Pratap, D., Kashikar, A.R. and Mukherjee, S.K. (2011), Molecular Characterization and Infectivity of a *Tomato leaf curl New Delhi virus* Variant Associated with Newly Emerging Yellow Mosaic Disease of Eggplant in India, *Virology Journal*, 8, pp. 1–13, doi: 10.1186/1743-422X-8-305.
- Selangga, D.G.W. and Listihani. (2021), Molecular Identification of *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* on Chili Pepper in Nusa Penida Island, *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 21(2), pp. 97–102, doi: 10.23960/jhptt.22197-102.
- Setiyobudi, R., Subiastuti, A. and Daryono, B. (2023), The Effect of Begomovirus Infection on Phenotypic, *AIP Conf. Proc.*, Vol. 030007, pp. 030007-1-030007–7.

- Sidik, E., Hartono, S., Sulandari, S., Lukman, R., Affifudin, A., Wahyudin, D. and Santoso, H. (2023), Molecular detection of Pepper yellow leaf curl virus , Tomato leaf curl virus , Tomato yellow leaf curl virus , and Mungbean yellow mosaic virus on eggplant , tomato , and pepper at different altitudes in East Java , Indonesia Molecular detection of Peppe, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, p. 012117, doi: 10.1088/1755-1315/1230/1/012117.
- Sidik, E.A., Hartono, S. and Sulandari, S. (2022), Molecular Identification of *Mungbean yellow mosaic virus* Infecting Yard Long Beans and *Aclypha indica* in Kediri, East Java, *Nusantara Science and Technology Proceedings*, Vol. 25, pp. 38–43, doi: 10.11594/nstp.2022.2506.
- Wilisiani, F. (2019), Deteksi Begomovirus pada Tanaman Cabai di Magelang Indonesia, *AGROISTA Jurnal Agroteknologi*, 3(1), pp. 1–10.
- Wilisiani, F., Somowiyarjo, S. and Hartono, S. (2014), Molecular Identification of Virus Causing Leaf Curl Disease Bantul Isolate on Melon, *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 18(1), pp. 47–54.
- Wiratama, I.D.M.P., Wirya, G.N.A.S., Nyana, I.D.N., Adnyani, N.N.P. and Suastika, G. (2015), Laporan Pertama Infeksi Begomovirus pada Tanaman Mentimun di Bali, *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(5), pp. 175–178, doi: 10.14692/jfi.11.5.175.