



Infeksi Ganda *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* dan *Chilli Veinal Mottle Virus* dalam Menimbulkan Penyakit Daun Kuning Keriting Cabai

Dual Infection of *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* and *Chilli Veinal Mottle Virus* in Causing the Yellow leaf Curl Disease on Chili

Jumsu Trisno^{1)*}, Jamsari²⁾, Sri Hendrastuti Hidayat³⁾

¹⁾Program Studi Proteksi Tanaman Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas

²⁾Program Studi Agroteknologi Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas

³⁾Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

*E-mail: jumsutrisno@agr.unand.ac.id

Diterima: 15 Oktober 2021 Disetujui: 27 Desember 2021 Dipublikasi: 31 Desember 2021

ABSTRACT

Yellow leaf curl disease is the primary disease in chili plants with up to 100% losses. Detection from the field showed a mixed infection between Geminivirus or *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (PYLCV) and several viruses, including Chilli Veinal Mottle Virus (ChiVMV) and *Cucumber mosaic Virus* (CMV). Therefore, this study aimed to determine the role of PYLCV and ChiVMV dual infection in influencing the development of chili yellow leaf curl disease. This study used a completely randomized design (CRD) with six treatments and ten replications. The treatments used were multiple Geminiviruses and ChiVMV infections simultaneously, before ChiVMV co-infection, after Geminivirus infection, single infection and without infection viruses. The results showed that the presence of ChiVMV infection before, after, and concurrently with Geminiviruses infection could increase the yellow leaf curl disease intensity and reduce plant height and wet weight growth. The mean scale value of ChiVMV infection before, after, and concurrently with Geminiviruses infection were 3.38, 3.90 and 3.58 compared to single Geminiviruses infection (scale of 3.20) and single ChiVMV (scale of 1.33). The interaction analysis of ChiVMV and geminiviruses infections based on the percentage reduction in plant growth height and wet weight showed additive interaction. ChiVMV co-infection further exacerbated the incidence of yellow leaf curl diseases in chilies.

Keywords: Interaction, ChiVMV, PYLCV, Pepper yellow leaf curl diseases

PENDAHULUAN

Bagi masyarakat Sumatera Barat, tanaman cabai (*Capsicum annuum* Linnaeus) memiliki peran penting dalam kehidupan sehari-hari, namun serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), seperti virus,

telah menyebabkan produksi dan produktivitas dari setiap musim tanam selalu terganggu. Beberapa jenis virus yang dilaporkan menyerang adalah: *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), *Chilli Veinal Mottle Virus* (ChiVMV), *Tobacco Mosaic Virus* (TMV), *Tomato Mosaic*

Virus (ToMV), *Tobacco Etch Virus* (TEV), *Pepper Mottle Virus* (PeMV), *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV), dan *Potato Virus Y* (PVY) (Semangun, 1991), Pada tahun 1999 dilaporkan adanya penyakit daun kuning keriting pada cabai di Jawa Barat (Hidayat et al., 1999) yang disebabkan oleh Geminivirus dan dikenal dengan *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (PYLCV) (Sulandari, 2004; Syaiful 2005; Trisno et al., 2009). Sulandari (2004) melaporkan bahwa intensitas penyakit ini adalah 80 - 100% pada cabai rawit, dengan kerugian mencapai 100% karena infeksi berat dapat menyebabkan gugurnya bunga. Trisno et al. (2010) menambahkan infeksi pada cabai besar dapat menimbulkan kerugian 60 – 80%. Selain menginfeksi cabai, PYLCV juga dapat menyerang tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum*) (Aidawati et al., 2005; Santoso et al., 2008), *Nicotiana tabacum* (Hidayat et al., 2008; Trisno et al., 2014)), gulma (*Ageratum conyzoides*), *N. bentamiana* (Sudiono et al., 2001; Sukamto et al., 2005), dan kedelai (*Glycine max*) (Sutrawati et al., 2020).

Penularan penyakit ini hanya dapat terjadi melalui serangga vektor kutukebul atau *Bemisia tabaci*. Penularan sangat dipengaruhi oleh lamanya masa akuisisi *B. tabaci* pada tanaman sakit, jumlah serangga, dan lamanya periode inokulasi yang terjadi pada tanaman sehat. Satu ekor serangga vektor *B. tabaci* dengan masa akuisisi 1 jam dan masa periode inokulasi selama 1 jam dapat menimbulkan penyakit 60 – 80 % (Trisno et al., 2012).

Gejala penyakit ini di lapangan bervariasi, baik pada satu lokasi ataupun pada lokasi yang berbeda. Gejala umum yang dijumpai adalah kuning, keriting, *cupping* dan daun kecil-kecil (Trisno et al., 2010). Variasi gejala ini dimungkinkan karena adanya infeksi virus lain selain PYLCV. Hasil deteksi dari tanaman yang bergejala kuning, keriting,

dan *cupping* di lapangan menunjukkan bahwa adanya infeksi ganda PYLCV dengan CMV (14,3 %), ChiVMV (28,6 %), dan CMV+ChiVMV (7,1%) (Trisno, 2010). Infeksi ganda juga terjadi antara ChiVMV dan CMV (Taufik, 2005). Infeksi ganda CMV dan *Pepper Mottle Virus* (PepMoV) bersinergis dalam menimbulkan penyakit pada cabai (Murphy and Bowen, 2006). Keberadaan dan peranan virus lain seperti ChiVMV pada tanaman cabai yang terinfeksi PYLCV dalam menimbulkan penyakit kuning daun belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari infeksi ganda PYLCV dan ChiVMV dalam mempengaruhi perkembangan penyakit daun kuning keriting serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman cabai.

METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Virologi dan Rumah Kaca Departemen Proteksi Tanaman Institut Pertanian Bogor.

Metode

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Rangkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan berupa inokulasi ganda antara PYLCV dengan ChiVMV dengan berbagai kombinasi perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan inokulasi ganda PYLCV dan ChiVMV pada tanaman cabai

Inokulasi I	Interval (hari)	Inokulasi II
Tanpa inokulasi	- ^{x)}	-
PYLCV	* ^{y)}	-
ChiVMV	3	PYLCV
ChiVMV +PYLCV	simultan	-
PYLCV	3	ChiVMV
ChiVMV	3	ChiVMV

^{x)} : Tanpa inokulasi

^{y)} : Inokulasi tunggal

Penyiapan *Bemisia tabaci*

Serangga *B. tabaci* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Virologi Departemen Proteksi Tanaman Institut Pertanian Bogor. *B. tabaci* dipelihara dan diperbanyak pada tanaman kapas dalam kurungan yang kedap serangga. Kurungan kedap serangga disiapkan dengan ukuran lebar 1x1 m dan tinggi 1 m. Lima batang tanaman kapas umur 1 bulan setelah tanam diletakkan dalam kurungan. Imago *B. tabaci* diinfestasikan ke dalam kurungan tersebut dan dipelihara sampai populasi dianggap cukup untuk perlakuan. Imago yang dihasilkan digunakan untuk inokulasi PYLCV.

Penyiapan tanaman sumber inokulum

Inokulum virus PYLCV yang digunakan dalam penelitian berasal pertanaman cabai di Kota Padang Sumatera Barat. Isolat dimurnikan melalui penularan dengan serangga vektor *B. tabaci* ke tanaman tomat sehat, dengan cara sebagai berikut: vektor *B. tabaci* diberi perlakuan periode akuisisi dengan cara tanaman terinfeksi dari lapangan disungkup menggunakan sungkup silindris dari mika yang bagian atasnya ditutup kain kasa (untuk ventilasi). Ke dalam sungkup diinfestasikan 100 ekor *B. tabaci* hasil perbanyakan untuk memberi periode akuisisi selama 24 jam.

Sebanyak 10 ekor *B. tabaci* diinfestasikan ke tanaman tomat sebagai sumber perbanyakan inokulum untuk periode inokulasi selama 48 jam dan disungkup gelas plastik yang ditutup kain kasa di atasnya. Setelah inokulasi, serangga dimatikan dengan menyemprotkan insektisida Confidor (imidacloprid 5%). Tanaman yang menunjukkan gejala kuning dan keriting (7-9 hari setelah inokulasi) dipelihara dengan menempatkan dalam kurungan terpisah yang kedap serangga. Tanaman bergejala siap digunakan sebagai sumber inokulum PYLCV.

Untuk inokulum ChiVMV, digunakan isolat TDChi-1 (isolat asal cabai Tanah Datar, Sumatera Barat). Isolat ChiVMV diremajakan ke tanaman paprika dengan penularan secara mekanis. Tanaman paprika disiapkan dengan langsung disemai pada polibag, setelah umur 30 hari setelah semai siap diinokulasi. Tanaman cabai yang menunjukkan gejala serangan ChiVMV dengan gejala khas mottle diambil dari lapangan. Sumber inokulum ChiVMV digerus dalam mortar steril. Larutan penyangga fosfat 0.01 M (pH 7) ditambahkan dengan perbandingan 1 g daun terinfeksi virus tiap 5 ml larutan penyangga fosfat (1:5 b/v). Cairan perasan tanaman ini segera diinokulasikan ke paprika. Sebelum diinokulasi serbuk karbوندum ditebarkan pada bagian permukaan atas daun, kemudian cairan perasan tanaman dioleskan dengan kapas steril pada permukaan daun. Segera setelah pengolesan cairan perasan tanaman dilakukan pembilasan sisa-sisa cairan perasan yang masih melekat pada permukaan daun tanaman uji menggunakan air mengalir. Tanaman paprika yang menunjukkan gejala ChiVMV siap digunakan sebagai sumber inokulum.

Inokulasi PYLCV

Tahapan proses inokulasi menggunakan *B. tabaci* adalah sebagai berikut: imago *B. tabaci* diberikan perlakuan makan akuisisi (PMA) selama 24 jam pada tanaman sakit (sumber inokulum PYLCV) menggunakan sungkup silendris dari mika yang bagian ujungnya ditutup kain kasa untuk ventilasi. Sebanyak 10 ekor/tanaman *B. tabaci* dimasukkan ke tanaman perlakuan untuk periode inokulasi (PMI) selama 48 jam dan disungkup gelas plastik yang ditutup kain kasa di atasnya. Setelah inokulasi, serangga dimatikan dengan menyemprotkan insektisida Confidor (5%).

Inokulasi ChiVMV

Virus ChiVMV diinokulasikan secara mekanik. Daun paprika sumber inokulum

ChiVMV digerus dalam mortar steril. Larutan penyangga fosfat 0,01 M, pH 7 ditambahkan ke dalam mortar dengan perbandingan 1 g daun terinfeksi virus per 5 ml larutan penyangga fosfat (1:5 b/v). Sap ini segera diinokulasikan ke tanaman sumber inokulum. Setiap tanaman diinokulasi pada 2 helai daun muda yang sudah membuka penuh. Sebelum diinokulasi terlebih dulu ditaburi dengan karborundum pada bagian atas permukaan daun. Sap dioleskan dengan kapas steril pada permukaan daun dimulai dari daun bagian bawah ke atas secara searah dengan tidak mengulangi pada bagian yang sama. Selanjutnya daun dicuci dengan air mengalir. Inokulasi dengan cara yang sama diulang 2 x dengan selang waktu 3 hari.

Deteksi PYLCV dengan PCR

Metode ekstraksi DNA untuk PCR disusun berdasarkan metode yang dilakukan oleh Dellaporta et al. (1983). Sampel daun tanaman (± 100 mg) diletakkan dalam tabung mikro, ditambahkan 100 μ l buffer (Tris 0,1 M (pH 9,0), EDTA 0,1 M, SDS 1%) dan kemudian digerus dengan pistil plastik. Setelah digerus, sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 65°C. Selanjutnya 3,5 μ l potasium asetat (8 M) ditambahkan, dan tabung disimpan dalam es selama 30 menit, setelah itu disentrifugasi selama 15 menit dengan menggunakan *microcentrifuge* pada kecepatan 10.000 rpm. Setelah sentrifugasi supernatan dikumpulkan dan diekstraksi sebanyak dua kali dengan campuran fenol: kloroform (1:1) yang disaturasikan dalam TE. Setelah disentrifugasi lapisan atas dipindahkan ke tabung baru, ditambahkan 2,5 volume etanol absolut, dicampur dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu -20°C. Tabung disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Supernatan dibuang, pelet dicuci dengan 500 μ l etanol 70% dan disentrifugasi. Etanol dibuang, pelet dikeringkan selama 15 menit

dalam vakum, kemudian dilarutkan dalam 25 μ l air steril.

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan teknik PCR berdasarkan metode Rojas et al. (1993) menggunakan primer universal PYLCV yaitu PAL1v 1978 (5'-GCATCTGCAGGCCCA-CATYGTCTTYCCNGT-3') dan PAR1c 715 (5'-GATTTCTGCAGTTDATRTTYTCRTCCATCCA-3') yang dirancang berdasarkan perbandingan sekuen DNA beberapa PYLCV pada daerah genom yaitu gen yang menyandikan protein untuk replikasi dan protein selubung. Setiap reaksi PCR (25 μ l) terdiri atas 5 μ l DNA templet, 0,5 μ l masing-masing primer, 1,5 unit *Taq polymerase*, Tris-HCl 10 mM (pH 9,0), KCl 50 mM, MgCl₂ 1,5 mM, setiap dNTP 200 μ M (Amersham Pharmacia Biotech).

Amplifikasi DNA dilakukan sebanyak 30 siklus yang melalui tiga tahapan yaitu pemisahan utas DNA pada 94°C selama 1 menit, penempelan primer pada 55°C selama 2 menit dan sintesis DNA pada 72°C selama 2 menit (Rojas et al., 1993). Khusus untuk siklus terakhir ditambah tahapan sintesis selama 10 menit, kemudian siklus berakhir dengan suhu 4°C.

Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada gel agarosa 1% dalam bufer Tris-borate EDTA (TBE) 0,5 X dengan tegangan 75 volt (Maniatis et al., 1989) dan diamati dengan UV transiluminator setelah diberi pewarna dengan etidium bromida.

Deteksi ChiVMV dengan DAS-ELISA

Tahapan pengujian dengan DAS-ELISA diawali dengan melapisi plat ELISA dengan antiserum ChiVMV yang sebelumnya sudah disuspensikan dalam *coating buffer*, masing-masing 100 μ l/sumuran, kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama semalam. Plat ELISA selanjutnya dicuci dengan PBST sebanyak 3 kali. Sap tanaman terinfeksi virus dimasukkan ke dalam sumuran 100 μ l/sumuran dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam. Plat

dicuci lagi dengan PBST 3 kali dan dikering-anginkan. Selanjutnya dimasukan konjugat antibodi yang sudah disuspensi 100 µl/sumuran dan inkubasi suhu ruang selama 2 jam. Plat dicuci lagi dengan PBST 3 kali dan dikeringkan. Substrat pNP (5 mg pNP dalam 5 ml bufer pNP) dimasukan 100 µl/sumuran dan diinkubasi sambil diamati terjadinya perubahan warna. Perubahan warna, menunjukkan reaksi positif dan sebaliknya. Untuk menghentikan perubahan warna kedalam sumuran ditambahkan sodium hydrosida 50 µl/sumuran. Selanjutnya untuk menentukan kuantitas virus dilakukan pengukuan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Parameter Pengamatan

Masa inkubasi dan intensitas penyakit

Masa inkubasi (hari) ditentukan dengan cara mengamati awal munculnya gejala penyakit, ditandai dengan menguningnya tulang daun pada daun yang paling muda. Pengamatan dilakukan setiap hari, dimulai dari 1 hari setelah inokulasi virus hingga munculnya gejala pertama kali.

Intensitas penyakit ditentukan dengan mengamati daun yang bergejala. Pengamatan dimulai 1 hari setelah inokulasi sampai 30 hari setelah inokulasi dengan interval 7 hari. Intensitas penyakit ditentukan berdasarkan rumus:

$$I = \frac{\sum(n \times v)}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan :

I = intensitas penyakit

n = tanaman ke i

v = nilai skala serangan tanaman ke i

N = jumlah total/perlakuan

V = nilai skala tertinggi

Perkembangan penyakit dinilai berdasarkan perkembangan kejadian penyakit dengan nilai skoring (Tabel. 2) dan karakteristik gejala dilakukan dengan mencatat

masing-masing bentuk gejala seperti warna daun, bentuk daun, dan ukuran daun (dokumentasi foto).

Akumulasi virus

Deteksi dilakukan untuk menentukan keberadaan virus dalam tanaman setelah inokulasi. Deteksi PYLCV dilakukan dengan PCR dan ChiVMV dengan ELISA. Pengamatan dilaksanakan pada saat munculnya gejala pertama dan pada akhir pengamatan (30 hsi).

Pertumbuhan tanaman

Parameter pertumbuhan tanaman yang diamati adalah: (a). Tinggi tanaman (cm), diukur dari pangkal batang tanaman sampai titik tumbuh. Pengukuran dilakukan setelah 7 hari bibit dipindah ke polibag atau saat inokulasi pertama virus sampai 30 hsi dengan interval 7 hari, dan (b). Berat basah tanaman (g) ditimbang pada 30 hsi. Tanaman dicabut, akar tanaman dibersihkan dari tanah yang menempel. Bagian batang dipisahkan dari akar dengan memotong di pangkal batang. Berat basah tanaman yang diukur adalah bagian batangnya saja.

Analisis interaksi infeksi

Analisis ini dilakukan untuk menentukan adanya interaksi antara infeksi PYLCV dan ChiVMV dalam menyebabkan penyakit daun kuning keriting cabai, dengan menghitung persentase pengurangan tinggi dan berat basah tanaman dengan Rumus (Hanurani, 2001, dimodifikasi):

$$P_r = \frac{T_{rp} - K_{rG}}{T_{rp}} \times 100 \%$$

P_r = Persentase penurunan tinggi dan berat basah tanaman

T_{rp} = Persentase tinggi dan berat basah tanaman pada perlakuan

K_{rG} = Persentase tinggi dan berat basah tanaman pada kontrol (tanpa perlakuan)

Interaksi antara PYLCV dan ChiVMV dilihat dari penghitungan persentase penurunan tinggi dan berat basah tanaman, sebagai berikut:

- $A \geq B + C$: interaksi bersifat sinergistik
- B atau C (yang) terbesar $< A < B + C$: interaksi bersifat penambahan
- $A \leq B$ atau C (yang terbesar): interaksi bersifat interferen

Keterangan:

A = Persentase penurunan tinggi dan berat basah tanaman pada perlakuan PYLCV + ChiVMV

B = Persentase penurunan tinggi dan berat basah tanaman pada perlakuan inokulasi PYLCV

C = Persentase penurunan tinggi dan berat basah tanaman pada perlakuan inokulasi CMV/ChiVMV

Tabel 2. Deskripsi gejala dan tingkat keparahan penyakit daun kuning keriting yang diinfeksi PYLCV dan ChiVMV (Murphy dan Bowen, 2006; dimodifikasi)

Fase perkembangan gejala dan skala keparahan penyakit	Deskripsi gejala
Fase 1	
+1	<i>Vein clearing</i> , spot/bercak kuning, mosaik ringan
+2	Mosaik sedang atau belang
+3	Mosaik dan belang
Fase 2	
+1	Mosaik, belang, perubahan tekstur daun
+2	Mosaik, belang, keriting ringan, demormasi
+3	Mosaik parah, belang, keriting, deformasi
Fase 3	
+1	Kuning, belang, pengurangan ukuran daun tanpa deformasi
+2	Kuning, keriting, belang, pengurangan ukuran daun dengan deformasi
+3	Kuning, <i>cupping</i> , daun mengecil, deformasi
Fase 4	
+1	Kuning, belang, <i>cupping</i> , daun kecil-kecil
+2	Kuning, belang <i>cupping</i> , daun muda keriting
+3	Kuning, belang, daun muda keriting, <i>cupping</i> , pertumbuhan terhenti
Perkembangan Fenotip penyakit	
-1	Penurunan keparahan gejala
0	Tidak ada perubahan keparahan gejala
+1	Peningkatan keparahan gejala

Analisis Statistik

Data hasil pengamatan perkembangan penyakit dan pertumbuhan tanaman dianalisis dengan sidik ragam, jika berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji DNMR pada taraf 5%.

HASIL

Masa Inkubasi dan Intensitas Penyakit

Infeksi ChiVMV pada tanaman yang diinfeksi PYLCV memperlambat munculnya gejala. Masa inkubasi infeksi ganda ChiVMV + PYLCV dan ChiVMV tunggal lebih lama dibandingkan PYLCV tunggal (8,4 hsi). Adanya infeksi ChiVMV pada tanaman yang diinfeksi PYLCV akan memperlambat munculnya gejala pe-

nyakit. Infeksi ganda dengan waktu inokulasi yang berbeda memberikan pengaruh yang beragam terhadap perkembangan intensitas

penyakit daun kuning keriting pada cabai. Intensitas penyakit yang paling rendah disebabkan oleh infeksi ChiVMV tunggal (Tabel 3).

Tabel 3. Masa inkubasi dan intensitas penyakit kuning keriting cabai yang diperlakukan dengan PYLCV, ChiVMV tunggal dan ganda ChiVMV + PYLCV

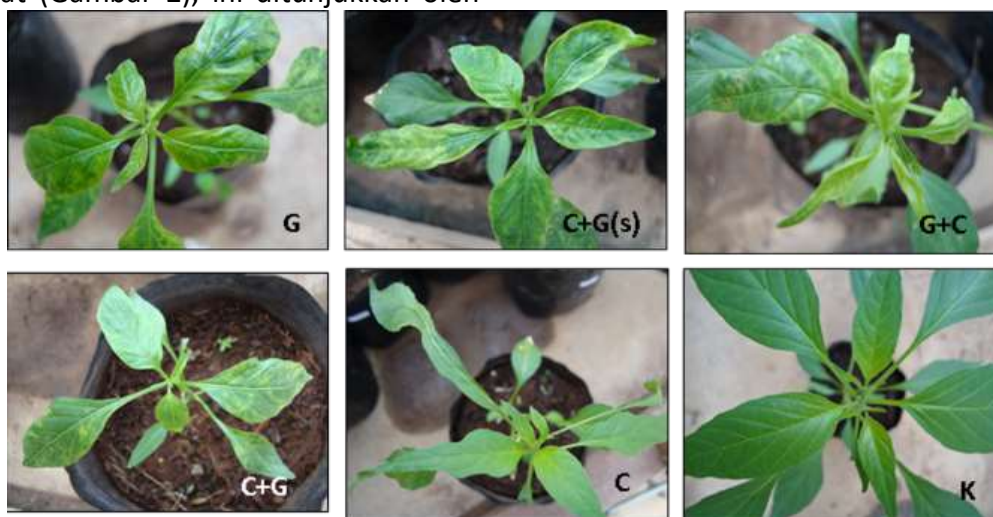
Inokulasi Virus	Perkembangan penyakit	
	Masa inkubasi (hsi)	Intensitas (%) ^{*)}
PYLCV (tunggal)	8,4 a	3,20 a
ChiVMV + PYLCV (bersamaan)	12,4 b	3,58 a
PYLCV + ChiVMV	12,8 b	3,90 a
ChiVMV + PYLCV	11,2 b	3,38 a
ChiVMV (tunggal)	11,8 b	1,33 b

^{*)} : Dinilai berdasarkan skala intensitas serangan (lihat Tabel 2)

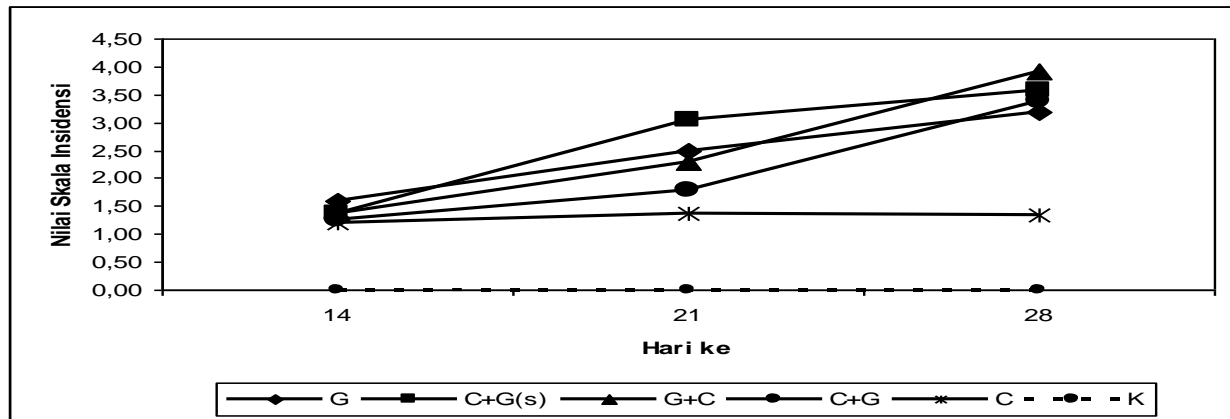
Angka-angka diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata pada DMRT 5%

Perkembangan intensitas penyakit pada tanaman menunjukkan pengaruh yang beragam. Secara umum, karakteristik gejala yang muncul adalah: (a) belang dan malformasi daun, dan (b) *vein clearing*, keriting, dan *cupping* (Gambar 1). Perkembangan intensitas serangan infeksi tunggal PYLCV cenderung selalu meningkat sampai skala maksimal. Sebaliknya, infeksi tunggal ChiVMV tidak meningkat (Gambar 2), ini ditunjukkan oleh

daun muda yang muncul tidak menunjukkan gejala (Gambar 1). Infeksi ganda menunjukkan perkembangan yang berbeda-beda. Infeksi ganda PYLCV + ChiVMV dengan interval 3 hari menunjukkan perkembangan intensitas serangan yang lebih parah, dibandingkan ChiVMV + PYLCV bersamaan dan ChiVMV + PYLCV interval 3 hari (Gambar 2).



Gambar 1. Karakteristik gejala infeksi PYLCV dan ChiVMV secara tunggal dan ganda. infeksi PYLCV tunggal (G), infeksi ChiVMV + PYLCV bersamaan [C+G(s)], infeksi PYLCV + ChiVMV dengan selang waktu 3 hari (G+C), infeksi ChiVMV + PYLCV dengan selang waktu 3 hari (C+G), infeksi ChiVMV tunggal (C), kontrol (tanpa inokulasi virus) (K) pada 30 hsi.



Gambar 2. Perkembangan intensitas penyakit daun kuning keriting pada tanaman cabai yang diinokulasi PYLCV dan ChiVMV baik secara tunggal maupun ganda. Inokulasi tunggal PYLCV (G), inokulasi tunggal ChiVMV (C), inokulasi ganda: ChiVMV+ PYLCV bersamaan [C+G(s)], PYLCV + ChiVMV interval 3 hari (G+C), ChiVMV+ PYLCV interval 3 hari (C+G), dan Kontrol (K).

Interaksi Infeksi Berdasarkan Pertumbuhan Tanaman

Infeksi ChiVMV baik secara tunggal maupun ganda dengan PYLCV, telah menghambat pertumbuhan tinggi dan menurunkan berat basah tanaman. Infeksi ChiVMV pada tanaman yang diinfeksi PYLCV dapat mengurangi pertumbuhan tinggi dan berat basah tanaman yang lebih besar dibandingkan infeksi

si PYLCV tunggal. Berdasarkan data ini dapat ditentukan bahwa infeksi ganda ini memiliki sifat interaksi **penambahan**, karena nilai penurunan pertumbuhan tinggi dan berat basah tanaman yang diinfeksi ganda (ChiVMV + PYLCV) lebih besar dari infeksi PYLCV dan ChiVMV tunggal akan tetapi lebih kecil dari nilai gabungan penurunan infeksi PYLCV dan ChiVMV (Tabel 4).

Tabel 4. Tinggi dan berat basah tanaman cabai yang inokulasi dengan PYLCV, ChiVMV tunggal, dan inokulasi ganda (PYLCV + ChiVMV)

Inokulasi Virus	Pertumbuhan tanaman		Pengurangan (%)	
	Tinggi (cm)	Berat basah (g)	Tinggi (cm)	Berat basah (g)
Tanpa inokulasi	32,1 a	5,24 a		
PYLCV (tunggal)	19,5 b	2,10 b	38,01	59,92
ChiVMV + PYLCV (bersamaan)	15,5 b	1,41 b	51,71	73,09
PYLCV + ChiVMV	16,5 b	1,34 b	48,60	74,43
ChiVMV + PYLCV	14,7 b	1,13 b	54,21	78,35
ChiVMV (tunggal)	16,1 b	1,49 b	49,84	71,56
Interaksi ?			Penambahan ^{x)}	Penambahan ^{x)}

^{x)} : Nilai perlakuan inokulasi ganda lebih besar dari inokulasi tunggal ChiVMV/PYLCV tetapi lebih kecil dari jumlah nilai PYLCV + ChiVMV

Angka-angka diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT 5%.

Interaksi Berdasarkan Akumulasi Virus

Akumulasi virus dalam tanaman ditentukan berdasarkan hasil ELISA untuk ChiVMV dan hasil amplifikasi PCR untuk PYLCV. Hasil analisis menunjukkan bahwa infeksi ganda ChiVMV dan PYLCV dapat secara bersama-sama menimbulkan gejala penyakit kuning keriting pada cabai. ChiVMV dan PYLCV sudah terdeteksi pada tanaman yang sama setelah 14 hsi (semua tanaman ber-gejala) dengan akumulasi ChiVMV yang cukup tinggi (nilai absorbansi berkisar antara 0,548-0,669). Nilai absorbansi infeksi ganda ini tidak berbeda jauh dengan nilai absorbansi ChiVMV tunggal (0,581). Data ini mengindikasikan, ChiVMV dapat berkembang dalam tanaman yang sudah terinfeksi oleh PYLCV (Tabel 5).

Akumulasi ChiVMV cenderung menurun dengan bertambahnya umur tanaman. Dua minggu setelah inokulasi ChiVMV. Pada 30 hsi, titer berkisar 0,225-0,392. titer ChiVMV tertinggi terjadi pada tanaman yang diinokulasi ChiVMV + PYLCV secara Bersamaan. Sedangkan, infeksi PYLCV dapat terdeteksi sejak 14 hsi hingga 30 hsi pada semua perlakuan inokulasi. Akan tetapi, metode PCR yang digunakan tidak dapat mengukur secara

kuantitatif titer PYLCV pada tanaman terinfeksi (Tabel 5).

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan studi awal untuk mengetahui adanya peranan infeksi virus (seperti ChiVMV dan CMV) bersama dengan PYLCV, dalam menimbulkan dan memperparah penyakit kuning keriting pada cabai. Diketahui bahwa ChiVMV dan CMV merupakan penyebab penyakit utama cabai di Asia Tenggara (Duriat et al., 1995), sedangkan infeksi PYLCV pada cabai baru dilaporkan pada tahun 1999 (Hidayat et al., 1999) dan pada tahun 2006 telah tersebar luas di hampir areal pertanaman cabai di Indonesia (Hidayat, 2006). Hasil identifikasi virus yang berasosiasi dengan penyakit daun kuning keriting menunjukkan adanya infeksi ChiVMV, CMV dan PYLCV secara tunggal maupun ganda (Trisno, 2010). Interaksi infeksi antara ChiVMV dan PYLCV dinilai berdasarkan peningkatan intensitas serangan, penurunan pertumbuhan dan akumulasi virus dalam tanaman. Penilaian yang sama dilaporkan oleh Murphy dan Bowen (2006) untuk menilai infeksi ganda CMV dan PepMoV.

Tabel 5. Nilai absorbansi hasil deteksi ChiVMV dan PYLCV pada tanaman cabai yang diinokulasi ChiVMV dan PYLCV secara tunggal dan ganda

	ChiVMV ^{a)}			PYLCV ^{b)}	
	14 hsi	21 hsi	30 hsi	14 hsi	30 hsi
Kontrol	0,136	0,131	0,141	- ^{c)}	-
PYLCV (tunggal)	0,132	0,130	0,186	+ ^{d)}	+
ChiVMV + PYLCV (bersamaan)	0,669	0,549	0,392	+	+
PYLCV + ChiVMV	0,579	0,563	0,255	+	+
ChiVMV + PYLCV	0,548	0,444	0,225	+	+
ChiVMV (tunggal)	0,581	0,579	0,265	-	-

^{a)}: Deteksi ChiVMV menggunakan metode DAS-ELISA

^{b)}: Deteksi PYLCV menggunakan metode PCR dengan primer pALV1978 dan pARc715

^{c)}: tidak terbentuknya pita DNA berukuran 1600 bp

^{d)}: Reaksi positif PCR ditandai terbentuknya pita DNA berukuran 1600 bp

Nilai absorbansi kontrol negatif : 0,131

hsi : hari setelah inokulasi

Hasil infeksi ganda ChiVMV baik secara bersamaan, sebelum dan sesudah infeksi PYLCV menunjukkan bahwa infeksi ChiVMV dan PYLCV telah memperparah serangan penyakit daun kuning keriting cabai, dengan sifat interaksi tergolong penambahan (Tabel 4). Infeksi ChiVMV pada tanaman yang diinfeksi PYLCV memperlambat munculnya gejala serangan virus. Masa inkubasi infeksi ganda ChiVMV + PYLCV dan ChiVMV tunggal lebih lama dibandingkan PYLCV tunggal (8,4 hsi). Intensitas penyakit yang paling rendah disebabkan oleh infeksi ChiVMV tunggal (Tabel 3, Tabel 5). Perkembangan intensitas penyakit infeksi tunggal ChiVMV tidak meningkat (Gambar 2). Infeksi ChiVMV baik secara tunggal maupun ganda dengan PYLCV, telah menghambat pertumbuhan tinggi dan menurunkan berat basah tanaman. Infeksi ganda ini memiliki sifat interaksi **penambahan** (Tabel 4). Akumulasi ChiVMV cenderung menurun dengan bertambahnya umur tanaman (Tabel 5).

Infeksi ganda lebih tinggi menghambat pertumbuhan (tinggi dan berat basah tanaman) dibandingkan infeksi tunggal (Tabel 4). Murphy dan Bowen (2006) menyatakan bahwa interaksi dapat bersifat sinergis apabila nilai infeksi ganda lebih tinggi daripada infeksi tunggal (PYLCV dan ChiVMV) dijumlahkan, dan akan bersifat antagonis apabila nilai infeksi tunggal lebih tinggi dari infeksi campuran.

Secara umum, peningkatan keparahan penyakit akan terjadi apabila adanya ko-infeksi dari satu atau dua virus dibandingkan apabila diinfeksi oleh satu virus (Choi et al., 2002; Kusumaningrum et al., 2015; Syller, 2012). Akan tetapi, infeksi ganda dapat menimbulkan tekanan pada salah satu virus (Dufresne et al., 1999; Poolpol and Inouye 1986; Syller dan Grupa, 2016).

Adanya penekanan ini, dapat meningkatkan intensitas penyakit (Sano dan Kojima, 1989). Pada infeksi ganda ChiVMV dan PYLCV menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (Tabel 4, Tabel 5). Disamping itu akumulasi PYLCV juga tidak dapat dinilai dengan fragmen DNA hasil amplifikasi PCR. Hasil PCR tidak dapat menilai akumulasi virus dalam tanaman. Murphy dan Bowen (2006) melaporkan ko-infeksi PepMoV (genus *Potyvirus*) dapat meningkatkan akumulasi CMV dalam menimbulkan gejala penyakit pada cabai. Mengingat ChiVMV juga merupakan genus *Potyvirus* juga dapat bersinergi dengan PYLCV dalam menimbulkan gejala penyakit kuning keriting pada cabai. Untuk itu diperlukan penelitian yang lebih komprehensif dalam menjawab permasalahan ini.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi ChiVMV baik sebelum, sesudah dan bersamaan dengan infeksi PYLCV dapat meningkatkan intensitas penyakit daun kuning keriting, dan mengurangi pertumbuhan tinggi dan berat basah tanaman. Nilai skala infeksi ganda ChiVMV baik sebelum, sesudah dan bersamaan infeksi PYLCV secara berturut-turut adalah 3,38; 3,90 dan 3,58 dibandingkan infeksi PYLCV tunggal hanya 3,20 dan ChiVMV tunggal hanya 1,33. Interaksi infeksi ganda ChiVMV dan PYLCV bersifat penambahan. Adanya ko-infeksi ChiVMV lebih memperparah kejadian penyakit daun kuning keriting pada cabai.

DAFTAR PUSTAKA

Aidawati N, SH Hidayat, R Suseno, P Hidayat, and S Sujiprihati. 2006. Identifikasi geminivirus yang menginfeksi tomat berdasarkan pada teknik polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 10: 29-32.

- Choi SK, JY Yoon, KH Ryu, JK Choi, P Palukaitis and WM Park. 2002. Systemic movement of a movement-deficient strain of Cucumber mosaic virus in zucchini squash is facilitated by a cucurbit infecting potyvirus. *Journal of General Virology* 83(12): 3173-3178.
- Dellapaorta SL, J Wood, dan JB Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1(14): 19-21.
- Dufresne DJ, RA Valvede, and HA Hobbs. 1999. Effect of co infections of *Andean potato mottle comovirus* with two potyviruses in seven *Capsicum* genotypes. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17:17-22.
- Duriat AS, Y Sulyo, N Gunaini dan Korlina. 1995. Screening of pepper cultivars for resistance to CMV and ChiVMV in Indonesia. Proceeding of the AVNEET II Midterm Workshop Philippines 21 -25 Februari 1995. AVRDC.
- Hanurani H. 2001. Pengaruh infeksi Soybean stunt virus (SSV), Soybean mosaic virus (SMV) tunggal dan ganda terhadap komponen hasil beberapa varietas/galur kedelai. [Tesis]. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayat SH, ES Rusli, dan N Aidawati. 1999. Penggunaan primer universal dalam *polymerase chain reaction* untuk mendeteksi virus gemini pada cabe. Makalah dalam Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Unsoed, Purwokerto, 16 – 18 September 1999: 355 – 359.
- Hidayat SH. 2006. Geminivirus di Indonesia: Karakter Biologi dan Molekuler serta Permasalahannya. Makalah dalam Pertemuan POKJA Penanggulangan Virus Kuning pada Cabai. Bukittinggi 23-25 Agustus 2006.
- Hidayat SH, O Chathawankanpanich, dan N Aidawati. 2008. Molecular identification and sequence analysis of *Tobacco leaf curl begomovirus* from Jember, East Java, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences* 15(1): 13-17.
- Kusumaningrum F, S Hartono, S Sulandari, S Somowiyarjo. 2015. Infeksi ganda Begomovirus dan Crinivirus pada tanaman tomat di Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 19(2):60–64.
- Maniatis T, EF Fritsch, and J Sambrook. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. United State of America. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Murphy JF and KL Bowen. 2006. Synergistic disease in pepper caused by the mixed infection of *Cucumber mosaic virus* and *Pepper mottle virus*. *Phytopathology* 96:240-247.
- Poolpol P and T Inouye. 1986. Enhancement of *cucumber mosaic virus* multiplication by *zucchini yellow mosaic virus* in doubly infested cucumber plant. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 52:22-30.
- Rojas MR, RL Gilbertson, DR Russell, dan DP Maxwell. 1997. Use of degenerate primers in the Polymerase Chain Reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Diseases* 77(4): 340 – 347.
- Semangun H. 1991. Penyakit - penyakit tanaman perkebunan di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sano Y dan M Kojima. 1989. Increase in *cucumber mosaic virus* concentration in Japanese radish plant co-infected with *turnip mosaic virus*. *Annals of the*

- Phytopathological Society of Japan 55:296-302.
- Santoso TJ, SH Hidayat, AS Duriat, and M Herman. 2008. Identity and sequence diversity of begomovirus associated with yellow leaf curl disease of tomato in Indonesia. *Microbiology Indonesia*, 2(1):1-7.
- Sudiono HS, R Suseno dan S Sosromarsono. 2001. Deteksi molekuler dan uji kisaran inang virus gemini asal tanaman tomat. dalam: *Prosiding Kongres dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia XVI*. Institut Pertanian Bogor. Bogor, 22-24 Agustus 2001.
- Sukamto, T Kon, SH Hidayat, S Hase, H Takahashi, and Ikegami. 2005. Begomoviruses associated with leaf curl disease of tomato in Java, Indonesia. *Journal of Phytopathology* 153(9):562-566.
- Sulandari S. 2004. Karakterisasi biologi, serologi dan analisis sidik jari DNA virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sutrawati M, SH Hidayat, BPW Soekarno dan A Nurmansyah. 2020. Yellow mosaic diseases on soybean. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 16(1): 30-36.
- Syaiful. 2005. Masalah penyakit virus kuning pada tanaman cabai di Sumatera Barat. Makalah dalam *Workshop Penanganan Virus Kuning dan Vektornya*. Balai Diklat Pertanian Bandar Buat Sumatera Barat. 7-8 April 2005.
- Syller J. 2012. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology* 13(2): 204-216.
- Syller J dan A Grupa. 2016. Antagonistic within-host interactions between plant viruses: molecular basis and impact on viral and host fitness. *Molecular Plant Pathology* 17(5): 769-782.
- Taufik M. 2005. *Cucumber Mosaic Virus dan Chilli Veinal Motle Virus: karakterisasi Isolat Cabai dan Strategi Pengendaliannya*. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Trisno J, SH Hidayat, T Habazar, dan I Manti. 2009. Detection and sequence diversity of begomovirus associated with yellow leaf curl disease of pepper (*Capsicum annuum*) in West Sumatra, Indonesia. *Microbiology Indonesia* 3(2): 56-61.
- Trisno J, SH Hidayat, T Habazar, dan I Manti. 2010. Identifikasi molekuler begomovirus penyebab penyakit kuning keriting pada tanaman cabai (*Capsicum annum* L.) di Sumatera Barat. *Jurnal Natur Indonesia* 13(1): 41-46.
- Trisno, J. 2010. Keanekaragaman virus dan peranan rhizobakteria indigenus dari geografis berbeda dalam mempengaruhi perkembangan penyakit daun kuning keriting cabai (*Capsicum annum* L.). [Disertasi]. Universitas Andalas. Padang.
- Trisno J, SH Hidayat dan I Manti. 2012. Keragaman strain geminivirus dan biotipe serangga vektornya (*Bemisia tabaci*). [Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Andalas. Padang.
- Trisno J, RA Rifqah, dan Martinius. 2014. Penyakit kerupuk tembakau di Sumatera Barat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 10(6): 210-213.