

# DETEKSI SEROLOGI VIRUS PENYEBAB PENYAKIT MOSAIK PADA TANAMAN CABAI DENGAN DAS-ELISA SEROLOGICAL DETECTION OF MOSAIC VIRUS ON CHILI CROP BY DAS-ELISA

Oleh :

Mimi Sutrawati

(Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Jurusan Perlindungan Tanaman  
Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu)

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penyebab penyakit mosaik pada tanaman cabai di Curup, Kab. Rejang Lebong dengan metode Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA). Kegiatan penelitian diawali dengan survey lapang meliputi pengamatan gejala penyakit mosaik pada tanaman cabai, kemudian dilakukan deteksi virus dengan DAS-ELISA. Berdasarkan tipe gejala dan deteksi serologi tanaman sampel yang dikoleksi dari Curup terinfeksi cucumber mosaic virus. Tipe gejala penyakit mosaic antara lain mosaik, shoes string, dan menguning.

## PENDAHULUAN

Tanaman cabai merupakan salah satu komoditi hortikultura yang penting di Indonesia, namun beberapa kendala produksi dapat menyebabkan kehilangan hasil yang nyata. Salah satu kendala produksi yang penting dalam budidaya tanaman cabai adalah infeksi virus. Jenis virus yang dilaporkan dapat menginfeksi tanaman cabai adalah *cucumber mosaic virus* (CMV), *chili veinal mottle virus* (ChiVMV), *tobacco mosaic virus* (TMV), *tomato mosaic virus* (ToMV), *tobacco etch virus* (TEV), *pepper mottle virus* (PeMV), *tomato spot wilt virus* (TSWV), dan *potato virus Y* (PVY) (Sulyo & Duriat 1996). Berdasarkan hasil survey lapang yang dilakukan oleh Taufik, *et al.* (2005a) membuktikan bahwa CMV dan ChiVMV memiliki daerah penyebaran yang luas di Indonesia. Seringkali terjadi infeksi ganda CMV dan ChiVMV di lahan pertanian cabai di beberapa daerah pengamatan, walaupun proporsi kejadian penyakitnya berbeda-beda di setiap lokasi pengamatan. Taufik *et al.* (2005b) melaporkan bahwa

infeksi CMV atau ChiVMV secara tunggal maupun secara bersama-sama pada tanaman cabai dapat menyebabkan penghambatan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman dan perkembangan tanaman cabai.

Penelitian mengenai penyakit virus pada tanaman cabai di Bengkulu masih belum banyak dilakukan. Pada tahap awal perlu dilakukan inventarisasi virus-virus yang menginfeksi tanaman cabai di Bengkulu. Selain itu, kerugian akibat infeksi virus di masa yang akan datang di suatu wilayah dapat dikendalikan melalui deteksi dini sebagai suatu langkah preventif yang baik. Salah satu metode deteksi virus yang sensitif, akurat, dan aplikatif yaitu metode serologi DAS-ELISA. Kelebihan metode DAS-ELISA antara lain dapat mendeteksi virus meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah (1-10 ng/ml), hanya membutuhkan sedikit antibodi, pengujian dapat dilakukan pada sap kasar tanaman, pengujian dengan DAS-ELISA dapat dilakukan secara massal, serta dapat dilakukan pengujian secara kuantitatif dengan menggunakan ELISA Reader (Dijkstra & de Jager 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi virus penyebab penyakit mosaik pada tanaman cabai melalui kegiatan: pengamatan gejala di lapang, koleksi sampel yang menunjukkan gejala yang diduga terinfeksi virus mosaik, pengawetan sampel tanaman bergejala, deteksi serologi dengan DAS-ELISA.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian terdiri atas tiga kegiatan yaitu: 1. Pengamatan gejala mosaik di lapang, 2. Pengawetan tanaman sampel yang diduga terinfeksi virus mosaik, 3. Deteksi virus pada tanaman sampel dengan metode DAS-ELISA. Pengamatan gejala mosaik dilakukan di beberapa lokasi pertanaman cabai di Curup, Kab. Rejang Lebong pada bulan Februari 2007. Kegiatan pengawetan tanaman sampel dengan metode pengawetan kering dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu pada bulan Maret 2007. Sedangkan deteksi virus dengan metode DAS-ELISA dilakukan di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor pada bulan Mei-Juni 20

## BAHAN DAN METODE

### Pengamatan Gejala dan Kejadian Penyakit Mosaik di Lapang

Tanaman cabai yang menunjukkan gejala seperti terinfeksi virus mosaik dikumpulkan dari lahan petani di beberapa lokasi di Curup. Selanjutnya tanaman sampel tersebut diawetkan dengan menggunakan metode pengawetan kering, untuk kemudian dibawa ke Lab. Virologi IPB.

### Pengawetan Sampel Tanaman Cabai Bergejala

Tanaman cabai yang menunjukkan gejala penyakit mosaik diambil sebanyak 1 g dan diiris tipis-tipis. Kemudian  $\text{CaCl}_2$  diambil

sebanyak 20 kali berat basah daun yaitu 20 g diletakkan merata pada dasar cawan petri. Lalu ditutupi dengan kertas saring. Potongan daun kemudian diletakkan diatas kertas saring tersebut. Cawan petri ditutup dan direkatkan dengan parafilm.

Setelah 1 minggu, daun yang telah kering tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi  $\text{CaCl}_2$  dan dialasi kertas saring atau kapas, di atasnya diletakkan potongan daun kering tadi. Kemudian ditutup dengan kapas dan ditutup rapat sehingga udara tidak dapat masuk. Tabung-tabung tersebut kemudian dapat disimpan pada suhu ruang sampai digunakan untuk deteksi selanjutnya.

### Deteksi CMV dengan Metode Double Antibody Sandwich – Enzyme Linked Immunoassay (DAS-ELISA)

Pertama kali sumuran plat mikrotiter masing-masing diisi dengan antiserum CMV sebanyak 100  $\mu\text{l}$ . Plat mikrotiter kemudian ditutup dengan kertas basah/lembab dan disimpan di dalam kotak plastik yang telah diberi alas kertas basah, kemudian disimpan selama semalam pada suhu 4°C.

Bahan tanaman yang diuji adalah 6 sampel tanaman yang menunjukkan gejala penyakit yang diduga CMV. Sap dibuat dengan perbandingan berat basah daun : volume bufer ekstraksi adalah 1 : 100 dengan mengambil 0,1 gram daun dicampur dengan 10 ml bufer ekstraksi. Sampel tanaman paprika yang terinfeksi CMV digunakan sebagai kontrol positif. Daun tanaman cabai sehat digunakan sebagai kontrol negatif.

Selanjutnya sumuran plat mirotiter dicuci 5 kali dengan PBST. Cairan perasan tanaman sampel sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dimasukkan ke sumuran plat mikrotiter. Plat mikrotiter kemudian disimpan di dalam kotak plastik yang telah diberi alas kertas basah, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya sumuran plat mikrotiter dicuci 5 kali dengan PBST. Enzim konjugat yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam sumuran plat mikrotiter sebanyak 100  $\mu\text{l}$ ,

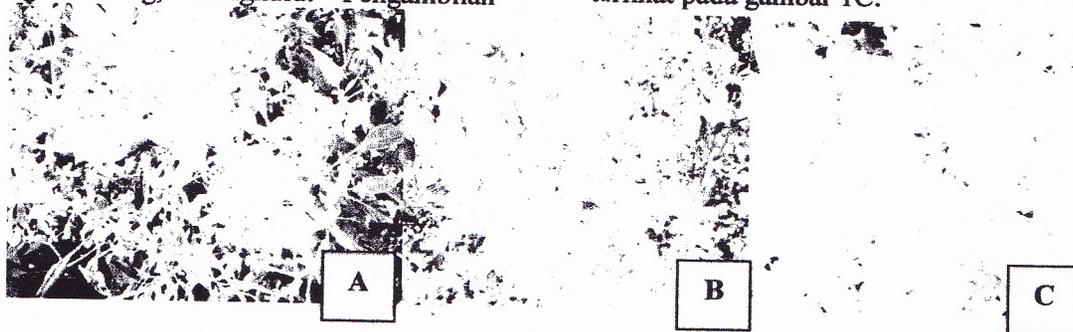
kemudian disimpan selama 2 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya sumuran plat mirotiter dicuci 5 kali dengan PBST. Kemudian sebanyak 100 µl buffer PNP (0,5 g PNP ditambah 5 ml buffer) dimasukkan ke dalam sumuran plat mikrotiter dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 30-60 menit.

Kemudian dilakukan pengamatan secara visual, perubahan warna cairan di dalam sumuran plat mikrotiter menjadi kuning menandakan terjadinya reaksi positif. Reaksi dihentikan dengan penambahan NaOH 3 M. Kemudian hasil pengamatan dicatat. Analisis kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometer ELISA Reader dengan panjang gelombang 405 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengamatan Penyakit Mosaik di Lapangan

Sampel tanaman cabai diambil di lahan petani di kecamatan Curup kabupaten Rejang Lebong, Bengkulu. Pengambilan



Gambar 1. Gejala infeksi virus pada cabai berupa daun kerdil dan pertumbuhan lamina daun terhambat (*shoes string*) (A), daun kerdil dan menguning (yellowing) (B), dan mosaik hijau tua dan hijau muda pada daun (C).

Variasi gejala tanaman yang terinfeksi virus dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu umur tanaman, kultivar, genotype tanaman, serta fase pertumbuhan tanaman. Faktor lain yang berpengaruh terhadap gejala infeksi virus adalah faktor lingkungan, antara lain kesuburan tanah dan iklim (Matthews, 1992)

Pengamatan gejala penyakit virus merupakan langkah awal dalam diagnosis penyebab penyakit oleh virus. Namun, pengamatan gejala saja tidak cukup akurat

sampel dilakukan sebanyak enam sampel yang menunjukkan gejala yang berbeda. Berdasarkan pengamatan di lapang, tanaman cabai banyak yang menunjukkan gejala penyakit virus. Gejala yang diamati pada tanaman cabai di lahan berupa klorosis pada pucuk, mosaik hijau tua dan muda pada daun, dan di sekitar tulang daun berwarna lebih hijau dari pada lamina daun. Lamina daun seperti melepuh pada bagian yang berwarna lebih hijau. Daun muda pada tanaman cabai juga menunjukkan gejala malformasi daun, di mana pertumbuhan lamina terhambat bahkan tidak terbentuk sama sekali sehingga bentuk daun mirip tali sepatu atau disebut *shoes string* (Gambar 1A). Gejala infeksi virus seringkali berupa tanaman yang menguning (Gambar 1B) menunjukkan terjadinya klorosis atau penghambatan pembentukan klorofil daun. Gejala mosaik hijau tua dan hijau muda atau kuning, disertai melepuhnya permukaan daun yang berwarna hijau tua terlihat pada gambar 1C.

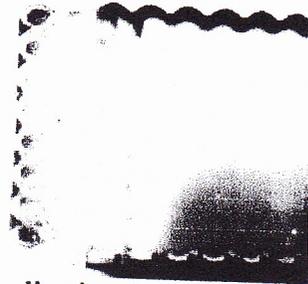
untuk menentukan virus penyebab suatu penyakit. Karena gejala yang diduga disebabkan oleh virus bisa saja disebabkan oleh patogen lain, toksisitas serangga, maupun pengaruh faktor abiotik misalnya kekurangan dan kelebihan unsur hara, stres lingkungan, dan sebagainya (Agrios 2005). Selain itu, suatu tanaman dapat terinfeksi oleh lebih dari satu macam virus. Dan virus yang sama dapat menyebabkan gejala yang berbeda. Untuk itu diperlukan deteksi virus pada jaringan tanaman. Deteksi virus dapat

dilakukan baik secara serologi maupun molekuler. Pada penelitian ini dilakukan Hasil Deteksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dengan Metode DAS-ELISA

Pengamatan visual hasil uji ELISA dilakukan selama 30 menit dan telah

deteksi serologi dengan metode ELISA.

menunjukkan perubahan warna cairan di dalam sumuran plat mikrotiter menjadi kuning.



Gambar 2. Visualisasi reaksi DAS-ELISA

Selain pengamatan visual, hasil uji ELISA juga diukur secara kuantitatif dengan menggunakan ELISA reader dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang

405 nm. Hasil pengamatan visual dan hasil pengukuran spektrofotometer ditampilkan pada tabel berikut:

Tabel 1. Pengamatan visual dan kuantitatif DAS-ELISA

No.	Sampel Uji	Pengamatan visual		Pengukuran kuantitatif dengan ELISA reader			Keterangan
		1	2	1	2	Rata-Rata	
1	Bufer ekstraksi	Bening	Bening	0,289	0,383	0,336	Negatif
2	Kontrol negatif	Bening	Bening	0,255	0,234	1,244	Negatif
3	Kontrol positif	Kuning	Kuning	3,139	3,203	3,199	Positif
4	Sampel 1	Bening	Bening	0,343	0,309	0,326	Negatif
5	Sampel 2	<b>Kuning</b>	<b>Kuning</b>	<b>0,428</b>	<b>0,422</b>	<b>0,425</b>	<b>Negatif</b>
6	Sampel 3	Bening	Bening	0,322	0,256	0,290	Negatif
7	Sampel 4	Bening	Bening	0,282	0,228	0,255	Negatif
8	Sampel 5	Bening	Bening	0,349	0,278	0,313	Negatif
9	Sampel 6	Bening	Bening	0,308	0,036	0,307	Negatif

Pengamatan secara visual menunjukkan warna cairan sampel 2 pada sumuran plat mikrotiter berubah menjadi berwarna kuning menandakan adanya reaksi positif, namun warnanya tidak sejelas warna kuning pada sap kontrol positif. Berdasarkan perubahan warna ini, sampel 2 menunjukkan

hasil yang positif terhadap antiserum CMV. Hal ini menunjukkan sampel 2 terinfeksi CMV.

Pembandingan nilai absorban hasil ELISA dilakukan dengan membandingkan nilai absorban sampel dan nilai absorban kontrol negatif. Jika nilai absorban bernilai

sama dengan dua kali nilai absorbansi kontrol negatif atau lebih artinya sampel uji tersebut positif terinfeksi CMV. Berdasarkan penelitian ini, enam sampel yang diuji ada yang positif terinfeksi CMV. Sampel 2 dapat dikatakan positif terinfeksi CMV karena secara kualitatif terjadi perubahan warna dalam plat mikrotiter menjadi kuning, meskipun secara kuantitatif sampel tersebut belum memenuhi persyaratan sebagai sampel positif.

Di Indonesia *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) merupakan virus utama pada pertanaman cabai (Duriat, 1992). Serangan CMV pada tanaman cabai dapat menurunkan jumlah dan bobot buah sebesar 81,4 % dan 82,3% (Sari dkk., 1997). Berdasarkan wawancara dengan Dinas Pertanian Rejang Lebong diketahui bahwa penyakit utama pada pertanaman cabai merah di Rejang Lebong diduga adalah infeksi CMV. Dari hasil penelitian ini telah terdeteksi bahwa tanaman cabai di Curup terinfeksi oleh CMV.

## KESIMPULAN

Pengamatan gejala tanaman cabai yang diduga terinfeksi virus menunjukkan adanya variasi gejala pada tanaman. Gejala yang diamati pada tanaman cabai di lahan umumnya berupa klorosis atau *yellowing*, *shoes string*, mosaik hijau tua dan hijau muda. Satu dari enam tanaman cabai sampel dari pertanaman cabai di Curup yang dideteksi dengan DAS-ELISA positif terinfeksi oleh *cucumber mosaic virus*.

## SANWACANA

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Dosen Muda yang dibiayai Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Tahun 2007. Penulis mengucapkan terimakasih atas dukungan dananya. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Dr. Sri Hendrastuti Hidayat, sebagai Ketua Lab. Virologi Fakultas Pertanian IPB atas bantuan dan kerjasamanya selama penulis melaksanakan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N., 2005. *Plant Pathology*. 5<sup>th</sup> Ed. Academic Press, New York.
- ✓ Dijkstra J & de Jager CP. 1998. *Practical Plant Virology: Protocols and Exercises*. Springer Lab. Manual. New York.
- Duriat, A.S. 1992. *Virus Diseases Of Pepper in Indonesia*. Collaborative Vegetable Research in Southeast Asia. AVRDC. Tainan, Taiwan.
- Matthews, R.E.F. 1992. *Fundamentals of Plant Virology*. Academic Press Inc. San Diego. 403p.
- Sari, C.N., I.R., Suseno, Sudarsono, M. Sinaga. 1997. Reaksi Sepuluh Galur Cabai Terhadap Infeksi Isolat CMV dan PVY Asal Indonesia. Prosiding kongres nasional dan Seminar Ilmiah PFI. Palembang 27-29 Oktober 1997. hal 116-119.
- Sulyo Y & AS Duriat. 1996. Field evaluation of pepper accessions for resistance to viruses. Di dalam : *Proceeding of the AVNET II Midterm Workshop AVRDC, ADB and PCARRD*. Laguna Philippines, 21-25 Februari 1995, hlm 132-137.
- ✓ • Taufik, M., A.P. Astuti, & S.H. Hidayat. 2005a. Survei infeksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* pada tanaman cabai dan seleksi ketahanan beberapa kultivar cabai. *Agrikultura* 16: 146-152.
- ✓ • Taufik, M., S.H.Hidayat, G. Suastika, S.M. Sumarav, & S. Sujiprihati. 2005b. Kajian *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* sebagai agens proteksi *Cucumber mosaic virus* pada cabai. *Hayati* 12:139-144.