

TEMUAN PENYAKIT BARU

Penyakit Kerupuk Tembakau di Sumatera Barat

Leaf Curl Disease of Tobacco in West Sumatera

Jumsu Trisno*, Rahil Ade Rifqah, Martinius
Universitas Andalas, Padang 25163

ABSTRAK

Penyakit daun keriting (kerupuk) merupakan penyakit baru pada tanaman tembakau di Sumatera Barat. Penyakit ini sudah tersebar di seluruh area pertanaman tembakau di Kabupaten Limapuluh Kota dengan intensitas serangan 2.5–26.3%. Hasil amplifikasi dengan metode *polymerase chain reaction* menggunakan primer universal *Begomovirus* PAL1v 1978/PAR1c 715 dari daun tanaman tembakau yang bergejala menghasilkan amplicon berukuran 1600 pb. Hasil ini mengindikasikan adanya infeksi *Begomovirus*. Analisis urutan DNA isolat Sumatera Barat menggunakan program NCBI BLAST, menunjukkan bahwa isolat *Begomovirus* tersebut memiliki homologi dengan *Pepper yellow leaf curl Indonesia Virus* yang menginfeksi tanaman tomat sebesar 89% dan tanaman cabai 91–97% di Sumatera Barat. Hasil identifikasi ini merupakan laporan pertama infeksi *Begomovirus* pada tanaman tembakau di Sumatera Barat.

Kata kunci: *Begomovirus*, homologi nukleotida, penyakit daun keriting, *polymerase chain reaction*

ABSTRACT

Tobacco leaf curl disease (“kerupuk”) is a new disease on tobacco in West Sumatra. This disease has spread throughout the tobacco planting area in District Limapuluh Kota with intensity of 2.5–26.3%. DNA fragment of 1600 bp was successfully amplified using polymerase chain reaction method with primer pairs for *Begomovirus* PAL1v 1978/PAR1c 715 from tobacco leaves showing symptoms. This result indicated *Begomovirus* infection. Sequence analysis based on NCBI BLAST program showed that *Begomovirus* infecting tobacco in West Sumatera has the highest homology of 89% and 91–97% with *Pepper yellow leaf curl Indonesia Virus* infecting tomato and chili pepper in West Sumatera, respectively. This is considered as the first report of *Begomovirus* infection on tobacco in West Sumatra.

Key words: *Begomovirus*, nucleotide homology, kerupuk disease, *polymerase chain reaction*

Tembakau (*Nicotiana tabacum*) merupakan produk hortikultura unggulan yang penting di Indonesia. Di Sumatera Barat tembakau merupakan produk unggulan Kabupaten Limapuluh Kota dengan produksi yang berfluktuasi dari tahun ke tahun. Fluktuasi produksi ini salah satunya disebabkan oleh

adanya penyakit tumbuhan, diantaranya penyakit daun keriting yang diduga disebabkan oleh virus. Hasil wawancara dengan petani diketahui bahwa penyakit ini baru muncul pada musim tanam tahun 2008 dan dapat menimbulkan kerugian sampai 100%. Penyakit ini menginfeksi tanaman muda dari daun muda

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang 25162
Tel: 075172701, Faks: 075172702, Surel: ano_trisno@yahoo.co.id

atau pucuk tanaman sehingga tanaman kerdil dan tidak dapat berproduksi sama sekali. Tanaman yang terinfeksi penyakit ini menunjukkan gejala berupa klorosis pada daun, tepi daun menggulung, daun keriting dan menguning, tanaman menjadi kerdil (Gambar 1). Daun menjadi kaku dan apabila diremas akan pecah seperti kerupuk sehingga disebut penyakit kerupuk. Gejala penyakit ini mirip dengan *Tobacco leaf curl virus* anggota *Begomovirus* yang sudah banyak dilaporkan di berbagai negara seperti Thailand (Samretwanich *et al.* 2000), dan Banglades (Maruthi *et al.* 2005). Hidayat *et al.* (2008) juga melaporkan infeksi *Tobacco leaf curl virus* (TLCV) di Jawa Timur. *Begomovirus* termasuk famili *Geminiviridae* yang merupakan kelompok terbesar penyebab penyakit pada tanaman. Perkembangan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *Begomovirus* sangat cepat sehingga tindakan pengendalian perlu segera diantisipasi.

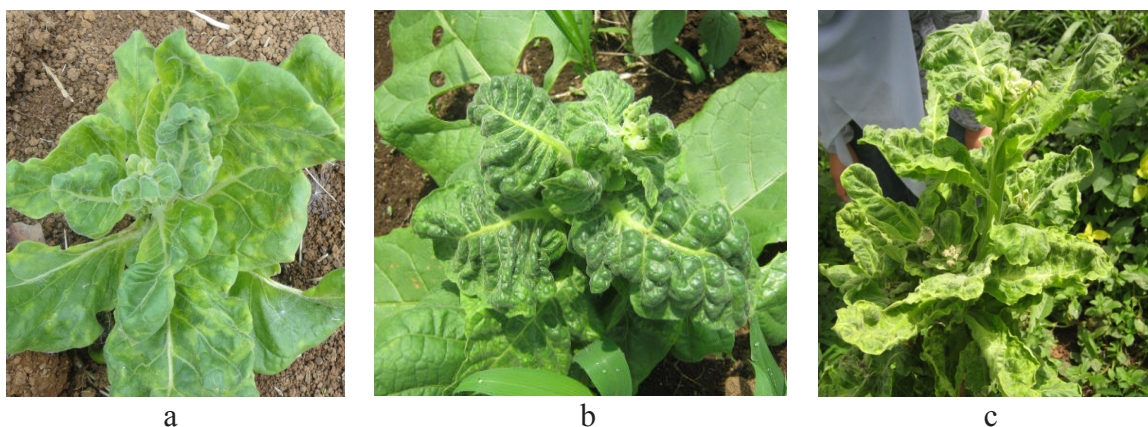
Sampel daun diambil dari tanaman yang menunjukkan gejala dari 6 lokasi pertanaman tembakau di Kabupaten Limapuluh Kota, Sumatera Barat. Sampel daun dibawa ke laboratorium dan disimpan pada suhu -20 °C sampai digunakan. Pada saat di lapangan dilakukan penghitungan intensitas serangan dengan metode pengambilan sampel secara acak sistematis, yaitu sebanyak 10% dari keseluruhan populasi tanaman. Intensitas penyakit dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum n_i \times V_i}{Z \times N} \times 100\% , \text{ dengan}$$

IP, intensitas penyakit; n_i , sampel tanaman ke- i ; V_i , nilai skala ke- i ; Z , nilai skala tertinggi; N , jumlah tanaman sampel yang diamati.

Kategori skala yang digunakan mengikuti Trisno *et al.* (2009): 0, tidak ada gejala; 1, daun berwarna kuning pada pinggir dimulai pada daun muda; 2, daun sedikit keriting; 3, daun keriting, melengkung, dan menggulung, daun mengecil dan tanaman masih tumbuh; 4, tanaman kerdil, daun menggulung, dan pertumbuhan sudah terhenti.

Isolasi DNA *Begomovirus* dari sampel daun tanaman tembakau yang bergejala mengikuti metode Dellaporta *et al.* (1983) yang dimodifikasi dengan penambahan ekstraksi fenol:kloroform (1:1) sebanyak 2 kali. Amplifikasi DNA dengan teknik PCR menggunakan primer PAL1v 1978 (5'-G CAGGCCACATYGTCTTYCCNGT-3') dan PAR1c 715 (5'-G AGTDATRTTYTCRTCCA TCCA-3'). Reaksi PCR (25 μ L) terdiri atas 5 μ L DNA templat, 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 melalui 3 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. Khusus untuk siklus terakhir ditambah tahapan sintesis selama 10 menit, kemudian



Gambar 1 Gejala penyakit daun keriting (kerupuk) tembakau pada tanaman dengan umur berbeda. a, Tanaman muda (< 1 bulan); b, Tanaman umur 1–2 bulan; c, Tanaman umur > 2 bulan.

siklus berakhir dengan suhu 4 °C. Fragmen DNA hasil amplifikasi (5 µL) dielektroforesis pada gel agarosa 1% dalam bufer Tris-borate EDTA (TBE) 0.5 X dengan tegangan 75 volt dan diamati dengan transiluminator UV.

Fragmen DNA hasil amplifikasi selanjutnya digunakan sebagai templat untuk sikuensing dan hasil sekuen dianalisis menggunakan program NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Analisis homologi dengan isolat *Begomovirus* pada *GeneBank* dilakukan menggunakan program Clustal Omega dari European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI: www.ebi.ac.uk/serve/clustalW).

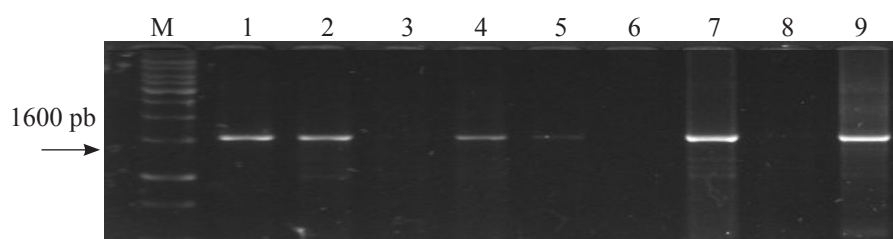
Hasil survei yang dilakukan di 6 lokasi pertanaman tembakau di Kabupaten Limapuluh Kota menunjukkan bahwa pada semua lokasi ditemukan adanya gejala penyakit kerupuk dengan intensitas serangan rata-rata 26.3%. Amplifikasi DNA *Begomovirus* menggunakan primer PAL1v 1978/PAR1c 715 berhasil mendapatkan fragmen DNA berukuran

1600 pb dari 6 sampel daun (Gambar 2). Hasil amplifikasi tersebut merupakan indikasi adanya infeksi *Begomovirus* pada tanaman tembakau yang bergejala penyakit kerupuk.

Analisis sikuen nukleotida dilakukan terhadap satu isolat yang diberi kode ToLCV-Sumbar. Hasil perunutan nukleotida digunakan untuk analisis genetik menggunakan program BLAST. Hasil analisis menggunakan program BLAST menunjukkan bahwa isolat ToLCV-Sumbar mempunyai tingkat homologi 89% dengan *Pepper yellow leaf curl Indonesia Virus* (PYLCIndV) [Tomato] (*GeneBank* No. Akses AB269845.1), penyebab penyakit daun keriting kuning pada tanaman tomat. Hasil BLAST dengan isolat *Begomovirus* asal cabai Sumatera Barat menunjukkan homologi 91–97% (Tabel 1). Rybicki (1998) dan Fauquet dan Stanley (2003) menjelaskan bahwa nilai identitas sikuen nukleotida dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu virus sebagai satu spesies. Nilai identitas >90%

Tabel 1 Homologi nukleotida antara *Begomovirus* asal tanaman tembakau Sumatera Barat dengan beberapa isolat *Begomovirus* yang dilaporkan dalam *GeneBank* dan isolat asal cabai Sumatera Barat

No. Akses	Kode isolat	Tanaman Inang/ Lokasi asal	Homologi nukleotida (%)
AB189850.1	PYLCV	Cabai / Bandung	88
AF511529.1	TYLCV	Tomat / Thailand	75
HF569292.1	AYVV	<i>Ageratum conyzoides</i> / China	74
AB189845.1	PYLCV	Tomat / Bandung	89
AB267838.1	PYLCV	<i>Ageratum conyzoides</i> / Bandung	88
-	PepPSS1-1	Cabai/ Sumatera Barat	93
-	PepPYK.1	Cabai/ Sumatera Barat	95
-	PepSo2.1	Cabai/ Sumatera Barat	94
-	PepTD1.1	Cabai/ Sumatera Barat	97
-	PepAG1.4	Cabai/ Sumatera Barat	91



Gambar 2 Hasil amplifikasi *Begomovirus* penyebab penyakit daun keriting (kerupuk) tembakau menggunakan pasangan primer PAL1v 1978/PAR1c 715 yang divisualisasi pada gel agarosa 1%. M, penanda DNA (1 kb Ladder); 1, kontrol positif (DNA *Begomovirus* asal tanaman cabai); 2–9, sampel *Begomovirus* asal tanaman tembakau dari Kabupaten Limapuluh Kota, Sumatera Barat.

menunjukkan satu spesies yang sama sedangkan bila <90% merupakan galur yang baru. Oleh karena itu, isolat ToLCV-Sumbar masih tergolong satu spesies dengan PYLCIndV yang menginfeksi tomat. Hidayat *et al.* (2008) melaporkan bahwa penyakit kerupuk pada tanaman tembakau di Jember, Jawa Timur disebabkan oleh galur *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Hal yang sama dilaporkan oleh Aji (2012), bahwa gejala kuning dan kerdil pada tanaman tembakau di Klaten, Jawa Tengah disebabkan oleh infeksi TYLCV.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penyakit kerupuk tembakau telah tersebar di seluruh area per-tanaman tembakau di Kabupaten Limapuluh Kota Sumatera Barat. Penyebab penyakit kerupuk tembakau tersebut termasuk kelompok *Begomovirus* dengan tingkat homologi genetika yang tinggi dengan PYLCIndV yang meng-infeksi tomat. Upaya pengendalian penyakit perlu dilakukan untuk menekan kerugian yang disebabkan oleh penyakit tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji TM. 2012. Deteksi Penyebab Penyakit Kerupuk dan Mosaik pada Tembakau dan Pengendalian Kutu Kebul dengan Barrier System di PTPN X (Persero), Klaten. [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gajah Mada.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Mol Biol Rep.* 1(14):19–21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02712670>.
- Fauquet CM, Stanley J. 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. *Ann Appl Biol.* 142:165–189. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2003.tb00241.x>.
- Hidayat SH, Chatchawankanpanich O, Aidawati N. 2008. Molecular identification and sequence analysis of *Tobacco leaf curl Begomovirus* from Jember, East Java, Indonesia. *Hayati J Biosci.* 15(1):13–17.
- Maruthi MN, Alam SN, Kader KA, Rekha AR, Colvin J. 2005. Nucleotide sequencing, whitefly transmission, and screening tomato for resistance against two newly described *Begomoviruses* in Bangladesh. *J Phytopathol.* 95:1472–1481. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-95-1472>.
- Rybicki EP. 1998. A proposal for naming geminiviruses: a reply by the *Geminiviridae* study group chair. *Arch Virol.* 143:421–424. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s007050050299>.
- Samretwanich K, Chiemsombat P, Kittipakorn K, Ikegami M. 2000. A new geminivirus associated with a yellow leaf curl disease of pepper in Thailand. *Plant Dis.* 84:1047. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.9.1047D>.
- Trisno J, Hidayat SH, Jamsari, Manti I, Habazar T. 2009. Detection and sequence diversity of *Begomovirus* associated yellow leaf curl disease of pepper (*Capsicum annum* L.) in West Sumatra, Indonesia. *J Microbiol Indones.* 3(2):61–66.