ISSN: 2301-6515

Kisaran Inang *Bean Common Mosaic Virus* (Bcmv) Penyebab Penyakit Mosaik Pada Tanaman Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.)

A. A. GEDE PUTRA ADHITYA¹
I GEDE RAI MAYA TEMAJA¹
NI NENGAH DARMIATI ¹
I DEWA NYOMAN NYANA^{1*)}
GEDE SUASTIKA²

¹Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali

²IPB-Institut Pertanian Bogor

*) Email: dewanyana@yahoo.com

ABSTRACT

Host range of *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV) causal agent of mosaic diseases on long yard bean (*Vigna sinensis* L.)

This objective of the study is order to find out the host range of BCMV and symptom variation. DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich-Enzyme Link Immunosorbent Assay*) menthod was used in this study. The study consisted of (1) Host range evaluation by mechanical inoculation, (2). Symptom observation on tested plants, (3) Serological test with DAS-ELISA. The result indicated that BCMV can infected Leguminoceae plants (peanuts, long yard beans, and beans); Solanaceae plant (tomatoes); Cucurbetaceae plant (cucumbers); Amaranthaceae plant (spinach); and Balsaminaceae plant (henna flowers). DAS-ELISA analysis shown that those plants were infected by BCMV. The symptoms variation were mosaic, *vein banding*, wrinkled, and curved on commercial long yard beans (aura and panah merah varieties); wrinkled on commercial long yard beans (KPK and pusaka hijau varieties), cucumber and spinach; wrinkled and rolled on beans; wrinkled and curved upside on henna flowers.

Key word: bean common mosaic virus, long yard beans, DAS-ELISA

1. Pendahuluan

Kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura yang menempati urutan ke- 8 dari 20 jenis sayuran yang dikonsumsi di Indonesia. Kacang panjang sebagai sumber vitamin dan mineral menjadi salah satu manfaat dalam upaya peningkatan gizi masyarakat. Kacang panjang banyak mengandung vitamin A dan vitamin C serta mengandung mineral terutama pada polong muda. Biji kacang panjang mengandung protein, lemak, dan karbohidrat,

sehingga kacang panjang merupakan sumber protein nabati yang baik bagi manusia (Haryanto dkk., 2007).

Produksi kacang panjang di Indonesia cenderung mengalami fluktuasi dari tahun ke tahun. Produksi pada tahun 2009 mencapai 483.793 ton dan meningkat pada tahun 2010 menjadi 489.449 ton. Pada tahun 2011 mengalami penurunan menjadi 456.254 ton (BPS, 2012). Terjadinya fluktuasi kualitas dan kuantitas produksi dapat disebabkan oleh beberapa hal, salah satunya adalah penyakit tanaman, penyakit penting pada tanaman kacang panjang yaitu penyakit dengan gejala mosaik yang disebabkan oleh *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV), yang baru-baru ini ditemukan pada pertanaman kacang panjang di daerah Bali. Infeksi BCMV menyebabkan kerugian sebesar 65.87% (Kuswanto dkk., 2007).

Pengendalian yang dapat dilakukan terhadap BCMV yaitu dengan pergiliran tanaman, mengendalikan vektor pembawa penyakit (kutu daun), dan dapat dilakukan dengan mencabut tanaman kacang panjang yang terinfeksi BCMV kemudian dibakar. Meskipun sudah dilakukan pengendalian terhadap BCMV, virus ini masih bertahan, karena virus ini memiliki inang alternatif. Sampai saat ini belum ada informasi mengenai inang alternatif BCMV isolat Bali. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kisaran inang alternatif dari BCMV.

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Jalan Tukad Yeh Aya No. 85x Denpasar pada Rumah kaca dan di Laboratorium Fitopatologi Konsentrasi Perlindungan Tanaman Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Penelitian ini dilakukan sejak bulan Oktober 2014 sampai dengan bulan Maret 2015.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa reagen DAS-ELISA, pot, tanah subur, arang sekam, bufer fosfat, kapas steril, daun tanaman kacang panjang yang telah terinfeksi BCMV, dan tanaman uji yaitu kacang tanah, kacang panjang, kedelai. cabai besar, cabai rawit, tomat, terong, mentimun, kubis, sawi hijau, kangkung darat, bayam cabut, dan bunga pacar air. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mortar, timbangan digital, gunting, pinset, gelas ukur, erlenmeyer, pipet mikro, lemari es, kamera digital, kotak keranjang pembibitan (*tray*), plate elisa, ELISA *reider*, dan alat tulis.

2.3 Sumber Inokulum

Sumber inokulum berasal dari tanaman kacang panjang yang telah terinfeksi BCMV dengan gejala mosaik, *vein banding*, dan malformasi, yang sudah diuji secara

serologi yang didapat dari pertanaman kacang panjang milik petani di Desa Perean, kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan.

2.4 Uji Kisaran Inang Terhadap BCMV

Selain tanaman kacang panjang sebagai tanaman inang utama, inang alternatif dari virus BCMV ini perlu diteliti untuk mengetahui cara bertahan hidup virus jika tanaman inang utamanya tidak ada. Untuk mengetahui kisaran inang virus BCMV, maka dalam penelitian ini, berbagai spesies tanaman diinokulasi dengan virus BCMV. Tanaman yang digunakan yaitu tanaman kacang tanah (Arachis hypogaea L.), kacang panjang (Vigna sinensis L.) komersial dengan kultivar KPK, aura, pusaka hijau, dan panah merah, buncis (*Phaseolus vulgaris* L.), kedelai (*Glycine max*), cabai besar (Capsicum annuum L.), cabai rawit (Capsicum frutescens L.), tomat (Lycopersicon esculentum), terong (Solanum melongena), mentimun (Cucumis sativus), kubis (Brassica oleracea), sawi hijau (Brassica juncea), kangkung darat (Ipomoea reptana Poir.), bayam cabut (Amaranthus tricolor), dan bunga pacar air (Impatiens balsamina). Bibit tanaman uji ditanam dalam pot yang berukuran 10 x 10 x 10 cm yang berisi campuran tanah dan arang sekam dengan perbandingan 1:2. Setiap tanaman ditanam masing-masing sebanyak 10 bibit. Tanaman uji dipelihara didalam rumah kaca yang kedap serangga sampai tanaman siap untuk dilakukan inokulasi.

Inokulasi dilakukan secara mekanis menggunakan cairan perasan tanaman (sap) sakit. Sap dibuat dari daun tanaman yang terinfeksi BCMV. Daun yang terinfeksi digerus sebanyak 1 g sampai halus didalam mortar dimana sebelumnya ditambahkan bufer fosfat (0.01M; pH 7.0) dengan perbandingan 1g/5ml. Daun tanaman kacang panjang yang akan diinokulasi sebelumnya ditaburi dengan carborundum (600 mesh). Sap dioleskan pada permukaan daun dengan menggunakan kapas steril dimulai dari bagian pangkal daun ke ujung secara searah dengan tidak mengulangi pada daerah yang sama. Setelah pengolesan sap selesai, daun tanaman disiram dengan air mengalir untuk membersihkan sisa-sisa sap yang masih melekat. Tanaman yang sudah diinokulasi dipelihara dan dirawat sampai muncul gejala.

2.5 Pengamatan Gejala

Pengamatan secara kualitatif dilakukan dengan mengamati gejala yang muncul dari tanaman kacang panjang dan tanaman inang lain. Pengamatan dilakukan setiap hari selama satu bulan setelah dilakukan inokulasi.

2.6 Deteksi BCMV pada Tanaman Kacang Panjang dan Tanaman Inang Alternatif Melalui Metode DAS ELISA

Metode serologi yang diterapkan dalam penelitian ini menggunakan metode ELISA dengan mengikuti prosedur dalam kit antiserum yang digunakan (Agdia, USA). Pada umumnya prosedur tersebut sebagai berikut:

1. 0,1 g sampel tanaman uji disiapkan dengan cara digerus dengan ekstrak buffer 1 ml.

- 2. Kemudian antibodi dimasukkan dengan perbandingan 1 : 200 *coating buffer* (sesuai dengan kebutuhan sampel), 100 μl setiap well. Antibodi pertama yang tersedia sebanyak 5 ml.
- 3. Setelah semua masuk dalam plate ELISA, plate ELISA diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C.
- 4. Setelah inkubasi, antibodi dalam plate dibuang lalu dicuci dengan PBST (pengenceran PBST 100 ml PBS dengan 400 ml Aquades dan 0.5 ml tween 20) sebanyak 5 kali.
- 5. Kemudian 100 µl sampel yang sudah digerus dimasukkan ke dalam masingmasing well, 2 well untuk setiap sampel. Kemudian 2 well untuk buffer ekstrak dan 2 well untuk kontrol negatif.
- 6. Kemudian plate yang berisi sampel diinkubasi selama 2 jam.
- 7. Setelah inkubasi, sampel dibuang lalu plate ELISA dicuci dengan PBST sebanyak 5 kali.
- 8. Kemudian 100 μl conjugate (antibodi kedua) dimasukkan, 100 μl setiap well (larutkan konjugate A dan B dengan perbandingan 1: 200 conjugate buffer sesuai dengan well yang dipakai). Antibodi kedua yang tersedia sebanyak 10 ml.
- 9. Plate diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C.
- 10. Conjugate dibuang lalu plate dicuci dengan PBST sebanyak 5 kali.
- 11. 100 µl PNP dimasukkan ke dalam masing-masing plate yang sudah dicairkan (0,1 g PNP dalam 10 ml *substrate buffer*). PNP yang tersedia 0.1 g. Sampai terjadi perubahan warna pada well plate ELISA. Tanaman uji positif terinfeksi BCMV jika pada well plate ELISA terjadi perubahan warna dari bening menjadi kuning.
- 12. Pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan pembacaan nilai absorban pada panjang gelombang 405 nm dengan ELISA *reider*.
- 13. Stop reaksi dengan 0.3 M NaOH.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Kisaran Inang BCMV

Inokulasi BCMV secara mekanis dapat menimbulkan gejala pada beberapa tanaman uji yaitu tanaman kacang panjang, buncis, mentimun, bayam, dan bunga pacar air sedangkan pada tanaman kacang tanah, kedele, cabai besar, cabai rawit, tomat, terong, kubis, sawi hijau, dan kangkung darat tidak menunjukkan gejala (Tabel 1)

Munculnya gejala pada tanaman uji merupakan hasil interaksi antara patogen, inang dan lingkungan. Pengaruh keadaan lingkungan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus sangat tergantung pada kondisi inangnya, mengingat virus tidak dapat mengadakan metabolisme sendiri. Sinar matahari dan suhu sering mempengaruhi perkembangan gejala yang tampak pada tanaman uji. Sinar matahari dan suhu yang tidak diikuti dengan ketersediaan air dan unsur hara secara optimal

dapat meningkatkan penampakan gejala virus pada tanaman uji, Hal ini diakibatkan karena virus memerlukan hasil metabolime inang yang aktif untuk keperluan perbanyakannya (Bos,1994).

Pada tanaman uji yang tidak menunjukkan gejala disebabkan karena tanaman tersebut tahan terhadap infeksi BCMV. Fraser (1998), menyatakan bahwa gejala tidak terjadi apabila tanaman imun terhadap infeksi virus. Apabila tanaman mampu untuk membatasi perkembangan virus dalam sel tertentu sehingga virus tidak menyebar ke sel-sel yang lain, maka tanaman tersebut tahan terhadap infeksi virus (Matthews, 2002).

Berdasarkan hasil Nilai Absorbansi Elisa (NAE) tanaman tomat dan kacang tanah menunjukkan positif terinfeksi virus BCMV karena NAE tanaman kacang tanah dan tomat menunjukkan dua kali atau lebih dari NAE kontrol negatif, padahal selama pengamatan tanaman tomat dan kacang tanah tidak menunjukkan gejala, sehingga infeksi virus BCMV pada tanaman kacang tanah dan tomat merupakan infeksi laten dan gejala yang muncul merupakan gejala laten. Menurut Agrios (2005) gejala laten disebabkan karena konsentrasi virus masih rendah di dalam jaringan tanaman sehingga belum dapat memunculkan gejala. Sedangkan menurut Walkey (1991) gejala laten muncul karena tingkat toleransi tanaman yang tinggi terhadap virus. Tanaman uji yang tidak menunjukkan gejala dan hasil uji ELISAnya negatif menunjukan bahwa tanaman-tanaman uji tersebut bukan inang dari BCMV, sedangkan tanaman-tanaman yang hasil uji ELISAnya positif seperti kacang tanah, buncis, tomat, mentimun, bayam cabut, dan pacar air dapat dikatakan sebagai inang alternatif dari BCMV karena tanaman-tanaman tersebut selain positif dapat diinfeksi oleh BCMV, tanaman tersebut juga ditanam disekitar tanaman utama yaitu tanaman kacang panjang oleh petani di lapangan.

3.2 Variasi Gejala Virus BCMV pada Tanaman Alternatif

Tanaman alternatif yang menunjukkan gejala setelah dilakukan inokulasi menunjukkan gejala yang berbeda-beda dengan tanaman utama. Gejala pada tanaman utama yaitu daun menjadi mosaik, tulang daun mengalami *vein banding*, mengkerut dan melengkung (Gambar 1).









Gambar 1. Variasi gejala pada tanaman kacang panjang akibat infeksi BCMV: daun mosaik (A), *vein banding* (B), daun mengkerut (C), mosaik, *vein banding*, mengkerut dan melengkung (D).

Tabel 1.Respon berbagai tanaman uji terhadap infeksi BCMV isolat Baturiti

No	Famili dan spesies tanaman	Jumlah Tanaman bergejala	Persentase tanaman bergejala (%)	Masa Inkubasi (hari)	Gejala*	Frekuensi Infeksi**
1	Leguminoceae Kacang Tanah (Arachis hypogaea) Kacang Panjang (V. sinensis L.)	0	0	-	-	1/10***
	KPK	4	40	24-27	me	4/10
	AURA	8	80	9-16	mo,ve,me,mel	8/10
	Pusaka Hijau	6	60	23-26	me	6/10
	Panah Merah Buncis (<i>Phaseolus</i>	9	90	5-10	mo,ve,me,mel	9/10
	vulgaris L.) Kedele	4	40	27-29	me,meng	4/10
	(Glycine max)	0	0	-	-	0/10
2	Solanaceae Cabai Besar (C. annuum L.) Cabai Rawit (C. frutescens L.) Tomat	0	0	-	-	0/10 0/10
	(L. esculentum) Terong (Solanum	0	0	-	-	2/10 0/10
3	melongena) Cucurbitaceae Mentimun (Cucumis sativus)	2	20	8-10	me	2/10
4	Cruciferaceae Kubis (<i>Brassica</i> oleracea) Sawi Hijau	0	0	-	-	0/10
	(Brassica juncea)	0	0	-	_	0/10
5	Convolvulaceae Kangkung Darat (Ipomoea reptana poir)	0	0	_	-	0/10
6	Amaranthaceae Bayam Cabut (Amaranthus tricolor)	3	30	7-8	me	3/10
7	Balsaminaceae Bunga Pacar Air (Impatiens balsamina)	2	20	7-10	me,mel	2/10

Ket. *mo = mosaik, ve = *vein banding*, me = mengkerut, mel = melengkung, meng = menggulung.**Frekuensi infeksi berdasarkan ELISA.*** a/b : a sampel menunjukkan positif terinfeksi dari b sampel yang diuji.

Menurut Agrios (2005) gejala awal daun yang terinfeksi BCMV adalah warna daun menjadi berubah dan tidak merata, seiring dengan berjalannya waktu daun melengkung ke bawah dan ke atas, selanjutnya daun terlihat mengerut dan tahap selanjutnya terjadi mosaik, dan *vein banding* (penebalan di sekitar tulang daun berwarna hijau tua). Gejala yang muncul pada tanaman uji yaitu berbeda-beda, gejala daun mosaik, *vein banding*, mengkerut dan melengkung ditemukan pada tanaman kacang panjang komersial dengan kultivar aura dan panah merah. Gejala daun mengkerut ditemukan pada tanaman timun, bayam dan kacang panjang komersial dengan kultivar KPK dan pusaka hijau. Gejala daun mengkerut dan menggulung ditemukan pada tanaman buncis, sedangkan gejala mengkerut dan melengkung ke atas ditemukan pada tanaman bunga pacar air (Gambar 2).









Gambar 2. Variasi gejala tanaman uji akibat infeksi BCMV. A. Gejala daun mengkerut pada tanaman bayam (*Amaranthus tricolor*). B. Gejala daun mengkerut dan menggulung pada tanaman buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). C. Gejala daun mengkerut pada tanaman mentimun (*Cucumis sativus*). D. Gejala daun mengkerut dan melengkung ke atas pada tanaman bunga pacar air (*Impatiens balsamina*)

Munculnya variasi tipe gejala pada tanaman uji dapat disebabkan oleh faktor tanaman dan strain virus (Walkey, 1991). Menurut Matthews (1992), variasi gejala tanaman yang terinfeksi virus dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu umur tanaman, kultivar, genotipe tanaman, serta fase pertumbuhan tanaman. Faktor lain yang berpengaruh terhadap gejala infeksi virus adalah faktor lingkungan antara lain kesuburan tanah dan iklim. Sinar matahari dan suhu sering mempengaruhi perkembangan gejala yang tampak pada tanaman uji. Sinar matahari dan suhu yang tidak diikuti dengan ketersediaan air dan unsur hara secara optimal dapat meningkatkan penampakan gejala virus pada tanaman uji, hal ini diakibatkan karena virus memerlukan hasil metabolime inang yang aktif untuk keperluan perbanyakannya (Bos,1994).

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

- 1. Virus BCMV dapat menginfeksi tanaman dari familia Leguminoceae yaitu kacang tanah, kacang panjang, dan buncis; Solanaceae yaitu tomat; Cucurbitaceae yaitu mentimun; Amaranthaceae yaitu bayam cabut; dan Balsaminaceae yaitu bunga pacar air.
- Variasi gejala pada tanaman yang terinfeksi virus BCMV menunjukkan gejala yang berbeda-beda seperti mosaik, vein banding, mengkerut dan melengkung pada tanaman kacang panjang komersial dengan jenis aura dan panah merah; gejala mengkerut pada tanaman kacang panjang komersial dengan jenis KPK dan pusaka hijau, mentimun, dan bayam cabut; gejala mengkerut dan menggulung pada tanaman buncis; gejala mengkerut dan melengkung ke atas pada tanaman bunga pacar air.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman inang alternatif dari virus BCMV yang lebih luas dengan menggunakan jenis tanaman uji yang lebih banyak, sehingga dapat dipakai sebagai dasar untuk mengendalikan virus BCMV yaitu dengan tidak menanam tanaman tersebut disekitar tanaman kacang panjang.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios, GN. 2005. Plant Pathology. Ed ke-5. New York: Academic Press.

Bos, L.1994. *Pengantar Virology Tumbuhan*. Penerjemah Triharso. Gadjah Mada University Press.

(BPS) Badan Pusat Statistik. 2012. Produksi sayuran di Indonesia. Jakarta : Badan Pusat Tersedia pada: http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php.

Fraser, R.S.S. 1998. The Genetic of Plant Virus Interaction Implication for Plant Breeding. *Euphytica* 63:175-185.

Haryanto, E., T. Suhartini, dan E. Rahayu. 2007. *Budidaya Kacang Panjang*. Ed ke-14. Jakarta: Penebar Swadaya.

Kuswanto, L., A. Soetopo dan B. Waluyo. 2007. Evaluasi Keragaman Genetic Toleransi Kacang Panjang (*Vigna sesquipedalis* (L). *fruwirth*) terhadap Hama Aphid. *J. Ilmu-Ilmu Hayati*.XVIII (1)(in press)

Matthews, R.E.F. 1992. Fundamentals of Plant Virology. Academic Press Inc. San Diego.

Matthews, R.E.F. 2002. *Plant Virologi*.4thEd. Academic Press. San Francisco.

Walkey, D. G.A. 1991. Applied Plant Virology. Ed ke-2. London: Chapman and Hall