

Pencirian Genetik Pepper Yellow Leaf Curl Virus pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum*) di Bengkulu

(Genetic Characterization of Yellow Pepper Leaf Curl Virus of Red Chilli Plants (*Capsicum annuum*) in Bengkulu)

Sipriyadi*, Abe Novan Aditya Rahman, Welly Darwis, Risky Hadi Wibowo, Mimi Sutrawati, Cindy Margaret Hutasoit, Yuni Kristiani, Redo Setiawan

(Diterima April 2022/Disetujui Oktober 2022)

ABSTRAK

Cabai merupakan salah satu komoditas hortikultura dengan permintaan yang terus meningkat dari tahun ke tahun. Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang merupakan daerah penghasil cabai terbesar di Bengkulu. Salah satu virus penting pada tanaman cabai adalah *pepper yellow leaf curl* (PYLCV). Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mencirikan genetik PYLCV. Sampel tanaman cabai diambil di kedua kabupaten tersebut menggunakan metode *purposive sampling*. Virus dideteksi di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi. DNA virus diekstraksi menggunakan metode setil trimetila amonium bromida (CTAB). Gen Rep dan Trap diamplifikasi menggunakan primer universal Begomovirus SPG1 dan SPG2. Produk PCR divisualisasi pada gel agarosa 1,2% dalam Tris Asam Asetat-EDTA TBE. Selanjutnya produk PCR diurutkan di PT Genetika Science Indonesia. Urutan gen virus diujarkan menggunakan peranti lunak Bioedit dan MEGA X. Hasilnya menunjukkan bahwa dari 24 sampel tanaman cabai, 21 di antaranya menunjukkan keberadaan amplicon dengan ukuran ~ 900 pb; hasil ini sesuai dengan ukuran panjang amplicon berdasarkan primer yang digunakan. Dari 21 hasil amplicon, 6 di antaranya diurutkan dan dicirikan. Hasil pencirian genetik ke-6 sampel memperlihatkan situs konservatif (C) sebanyak 552 situs (75,6%), situs variasi (Vi) 178 situs (24,4%), situs parsimoni (Pi) (15,9%), dan singleton (S) 70 situs (8,5%). Komposisi basa nukleotida tertinggi adalah timina (T) dengan nilai rata-rata 30,1% dan terendah guanina (G) 21,9%, sedangkan komposisi gabungan nukleotida tertinggi AT dengan nilai rata-rata 55%, terendah GC sekitar 45%. Jarak genetik rata-rata antarsampel adalah 0,13 (13%). Berdasarkan pohon filogenetik, 6 sampel terbagi menjadi dua grup.

Kata kunci: begomovirus, Bengkulu, *Capsicum annuum*

ABSTRACT

Chili is one of the horticultural commodities with increasing demand yearly. Rejang Lebong and Kepahiang regencies are the most significant chili-producing areas in Bengkulu. One of the crucial viruses in chili plants is *Pepper yellow leaf curl virus* (PYLCV). PYLCV virus infection in the vegetative phase can cause stunted plants and fail to bear fruit. This study aims to detect and genetically characterize PYLCV. Samples of chili plants were taken in these two districts using the purposive sampling method. Virus detection was carried out at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology. Extraction of viral DNA using the Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) method. Rep and Trap gene amplification using universal primers of Bemovirus. SPG1 and SPG2. The PCR product was visualized on a 1.2% agarose gel in TAE. Furthermore, the PCR products were sequenced in PT Genetics Science Indonesia. Virus gene sequences were aligned using Bioedit and MEGA X software. The results showed that of the 24 chili plants sampled in the study, 21 samples showed an amplicon with a size of ~ 900 bp, which follows the length of the amplicon based on the primer used. Of the 21 amplicon results, 6 of them were sequenced and genetically characterized. The results of the genetic characterization of the 6 samples showed the presence of 552 conservative sites (C) (75.6%), 178 variation sites (Vi) (24.4%), parsimony sites (Pi) (15.9%), and 70 singleton (S) sites (8.5%). The highest nucleotide base composition was thymine (T) with an average value of 30.1%, and the lowest was guanine (G) 21.9%, while the highest nucleotide combined composition was AT with an average value of 55%, the lowest was GC approximately 45%. The average genetic distance between samples was 0.13 (13%). Based on the phylogenetic tree, 6 samples were divided into two groups.

Keywords: begomovirus, Bengkulu, *Capsicum annuum*

PENDAHULUAN

Provinsi Bengkulu telah mengembangkan berbagai macam tanaman hortikultura, di antaranya adalah

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Jl WR Supratman, Kandang Limun, Kota Bengkulu 38371

* Penulis Korespondensi: Email: sipriyadi@unib.ac.id

tanaman cabai, bawang merah, kentang, tomat, wortel, dan kubis. Cabai merupakan salah satu komoditas yang permintaannya semakin meningkat karena merupakan salah satu kebutuhan sehari-hari. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Bengkulu (2020), Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang merupakan daerah penghasil cabai tertinggi di Bengkulu. Rejang Lebong memproduksi 308.627 ton pada tahun 2018

dan 318.522 ton pada tahun 2019, sedangkan Kepahiang pada tahun 2018 memproduksi 143.522 tetapi menurun menjadi 107.712 ton pada tahun 2019.

Dalam pertumbuhannya tanaman cabai dipengaruhi oleh berbagai faktor. Salah satunya adalah penyakit tanaman akibat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) khususnya patogen dari kelompok virus. Salah satu infeksi penyakit tanaman oleh virus yang sangat merugikan perkebunan cabai adalah penyakit kuning keriting yang disebabkan oleh *pepper yellow leaf curl virus* (PYLCV), yang termasuk dalam genus *Begomovirus* dari famili *Geminiviridae*. Tanaman yang terinfeksi penyakit ini akan terhambat pertumbuhannya dan menurun produksinya. Gejala tanaman yang terinfeksi PYLCV di antaranya ialah daun menguning dan menggulung ke atas, pemendekan ruas batang, serta penurunan massa dan ukuran buah (Dombrovsky *et al.* 2010).

PYLCV telah menyebar di berbagai daerah di Indonesia, seperti di sentra produksi sayuran di Sumatra Utara, Bengkulu, Sumatra Barat (Trisno *et al.* 2021), Kalimantan Selatan, Lampung, Kalimantan Barat, Jawa Tengah, Jawa Barat, DI Yogyakarta, Jawa Timur, ppNusa Tenggara Barat (Hikmat 2005), Pulau Nusa Penida (Selangga & Listihani 2021), Bogor (Rahim *et al.* 2015; Trisno *et al.* 2021), dan Malang, Jawa Timur (Damayanti *et al.* 2019). Selain merusak tanaman, dampak PYLCV juga menyebabkan penurunan ekonomi di Indonesia. Tercatat kerugian ekonomi yang tinggi akibat PYLCV mencapai 20–100% (Setiawati *et al.* 2005). Selangga & Listihani (2022) juga melaporkan akibat PYLCV terjadi penurunan hasil pada tanaman labu kuning hingga 10,02–25,83%. Hal ini sama dengan kehilangan hasil antara Rp878.400,00 dan Rp10.826.400,00.

Begomovirus dahulu banyak dideteksi dengan metode konvensional dengan melihat gejala khas pada tanaman cabai yang terserang penyakit, tetapi cara ini tidak dapat memastikan dengan spesifik gejala penyakit pada tanaman cabai berasosiasi dengan jenis virus tertentu. Maka dari itu, perlu suatu prosedur untuk mendeteksi Begomovirus berbasis molekuler sehingga dapat dipastikan dengan tepat jenis yang menginfeksi tanaman cabai (Malathi 2004). Begomovirus yang menginfeksi tanaman cabai secara molekuler pada umumnya dideteksi dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Metode lain seperti uji serologi jarang dilakukan karena ketersediaan antibodi Begomovirus yang terbatas. Deteksi dengan menggunakan metode PCR dapat digunakan untuk mendeteksi PYLCV yang menginfeksi tanaman cabai secara cepat dengan tingkat akurasi yang tinggi. Deteksi dengan menggunakan metode PCR sebelumnya telah berhasil diterapkan untuk mendeteksi Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Pulau Jawa, yaitu *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) yang memiliki jarak kedekatan genetik lebih dari 90% dengan PYLCV (Santoso *et al.* 2008).

Gejala khas tanaman cabai yang terinfeksi Begomovirus sebelumnya telah dilaporkan di Provinsi

Bengkulu, tetapi infeksi oleh Begomovirus tersebut belum dibuktikan secara molekuler. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengonfirmasi dan mencirikan secara genetik Begomovirus yang menyerang tanaman cabai di Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang yang merupakan sentra budi daya tanaman cabai di Provinsi Bengkulu (Sudiono 2012).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November–Desember 2020, di Kabupaten Rejang Lebong dan Kabupaten Kepahiang. Isolasi DNA total, amplifikasi DNA virus, dan analisis data dilakukan di Gedung Basic Science, Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

Pengambilan Sampel

Sampel dikoleksi dari perkebunan cabai di Desa Tasikmalaya dan Perbo (Kabupaten Rejang Lebong); Desa Ujan Mas Atas, Kampung Bogor, Simpang Kota Bingin, dan Pagar Gunung (Kabupaten Kepahiang). Sampel cabai diambil secara *purposive random*. Sampel yang diambil ialah daun cabai yang menunjukkan gejala mosaik berwarna kuning, berukuran kecil, menggulung ke atas, dan kerdil. Setelah diambil, sampel disimpan dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium. Sampel selanjutnya digunting menjadi potongan kecil dan kemudian ditimbang 1 g. Selanjutnya sampel diberi label dan diletakkan dalam kantong plastik dan disimpan di lemari beku dengan suhu 4°C (Trisno *et al.* 2009).

Isolasi PYLCV

Tahap awal pekerjaan adalah ekstraksi DNA dengan metode setil trimetil amonium bromida (CTAB) dengan komponen ekstraksi terdiri atas CTAB 10%, EDTA 0,1 M, Tris-HCl 1 M, NaCl 5 M, dan ddH₂O. Sampel daun ditimbang 0,1 g dan digerus menggunakan alu dan mortar dengan menambahkan nitrogen cair. Kemudian, hasil gerusan ditambahkan 500 µL bufer CTAB dan dipindahkan ke tabung 1,5 mL. Selanjutnya, campuran dimasukkan ke oven dengan suhu 65°C selama 60 menit; setiap 10 menit tabung dibolak-balik. Setelah didiamkan selama 2 menit, ke dalam larutan ditambahkan kloroform dan isoamilalkohol dengan nisbah 24:1 sebanyak 500 µL, dan dibolak-balik selama 5 menit. Kemudian tabung disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm dan terbentuk 2 lapisan. Bagian yang mengendap (pelet) berisi dinding sel, protein, dan lipid, sedangkan supernatan berisi materi genetik. Supernatan dipisahkan dan ditambah 1/10 natrium asetat dari volume supernatan, kemudian tabung dibolak-balik dan ditambahkan kembali isopropanol sebanyak 2/3 dari volume supernatan. Berikutnya, tabung diinkubasi pada suhu –20°C semalaman, kemudian disentrifus

selama 10 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan 500 µL etanol 70% dan disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang kembali dan tabung dikering-anginkan dengan cara membalik tabung hingga tidak ada lagi cairan yang menempel pada tabung. Pelet diletakkan di atas tisu, dikering-anginkan, ditambahkan 500 µL bufer TE dan disimpan pada suhu -20 °C selama satu malam. Hasil ini disebut dengan DNA total (Doyle & Doyle 1990).

Amplifikasi DNA

DNA diamplifikasi dengan primer universal SPG1 (F) (5'-CCCCKGTGCGWRAATCCAT-3') dan SPG2 (R) (5'-ATCCVAAAYWTYCAGGGAGCTAA-3') (Li *et al.* 2004), yang mampu mengamplifikasi urutan DNA *Begomovirus* target sebesar ± 912 pb. Tahapan amplifikasi DNA dimulai dengan menambahkan 0,5 µL DNA, primer SPG1 dan SPG2 masing-masing 0,5 µL konsentrasi 10 µM, GoTaq Green 6 µL, dan ddH₂O 4,5 µL ke dalam tube PCR 100 µL sehingga jumlah total volume satu reaksi adalah 12 µL dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit. Sampel dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan pradenaturasi 94°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus, selanjutnya 34 siklus untuk denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan primer (*annealing*) 59°C selama 1 menit, sintesis 72°C selama 2 menit, dan kemudian ekstensi 72°C selama 10 menit (Doyle & Doyle 1990).

Visualisasi DNA

Hasil amplifikasi divisualkan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan elektroforesis pada tegangan 50 volt selama 50 menit. Gel agarosa selanjutnya direndam dalam etidium bromida 0,1% selama 15 menit, dan dicuci dengan ddH₂O selama 5 menit.

Selanjutnya gel agarosa divisualkan pada gel dokumentasi (geldoct) dan gambar yang dihasilkan disimpan pada perangkat komputer.

Pengurutan DNA Produk PCR

Produk PCR gen *Begomovirus* dikirim ke First Base, Malaysia, melalui PT Genetika Sains Indonesia untuk pengurutan nukleotida. Hasilnya kemudian dianalisis untuk mendapatkan konstruksi pohon filogenetik.

Analisis Data

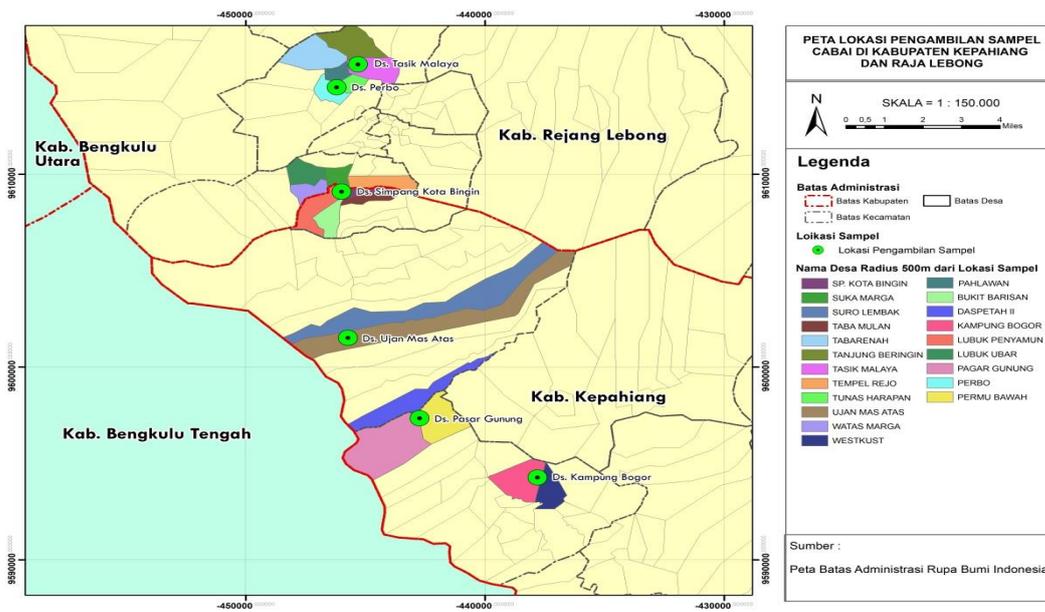
Hasil pengurutan DNA PYLCV yang didapat diedit dan diolah menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) (Tamura *et al.* 2013), Hasil pengurutan yang sudah diedit dan diolah diujarkan dengan pangkalan data GenBank menggunakan perangkat lunak *Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide* (BLASTn). Urutan homolog yang didapatkan diujarkan menggunakan perangkat lunak MEGA dengan metode *bootstrap* (nilai bootstrap 1000x). Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan Neighbour Joining Program (Viljoen *et al.* 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Lokasi Tanam Cabai

Sampel cabai diambil di Kabupaten Rejang Lebong dan Kabupaten Kepahiang (Gambar 1) yang menunjukkan 6 titik lokasi perkebunan pada Kabupaten Rejang (2 desa: Perbo dan Tasikmalaya), pada Kabupaten Kepahiang (4 desa: Ujan Mas Atas, Simpang Kota Bingin, Kampung Bogor, dan Pagar Gunung).

Proses fisiologis tanaman cabai sangat dipengaruhi oleh unsur-unsur abiotik seperti iklim, tanah, dan teknik



Gambar 1 Lokasi pengambilan sampel cabai asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang (sumber: Badan Informasi Geospasial 2020).

budi daya tanaman. Hal itu dapat menimbulkan perubahan dan pergantian kecocokan hara dan resistensi tanaman terhadap gangguan hama dan penyakit. Menurut Sudiono dan Purnomo (2009), terdapat hubungan erat antara faktor abiotik dan vektor Begomovirus, yaitu kutu kebul. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa suhu udara adalah 21–30°C dengan suhu udara di lokasi umumnya di atas 25°C. Keadaan ini sesuai dengan literatur, bahwa suhu di atas 25–30 °C merupakan suhu optimum untuk perkembangan kutu kebul (Chintkuntla 2015). Dengan faktor lingkungan yang optimum untuk berkembangnya populasi vektor, akan meningkat juga tingkat infeksi dan penyebaran Begomovirus pada tanaman cabai di lokasi pengambilan sampel.

Gejala Infeksi Virus di Lapangan

Gejala yang timbul pada tanaman cabai dari 6 lokasi sampling menunjukkan gejala khas infeksi Begomovirus pada cabai, yaitu daun kecil menguning, keriting, serta batang tanaman yang kerdil, yang sangat jelas berbeda dengan tanaman sehat di sekitarnya. Gejala pada tanaman ini timbul akibat mekanisme infeksi virus dalam tubuh tanaman hingga memunculkan gejala berupa daun menjadi berwarna kuning, kerdil, dan menggulung ke atas (*cupping*). Semua gejala yang muncul ini adalah akibat dari terhambatnya aliran nutrisi (fotosintat) dari *source* ke *sink* karena virus yang ada di dalam tanaman menguasai floem (*floem limited virus*) (Wisler *et al.* 2006). Gejala tanaman terserang penyakit dimulai dengan daun muda/pucuk cekung dan mengerut dengan warna mosaik ringan. Setelah itu gejala berlanjut dengan seluruh daun berwarna kuning cerah, bentuk daun berkerut, dan cekung dengan ukuran lebih kecil, dan pertumbuhan terhambat. Penyakit ini menyebabkan daun menguning dan sedikitnya

produksi buah akibat kurangnya nutrisi (Sugiarmen & Hidayat 2000).

Hasil Elektroforesis PYLCV

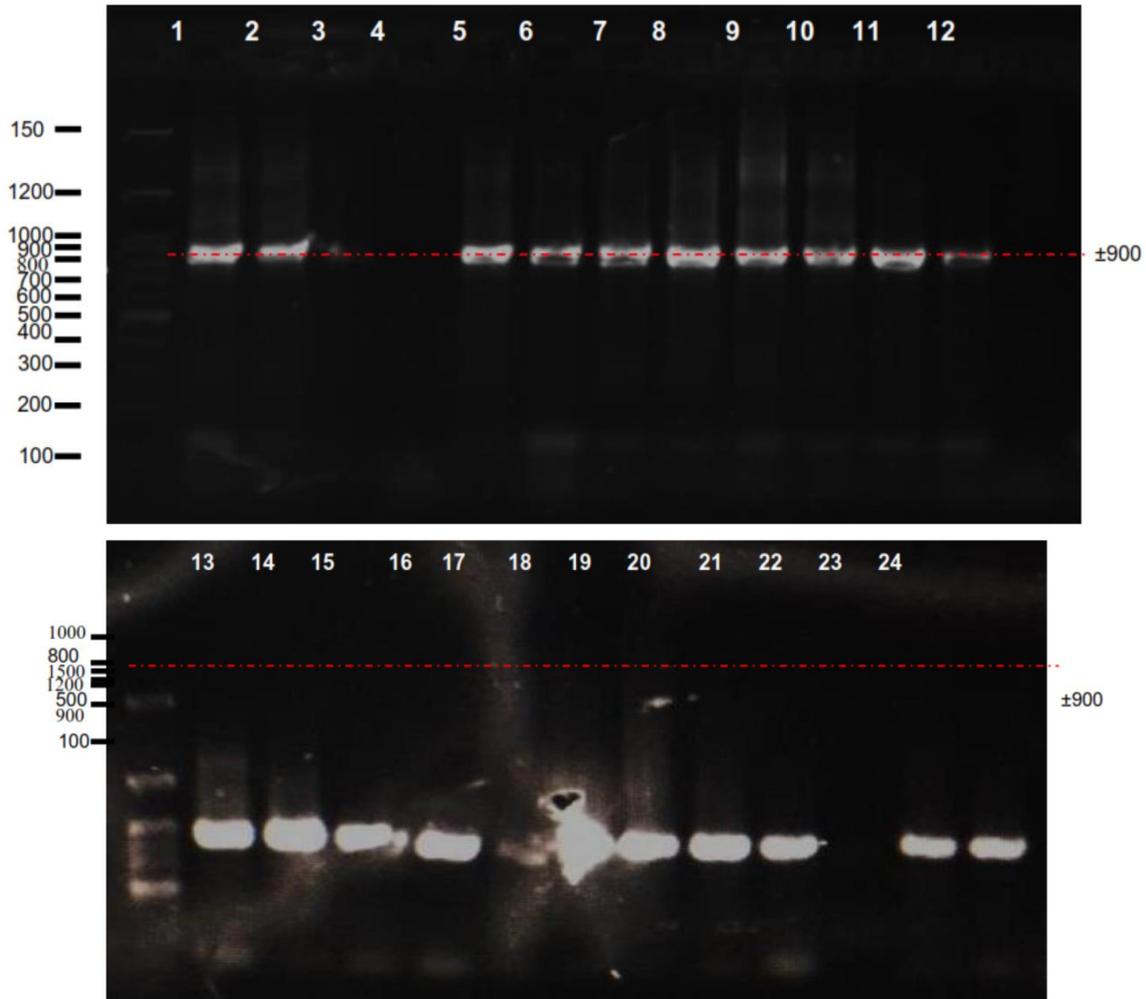
DNA total hasil ekstraksi kemudian dideteksi secara molekuler dengan metode PCR menggunakan Primer Universal Begomovirus SPG1/SPG2 (Li *et al.* 2004) untuk mengamplifikasi gen gen TrAP dan Rep pada sampel cabai. Hasil PCR gen PYLCV yang dielektroforesis divisualkan (Gambar 2). Telah didapatkan hasil amplifikasi yang sesuai dengan target yang diharapkan, yaitu panjang urutan ± 900 pasang basa (pb). Ini menegaskan bahwa sampel asal Kabupaten Kepahiang dan Kabupaten Rejang Lebong positif terserang PYLCV. Dari 24 sampel yang telah diamplifikasi terdapat 21 sampel yang sesuai dengan target amplifikasi yang ditandai dengan terdapatnya pita DNA dengan urutan 900 bp. Kode 21 sampel positif secara berurutan ditampilkan pada Gambar 2, yaitu UMA1, UMA3, UMA5, UMA2, KB1, KB2, KB3, SKB3, SKB1, SKB4, PG1, PG2, PG3, PG2.1, PG2.2, PG2.3, TS1, TS3, TS4, PB1, dan PB2. Dari 21 sampel yang positif tersebut dipilih sampel hasil visualisasi yang terbaik untuk mewakili setiap lokasi sampling sebanyak 6 sampel. Menurut Viljoen (2005), pita DNA yang baik ditunjukkan dengan pita DNA yang tebal dan tidak terdapat pita ganda pada visualisasi. Dengan demikian, dipilih sampel UMA1, KB2, SKB1, PG2, PB2, dan TS2, yang pada Gambar 2 ditandai dengan nomor secara berurutan 1, 7, 10, 14, 20, dan 24 untuk mewakili sampel dari setiap lokasi sampling untuk diurutkan.

Identifikasi PYLCV

Hasil pengurutan PYLCV kemudian diidentifikasi dan dicocokkan dengan sekuen nukleotida PYLCV lainnya yang tersedia di GenBank. Gen PYLCV ini diidentifikasi dengan menggunakan perangkat lunak

Tabel 1 Faktor abiotik di lokasi pengambilan sampel tanaman cabai di Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang

Titik koordinat	Kode sampel (No. Visualisasi)	Desa	Kecamatan	Varietas	Faktor Abiotik		
					Suhu udara (°C)	pH tanah	Kelembapan tanah (%)
-3°36'11,082"S 102°32'31,4"E	PG1, PG2, PG3, PG2.1, PG2.2 PG2.3 (13-18)	Pagar Gunung	Kepahiang	Lokal padang	29±2,83	6±0,85	20±2,82
-3°37'51,588"S 102°35'8,654"E	KB1, KB, KB3 (6-8)	Kampung Bogor	Kepahiang	Kencana	27±1,41	6.2±0,14	10±2,12
-3°29'51,554"S 102°30'50,458"E	SKB1, SKB2, SKB3,SKB4 (9-12)	Simpang Kota Bingin	Merigi	Lokal padang	29±2,12	6±0,57	30±1,41
-3°26'57,192"S 102°30'45,319"E	PB1, PB2 (23-24)	Perbo	Curup Utara	Lokal perbo	30±1,41	6,2±0,28	55±2,18
-3°26'19,342"S 102°31'14,316"E	TS1, TS2, TS3, TS4 (19-22)	Tasikmalaya	Curup Utara	Lolai	21±1,41	6,5±0,28	35±3,53
-3°33'56,012"S 102°30'56,575"E	UMA1,UMA2, UMA3,UMA4, UMA5 (1-5)	Ujan Mas Atas	Ujan Mas	Lokal ujan mas	28±0,71	6,5±0,28	30±2,18



Gambar 2 Hasil visualisasi amplifikasi Gen AC1 dan AC2 pada PYLCV sampel Cabai asal Rejang Lebong dan Kepahiang dengan menggunakan primer universal begomovirus SPG1/SPG2 pada gel agarosa 1%, DNA ladder 100 bp. M = Marker dan pb = pasangan basa.

Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide (BLASTn), secara daring untuk menentukan persentase tingkat kemiripan PYLCV asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kabupaten Kepahiang dengan PYLCV yang terdaftar di GenBank (Tabel 2). Keenam sampel dibandingkan untuk menentukan persentase kesamaan dengan membandingkan segmen DNA A pada gen AC1 dan AC2. Hasilnya memperlihatkan bahwa dari keenam isolat dari kedua kabupaten sampel memiliki kesamaan tertinggi pada PYLCV asal kota Bengkulu, yaitu 99,31% dengan *query cover* 90% dan persentase galat 0%. Menurut Faquet (2008), isolat Begomovirus dapat dikatakan satu spesies apabila memiliki kesamaan pb lebih dari 89%. Dilihat dari keenam isolat sampel, yaitu UMA1, KB2, SKB1, PG2, TS2, dan PB2, dapat dikatakan bahwa 2 isolat, yaitu UMA1 dan KB2 memiliki spesies yang sama dengan isolat PYLCV asal Bali (Kahl *et al.* 2019). Adapun 4 isolat, yaitu SKB1, PG2, TS2, dan PB2 memiliki spesies yang sama dengan isolat PYLCV asal Bengkulu, Kepahiang, dan Seluma (Sutrawati *et al.* 2021). Tingkat kesamaannya pada hasil BLASTn isolat UMA1 DAN KB2 terhadap isolat asal Bali secara

berurutan ialah 91,5% dan 93,84% dengan jumlah nukleotidnya 901 pb. Selanjutnya ialah kesamaan isolat SKB1, PG2, TS2, dan PB2 dengan isolat asal Bengkulu, yang secara berurutan adalah 98.63%, 99,32%, 98,08%, dan 99,32% dengan 859 pb.

Perbandingan Jarak Genetik PYLCV asal Rejang Lebong dan Kepahiang

Jarak genetik dianalisis dengan metode Tamura 3-Parameter untuk menentukan jarak genetik antar-individu intraspecies PYLCV sampel, jarak genetik PYLCV sampel cabai asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang dengan PYLCV asal Negara Indonesia lainnya (data GenBank) dan jarak genetik PYLCV dengan genus Begomovirus lainnya (data GenBank). Hasilnya ditampilkan pada Tabel 3. Berdasarkan analisis, nilai minimum jarak genetik antarisolat UMA1, KB2, SKB1, PG2, TS2, dan PB2 ialah 0,008 (0,8%), nilai maksimum 0,235 (23,5%), dan rata-rata 0,13 (13%). Berdasarkan pendapat Faquet (2008), Begomovirus dapat digabungkan dalam satu spesies apabila memiliki homologi lebih dari 89%, dan jika

Tabel 2 Persentase kemiripan PYLCV asal Rejang Lebong dan Kepahiang dengan Data NCBI berdasarkan hasil BLASTn

Isolat	Deskripsi	Blastn			Asal	Kode akses
		Persentase kesamaan (%)	Nilai galat	Query cover %		
UMA1	Pepper yellow leaf curl Indonesia virus pempatan 2 AC1 gene. <i>partial sequence</i>	91,5	0,0	99	Bali	LC381273
KB2	Pepper yellow leaf curl Indonesia virus pempatan 2 AC1 gene. <i>partial sequence</i>	93,84	0,0	99	Bali	LC381273
SKB1	Pepper yellow leaf curl Indonesia virus Bengkulu-1 AC2, AC1 genes for transcriptional activator protein, replication-associated protein, <i>partial sequence</i>	98,63	0,0	99	Bengkulu	LC381273
PG2	Pepper yellow leaf curl Indonesia virus Bengkulu-1 AC2, AC1 genes for transcriptional activator protein, <i>partial sequence</i>	99,32	0,0	100	Bengkulu	LC381273
TS2	Pepper yellow leaf curl Indonesia virus Bengkulu-1 AC2, AC1 genes for transcriptional activator protein, <i>replication-associated</i>	98,09	0,0	100	Bengkulu	LC381273

Tabel 3 Matriks jarak genetik *pairwise distance* PYLCV asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang dengan genus Begomovirus lainnya dan PYLCV asal Indonesia lainnya

Isolat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
UMA1																	
KB2	0,085																
SKB1	0,235	0,226															
PG2	0,22	0,224	0,019														
TS2	0,231	0,219	0,028	0,024													
PB2	0,22	0,215	0,014	0,008	0,017												
PYLCV Pempatan	0,095	0,066	0,239	0,226	0,241	0,228											
PepYLCAV BATO-50	0,148	0,193	0,239	0,220	0,233	0,224	0,170										
PYLCV PSSWS	0,155	0,177	0,215	0,202	0,211	0,202	0,179	0,133									
PYLCV Bengkulu	0,220	0,222	0,018	0,007	0,022	0,008	0,224	0,220	0,198								
PYLCV Seluma	0,222	0,226	0,017	0,01	0,025	0,011	0,228	0,224	0,202	0,004							
PYLCV Bogor	0,244	0,193	0,089	0,078	0,095	0,08	0,2	0,26	0,233	0,076	0,08						
PYLCV Kepahiang	0,222	0,226	0,017	0,01	0,025	0,011	0,228	0,224	0,202	0,004	0	0,08					
Papaya leaf curl guandong virus	0,186	0,204	0,327	0,307	0,324	0,311	0,205	0,197	0,213	0,307	0,312	0,309	0,312				
Tomato leaf curl java virus	0,189	0,205	0,333	0,309	0,324	0,313	0,202	0,217	0,227	0,309	0,314	0,298	0,314	0,166			
PYLCV Bandung	0,233	0,187	0,1	0,087	0,106	0,09	0,191	0,249	0,225	0,087	0,091	0,044	0,091	0,307	0,292		
PYLCV Jawa Timur	0,243	0,191	0,113	0,1	0,119	0,103	0,191	0,253	0,235	0,1	0,103	0,057	0,103	0,324	0,313	0,047	
Tobacco leaf curl yunnan virus	0,239	0,239	0,265	0,245	0,257	0,249	0,24	0,214	0,217	0,245	0,249	0,241	0,249	0,214	0,172	0,233	0,249

diartikan pada jarak genetik ialah memiliki jarak genetik di bawah 0,1 (10%).

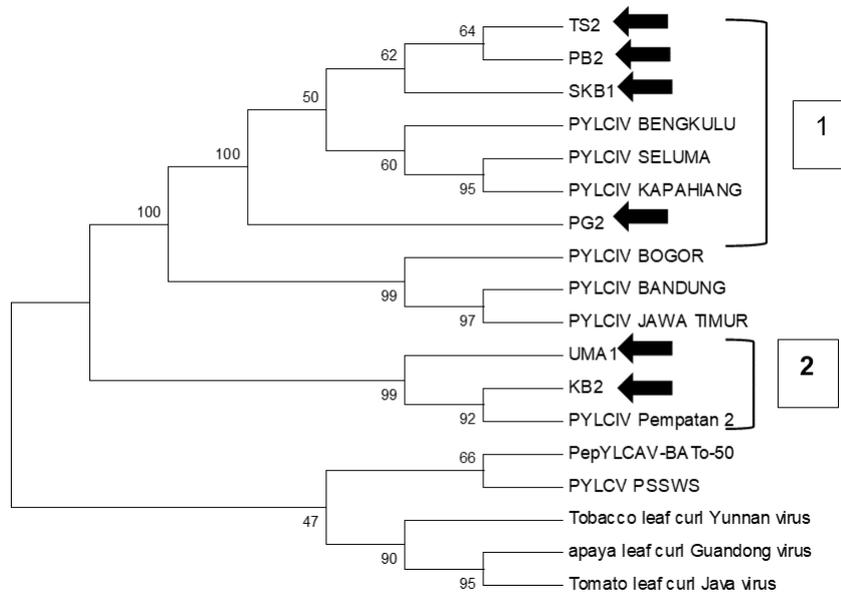
Untuk jarak genetik antarsampel hasilnya menunjukkan ada 2 pengelompokan dari tiap sampel, yaitu kelompok 1 (UMA1 dan KB2), yang memiliki jarak genetik 0,085 (8,5%) yang berarti kedua sampel tersebut dapat dikatakan satu spesies; selanjutnya kelompok 2 (SKB1, PG2, TS2, dan PB2) dengan jarak genetik rata-rata antarsampel adalah 0,018 (1,8%), yang dimaknai bahwa antarsampel menunjukkan homologi yang sangat tinggi dan sudah pasti tergabung dalam satu spesies. Selanjutnya, nilai maksimum dan minimum secara berurutan jarak genetik sampel asal Rejang Lebong dan Kepahiang dengan asal daerah Indonesia lainnya (Pempatan, Aceh, Padang, Bengkulu, Seluma, Bogor, Kepahiang, Bandung, Jawa Timur) ialah 0,244 (24,4%) dan 0,007 (0,7%) sedangkan nilai rata-ratanya adalah 0,14 (14%). Nilai maksimum dan minimum secara berurutan jarak genetik dengan genus *Begomovirus* lainnya (*papaya*

leaf curl guandong virus, *tomato leaf curl java virus*, dan *tobacco leaf curl yunnan virus*) ialah 0,333 (33%) dan 0,008 (0,08%), dan nilai rata-ratanya 0,2 (20%).

Filogeni PYLCV asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang yang diambil dari GenBank

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) model Tamura 3-Parameter dengan 1000 kali replikasi ditunjukkan pada Gambar 3. Dengan menggunakan jarak genetik sebagai dasar perbandingan antarisolat yang kemudian diolah pada aplikasi MEGA dapat dihasilkan sebuah pohon filogenetik. Hasil analisis pohon filogenetik memperlihatkan pemisahan jarak genetik dari sampel yang diisolasi dari kedua kabupaten tersebut menjadi 2 grup yang dapat dilihat pada Gambar 3.

Grup I terdiri atas 4 sampel, yaitu SKB1, PG2, TS2, dan PB2, yang masuk dalam satu grup dengan isolat PYLCV dari Bengkulu, Seluma, dan Kepahiang,



Gambar 3 Pohon filogenetik PYLCV yang direkonstruksi menggunakan model Tamura 3- Parameter dan *Neighbor-Joining* dengan nilai *bootstrap* 1000 kali ulangan.

sebagaimana diperlihatkan dengan tergabungnya isolat dalam satu *clade* pada pohon filogeni, dibuktikan dengan jarak genetik yang dekat antarisolat, yakni 0,007–0,022. Menurut King (2012), virus dengan jarak genetik kurang dari 0,1 merupakan satu spesies yang sama dalam genus Begomovirus. Ini berarti bahwa sampel SKB1, PG2, TS2, dan PB2 masih termasuk satu spesies dengan PYLCV asal Bengkulu, Seluma, dan Kepahiang.

Berbeda dengan sampel dari Grup 2, yaitu UMA1 dan KB2, yang satu kelompok dengan PYLCV, keduanya tergabungnya dalam satu *clade* pada pohon filogeni, dengan jarak genetik yang dekat, yaitu 0,095–0,066. Dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 spesies PYLCV pada isolat asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang, bahwa tidak terdapat banyak keragaman genetik Begomovirus pada tanaman cabai di kedua kabupaten tersebut.

Pemisahan menjadi 2 grup berbeda pada isolat UMA1 dan KB2 dengan SKB1 dan PG2 yang diambil dari lokasi yang sama, yaitu Kabupaten Kepahiang, yang tampak tidak sesuai tetapi ternyata sama dengan penelitian sebelumnya oleh Trisno (2009) pada PYLCV asal Sumatra Barat. Peneliti ini menemukan bahwa beberapa sampel yang dikoleksi dari lokasi sama, yaitu di Kabupaten Agam, tidak tergabung dalam satu kelompok spesies yang sama. Jadi, perbedaan jarak geografis kurang berkontribusi pada keragaman genetik PYLCV.

Terdeteksinya PYLCV di Provinsi Bengkulu akan berdampak negatif terutama di bidang pertanian. Bengkulu telah mengembangkan berbagai macam tanaman hortikultura seperti cabai, bawang merah, kentang, tomat, wortel, dan kubis. Tanaman tersebut merupakan tanaman yang dapat dijadikan inang bagi kutu kebul (*Bemisia tabaci*) yang berperan sebagai

vektor dari PYLCV (Gunaeni *et al.* 2008). Hal ini akan mempercepat penyebaran PYLCV di Bengkulu yang berdampak pada penurunan produksi hasil pertanian dan penurunan ekonomi. Pengendalian PYLCV dapat diupayakan dengan menggunakan varietas toleran terhadap PYLCV untuk menghindari serangan yang lebih parah, seperti Tit Super, CK Sumatera, TM 99, dan Lembang–1, Bara dan Rawit Thailand, penggunaan benih berkualitas, penggunaan persemaian yang benar agar mengurangi kontaminan dan imunisasi tanaman muda yang bertujuan agar gen pertahanan tanaman secara sistemik menjadi aktif (Gunaeni *et al.* 2008).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tanaman cabai asal Kabupaten Rejang Lebong dan Kepahiang positif terserang PYLCV. Diketahui bahwa isolat UMA1 dan KB2 memiliki kesamaan terhadap isolat asal Bali, berturut-turut 91,5% dan 93,84%, sedangkan untuk isolat SKB1, PG2, TS2, dan PB2 memiliki kesamaan dengan isolat asal Bengkulu sebesar 98,63%, 99,32%, 98,08%, dan 99,32%. Hasil peninjauan pada aplikasi MEGA PYLCV asal kedua kabupaten ini memiliki panjang gen AC1 dan AC2 730 pb. Komposisi basa nukleotida tertinggi adalah timina (T) dengan nilai rata-rata 30,1% dan terendah guanina (G) 21,9%. Jarak genetik rata-rata antarisolat ialah 0,13 (13%). Posisi sampel pada pohon filogeneik sampel virus PYLCV asal kedua kabupaten studi terbagi menjadi dua grup, yaitu UMA1 dan KB2 tergabung dalam Grup 1, sedangkan SKB1, PG2, TS2, dan PB2 tergabung dalam Grup 2.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPS] Badan Pusat Statistik provinsi Bengkulu. 2020. *Provinsi Bengkulu Dalam Angka*. Bengkulu (ID): Badan Pusat Statistik.
- Chintakuntla. 2015. Bemisia tabaci Data Sheet, *EPPO quarantine pest*. 1(178): 1–7.
- Damayanti TA, Anastasya H, Yusmani P. 2019. Temuan Penyakit Baru Infeksi Alami Pepper Yellow Leaf Curl Virus dan Sweet Potato Virus C Pada Ubi Jalar Di Malang, Jawa Timur. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 15(6): 248–254. <https://doi.org/10.14692/jfi.15.6.248-254>
- Dombrovsky A, Eyal G, Mali P, Oded L, Yehezkel A. 2010. Characterization of Pepper yellow leaf curl virus, a tentative new Polerovirus species causing a yellowing disease of pepper, *Phytoparasitica*. 38(5): 477–486. <https://doi.org/10.1007/s12600-010-0120-x>
- Doyle JJ dan Doyle JL. 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*, 12(1): 13–15. <https://doi.org/10.2307/2419362>
- Fauquet CM, Bridson RW, Brown JK, Moriones E, Stanley J, Zerbini M, Zho X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature, *Archives of Virology*. *Springer*. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0037-6>
- Hikmat A. 2005. Perkembangan luas Serangan Penyakit Virus pada Tanaman Cabai. Makalah disampaikan pada Pertemuan Apresiasi Penerapan Penanggulangan Penyakit Virus pada Tanaman Cabai. Yogyakarta (ID): 13–16 April 2005.
- Hull R. 2002. *Matthews Plant Virology*. 4th ed. San Diego (US): Academic Press.
- King AMQ, Michael J, Adams, Eric B, Carstens, Elliot J, Lefkowitz. 2012. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. ed. C. London (EN): Elsevier.
- Li R, Salih S, Hurtt S. 2004. Detection of geminiviruses in sweetpotato by polymerase chain reaction. *Plant Dis*. 88: 1347–1351. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1347>
- Gunaeni N, Wiwin S, Rini M, Tati R. 2008. Penyakit Virus Kuning Dan Vektornya Serta Cara Pengendaliannya Pada Tanaman Sayuran. Bandung (ID): Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. 1977. DNA Sequencing with Chain Terminating Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74(12): 5463–5467.. 74(12): 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Santoso TJ, Sri HH, Ati SD, Muhamad H, Sudarsono. 2008. Identity and sequence diversity of Begomovirus associated with Yellow leaf curl diseases of Tomato in Indonesia. *Journal Microbiology Indonesia*. 2: 1–7. <https://doi.org/10.5454/mi.2.1.1>
- Selangga DGW dan 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): 97–102. <https://doi.org/10.23960/jhptt.22197-102>
- Selangga DGW dan Listihani. 2022. Squash Leaf Curl Virus: Species of Begomovirus as the Cause of Butternut Squash Yield Losses in Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences*. 29(6): 806–813. <https://doi.org/10.4308/hjb.29.6.806-813>
- Setiawati W, Bagus KU, Agus M. 2005. *Pengenalan dan Pengendalian Hama-hama Penting pada Tanaman Cabai Merah*. Bandung (ID): Balai Penelitian Tanaman Sayuran
- Sudiono, Nur Y, Sri HH, Purnama H. 2012. Penyebaran Dan Deteksi Molekuler Virus Gemini Penyebab Penyakit Kuning pada Tanaman Cabai di Sumatera. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 5(2): 113–121. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.25113-121>
- Sutrawati M, Parwito, Priyatningsih, Agustin Z, Sipriyadi, Yenny S dan Dwi WG. (2021). First Report of Begomovirus Infection on Papaya in Bengkulu, Indonesi. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 21(1): 49–55. <https://doi.org/10.23960/jhptt.12149-55>
- Trisno J, Sri HH, Trimurti H, Ishak M, Jamsari. 2009. Detection and Sequence Diversity of Begomovirus Associated with Yellow Leaf Curl Disease of Pepper (*Capsicum annum*) in West Sumatra, Indonesia. *Microbiology Indonesia*. 3(2): 56–61. <https://doi.org/10.5454/mi.3.2.2>
- Trisno J, Jamsari, Sri HH. 2021. Infeksi Ganda Pepper Yellow Leaf Curl Virus dan Chilli Veinal Mottle Virus dalam Menimbulkan Penyakit Daun Kuning Keriting Cabai. *Jurnal Proteksi Tanaman*. 5(2):77–88.
- Trisno J, Sri HH, Jamsari J, Trimuri H, Ishak M. 2012. Identifikasi Molekuler Begomovirus Penyebab Penyakit Kuning Keriting pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.) di Sumatera Barat. *Jurnal Natur Indonesia*. 13(1): 41. <https://doi.org/10.31258/jnat.13.1.41-46>
- Viljoen GJ, Nel LH, Crowther JR. 2005. *Molecular Diagnostic PCR Handbook*. Dordrecht (US): Springer.