

Ketahanan Biokimia Tanaman Cabai terhadap *Begomovirus* Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning

Biochemical Resistance of Chilipepper to *Begomovirus*, the Causal Agent of Pepper Yellow Leaf Curl Disease

Rokhana Faizah^{1,2*}, Sriani Sujiprihati¹, Muhamad Syukur¹, Sri Hendrastuti Hidayat¹

¹Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

²Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan 20158

ABSTRAK

Mekanisme ketahanan tanaman secara biokimia terhadap infeksi patogen dapat dievaluasi melalui pengukuran aktivitas enzim peroksidase dan akumulasi asam salisilat. Penelitian dilakukan dengan tujuan mendapatkan informasi mengenai mekanisme ketahanan tanaman cabai secara biokimia ketika terinfeksi *Pepper yellow leaf curl Begomovirus* (PYLCV) penyebab penyakit daun keriting kuning. Inokulasi PYLCV dilakukan melalui serangga vektor *Bemisia tabaci*. Akumulasi asam salisilat dan enzim peroksidase pada 6 genotipe cabai (35C2, IPB C15, IPB C26, IPB C10, IPB C14, dan IPB C12) diukur 120 jam setelah inokulasi (JSI). Hasil penelitian menunjukkan bahwa akumulasi asam salisilat dan konsentrasi enzim peroksidase meningkat pada tanaman yang terinfeksi virus. Peningkatan yang terjadi cenderung lebih tinggi pada genotipe rentan (35C2, IPB C15, IPB C26) dibandingkan dengan genotipe tahan (IPB C12). Terdapat korelasi positif antara ketahanan biokimia (akumulasi asam salisilat) dan ketahanan struktural (panjang sel palisade).

Kata kunci: asam salisilat, *Begomovirus*, enzim peroksidase, mekanisme ketahanan, *Pepper yellow leaf curl virus*

ABSTRACT

Plant biochemical resistance towards virus infection can be evaluated through measurement of salicylic acid accumulation and peroxidase concentration. A research was conducted to study biochemical resistance of chillipepper to infection of *Pepper yellow leaf curl Begomovirus* (PYLCV) the causal agent of pepper yellow leaf curl disease. Virus inoculation was done using insect vector, *Bemisia tabaci*. Salicylic acid accumulation and peroxidase concentration on 6 chillipepper genotypes (35C2, IPB C15, IPB C26, IPB C10, IPB C14, dan IPB C12) was measured 120 h after inoculation. The results showed that salicylic acid accumulation and peroxidase concentration were higher on plants after virus infection. Susceptible genotypes (35C2, IPB C15, IPB C26) tend to have higher salicylic acid accumulation and peroxidase concentration than those of resistant genotype (IPB C12). Positive correlation was observed between biochemical resistance (salicylic acid accumulation) and structural resistance (length of palisade meshophyll cell).

Key words: *Begomovirus*, *Pepper yellow leaf curl virus*, peroxide enzyme, resistance mechanism, salicylic acid

*Alamat penulis korespondensi: Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Jalan Brigjen Katamso 51 Medan, Sumatera Utara 20158
Tel: 061-7862466, 7862477, Faks: 061-7862488, Surel: nana_rfz@yahoo.com; r.faizah@iopri.org

PENDAHULUAN

Pepper yellow leaf curl Begomovirus (PYLCV) merupakan virus utama yang menginfeksi tanaman cabai di Indonesia dan menyebabkan penurunan produktivitas hingga 100% (De Barro *et al.* 2008). Upaya pengendalian penyakit lebih banyak dilakukan melalui modifikasi lingkungan tumbuh tanaman dengan beberapa cara kultur teknis, misalnya perlindungan bibit dengan sungkup kedap serangga (Yasa *et al.* 2012), dan penanaman tanaman pinggir (Udiarto 2012). Penanaman varietas cabai tahan virus merupakan salah satu strategi pengendalian penyakit yang dapat diandalkan, tetapi hingga saat ini belum tersedia varietas komersial cabai yang tahan terhadap PYLCV. Ganefianti *et al.* (2008) melaporkan beberapa genotipe cabai yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai tetua dalam perakitan varietas cabai tahan PYLCV. Mekanisme ketahanan genotipe cabai tersebut perlu dipelajari sebagai landasan pengembangan varietas tahan.

Menurut Artlip dan Funkhouser (1952), mekanisme ketahanan tanaman terhadap virus melibatkan pembentukan senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti enzim peroksidase dan asam salisilat. Aktivitas enzim peroksidase dilaporkan berperan dalam mekanisme ketahanan terhadap virus pada tanaman kedelai (Andreeva 1989), *mustard* (Gupta *et al.* 1990), *rapeseed* (Zhou *et al.* 1992), mentimun (Yurina *et al.* 1993), alfalfa (Buffard *et al.* 1996), jagung (Souza *et al.* 2003), wortel (Wally dan Punja 2010), dan *Cucurbita moschata* (Jaiswal *et al.* 2012). Akumulasi asam salisilat merupakan salah satu mekanisme ketahanan tanaman tembakau terhadap *Tobacco mosaic virus* (De Hu dan Klessig 1997), dan *Catharanthus roseus* (Idrees *et al.* 2011).

Penelitian mengenai respons ketahanan beberapa genotipe cabai yang dilakukan oleh Ganefianti *et al.* (2008) berhasil mengidentifikasi beberapa genotipe yang memiliki sifat ketahanan terhadap PYLCV dengan derajat yang berbeda-beda. Peranan enzim peroksidase atau asam salisilat pada

ketahanan genotipe cabai terhadap infeksi PYLCV belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu penelitian dilakukan dengan tujuan membandingkan aktivitas asam salisilat dan enzim peroksidase pada beberapa genotipe cabai ketika terinfeksi oleh PYLCV.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan ialah genotipe cabai, yaitu IPB C10, IPB C12, IPB C14, IPB C15, IPB C26, dan 35C2. Respons 6 genotipe cabai tersebut telah diketahui berdasarkan penelitian sebelumnya, yaitu IPB C12 sebagai genotipe tahan, IPB C14 dan IPB C15 moderat tahan, IPB C10 dan IPB C26 moderat rentan, serta 35C2 genotipe rentan (Ganefianti *et al.* 2008). Isolat virus yang digunakan adalah PYLCV isolat Segunung yang merupakan koleksi Laboratorium Virologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman IPB.

Penularan PYLCV melalui Serangga Vektor *Bemisia tabaci*

Inokulasi PYLCV dilakukan menggunakan vektor *B. tabaci* (kutukebul) pada tanaman berumur 15 hari setelah semai (HSS), yaitu pada fase kotiledon yang telah membuka penuh (Aidawati *et al.* 2002). Kutukebul dipelihara pada tanaman kapas dalam kurungan kedap serangga. Kutukebul dewasa diberi periode makan akuisisi selama 24 jam pada tanaman cabai terinfeksi PYLCV. Setelah itu sebanyak 10 ekor kutukebul dipindahkan ke tiap tanaman cabai sehat yang kemudian ditutup dengan sungkup kain kasa untuk diberikan periode makan inokulasi selama 48 jam. Setelah periode inokulasi, kutukebul dimatikan melalui penyemprotan dengan insektisida. Sebagai perlakuan kontrol ialah tanaman cabai yang tidak diinfeksi PYLCV.

Pengukuran Akumulasi Asam Salisilat dan Aktivitas Enzim Peroksidase

Analisis kuantitatif akumulasi asam salisilat menggunakan metode *high pressure liquid chromatography* (HPLC) (AOACI 1995). Analisis akumulasi asam salisilat pada genotipe rentan 35C2 dilakukan pada

beberapa interval waktu, yaitu 48, 72, 96, dan 120 jam setelah inokulasi (JSI). Perbandingan akumulasi asam salisilat pada 6 genotipe cabai dilakukan menggunakan kotiledon hingga daun termuda (pucuk) pada waktu 12 JSI. Sampel yang digunakan ialah 0.2 g sampel daun dalam keadaan segar.

Analisis aktivitas enzim peroksidase dilakukan dengan metode Zen *et al.* (2002). Analisis dilakukan terhadap kotiledon hingga daun termuda (pucuk) pada waktu 120 JSI. Bobot sampel yang digunakan 0.5 g sampel dalam keadaan segar. Penentuan aktivitas enzim peroksidase dilakukan berdasarkan pada absorbansi dari larutan yang diuji menggunakan spektrofotometer. Sepuluh gram daun cabai digerus dalam mortar dalam 100 mL akuades pada suhu 4 °C sampai homogen, kemudian disaring dengan kertas saring. Selanjutnya, filtrat disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 15 menit pada 4500 putaran per menit. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak enzim. Aktivitas enzim peroksidase ditentukan dengan menggunakan dua tabung. Tabung pertama sebagai blanko berisi campuran yang terdiri atas 5.0 mL ekstrak enzim dan 5 mL larutan *pylogallol*. Tabung kedua berisi campuran yang terdiri atas 50 mL ekstrak enzim, 5 mL larutan *pylogallol* dan 5.0 mL H₂O₂ dengan konsentrasi 1%. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 420 m dan diamati perubahan nilai sampai angka konstan. Penentuan aktivitas enzim peroksidase mengikuti rumus:

$$V = A / (t \times c), \text{ dengan}$$

V, aktivitas enzim dinyatakan sebagai unit aktivitas enzim gram sampel daun; A, selisih absorbansi sesudah dan sebelum penambahan H₂O₂; t, waktu yang diperlukan untuk perubahan absorbansi; c, konsentrasi enzim dalam gram berat bahan.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian disusun berdasarkan rancangan petak terpisah. Setiap ulangan terdiri atas 10 tanaman. Petak utama adalah perlakuan inokulasi dan tanpa inokulasi, anak petak

adalah ulangan. Aktivitas enzim peroksidase dilakukan dengan 2 ulangan dan akumulasi asam salisilat dengan menggabungkan 10 tanaman (*bulking*) yang dianalisis satu kali.

Data analisis asam salisilat disajikan dalam bentuk grafik. Data hasil pengukuran aktivitas enzim peroksidase dianalisis berdasarkan nilai ragamnya dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Data hasil pengukuran asam salisilat dan aktivitas enzim peroksidase digunakan untuk uji korelasi dengan data struktural yang mengacu pada Faizah *et al.* (2011).

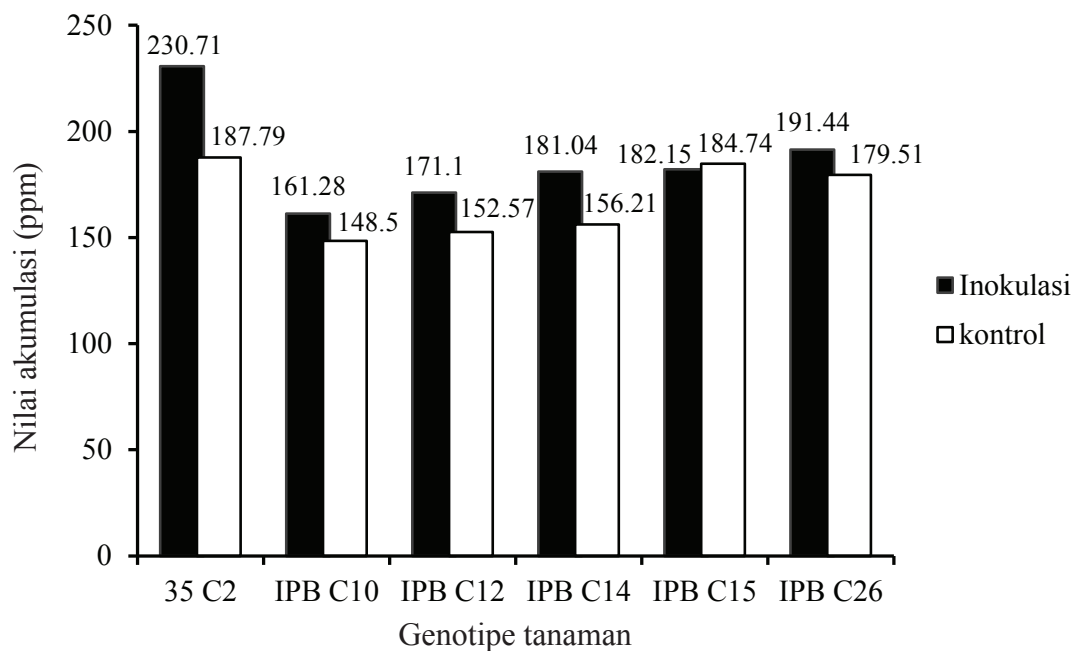
HASIL

Akumulasi Asam Salisilat

Analisis asam salisilat pada genotipe rentan 35C2 menunjukkan perubahan akumulasi asam salisilat mengikuti periode waktu setelah inokulasi PYLCV. Akumulasi asam salisilat yang diukur pada interval waktu 48, 72, 96, dan 120 JSI berturut-turut ialah 139.04; 153.41; 170.4; dan 345.59 ppm. Pengukuran asam salisilat pada 6 genotipe cabai menunjukkan peningkatan akumulasi asam salisilat pada tanaman yang terinfeksi PYLCV dibandingkan dengan tanaman yang tidak terinfeksi PYLCV (tanaman kontrol), kecuali genotipe IPB C15. Peningkatan akumulasi asam salisilat berkisar antara 7% dan 23% dengan peningkatan tertinggi terjadi pada genotipe rentan 35C2 (Gambar 1).

Aktivitas Enzim Peroksidase

Pengukuran aktivitas enzim peroksidase dilakukan pada waktu yang sama dengan pengukuran akumulasi asam salisilat (120 JSI). Analisis ragam konsentrasi enzim peroksidase berpengaruh sangat nyata ($P < 0.001$) pada interaksi antara genotipe dengan perlakuan inokulasi (Tabel 1). Konsentrasi enzim peroksidase tertinggi dihasilkan oleh IPB C14 (2.883 ppm) dan IPB C26 (2.245 ppm) berturut-turut untuk perlakuan tanpa inokulasi (kontrol) dan perlakuan inokulasi virus. Konsentrasi enzim peroksidase cenderung mengalami peningkatan pada genotipe cabai uji yang terinfeksi PYLCV, kecuali pada genotipe IPB C14. Peningkatan konsentrasi enzim peroksidase cenderung lebih tinggi pada



Gambar 1 Akumulasi asam salisilat pada 6 genotipe cabai yang diukur 120 jam setelah inokulasi PYLCV.

Tabel 1 Konsentrasi enzim peroksidase pada 6 genotipe cabai yang diukur 120 jam setelah inokulasi PYLCV

Genotipe	Sifat ketahanan terhadap PYLCV	Rata-rata konsentrasi enzim peroksidase (ppm)		Peningkatan enzim peroksidase (%)
		Tanpa inokulasi PYLCV (kontrol)	Inokulasi PYLCV	
35C2	Rentan	1.298 b	1.651 a	27.2
IPB C15	Rentan	1.032 b	1.458 a	41.3
IPB C26	Rentan	0.931 b	2.245 a	141.1
IPB C10	Agak tahan	0.542 b	1.827 a	237.1
IPB C14	Agak tahan	2.883 a	1.965 b	-31.8
IPB C12	Tahan	0.338 a	0.482 a	42.7

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji DMRT $\alpha = 5\%$

genotipe rentan (27.2-141.1 %) dibandingkan dengan genotipe tahan (42.7 %).

Korelasi Antar Karakter Ketahanan

Analisis korelasi antarkarakter ketahanan dilakukan untuk mengetahui hubungan antara ketahanan struktural dan ketahanan biokimia. Karakter ketahanan struktural terdiri atas panjang sel palisade, lebar sel palisade dan ketebalan daun. Berdasarkan hasil analisis korelasi diketahui bahwa akumulasi asam salisilat berkorelasi positif dengan panjang sel palisade (Tabel 2).

PEMBAHASAN

Asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi yang menyebabkan ketahanan tanaman terhadap beberapa patogen (Ryals *et al.* 1996). Aktivitas asam salisilat pada tanaman cabai meningkat setelah terjadi infeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV) (Taufik *et al.* 2010). Peningkatan akumulasi asam salisilat merupakan bentuk reaksi cepat dari tanaman untuk melawan infeksi virus, yaitu dengan memobilisasi metabolit sekunder. Peningkatan akumulasi asam salisilat yang

Tabel 2 Koefisien korelasi antarkarakter biokimia dan struktural pada tanaman cabai (*Capsicum spp.*)

Karakter	Karakter struktural			Karakter biokimia	
	Panjang sel palisade	Lebar sel palisade	Ketebalan daun	Enzim peroksidase	Asam salisilat
Kerapatan trikoma	-0.06	0.05	0.01	0.25	-0.16
Panjang sel palisade		0.59	0.96**	0.41	0.84*
Lebar sel palisade			0.67	0.51	0.33
Ketebalan daun				0.32	0.66
Enzim peroksidase					0.33

** sangat nyata; * nyata

Sumber data untuk karakter ketahanan struktural diperoleh dari Faizah *et al.* (2011)

cukup tinggi pada genotipe rentan 35C2 mengindikasikan bahwa tanaman cabai mulai responsif mengaktifkan mekanisme ketahanan biokimia terhadap infeksi PYLCV.

Aktivitas enzim peroksidase merupakan indikator respons pertahanan tanaman terhadap infeksi virus selain akumulasi asam salisilat. Souza *et al.* (2003) melaporkan bahwa aktivitas peroksidase meningkat pada tanaman jagung setelah terjadi inokulasi *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV). Peningkatan aktivitas peroksidase tersebut sangat penting dalam melindungi dinding sel terhadap penyebaran virus. Seperti halnya dengan akumulasi asam salisilat, genotipe rentan memiliki aktivitas enzim peroksidase yang lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe tahan. Herison *et al.* (2007) melaporkan bahwa genotipe cabai yang rentan terhadap infeksi CMV memiliki aktivitas enzim peroksidase yang lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe yang tahan. Lebih lanjut ditunjukkan bahwa terdapat korelasi positif antara aktivitas enzim peroksidase, keparahan gejala dan tingkat konsentrasi virus. Aktivitas enzim peroksidase yang tinggi pada genotipe tanaman rentan merupakan respons sekunder terhadap cekaman yang disebabkan oleh infeksi virus.

Infeksi PYLCV hanya terjadi melalui serangga vektor kutukebul *B. tabaci*. Oleh karena itu, salah satu mekanisme pertahanan secara struktural terhadap infeksi PYLCV ialah menghalangi penetrasi virus melalui stilet kutukebul. Kerapatan trikoma yang

tinggi, susunan dan panjang sel palisade merupakan penghalang struktural terhadap vektor *B. tabaci* dan *Begomovirus* (Faizah *et al.* 2011). Respons pertahanan biokimia terjadi saat virus mencapai jaringan floem, dan menyebabkan gen resisten mengaktifkan jalur sinyal transduksi asam salisilat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Tim Program Pascasarjana (HTPP) tahun 2009 dengan Nomor Kontrak 38/I3.24.4/SPK/BG-PD/2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidawati N, Hidayat SH, Suseno R, Sosromarsono S. 2002. Transmission of an Indonesian isolate of *Tobacco leaf curl virus* (*Geminivirus*) by *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae). *Plant Pathol J.* 18(5):231-236.
- Andreeva IV. 1989. Membran permeability and peroxidase activity in soy cultivars differing in resistance to mosaic virus. *J Soviet Plant Physiol.* 36(4):667-674.
- [AOACI] Association of Official Analytical Chemists International. 1995. *Official Methods of Analysis: Salicylic acid*. 28th ed. Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists International. hlm 336-337.
- Artlip TS, Funkhouser EA. 1952. Protein syntetic responses to environmental

- Stresses. Di dalam: Pessaraki M, editor. *Handbook of plant and crop physiology*. New York (US): Marcel Dekker, Inc. hlm 627-644.
- Buffard D, Esnault R, Kondorosi Á. 1996. Role of plant defence alfalfa during symbiosis. 1996. *World J Microbiol Biotechnol*. 12(2):175-188.
- De Barro DJ, Hidayat SH, Frohlich D, Subandiyah S, Ueda S. 2008. A virus and its vector, *Pepper yellow leaf curl virus* and *Bemisia tabaci*, two new invaders of Indonesia. *Biol Invasions*. 10(4):411-433. doi: 10.1007/s10530-007-9141-x.
- De Hu DF Klessig. 1997. Role for salicylic acid in the activation of defense response in catalase-deficient transgenic tobacco. *Mol Plant Microbe Interact*. 10(7):922-925.
- Faizah R, Sujiprihati S, Syukur M, Hidayat SH. 2011. Mekanisme ketahanan struktural terhadap *Begomovirus* penyebab penyakit keriting kuning (*Pepper yellow leaf curl virus*). Di dalam: *Prosiding Seminar Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia*; 2011 Des 9-10; Padang (ID): Peripi Komda Sumatera dan Fakultas Pertanian Universitas Andalas. hlm 223-230.
- Ganefianti DW, Sujiprihati S, Hidayat SH, Syukur M. 2008. Metode penularan dan uji ketahanan genotipe cabai terhadap *Begomovirus*. *Akta Agrosia*. 11(2):162-169.
- Gupta SK, Gupta PP, Yadava TP, Kaushik CD. 1990. Metabolic changes in mustard due to alternaria leaf blight. *Ind Phytopathol*. 43(1):64-69.
- Herison C, Rustikawati, Sudarsono. 2007. Aktivitas peroksidase, skor ELISA dan respon ketahanan 29 genotipe cabai merah terhadap infeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV). *Akta Agrosia*. 10(1):1-13.
- Idrees M, Naeem M, Aftab T, Khan MMA, Moinuddin. 2011. Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defence system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *Acta Physiol Plant*. 33(3):987-999. doi: 10.1007/s11738-010-0631-6.
- Jaiswal N, Singh M, Dubey RS, Venkataramanappa V, Datta D. 2012. Phytochemicals and antioxidative enzymes defence mechanism on occurrence of yellow vein mosaic disease of pumpkin (*Cucurbita moschata*). *3 Biotech*. (2012):1-9. doi: 10.1007/s13205-012-0100-6.
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, Molina A, Steiner HY, Hunt MD. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*. 8:1809-1819.
- Souza IRPD, Oliveira ED, Peres MA, Oliveria ACD, Purcino AAC. 2003. Peroxidase activity in maize inbred lines resistant or susceptible to *Maize dwarf mosaic virus*. *Rev Brasil Milho Sorgo*. 2(1):1-8.
- Taufik M, Rahman A, Wahab A, Hidayat SH. 2010. Mekanisme ketahanan terinduksi oleh *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) pada tanaman cabai terinfeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV). *J Horti*. 20(3):274-283.
- Udiarto BK. 2012. Pemanfaatan tanaman pembatas pinggir dan predator *Coccinellidae* untuk pengendalian kutukebul *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), vektor *Begomovirus* pada pertanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.) [disertasi]. Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Wally O, Punja ZK. 2010. Enhanced disease resistance in transgenic carrot (*Daucus carota* L.) plants over-expressing a rice cationic peroxidase. *Planta*. 232(5):1229-1239. doi: 10.1007/s00425-010-1252-4.
- Yasa IND, Sudiarta IP, Wirya IGNAS, Sumiartha K, Utama IMS, Luther GC, Mariyono J. 2012. Kajian ketahanan terhadap penyakit busuk daun (*Phytophthora infestans*) pada beberapa galur tomat. *E-Jurnal Agroekoteknologi Trop*. 1(2):154-161. doi: 10.1007/s00705-008-0042-9.
- Yurina OV, Yurina TP, Anikina II. 1993. Peroxidase activity of leaves in cucumber as a test for resistance to mildew. *Sel'skokhozyaistvennaya Biol*. 1:113-117.
- Zen K, Setiamiharja R, Murdaningsih, Suganda T. 2002. Aktivitas enzim peroksidase pada lima genotip cabai yang

mempunyai ketahanan berbeda terhadap penyakit antraknosa. *Zuriat*. 13(2):97-105.
Zhou BW, Liu SY, Chen DY, Yu Q, Yang J, Wang C. 1992. Peroxidase in relation to varietal resistance to virus diseases in

rapeseed (*Brassica napus*). *Oil Crops China*. 2:52-54.