

INFEKSI GANDA *BEGOMOVIRUS* DAN *CRINIVIRUS* PADA TANAMAN TOMAT DI KABUPATEN MAGELANG, JAWA TENGAH

DOUBLE INFECTIONS OF BEGOMOVIRUS AND CRINIVIRUS ON TOMATO PLANTS AT MAGELANG REGENCY, CENTRAL JAVA

Fitri Kusumaningrum¹⁾, Sedyo Hartono^{1)*}, Sri Sulandari¹⁾, & Susanto Somowiyarjo¹⁾

¹⁾Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: sedyo_h@yahoo.com

ABSTRACT

Since 2006, a yellowing disease has been observed in tomato (*Lycopersicon esculentum*) fields in Central Java, Indonesia. Epidemics of the diseases were mainly associated with populations of the whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci*, the major whitefly pests in vegetable crops. The main symptoms were severe yellowing on lower leaves, and curling on upper leaves of plant. Total DNA was extracted from tomato leaves using CTAB methods, while total RNA was extracted using NucleoSpin RNA Plant extraction kit (Macherey-Nagel). Because of occurring mixed symptom on an individual plant, hereby it is important to detect the causal agent to manage of the disease. Samples from symptomatic plants were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and shown to be infected with Tomato infectious chlorosis virus (TICV) (family *Closteroviridae*, genus *Crinivirus*) and a virus species belongs to the genus *Begomovirus*, family *Geminiviridae*. The research result is the first report of *Crinivirus* and *Begomovirus* double infection in single tomato fields in Indonesia.

Keywords: *Begomovirus*, *Crinivirus*, double infection, PCR, tomato

INTISARI

Penyakit kuning pada tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum*) telah ditemukan sejak tahun 2006 di Jawa Tengah, Indonesia. Epidemik penyakit tersebut terutama berkaitan dengan keberadaan dua spesies *whitefly* (*Trialeurodes vaporariorum* dan *Bemisia tabaci*). Gejala utama yang ditemukan adalah daun-daun pada tanaman bagian bawah berwarna kuning sedangkan daun-daun pada tanaman bagian atas menunjukkan gejala keriting. Adanya gejala campuran pada satu individu tanaman maka perlu dideteksi penyebabnya untuk pengelolannya. DNA total diekstraksi dari daun tomat yang terinfeksi menggunakan metode CTAB, sedangkan total RNA diekstraksi dengan menggunakan *NucleoSpin RNA Plant extraction kit* (Macherey-Nagel). Analisis sampel tanaman sakit menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) menunjukkan adanya infeksi *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) (famili *Closteroviridae*, genus *Crinivirus*) dan satu spesies virus anggota genus *Begomovirus*, famili *Geminiviridae*. Hasil penelitian ini merupakan laporan pertama kali adanya infeksi ganda kelompok *Crinivirus* dan *Begomovirus* pada satu individu tanaman tomat di Indonesia.

Kata kunci: *Begomovirus*, *Crinivirus*, infeksi ganda, PCR, tomat

PENGANTAR

Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan salah satu komoditi sayuran penting karena kandungan gizinya yaitu protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral. Permintaan terhadap tomat terus meningkat dari waktu ke waktu sejalan dengan meningkatnya rata-rata konsumsi tomat di beberapa negara dan meningkatnya jumlah penduduk (Sudiono *et al.*, 2001). Tomat termasuk komoditas yang multiguna karena selain berfungsi sebagai sayuran dan buah, tomat juga sering dijadikan pelengkap bumbu masak, minuman segar, sumber vitamin dan mineral, bahan pewarna alami serta sebagai bahan dasar kosmetik dan obat-obatan (Purwati & Khairunisa, 2007).

Dalam budidaya tomat banyak kendala yang menghambat peningkatan produksi yang disebabkan oleh serangan patogen. Saat ini salah satu penyakit yang sangat merugikan di sentra pertanaman tomat di Jawa Tengah adalah adalah penyakit keriting. Tanaman yang terserang virus ini menunjukkan gejala yang mirip seperti infeksi *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) yang termasuk dalam genus *Begomovirus*, famili *Geminiviridae* (Hartono, 2008). Laporan dari berbagai sumber menunjukkan bahwa serangga *Bemisia tabaci* Genn. merupakan vektor geminivirus yang sangat penting dalam menularkan virus tersebut dari tanaman sakit ke tanaman sehat. Penularan oleh *B. tabaci* sangat dipengaruhi oleh lamanya masa akuisisi serangga tersebut pada tanaman sakit, jumlah

serangga, dan lamanya periode inokulasi yang terjadi pada tanaman sehat (Hidayat, 2003a).

Geminivirus (famili *Geminiviridae*) adalah virus tanaman yang mempunyai genom DNA berbentuk bundar (sirkular), untai tunggal, dan terselubung dalam partikel isometrik kembar (Li *et al.*, 2004). Pada tahun 1994, geminivirus monopartit, *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), diidentifikasi dari tanaman tomat di Karibia (Polston & Anderson, 1997). Bentuk replikatif untai ganda dari TYLCV yang diisolasi dari tanaman tomat terinfeksi di Israel, telah dikloning dan menunjukkan analisis sekuen yang terdiri dari 2.787 nukleotida yang mengkode 6 *open reading frames* (ORF). Tidak ada komponen kedua atau DNA B yang ditemukan. Komponen yang berhasil diklon analog dengan komponen DNA A dari geminivirus bipartit. DNA A tersebut mampu mengkode untuk semua fungsi dari virus lengkap (Nakhla & Maxwell, 1998).

Penyakit lain yang juga menyebabkan kerugian yang sangat besar adalah penyakit kuning. Penyakit tersebut ditemukan di Amerika Serikat pada tahun 1998 dan di Jepang pada tahun 2003 serta di beberapa negara Eropa. Setelah diidentifikasi penyakit tersebut disebabkan oleh *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) yang termasuk dalam kelompok Crinivirus dari famili Closteroviridae yang ditularkan oleh serangga *Trialeurodes vaporariorum* (Hartono *et al.*, 2003). Kelompok Crinivirus lain yang juga menyerang tanaman tomat adalah *Tomato chlorosis virus* (ToCV). Virus ini ditularkan oleh tiga jenis whitefly yaitu *T. vaporariorum*, *T. abutilonea*, dan *B. tabaci* biotipe A dan B (Liu *et al.*, 2000). *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) termasuk dalam anggota famili Closteroviridae, genus Crinivirus (Wisler *et al.*, 1998). TICV terdiri dari dua untai tunggal RNA (ssRNA). RNA 1 terdiri dari sekitar 7.800 nukleotida, sedangkan RNA 2 terdiri dari sekitar 7.400 nukleotida (Wisler *et al.*, 1998).

Berdasarkan berbagai macam penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, telah diketahui bahwa serangan Begomovirus hanya terjadi pada tanaman di daerah dataran sedang dan rendah sedangkan serangan TICV terjadi di dataran tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan distribusi vektor dengan populasi *B. tabaci* sangat tinggi di dataran sedang dan rendah sedangkan *T. vaporariorum* terdapat pada tanaman tomat dan tanaman lain di sekitarnya pada dataran tinggi (Dufus *et al.*, 1960 *cit.* Sulandari, 2006).

Berdasarkan hasil analisis sekuens nukleotida dan asam amino TYLCV isolat Magelang, Jawa Tengah berkerabat dekat dengan TYLCV isolat Kan 1 dan Kan 2 dari Thailand karena homologi DNA dan asam amino yang identik mencapai 91% (Hartono,

2008). Sedangkan hasil analisis sekuens nukleotida dan asam amino TICV isolat Indonesia berkerabat dekat dengan TICV isolat Jepang dan USA dengan homologi DNA dan asam amino yang identik lebih dari 97% (Hartono & Wijonarko, 2007).

Akhir-akhir ini telah ditemukan berbagai macam variasi gejala pada tanaman tomat di Desa Banyuroto, Keteb, Magelang, Jawa Tengah yang sebelumnya telah diketahui sebagai daerah epidemi penyakit kuning tomat yang disebabkan oleh TICV. Daerah tersebut berada pada ketinggian sekitar 1300 m dpl. Salah satu jenis gejala yang sekarang banyak dijumpai adalah daun tanaman tomat menguning dimulai dari daun paling bawah yang merupakan gejala khas serangan TICV, sedangkan daun bagian atas menjadi keriting, *cupping*, dan menguning yang merupakan gejala serangan Begomovirus. Beberapa daun juga berubah warna menjadi keunguan dan sebagian tanaman menjadi kerdil.

BAHAN DAN METODE

Daun tanaman tomat yang bergejala (Gambar 1) diambil sebagai sampel dan dianalisis secara molekuler di laboratorium. Ekstraksi DNA tanaman total dilakukan dengan metode CTAB (*Cetyl trimethyl ammonium bromide*) dan ekstraksi RNA tanaman total dilakukan dengan Nucleospin RNA Extraction Kit (Macherey Nalgel).

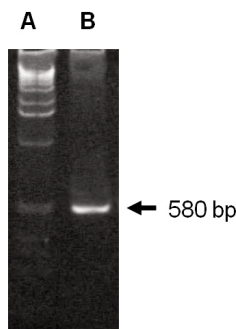
Sintesis cDNA menggunakan Fermentas cDNA synthesis kit sedangkan proses PCR dilakukan dengan *Ready to go PCR Beads* (GE Healthcare) menggunakan sepasang universal primer Krusty-Hommer untuk Begomovirus (Revil *et al.*, 2003). Sedangkan amplifikasi cDNA Crinivirus dilakukan dengan dua jenis primer yaitu pasangan primer HSP-1 dan HSP-2 yang merupakan primer universal Crinivirus (Li *et al.*, 1998), serta pasangan primer CPd-1 dan CPd-2 yang merupakan primer spesifik TICV (Tian *et al.*, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

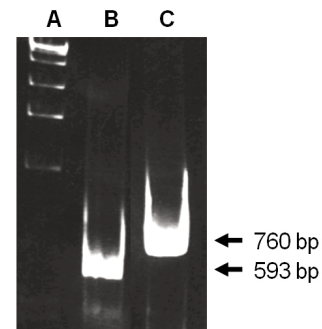
Amplifikasi DNA total secara PCR dengan primer Krusty Homer menghasilkan pita DNA dengan ukuran 580 bp (Gambar 2). Primer Krusty Homer merupakan primer pendek universal untuk Begomovirus dengan target gen coat protein (Revil *et al.*, 2003). Hasil tersebut membuktikan bahwa gejala daun keriting pada tanaman tomat pada tanaman bagian atas terinfeksi oleh Begomovirus. Amplifikasi dengan pasangan primer HSP-1 dan HSP-2 menghasilkan pita DNA dengan ukuran 593 bp, sedangkan amplifikasi dengan pasangan primer CPd-1 dan CPd-2 menghasilkan pita DNA dengan ukuran 750 bp (Gambar 3). Pita



Gambar 1. Tanaman tomat bergejala keriting dan kuning (A); gejala daun kecil-kecil dan keriting pada tanaman bagian atas (B); gejala *vein banding* dan daun kuning pada tanaman bagian bawah (C)



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA Begomovirus secara PCR menggunakan primer Krusty Homer (lajur A: 1 kb DNA leader.; lajur B: sampel tanaman tomat sakit)



Gambar 3. Hasil amplifikasi cDNA Crinivirus secara PCR menggunakan dua jenis primer (lajur A: 1 kb DNA leader; lajur B: pita DNA yang dihasilkan menggunakan primer HSP; lajur C: pita DNA yang dihasilkan menggunakan primer CPd)

DNA yang dihasilkan dari amplifikasi cDNA secara PCR menggunakan dua jenis primer tersebut membuktikan adanya infeksi Crinivirus pada tanaman tomat yang diuji. (Li *et al.*, 1998; Tian *et al.*, 1996). Dari hasil analisis molekuler tersebut membuktikan bahwa tanaman tomat di daerah Keteb dengan gejala seperti yang telah dijelaskan di atas mengalami infeksi ganda Begomovirus dan Crinivirus.

Di daerah Keteb, Magelang, belum pernah dilaporkan adanya serangan Begomovirus pada tanaman tomat, namun daerah tersebut telah dikenal sebagai daerah epidemi penyakit kuning tomat yang disebabkan oleh TICV. Penelitian Amir (2009) menunjukkan bahwa di daerah Keteb telah ditemukan adanya *T. vaporariorum* dengan populasi yang cukup tinggi. Menurut Ohnishi *et al.* (2009), *T. vaporariorum* dapat mengakuisisi dan mempertahankan Begomovirus setelah diberi periode akuisisi pada tanaman terinfeksi, seperti halnya pada *B. tabaci*. Akan tetapi, sirkulasi virus pada kedua spesies *whitefly* tersebut berbeda. Pada *T. vaporariorum* partikel virus terbatas pada permukaan luminal sel-sel epitelia *midgut* dan tidak dapat masuk ke dalam sitoplasma atau kelenjar ludah (*salivary glands*), sedangkan pada *B. tabaci* partikel

virus terlokalisasi di dalam sitoplasma dari sel-sel epitelia *midgut* dan pada kelenjar ludah. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa selektif barrier untuk transmisi virus di dalam tubuh *T. vaporariorum* terdapat pada permukaan membran luminal dari sel-sel epitelia *midgut* dan barrier tersebut menghalangi masuknya partikel virus ke dalam sel-sel epitelia *midgut* sehingga serangga tidak dapat berperan sebagai vektor geminivirus.

Di Amerika Latin dilaporkan distribusi *B. tabaci* akan berbeda di berbagai ketinggian (Anonim, 2003). Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi *B. tabaci* paling tinggi berada pada ketinggian di bawah 1000 m dpl, sedangkan pada ketinggian di atas 1000 m dpl dan 1200 m dpl ditemukan *B. tabaci* dengan tingkat populasi yang sangat rendah. Di daerah Keteb, belum pernah dilakukan penelitian tentang populasi *B. tabaci*. Ditemukannya serangan Begomovirus di daerah tersebut dapat menjadi indikator keberadaan *B. tabaci* walaupun dalam tingkat populasi yang sangat rendah mengingat bahwa 5 ekor *B. tabaci* viruliferous per tanaman telah mampu menularkan Begomovirus dengan sangat efisien (Mehta *et al.*, 1994 *cit.* Hidayat, 2003b).

Saat ini petani di daerah Magelang cenderung melakukan budidaya tomat dan cabai secara luas, terus-menerus, dan dalam jangka waktu yang panjang secara monokultur. Penanaman tersebar luas mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Kondisi tersebut sangat menguntungkan bagi patogen, termasuk Begomovirus, dan dapat meningkatkan penyebaran serangga vektor. Faktor ini sangat berperan terhadap timbulnya epidemi khususnya pada penyakit-penyakit virus yang penyebarannya melalui serangga vektor. Akibat pemanasan global, sejak tahun 1970 dilaporkan terjadi peningkatan populasi kutu kebul (*whitefly*) secara drastis di daerah tropis dan subtropis (Brown, 1998 *cit.* Sulandari, 2006). Selain pemanasan global, akibat adanya musim kemarau yang panjang pada tahun 2001–2002 menimbulkan kondisi yang cocok untuk aktivitas dan perkembangbiakan serangga vektornya yaitu kutu kebul.

KESIMPULAN

Penyebab penyakit pada tanaman tomat di dataran tinggi yang menunjukkan gejala keriting dan menguning pada daun adalah dua kelompok virus yang berbeda yaitu Begomovirus anggota Familia Geminiviridae dan Crinivirus, anggota Familia Closteroviridae.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Kompetensi nomor: 235/SP2H/PP/DP2M/III/2010, tanggal 01 Maret 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Amir. 2009. Kajian Penularan dan Respon Ketahanan Beberapa Varietas Tomat terhadap *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV). Tesis. Program Pascasarjana, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 42 p. (Tidak dipublikasikan).
- Anonim. 2003. Distribution of *Bemisia tabaci* in Latin America. Presented in May at the VIIIth International Plant Virus Epidemiology Symposium in Ascherleben, Germany. http://gisweb.ciat.cgiar.org/SIG/download/AR2003/annual_report_3_5.pdf. 5 p, diakses 14/8/10.
- Hartono, S., T. Natsuaki, S. Haruki, H. Atharahi, & S. Okuda. 2003. Yellowing Disease of Tomatoes Caused by Tomato Infectious Chlorosis Virus Newly Recognized in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 69: 61–64.
- Hartono, S. 2008. Molecular Identification of Begomovirus Causing Yellow Leaf Curl Disease on Tomato Plants in Central Java. *Journal of Acta Agrosia* 11: 69–74.
- Hartono, S. & A. Wijonarko. 2007. Molecular Characterization of *Tomato Infectious Chlorosis Virus* Caused Yellowing Disease on Tomato Plants in Indonesia. *Journal of Acta Agrosia* 9: 139–146.
- Hidayat, S.H. 2003a. Rangkuman Hasil Penelitian Geminivirus di Indonesia: Sebagai Bahan Diskusi untuk Menghadapi Peningkatan Infeksi Geminivirus pada Cabai. Disampaikan pada Seminar Sehari Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Cabai. Direktorat Jendral Perlindungan Tanaman Hortikultura, Jakarta 20 Februari 2003.
- Hidayat, S.H. 2003b. Pengenalan dan Pengendalian Penyakit Virus Kuning pada Cabai. Disampaikan dalam Pertemuan Penanggulangan Penyakit Virus Cabai, Direktorat Perlindungan Hortikultura. Dirjen Bina Produksi Hortikultura. Departemen Pertanian di Bandar Lampung, 25 September 2003.
- Li, R., S. Salih, & S. Hurtt. 2004. Detection of Gemini viruses in Sweetpotato by Polymerase Chain Reaction. *Plant Disease* 88: 1347–1351.
- Liu, H., G.C. Wisther, & J.E. Duffus. 1998. Comparison of Diagnostic Techniques for Detecting Tomato Infectious Chlorosis Virus. *Plant Disease* 82: 84–88.
- Liu, H., G.C. Wisther, & J.E. Duffus. 2000. Particle Length of Whitefly Transmitted Crinivirus. *Plant Disease* 84: 803–805.
- Nakhla, M.K. & D.P. Maxwell. 1998. Epidemiology and Management of *Tomato yellow leaf curl* Disease, p. 565–583. In A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa (eds.), *Plant Virus Disease Control*. APS Press, St Paul, Minnesota, USA.
- Ohnishi, J., T. Kitamura, F. Terami, & K. Honda. 2009. A Selective Barrier in the Midgut Epithelial Cell Membrane of the Nonvector Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* to *Tomato yellow leaf curl virus* Uptake. *Plant Disease* 75: 131–139.
- Polston, J.E. & P.K. Anderson. 1997. The Emergence of Whitefly - Transmitted Geminiviruses in Tomato in Western Hemisphere. *Plant Disease* 81: 1358–1369.
- Purwati, E. & Khairunisa. 2007. *Budidaya Tomat Dataran Rendah*. Penebar Swadaya. Depok. 67 p.
- Revill, P.A., C.V. Ha, S.C. Porchun, M.T. Vu, & J.L. Dale. 2003. The Complete Nucleotide Sequence of Two Distinct Geminiviruses Infecting Cucurbite in Vietnam. *Archives of Virology* 148: 1523–1541.
- Sudiono, S.H. Hidayat, R. Suseno & S. Sosromarsono. 2001. Deteksi Molekuler dan Uji Kisaran Inang Virus Gemini Asal Tanaman Tomat. *Prosiding Kongres dan Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia XVI*. Bogor, Jawa Barat.
- Sulandari, S. 2006. Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 12: 1–12.

Tian, T., V.A. Klassen, J. Seong, G. Wisler, J.E. Duffus, & B.W. Falk. 1996. Generation of cDNAs Specific to Lettuce Infectious Yellowing Closterovirus and Other Whitefly-transmitted Viruses by RT-PCR and Degenerate Oligonucleotide Primers Corresponding to Closterovirus Gene Encoding the Heat Shock Protein 70 Homolog. *Phytopathology* 86: 1167–1173.

Wisler, G.C., H.Y. Liu, V.A. Klassen, J.E. Duffus, & B.W. Falk. 1998. Tomato Infectious Chlorosis Virus Has a Bipartite Genome and Induces Phloem-Limited Inclusions Characteristic of the Closteroviruses. *The American Phytopathological Society* 86: 622–626.