

Mekanisme Ketahanan Terinduksi oleh *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) pada Tanaman Cabai Terinfeksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)

Taufik, M.¹⁾, A. Rahman¹⁾, A. Wahab²⁾, dan S.H. Hidayat³⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Jur. Budidaya Pertanian, Faperta Universitas Haluoleo, Jl. R.A.E. Mokodompit, Kampus Baru Bumi Tridharma, Anduonohu, Kendari

²⁾ Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Jl. Prof. Muhammad Yamin 89, Powatu, Kendari

³⁾ Departemen Proteksi Tanaman, Faperta, IPB, Bogor

Naskah diterima tanggal 12 Maret 2009 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 28 Januari 2010

ABSTRAK. *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) dapat digunakan untuk menekan insiden penyakit melalui mekanisme induksi ketahanan secara sistemik atau menghasilkan hormon tumbuh. Tujuan penelitian adalah mengetahui mekanisme ketahanan terinduksi pada tanaman cabai yang terinfeksi *cucumber mosaic virus* (CMV) dengan mengukur akumulasi asam salisilat (SA) dan peroksidase, deteksi CMV dengan teknik RT-PCR, dan analisis pola protein tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi PGPR dapat mereduksi insiden penyakit pada tanaman yang terinfeksi CMV. Aplikasi PGPR secara signifikan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman cabai dan mengurangi insiden penyakit meskipun terinfeksi oleh CMV. Campuran isolat PG 01 dan BG 25 menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Insiden penyakit yang ditunjukkan pada cabai yang diberi perlakuan campuran PG 01 dan BG 25 serta isolat BG 25 yang diberikan secara tunggal mencapai 8,33%, sementara insidensi penyakit pada cabai yang diberi isolat PG 01 secara tunggal mencapai 16,67%. Akumulasi SA dan peroksidase terjadi lebih tinggi pada tanaman cabai yang diaplikasi dengan PGPR. Teknik PCR menggunakan primer spesifik berhasil mengamplifikasi genom CMV. Pola pita protein total tanaman yang diuji tidak berbeda dengan kontrol.

Katakunci: Cabai; *Capsicum* sp; Rizobakteri; *Cucumber mosaic virus*; Induksi ketahanan.

ABSTRACT. Taufik, M., A. Rahman, A. Wahab, and S.H. Hidayat. 2010. Induced Resistant Mechanism by *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) on Pepper Plants Infected By *Cucumber Mosaic Virus* (CMV). *Plant growth promoting rhizobacteria* can suppress disease intensity through systematical induction resistance or yield hormone of growth regulator. The purpose of this research was to determine the mechanism of induced resistance CMV infected chilli plants by measuring accumulate salicylated acid (SA), peroxidase (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) (RT-PCR) and banding patterns of plant protein. The results showed that the application of PGPR can reduce of disease incidence pepper plants that was infected by CMV. Application PGPR can significantly improve plant growth and reduce the occurrence of CMV infection symptoms. Mixture of isolates PG 01 and BG 25 gave better response of plant growth compared to other treatments. The occurrence of the disease on infected chilli plants treated with isolates mixture of PG 01 and BG 25, and single isolate of BG 25 was 8.33%, while the application of single isolate of PG 01 caused the disease intensity up to 16.67%. The accumulation of salicylates acid and peroxylase was higher in the chilli plants applied by PGPR. The technique of RT-PCR was able to detect CMV using specific primers. No difference of total protein band patterns between tested plants and control.

Keywords: Pepper; *Capsicum* sp.; Rhizobacteria; Cucumber mosaic virus; Induced resistance.

Pengendalian virus tanaman sukar dilakukan karena virus mudah tersebar melalui beberapa media seperti bahan tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, biji, dan serangga vektor. Selain itu banyak virus tanaman yang memiliki kisaran inang yang sangat luas, baik pada tanaman monokotil maupun dikotil. Penggunaan varietas tahan adalah salah satu metode pengendalian yang murah dan mudah, namun sejauh ini belum ada varietas cabai yang dilaporkan tahan terhadap virus yang menginfeksi cabai termasuk CMV. Taufik *et al.* (2007) melaporkan bahwa dari sembilan kultivar cabai yang dievaluasi

ketahanannya terhadap CMV, tidak satu pun yang tahan terhadap infeksi virus tersebut.

Sampai saat ini pada umumnya petani di Indonesia mengandalkan pengendalian penyakit cabai dengan pestisida kimia sintetis termasuk pengendalian penyakit yang disebabkan oleh CMV. Mereka masih sangat bergantung pada penggunaan insektisida untuk menekan populasi serangga vektornya, bahkan dengan frekuensi dan dosis penyemprotan yang melebihi anjuran. Tentunya tindakan tersebut memberikan dampak negatif terhadap lingkungan, organisme bukan sasaran, residu pestisida, dan tidak efektif untuk mengurangi populasi serangga vektor.

Untuk meminimalisasi penggunaan insektisida, maka diperlukan alternatif pengendalian. Alternatif pengendalian yang diusulkan adalah perlakuan benih cabai dengan *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR). Rizosfer tanaman adalah tempat di mana aktivitas mikroba sangat tinggi. Beberapa bakteri di zona tersebut dikenal sebagai *rhizobacteria*. *Rhizobacteria* secara aktif mengolonisasi akar dan mendapatkan makanan dari eksudat yang dikeluarkan oleh tanaman, sedangkan *rhizobacteria* yang memberi efek menguntungkan bagi tanaman dikenal sebagai PGPR (Kloepper *et al.* 1992). Beberapa peneliti melaporkan bahwa aplikasi PGPR pada benih cabai dan bibit cabai saat dipindah tanam ke lapangan secara umum dapat meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, dan hasil tanaman (Tuzun dan Kloepper 1994, Cook *et al.* 2002).

Aplikasi PGPR diharapkan dapat menginduksi ketahanan tanaman melalui mekanisme *systemic acquired resistance* (SAR) (Raupach *et al.* 1996 dan Van Loon *et al.* 1997). *Systemic acquired resistance* dicirikan oleh akumulasi asam salisilat (SA) dan *pathogenesis related-protein* (PR-protein), misalnya peroksidase (Ryals *et al.* 1996, Uknes *et al.* 1992). Chivasa *et al.* (1997) melaporkan bahwa perlakuan SA dapat menghambat genom replikasi *tobacco mosaic virus* (TMV) pada daun tembakau rentan yang diinokulasi, sehingga terjadi penundaan gejala sistemik pada semua bagian tanaman. Ji dan Ding (2001) berhasil membuktikan bahwa infeksi sistemik CMV pada tanaman tembakau memicu transkripsi paling tidak dua gen SAR, yaitu PR 1 dan PR 4 (peroksidase). Akumulasi peroksidase dapat memicu lignifikasi pada dinding sel tanaman, sehingga dapat membatasi translokasi virus pada tanaman (Goodman *et al.* 1986).

Induksi ketahanan sistemik atau SAR akibat perlakuan PGPR berspektrum luas, baik terhadap virus, bakteri, maupun cendawan (Raupach *et al.* 1996, Van Loon *et al.* 1997, Murphy *et al.* 2000). Penggunaan PGPR sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh virus tumbuhan masih sangat sedikit, meskipun berbagai artikel luar negeri menunjukkan potensi penggunaan PGPR untuk mengendalikan berbagai jenis penyakit. Penggunaan PGPR sebagai salah satu agens biokontrol untuk mengendalikan patogen

virus, khususnya pada pertanaman cabai perlu dilakukan. Oleh karena itu tujuan penelitian adalah mengetahui adanya akumulasi SA dan peroksidase yang berperan terhadap ketahanan tanaman terinduksi, mendeteksi CMV dengan teknik RT-PCR, dan analisis pola pita protein tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Virologi dan Rumah Kasa Kedap Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor, dan Laboratorium Pascapanen, Cimanggu Bogor, dari bulan Juni sampai Oktober 2007.

Penyediaan PGPR dan Perlakuan Benih

Isolat PGPR yang dipilih dan disiapkan untuk perlakuan benih ditumbuhkan dalam media Kings'B selama 24 jam. Isolat yang digunakan adalah kode PG berasal dari kelompok *Pseudomonas fluorescens* dan kode BG berasal dari kelompok *Bacillus* sp. yang merupakan hasil seleksi pada penelitian sebelumnya (Taufik *et al.* 2005ab). Koloni yang terbentuk selanjutnya disuspensikan dalam air steril. Untuk mendapatkan kerapatan populasi mencapai 10^{10} CFU sel bakteri/biji cabai dilakukan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 660 nm. Nilai absorbansi sama dengan 1,057 mempunyai kerapatan sel bakteri sekitar 10^{10} CFU. Benih cabai Tit Segitiga (koleksi Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, M.Sc.) direndam dalam suspensi PGPR selama kurang lebih 2 menit. Untuk kontrol digunakan air steril sebagai pengganti suspensi PGPR.

Penyemaian Benih

Benih cabai yang telah diberi perlakuan dengan PGPR dan kontrol, selanjutnya ditanam pada baki plastik yang diisi media steril (tanah+pupuk kandang+arang sekam masing-masing dengan perbandingan 2:1:1). Sebelum benih ditutup dengan selapis media semai, terlebih dahulu benih ditetesi suspensi PGPR tiap biji cabai masing-masing satu tetes. Dua minggu setelah semai bibit cabai segera dipindahkan ke polibag ukuran 15x20 cm dengan komposisi sama dengan media semai yang digunakan sebelumnya. Pemeliharaan

tanaman dilakukan dengan cara menyiram setiap hari tanpa melakukan pemupukan sintetis di rumah kaca kedap serangga.

Metode Percobaan

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan. Kelima perlakuan adalah (1) tanpa PGPR dan tanpa inokulasi CMV, (2) campuran isolat PG 01 dan BG 25 tanpa diinokulasi CMV, (3) campuran isolat PG 01 dan BG 25 tetapi diinokulasi CMV, (4) isolat PG 01 dan diinokulasi dengan CMV, dan (5) isolat BG 25 dan diinokulasi dengan CMV. Setiap perlakuan diulang sebanyak 10 kali dan setiap ulangan terdiri atas dua tanaman.

Metode Inokulasi Virus secara Mekanis

Inokulasi CMV dilakukan 7 hari setelah aplikasi PGPR dengan cara daun tanaman sumber inokulum CMV digerus dalam mortar steril. Larutan penyangga fosfat 0,01 M (pH,7) ditambahkan dengan perbandingan 1 g daun terinfeksi virus per 5 ml larutan penyangga fosfat (1:5 b/v). Sap ini segera diinokulasikan ke tanaman uji. Setiap tanaman diinokulasi pada dua helai daun termuda (bukan kotiledon) yang telah membuka penuh (30 hari setelah semai). Sebelum diinokulasi karborundum ditaburkan pada bagian permukaan atas daun, kemudian sap dioleskan dengan kapas steril pada permukaan daun dimulai dari daun bagian bawah ke bagian atas secara searah dengan tidak mengulangi pada daerah yang sama. Segera setelah pengolesan sap dilakukan pembilasan sisa-sisa sap yang masih melekat pada permukaan daun tanaman uji menggunakan air mengalir.

Pengamatan Pertumbuhan Tanaman

Pertumbuhan tanaman yang diamati adalah tinggi tanaman, insidensi penyakit berdasarkan gejala yang muncul, dan masa inkubasi. Tinggi tanaman diukur mulai dari permukaan tanah sampai pada tunas tanaman selama 4 minggu setelah tanam (MST). Insidensi penyakit dihitung dengan menghitung jumlah tanaman yang menunjukkan gejala mosaik dibagi dengan total tanaman yang diamati dikali 100%. Untuk masa inkubasi dihitung mulai inokulasi CMV sampai munculnya gejala.

Analisis Asam Salisilat dan Peroksidase

Aktivitas SA dan peroksidase merupakan variabel pendukung yang mungkin berkaitan dengan ketahanan tanaman terhadap virus (Goodman *et al.* 1986). Analisis SA dan peroksidase dilaksanakan di Laboratorium Pascapanen, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Cimanggu Bogor. Analisis *high performance liquid chromatography* (HPLC) untuk mengukur SA dan aktivitas enzim peroksidase mengikuti prosedur *association of official analytical chemists* (AOAC Methods 1995). Kuantifikasi hasil analisis SA menggunakan rumus:

Luas area contoh/luas area standar x 100 ppm

Analisis HPLC dan peroksidase dilakukan 14 hari setelah perlakuan PGPR (bibit diaplikasi pada saat berumur 2 minggu setelah semai) untuk uji pertama, sedangkan pada uji kedua dilakukan pada akhir pengamatan tinggi tanaman. Cara pengambilan sampel untuk analisis HPLC dan peroksidase secara komposit sesuai perlakuan.

Ekstraksi RNA dan Deteksi CMV dengan RT-PCR

Ekstraksi total RNA dari jaringan tanaman cabai dilakukan 14 hari setelah inokulasi (HSI). Metode ekstraksi menggunakan reagen TRIzol (Invitrogen Co., Calrsbad, CA, USA) sesuai dengan petunjuk dari perusahaan dan diberi perlakuan dengan *Rnase-free Dnase*. Dengan menggunakan hasil ekstraksi total RNA yang diekstraksi dari tanaman cabai dibentuk cDNA pada reaksi *reverse transcriptase* dengan *ready to go RT-PCR bead* (Amersham Pharmacia Biotech Inc.) dan primer CMV-R (5'-GACTGACCATTTTAGCCG-3'). DNA komplementer (cDNA) yang terbentuk langsung digunakan sebagai cetakan dalam reaksi PCR menggunakan pasangan primer CMV-R dan CMV-F (5-ATTTAGGTTCAATTC-3'). Urutan sekuen primer, CMV-R, dan CMV-F, disusun berdasarkan sekuen CMV-B2, yaitu di daerah *non coding region* 2035-2052 (Suastika *et al.* 1996). Untuk deteksi RT-PCR dan analisis pola protein tanaman hanya menggunakan beberapa sampel tanaman uji.

Analisis SDS-PAGE

Analisis total protein dilakukan dengan metode *sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) (Suastika et al. 1996).

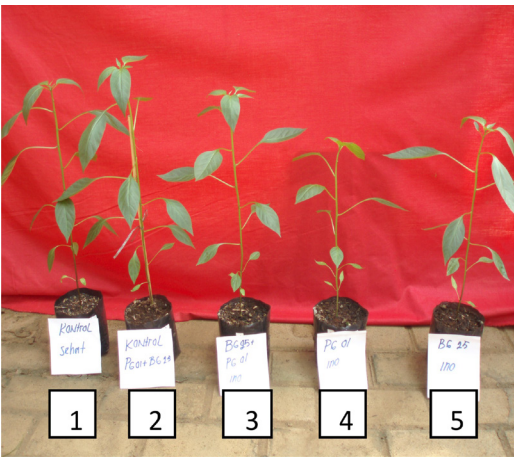
HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons Tinggi Tanaman, Penampakan Gejala, dan Kejadian Penyakit

Perlakuan PGPR mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman cabai. Pengamatan tinggi tanaman cabai mulai dari 1 minggu setelah inokulasi (MSI) sampai 4 MSI yang berasal dari benih yang diberi perlakuan campuran PG 01 dan BG 25 berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya termasuk kontrol (Tabel 1 dan Gambar 1). Campuran isolat PG 01 dan BG 25 yang diikuti dengan inokulasi CMV menunjukkan respons tinggi tanaman yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan isolat PGPR secara tunggal, meskipun berbeda nyata dengan perlakuan yang tidak diinokulasi. Sementara perlakuan isolat PG 01 yang diberikan secara tunggal dan diikuti dengan inokulasi CMV menunjukkan tinggi tanaman yang rendah dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, kecuali pada 4 MSI tidak berbeda nyata dengan isolat BG 25. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dikemukakan oleh Murphy et al. (2000) yang menunjukkan bahwa perlakuan tanaman tomat dengan PGPR menghasilkan pertumbuhan yang lebih cepat dan lebih besar.

Selain meningkatkan pertumbuhan tanaman, isolat-isolat PGPR yang digunakan mampu

menginduksi ketahanan tanaman, sehingga tanaman mampu mereduksi atau menekan insidensi penyakit dan munculnya gejala pada saat terjadi infeksi virus. Hal tersebut dapat



Gambar 1. Respons tinggi tanaman cabai yang diberi PGPR dan tanpa PGPR (*Response of height chili plant be used by PGPR and without PGPR*). 1) tanpa PGPR (kontrol sehat) (*without PGPR (health control)*), 2) PGPR (PG 01 dan BG 25) tanpa inokulasi CMV (*PGPR (PG 01 and BG 25) without CMV inoculation*), 3) PGPR (PG01+BG25) dan inokulasi CMV (*PGPR (PG 01 + BG 25) and CMV inoculation*), 4) PGPR (PG01) dan inokulasi CMV (*PGPR (PG 01) and CMV inoculation*), dan 5) PGPR (BG25) dan inokulasi CMV (*PGPR (BG 25) and CMV inoculation*)

Tabel 1. Tinggi tanaman cabai kultivar Tit Segitiga (*Plant height of chili cultivar Tit Segitiga*)

Perlakuan PGPR (<i>Treatments</i>)	Tinggi tanaman pada... (MSI) (<i>Plant height at...</i>) (WAI), cm			
	I	II	III	IV
Kontrol (<i>Control</i>)	11,020 b	14,463 b	19,930 b	26,440 b
PG 01 + BG 25 tanpa inokulasi (<i>Without inoculation</i>) CMV	13,24 a	17,6033 a	22,503 a	30,443 a
PG 01+BG 25 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	10,863 b	13,196 c	17,183 c	19,097 c
PG 01 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	8,1967 c	10,150 d	14,120 d	15,246 d
BG 25 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	10,364 b	12,750 c	16,790 c	17,157 d

*Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom (huruf kecil) yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT 5%.



Gambar 2. Gejala mosaik pada tanaman cabai yang terinfeksi oleh CMV (*Mosaic symptom on chili plant that infected by CMV*)

diamati terutama pada isolat campuran PG 01 dan BG 25 (Tabel 2). Nampaknya penggunaan isolat campuran mampu mengurangi penghambatan pertumbuhan tinggi tanaman dibandingkan dengan perlakuan secara tunggal. Meskipun demikian, tanaman yang diberi perlakuan PGPR secara tunggal juga menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan tanaman yang tidak diberi PGPR. Oleh karena itu dapat dilaporkan bahwa isolat PGPR yang digunakan dapat menekan serangan penyakit, meningkatkan pertumbuhan tanaman khususnya tinggi tanaman.

Sementara gejala yang muncul pada tanaman cabai yang terinfeksi oleh CMV adalah gejala mosaik, khususnya pada tanaman yang diberi perlakuan PGPR (PG 01) dan diikuti dengan

inokulasi CMV (Gambar 2). Pengamatan gejala pada semua perlakuan yang diberi beberapa tanaman uji menunjukkan gejala mosaik. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Taufik *et al.* (2005a) nampaknya ada perbedaan pada persentase insidensi penyakit. Pada penelitian sebelumnya insidensi penyakit dapat mencapai 60% isolat (BTP 2D, data tidak ditampilkan). Perbedaan ini diakibatkan oleh jenis PGPR yang digunakan berbeda. Oleh sebab itu dapat dilaporkan bahwa isolat yang digunakan dalam penelitian, khususnya isolat campuran dapat meningkatkan kemampuan proteksinya pada tanaman cabai Tit Segitiga terhadap infeksi CMV.

Insidensi Penyakit CMV

Jumlah tanaman yang menunjukkan gejala mosaik pada perlakuan campuran PG 01 dan BG 25 dengan diinokulasi CMV mencapai 8,33%, jumlah yang sama diperoleh pada perlakuan tunggal BG 25. Sementara insidensi penyakit pada perlakuan tunggal isolat PG 01 mencapai 16,67%. Berdasarkan pada waktu munculnya gejala atau masa inkubasi, maka isolat campuran PG 01 dan BG 25 menunjukkan waktu yang lebih lama yaitu 19 HSI, sementara perlakuan secara tunggal memerlukan 6 HSI (PG 01) dan 4 HSI (BG 25) (Tabel 2).

Analisis Asam Salisilat dan Aktivitas Enzim Peroksidase

Hasil analisis SA dan aktivitas enzim peroksidase yang pertama (10 HSI) menunjukkan bahwa perlakuan PGPR meningkatkan SA dari 6,24 ppm (kontrol sehat, tanpa perlakuan PGPR dan inokulasi CMV) menjadi 9,02-11,05 ppm dan

Tabel 2. Masa inkubasi dan insidensi penyakit tanaman cabai Tit Segitiga (*Incubation periode and disease incidence of chili plant Tit Segitiga*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Masa inkubasi (<i>Incubation period</i>) HSI (<i>DAI</i>) ¹⁾	KP CMV (100%) ²⁾
Kontrol (<i>Control</i>)	-	-
PG 01 + BG 25 tanpa inokulasi (<i>Without inoculation</i>) CMV	-	-
PG 01+BG 25 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	19	2/24 (8,33)
PG 01 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	6	4/24 (16,67)
BG 25 inokulasi (<i>Inoculation</i>) CMV	4	2/24 (8,33)

¹⁾ HSI = *DAI* (hari setelah inokulasi = *days after inoculation*), - = tidak bereaksi sampai akhir pengamatan

²⁾ KP = Kejadian penyakit berdasarkan gejala (Σ tanaman terinfeksi/ Σ tanaman diamati x 100%)
(*Diseases incident base on symptom* (Σ infected plant/ Σ observed plant x 100%))

peroksidase dari 1,76 µg/g (kontrol sehat, tanpa perlakuan PGPR dan inokulasi CMV) menjadi 2,34-6,11 µg/g setelah diinokulasi dengan CMV. Konsentrasi SA dan peroksidase tertinggi terjadi pada tanaman yang diberi isolat PG 01 diikuti dengan inokulasi CMV yaitu 6,24 ppm menjadi 11,05 ppm dan 1,76 µg/g menjadi 6,11 µg/g (Tabel 3).

Pada saat dilakukan pengukuran SA dan peroksidase yang kedua (sekitar 3 BSI) terlihat bahwa secara umum kadar SA dan peroksidase setiap tanaman uji tidak berubah. Perkecualian terlihat pada tanaman yang diberi perlakuan campuran PGPR tetapi tidak diinokulasi CMV, di mana kadar kedua senyawa meningkat cukup tinggi, yaitu 9,02 menjadi 11,14 ppm untuk SA dan 2,34 menjadi 7,19 ppm untuk peroksidase. Sebaliknya terjadi penurunan kadar peroksidase pada campuran PGPR dengan inokulasi CMV yaitu dari 6,04 menjadi 3,01 µg/g. Kecenderungan serupa tampak pada penurunan kadar SA pada perlakuan BG 25 yang diinokulasi CMV, yaitu dari 9,92 menjadi 7,09 ppm.

Peningkatan konsentrasi SA dan peroksidase pada tanaman cabai yang diberi perlakuan PGPR baik secara tunggal maupun campuran diikuti dengan inokulasi CMV atau tanpa inokulasi CMV dibandingkan dengan kontrol sehat. Hal ini membuktikan bahwa tanaman yang diberi PGPR atau terinfeksi CMV mampu meningkatkan konsentrasi sekunder metabolit seperti SA dan peroksidase sebagai respons ketahanan terhadap infeksi CMV. Tabel 3 menggambarkan bahwa tanaman yang diberi campuran PGPR (PG 01 + BG 25) diikuti inokulasi CMV, insidensi

penyakitnya lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan PGPR secara tunggal. Hasil ini masih sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Taufik et al. (2005ab) bahwa benih cabai yang diberi PGPR dan diinokulasi dengan CMV insidensi penyakitnya lebih rendah dibandingkan benih cabai yang tidak diberi PGPR dan diinokulasi CMV. Rendahnya insidensi penyakit diduga berhubungan dengan SA atau peroksidase yang dihasilkan oleh tanaman. Beberapa peneliti melaporkan akumulasi SA dan *pathogenesis related-protein* (PR-protein) dan peroksidase (Ryals et al. 1996, Uknes et al. 1992).

Dengan demikian, perlakuan PGPR merupakan alternatif yang cukup baik untuk digunakan dalam perlindungan tanaman karena PGPR dapat diaplikasikan pada biji, dicampurkan ke dalam tanah untuk pembibitan, atau saat pindah tanam. Studi ini telah membuktikan bahwa PGPR dapat menjadi alternatif pengendalian yang mampu melindungi tanaman secara sistemik terhadap infeksi virus. Van Loon et al. (1998) menyimpulkan bahwa keuntungan utama penggunaan PGPR adalah induksi ketahanan sistemik dapat dilakukan hanya sekali aplikasi, mekanisme ketahanan alami bekerja untuk periode yang lama meskipun populasi bakteri penginduksi semakin lama semakin menurun.

Hasil analisis SA dan peroksidase yang dilakukan di dalam studi ini menunjukkan bahwa konsentrasi SA cenderung lebih tinggi pada tanaman yang diberi perlakuan PGPR. Jetiyanon et al. (1997) melaporkan peningkatan aktivitas peroksidase 1,5 kali dan 1,5-2 kali pada 7 HSI dan

Tabel 3. Konsentrasi SA dengan analisis HPLC dan aktivitas enzim peroksidase (*Concentration of SA with HPLC analysis and peroxidase enzyme activity*)

Sampel (Sample)	Asam salisilat (Salicylate acid), ppm		Peroksidase (Peroxidase), µg/g		KP, %	
	Uji I	Uji II	Uji I	Uji II	I	II
Kontrol (Control)	6,24	7,06	1,76	1,79	-	-
PG 01 + BG 25 tanpa inokulasi (Without inoculation) CMV	9,02	11,14	2,34	7,19	-	-
PG 01+BG 25 inokulasi (Inoculation) CMV	10,27	10,71	6,04	3,01	8,33	8,33
PG 01 inokulasi (Inoculation) CMV	11,05	11,42	6,11	6,79	16,67	16,67
BG 25 inokulasi (Inoculation) CMV	9,92	7,09	3,06	4,01	8,33	8,33

12-72 JSI. Asam salisilat merupakan salah satu sinyal transduksi yang berakhir dengan *systemic acquired resistance* (SAR). Asam salisilat adalah salah satu senyawa yang mengindikasikan respons pertahanan tanaman yang dibuktikan dengan baik oleh Gaffney *et al.* (1993). Mereka menggunakan tanaman transgenik tembakau yang mengekspresikan gen *Nah*, yang berfungsi menyandi enzim hidroksilase yang diisolasi dari *Pseudomonas putida* yang mengkonversi SA menjadi katekol. Tentu saja tanaman transgenik tersebut tidak mampu mengakumulasi SA dan secara kuat menghambat pembentukan PR-protein yang digunakan untuk melawan infeksi patogen. Secara jelas penelitian Gaffney *et al.* (1993) membuktikan bahwa akumulasi SA akibat infeksi pertama adalah sinyal untuk mengaktifasi gen-gen yang mengkode PR-protein.

Beberapa peneliti mencoba menguraikan lebih jauh peran SA melalui serangkaian penelitian. Kesimpulan yang diperoleh adalah bahwa SA bukan merupakan sinyal translokasi untuk SAR dan bahwa sinyal sistemik untuk SAR dapat dilepaskan tanpa akumulasi konsentrasi SA yang signifikan, namun bagaimanapun SA dibutuhkan untuk transduksi sinyal dalam jaringan target (Ryals *et al.* 1996). Kesimpulan mereka sejalan dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini bahwa konsentrasi SA yang cukup (benih yang diberi perlakuan PGPR) dapat melindungi tanaman ketika diinokulasi dengan patogen, sebaliknya konsentrasi SA yang tinggi tidak menjadi jaminan bahwa tanaman menjadi tahan. Hal ini dibuktikan oleh Taufik *et al.* (2005ab) bahwa pada tanaman cabai yang tidak diberi PGPR tetapi diinokulasi dengan CMV konsentrasi SA lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi PGPR. Fenomena ini menjelaskan bahwa akumulasi SA sebaiknya terjadi sebelum inokulasi patogen, sehingga tanaman mampu mengaktifasi gen-gen ketahanan sebelum infeksi patogen berlangsung. Tetapi konsentrasi SA yang terjadi setelah inokulasi patogen nampaknya tidak mampu melawan infeksi patogen, sehingga tanaman menjadi lebih rentan. Nampaknya bahwa konsentrasi SA menentukan aktivasi gen-gen ketahanan tanaman. Vanacker *et al.* (2001) memberikan informasi baru bahwa peran SA adalah memengaruhi pertumbuhan sel, yaitu secara khusus pembesaran, *endoreduplication*

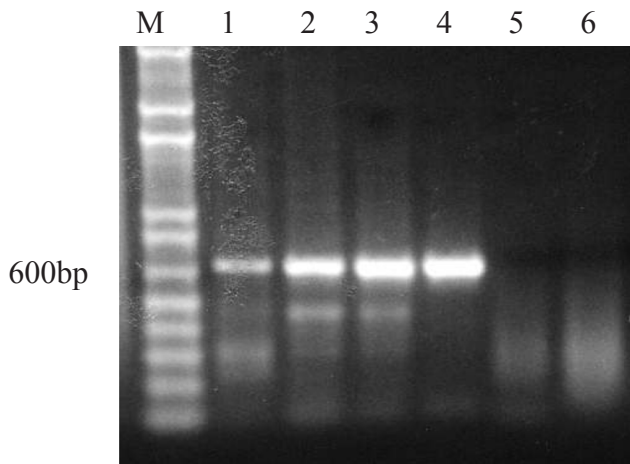
dan /atau pembelahan sel. Lebih lanjut dijelaskan bahwa SA berinteraksi dengan banyak reseptor dan/atau penyandi lintasan yang aktif pada berbagai kondisi untuk menyebabkan efek kematian dan/atau pertumbuhan sel. Jadi SA dapat berperan sebagai penghambat atau promotor pertumbuhan sel.

Kemungkinan lain adalah tanaman yang diberi perlakuan PGPR memiliki keadaan metabolisme yang lebih baik, sehingga adanya inokulasi CMV tidak menyebabkan tanaman berada dalam keadaan stres atau tercekam. Sebaliknya tanaman yang tidak diberi perlakuan PGPR menjadi sangat tercekam pada saat diinokulasi virus, sehingga tanaman meresponsnya secara cepat dengan memobilisasi metabolit sekunder seperti SA untuk melawan infeksi virus. Hal ini didukung hasil penelitian Taufik *et al.* (2005ab) bahwa tanaman cabai yang tidak diberi PGPR dan diinokulasi CMV pertumbuhan vegetatifnya secara signifikan terhambat bahkan tidak mampu menghasilkan buah cabai. Kloepper *et al.* (1992) mendefinisikan bahwa induksi ketahanan penyakit sebagai proses pengaktifan pertahanan tanaman secara fisik dan kimia diaktivasi oleh agens biotik dan abiotik. Oleh karena itu, perlakuan PGPR menjanjikan dapat diaplikasikan sebagai strategi alternatif untuk mengendalikan penyakit virus pada pertanaman cabai.

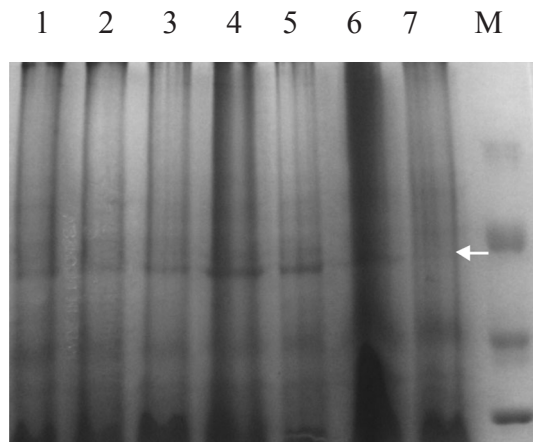
Deteksi CMV dengan RT-PCR dan Analisis SDS- PAGE

Teknik RT-PCR menggunakan primer spesifik untuk CMV berhasil diamplifikasi pita DNA virus sebesar 600 bp dari beberapa sampel tanaman cabai, yaitu tanaman yang diinokulasi dengan CMV. Pita DNA tidak teramplifikasi dari tanaman yang tidak diinokulasi CMV (Gambar 3).

Penggunaan teknik RT-PCR untuk mendeteksi patogen virus dalam jaringan tanaman dilakukan (Taufik *et al.* 2005ad, Suastika *et al.* 1996). Teknik ini memiliki keunggulan karena cukup bagus, cepat, dan sangat sensitif untuk mendeteksi virus tanaman termasuk Cucumovirus (Nakara *et al.* 1999). Moury *et al.* (2005) melaporkan berhasil mendeteksi ChiVMV (*potyvirus*) pada tanaman cabai menggunakan metode tersebut. Penelitian juga berhasil mendeteksi keberadaan CMV dalam jaringan. Untuk mengetahui tanaman



Gambar 3. Amplifikasi CMV dari tanaman cabai dengan metode RT-PCR menggunakan primer spesifik CMV (*CMV amplification from chilli plant with RT-PCR method using specific primer of CMV*). Kolom M marker 100bp (*Column M marker 100bp*): penanda DNA (*DNA marker*); kolom 1: kontrol positif CMV (*positive control*), kolom 2: perlakuan campuran (PG01+BG25) inokulasi CMV (*mix treatment (PG01+BG25) with CMV inoculation*), kolom 3: perlakuan PG01 inokulasi CMV (*treatment PG01 with CMV inoculation*), kolom 4: perlakuan BG25 inokulasi CMV (*treatment BG25 with CMV inoculation*), kolom 5: perlakuan campuran (PG01+BG25) tanpa inokulasi CMV (*mix treatment (PG01+BG25) without CMV inoculation*), kolom 6: kontrol negatif (tanaman sehat) (*negative control (healthy plant)*).



Gambar 4. Analisis protein total tanaman (*Analysis of total plant protein*), kolom 1: perlakuan campuran (PG01+BG25) inokulasi CMV (*mix treatment (PG01+BG25) with CMV inoculation*), kolom 2: perlakuan campuran (PG01+BG25) tanpa inokulasi CMV (*mix treatment (PG01+BG25) without CMV inoculation*), kolom 3: perlakuan BG25 inokulasi CMV (*treatment BG25 CMV inoculation*), kolom 4: perlakuan BG25 tanpa inokulasi CMV (*treatment BG25 without CMV inoculation*), kolom 5: perlakuan PG01 inokulasi CMV (*treatment PG01 with CMV inoculation*), kolom 6: perlakuan PG01 tanpa inokulasi CMV (*treatment PG01 without CMV inoculation*), kolom 7: kontrol negatif, kolom M : penanda protein (*negative control, column M: protein marker*).

yang terinfeksi juga menunjukkan adanya aktivasi gen pertahanan tanaman melalui akumulasi peroksidase, maka dilakukan analisis pola pita protein dengan SDS-PAGE, namun hasilnya berbeda dengan analisis DNA, pola pita protein tidak menunjukkan perbedaan antarperlakuan (Gambar 4). Berdasarkan hasil pewarnaan dengan *commassie blue* tidak dapat diidentifikasi adanya pita spesifik atau berbeda yang berasosiasi dengan protein virus atau PR-protein (Gambar 4). Semua perlakuan menunjukkan pola pita yang sama. Ada kemungkinan protein virus yang terakumulasi dalam jaringan tanaman terlalu rendah titernya, sehingga untuk mendeteksinya perlu dilakukan Western Blot, yaitu menggunakan antiserum spesifik CMV.

KESIMPULAN

Aplikasi PGPR secara nyata dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengurangi insidensi penyakit tanaman yang terinfeksi oleh CMV. Perlakuan PGPR mengakibatkan metabolisme tanaman menjadi lebih baik, sehingga pada saat diinokulasi dengan virus, pertumbuhan tanaman cabai (varietas Tit Segitiga) tidak terganggu. Primer yang digunakan berhasil mendeteksi keberadaan genom CMV pada tanaman yang diinokulasi dengan ukuran 600 bp. Tidak ada perbedaan pola pita total protein tanaman baik yang diberi PGPR maupun kontrol.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai oleh Ditjen Dikti Depdiknas tahun 2007 melalui program Penelitian Dasar dengan surat perjanjian no: 052/SP2H/PP/DP2/M/III/2007 Direktorat Penelitian Pengabdian Masyarakat Kepada Masyarakat (DP2M). Atas dukungan tersebut diucapkan terimakasih. Ucapan terimakasih kepada Tuti Susanti atas bantuan dan kerjasamanya selama bekerja di Laboratorium Virologi, Departemen Proteksi, Faperta, IPB Bogor, begitupula ucapan terimakasih kepada Bapak Lalu Sumarno di Laboratorium Pascapanen Cimanggu atas bantuan analisis HPLC dan peroksidase.

PUSTAKA

1. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Salicylic Acid.P:336-337
2. Chivasa, S., A.M. Murphy , M. Naylor , and J.P. Carr. 1997. Salicylic Acid Interferes with *Tobacco Mosaic Virus* Replication via A Novel Salicylhydroxamic Acid-sensitive Mechanism. *Plant Cell*. 9:547-557.
3. Cook, R.J., D.M. Weller, A. Youssef El-Banna, D. Vakoch, and H. Zhang. 2002. Yield Responses of Direct-seeded Wheat to Rhizobacteria and Fungicide Seed Treatment. *Plant. Dis*. 86:780-784.
4. Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, and G. Nye. 1993. Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science*. 261:754-756.
5. Goodman, R.N., Z. Kiraly, and K.R. Wood. 1986. The Biochemistry and Physiology of Plant Diseases. University of Missouri Press. Columbia. p. 347-368.
6. Jetiyanon, K., S. Tuzun, and J.W. Kloepper. 1997. Lignification, Peroxidase, and Superoxide Dismutases as Early Plant Defense Reaction Associated with PGPR-Mediated Induced Systemic Resistance. In : Ogoshi A, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and A. Akino. (Eds.). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Present Status and Future Prospect. *Proceedings of the Fourth International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria*. Japan – OECD Joint Workshop. P. 265-268.
7. Ji, L.H. and W.S. Ding. 2001. The Suppressor of Transgene RNA Silencing Encoded by *Cucumber Mosaic Virus* Interferes with Salicylic Acid-mediated Virus Resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14 (6):715-724.
8. Kloepper, J.W., G. Wei, and S. Tuzun. 1992. Rhizosphere Population Dynamics and Internal Colonization of Cucumber by *Plant Growth-promoting Rhizobacteria* which Induce Systemic Resistance to *Colletotrichum Orbiculare*. In : Jamos, E.C., G.C. Papavizas, and R.J. Cook. (Eds.). *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenge for the Future*. Life Sciences 230:185-191.
9. Murphy, J.F., G.W. Zehnder, D.J. Schuster, E.J. Sikora, J.E. Polston, and J.W. Kloepper. 2000. Plant Growth-Promoting Rhizobacterial Mediated Protection in Tomato Against Tomato Mottle Virus. *Plant Dis*. 84:779-784.
10. Moury, B., A. Palloix, C. Caranta, P. Gognalons, S. Souche, K.G. Sellassie, and G. Marchoux. 2005. Serological, Molecular, and Pathotype Diversity of Pepper Veinal Mottle Virus and Chilli Veinal Mottle Virus. *Phytopathol* 95:227-232.
11. Nakara, K., T. Hataya, and L. Uyeda. 1999. A Simple, Rapid Method of Nucleic Acid Extraction without Tissue Homogenization for Detecting Viroids by Hybridization and RT-PCR. *J. Virol. Methods*. 77:47-58.
12. Raupach, G.S., L. Liu, J.F. Murphy, S. Tuzun, and J.W. Kloepper. 1996. Induced Systemic Resistance in Cucumber Mosaic Cucumovirus using Plant Growth-promoting Rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis*. 80:891-894.

13. Ryals, J., K.A. Lawton, T.P. Delaney, L. Friendrich, H. Kessmann, U. Neuenschwander, S. Uknes, B. Vernoi, and K. Weymann. 1996. Signal Transduction in Systemic Acquired Resistance. In: (Eds.) *Proceeding Natl. Acad. Sci.* 92:4202-4205.
14. Suastika, G., K. Tomaru, J. Kurihara, and K.T. Natsuaki. 1996. A Cucumber Mosaic Cucumovirus Isolate from Banana Mosaic Disease in Indonesia. Biological Control in Sustainable Tropical Agriculture. Nodai Center for International Program. Tokyo University of Agriculture. JSPS-DGHE Program.P. 60-68.
15. Taufik, M. 2005a. *Cucumber Mosaic Virus dan Chilli Veinal Mottle Virus: Karakterisasi Isolat Cabai dan Strategi Pengendaliannya. Disertasi.* Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor. p.31-53.
16. _____, S.H. Hidayat, G. Suastika, S.M. Sumaraw, dan S. Sujiprihati. 2005b. Kajian *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* sebagai Agensi Proteksi Cucumber Mosaic Virus dan Chilli Veinal Mottle Virus pada Cabai. *Hayati* 12(4):139-144
17. _____, A.P. Astuti, dan S.H. Hidayat. 2005c. Survei Infeksi *Cucumber Mosaic Virus* dan *Chilli Veinal Mottle Virus* pada Tanaman Cabai dan Seleksi Ketahanan Beberapa Kultivar Cabai. *J. Agrikultura.* 16(3):146-152
18. _____, G. Suastika, S.M. Sumaraw, S. Sujiprihati. 2005d. Cucumber Mosaic Virus and Chilli Veinal Mottle Virus: Occurrence and its detection Using RT-PCR.. *The 1st International Conference of Crop Security 2005*, Malang, Indonesia. September 20th-22nd, 2005. Abstract:
19. _____, S. Sujiprihati, G. Suastika, dan S.M. Mandang. 2007. Ketahanan Beberapa Varietas Cabai terhadap *Cucumber Mosaic Virus* dan *Chilli Veinal Mottle Virus*. *Hama dan Penyakit Tropika.* 7(2):130-139).
20. Tuzun, S. and J. Kloepper. 1994. Induced Systemic Resistance by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. *Proceeding on the Third International Workshop on-PGPR*. Adelaide, South Australia. March 7-11. 94.P.104-109.
21. Uknes, S., B. Mauch-Mani, M. Moyer, S. Potter, and S. Williams. 1992. Acquired Resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 4:645-656.
22. Van Loon, L.C., Baker PAHM, and C.M.J. Pieterse. 1997. Mechanisms of PGPR-Induced Resistance Against Pathogens. In: Ogoshi, A., K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino. (Eds.) *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Present Status and Future Prospect. Proceedings of the Fourth International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria.* Japan-OECD Joint Workshop.P 50-57.
23. _____, 1998. Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-458
24. Vanacker, H., H. Lu, D.N. Rate, and J.T. Greenberg. 2001. A Role for Salicylic Acid and NPR1 in Regulating Cell Growth in Arabidopsis. *The Plant J.* 28(2):209-216.