

Pengaruh Bahan Ekstrak Tanaman terhadap *Pathogenesis Related Protein* dan Asam Salisilat dalam Menginduksi Resistensi Tanaman Cabai Merah terhadap Virus Kuning Keriting

(Effect of Plant Extracts Against Pathogenesis Related Proteins and Salicylic Acid for Induces Resistance on Pepper Plant to Pepper Yellow Leaf Curl Virus)

Gunaeni, N, Wulandari, AW, dan Hudayya, A

Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Jln. Tangkuban Parahu No. 517, Lembang, Bandung Barat 40391

E-mail : nenigunaeni@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 27 Juni 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 23 Februari 2015

ABSTRAK. Pengendalian penyakit virus kuning keriting telah dilakukan dengan pengendalian populasi vektornya menggunakan insektisida. Namun cara ini kurang praktis, mahal, tidak efektif, dan mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan, manusia, dan sumber daya hayati. Se jauh ini belum ada tanaman cabai yang resisten terhadap penyakit virus kuning keriting (tidak adanya sumber gen tahan), maka perlu dibangun suatu cara untuk mengaktifkan gen pertahanan dari tanaman itu sendiri. Tujuan penelitian adalah mendapatkan ekstrak tanaman yang paling baik pengaruhnya dalam memicu keaktifan gen pertahanan dan kandungan biokimia tanaman cabai yang menyebabkan sifat tahan. Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Sayuran pada ketinggian 1.250 m dpl. pada bulan Mei sampai dengan Desember 2012. Tahapan penelitian meliputi (1) penentuan empat *inducer* terpilih, (2) pengujian *ELISA*, (3) analisis kandungan protein, dan (4) pengujian kandungan asam salisilat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) diperoleh dua jenis tanaman yang berpotensi sebagai bahan penginduksi resistensi tanaman cabai merah terhadap penyakit virus kuning keriting yaitu tanaman pagoda (*Clerodendrum japonicum* Thunb.) dan tapak dara (*Catharanthus roseus* L.), (2) hasil analisis protein menunjukkan bahwa ekspresi pola pita protein tanaman yang diberi *inducer* lebih tebal 1,5 kali dibandingkan tanaman yang terinfeksi penyakit virus kuning keriting, dan (3) kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah yang diberi *inducer* ekstrak tanaman pagoda dan tapak dara lebih tinggi 53,99 – 134,38% dibandingkan tanaman yang terinfeksi penyakit virus kuning keriting.

Katakunci: *Capsicum annuum* L.; Ekstrak tanaman; Induksi resistensi; Virus kuning keriting

ABSTRACT. *Pepper yellow leaf curl virus* disease control has been done with the control vector populations with insecticides, but this is in addition to less cumbersome, expensive, ineffective also have a negative impact on the environment, human, and biological resources. There was no pepper plants were resistant to *pepper yellow leaf curl virus* (not a source of resistance genes), it may need to be a way to turn on or activate defense genes from the plant itself. The purpose of this study was to obtain plant extracts (concerning plants) the best influence in triggering the activity of defense genes and biochemical content of pepper plants that causes resistant properties. The experiment have been conducted at Indonesia Vegetable Research Institute with altitude 1,250 m asl. in May to December 2012. The experiment were included (1) determination of four elected inducer, (2) ELISA testing, (3) analysis of protein content, and (4) testing salicylic acid content. The results showed that (1) obtained two types of plant material that has potential as resistance inducers pepper plant resistance to viral diseases *pepper yellow leaf curls virus* are *Clerodendrum japonicum* Thunb. and *Catharanthus roseus* L., (2) the results of the analysis showed that the expression pattern of protein bands were given a plant protein inducer thicker 1.5 than infected plants *pepper yellow leaf curls virus*, and (3) salicylic acid content in pepper extract fed inducer *C. japonicum* and *C. roseus* is greater 53,99 – 134,38% than plants infected with the *pepper yellow leaf curls virus*.

Keywords: *Capsicum annuum* L.; Plant extract; Induced resistance; *Pepper yellow leaf curl virus*

Cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan komoditas sayuran penting pada perdagangan bebas di era globalisasi. Upaya menaikkan daya saing komoditas ini secara khusus adalah kesinambungan produk, bersih dari kontaminasi dan aman dikonsumsi, di samping penampilannya baik atau menarik dari fisik buah mulus tanpa cacat. Dalam pengelolaannya, tanaman cabai mempunyai risiko cukup tinggi karena

tingginya serangan hama dan penyakit yang mampu menyebabkan kegagalan panen.

Kendala utama budidaya cabai adalah serangan patogen. Salah satu patogen yang umumnya menyerang pertanaman cabai di Indonesia adalah virus kuning keriting yang termasuk dalam grup Gemini subgrup Begomovirus. Saat ini penyakit tersebut menjadi epidemik di beberapa daerah seperti di Jawa Barat,

Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Sumatra Selatan, dan Lampung, dengan intensitas serangan 10–100% (Hidayat 2003). Kutukebul (*Bemisia tabaci*) merupakan serangga hama pengisap daun yang berperan dalam penyebaran dan penularan virus Gemini di lapangan (Morales & Anderson 2001).

Upaya pengendalian yang banyak dilakukan petani yaitu pengendalian terhadap vektor virus dengan menggunakan insektisida. Cara ini mahal, tidak efektif, dan mempunyai dampak negatif terhadap lingkungan, manusia, dan sumber daya hayati. Mengaktifkan gen pertahanan dari tanaman merupakan salah satu cara pengendalian virus secara hayati dan mempunyai kelebihan dibandingkan pengendalian dengan menggunakan pestisida. Dalam evolusi tanaman terbentuk mekanisme pertahanan secara alami yang membantu tanaman melindungi dirinya sendiri dari serangan penyakit. Mekanisme untuk pertahanan sendiri dikenal dengan *systemic activated resistance* (SAR atau resistensi sistemik terinduksi) disebut sebagai imunisasi tanaman. SAR adalah fenomena yang paling sering dipelajari karena merupakan bentuk perlindungan jangka panjang (Wahyuni 1999). Asam salisilat (SA) berperan sebagai *molecule system signal* yang menginduksi pembentukan *pathogenesis related (PR) protein* dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen (Chen et al. 2010). Dalam kondisi yang demikian serta tidak aktifnya gen pertahanan apabila tidak ada rangsangan patogen (infeksi) maka manipulasi buatan terhadap sistem pertahanan tersebut diharapkan akan menginduksi timbulnya pertahanan tanaman. Gen pertahanan mengatur sintesis senyawa-senyawa metabolit sekunder, yang hanya efektif jika ada serangan patogen. Gen-gen pertahanan sering terlambat berfungsi atau produk yang disintesisnya tidak mencapai jumlah yang cukup untuk melawan patogen. Supaya efektif gen-gen pertahanan memerlukan waktu yang cukup untuk mengekspresikan diri. Gen pertahanan untuk menjadi aktif perlu adanya faktor penginduksi. Bahan ekstrak tanaman mampu menginduksi respons pertahanan tanaman yang sistemik terhadap virus seperti ekstrak tanaman *Phytolacca americana*, *Clerodendrum aculeatum*, *Mirabilis jalapa*, *Catharanthus roseus* (Verma et al. 1996, Govindasamy & Srinivasan 2012). Menurut Duriat (2008), bunga pukul empat (*M. jalapa*) dapat menghambat penyakit virus Gemini sebesar 66,20% dengan masa retensi ketahanan sistemik pada tanaman cabai yang paling baik adalah 24 jam setelah induksi ekstrak.

Beberapa tanaman seperti bunga pukul empat (*M. jalapa* Linn.), bayam duri (*Amaranthus spinosus*

Linnaeus.) , pagoda (*C. japonicum* Lhumb.), beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less.), iler/jawer kotok (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth.), kenikir (*Tagetes erecta* L.), nimba (*Azadirachta indica* A. Juss.), sirsak (*Annona muricata*, Linn.), dan tapak dara (*C. roseus* L.) berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang merupakan analog dengan asam salisilat yang bersifat sebagai antioksidatif seperti senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid (Ardiansyah et al. 2003, Azhar-ul-Haq et al. 2006, Setiawati et al. 2008, Vardhana 2011). Senyawa turunan asam salisilat yang terkandung dalam ekstrak daun pagoda diduga dapat berperan dalam menginduksi teraktifikannya *systemic acquired resistance* melalui jalur *asam salisilat-phenyl propanoid* (El-DougDoug et al. 2007, Vogt 2010). Berdasarkan hasil uji pendahuluan dengan menggunakan ekstrak tanaman tersebut di atas yang diaplikasikan pada persemaian cabai yang telah mempunyai 3–4 daun sejati diperoleh konsentrasi ekstrak tanaman antara 40 – 50% tidak menimbulkan fitotoksis pada daun tanaman cabai.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan ekstrak tanaman (nabati) yang paling baik pengaruhnya dalam memicu keaktifan gen pertahanan dan kandungan biokimia tanaman cabai yang menyebabkan sifat tahan. Hipotesis yang diajukan adalah (1) beberapa spesies tanaman uji mempunyai kemampuan sebagai penginduksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap penyakit virus kuning keriting, (2) terjadi peningkatan kandungan asam salisilat dalam tanaman cabai yang diinduksi ekstrak tanaman, dan (3) terdapat pola pita protein yang berbeda antara cabai merah yang diinduksi oleh ekstrak tanaman dengan cabai merah yang tidak diinduksi terhadap penyakit virus kuning keriting.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan sejak bulan Mei sampai Desember 2012 di Rumah Kasa dan Laboratorium Virologi Balai Penelitian Tanaman Sayuran pada ketinggian 1.250 m di atas permukaan laut. Tahapan penelitian meliputi (1) penentuan ekstrak tanaman terbaik dalam memicu keaktifan gen pertahanan, (2) pengujian ELISA, (3) analisis kandungan protein tanaman, dan (4) pengujian kandungan asam salisilat.

Penentuan Empat Ekstrak Tanaman Terpilih

Tanaman cabai yang digunakan adalah varietas TM-999. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan sembilan perlakuan dan tiga ulangan yang didasarkan hasil uji pendahuluan

toksisitas dan satu *plant activator salicylic acid* (SA) sebagai berikut :

- Kontrol (tanpa perlakuan)
- Daun bunga pukul empat (*M. jalapa* Linn.) konsentrasi 50%
- Daun bayam duri (*A. spinosus* Linnaeus.) konsentrasi 40%
- Daun pagoda (*C. japonicum* Thunb.) konsentrasi 50%
- Beluntas (*P. indica* (L) Less.) konsentrasi 40%
- Daun iler/jawer kotok (*C. scutellarioides*, Linn, Benth) konsentrasi 40%
- Daun kenikir (*T. erecta* L.) konsentrasi 50%
- Daun nimba (*A. indica* A. Juss) konsentrasi 50%
- Daun sirsak (*A. muricata* Linn.) konsentrasi 40%
- Daun tapak dara (*C. roseus* L.) konsentrasi 50%
- Plant activator salicylic acid* (SA) konsentrasi 10 mM

Benih cabai disemai pada baki plastik dengan jumlah masing- masing perlakuan per ulangan 50 biji. Total untuk tiga ulangan 150 biji. Semaian cabai setelah mempunyai 3–4 daun sejati, diinokulasi sesuai dengan perlakuan ekstrak tanaman seperti tersebut di atas menggunakan buffer fosfat pH 7. Tanaman cabai yang sudah diinokulasi ekstrak tanaman (diinduksi) ditulari virus kuning keriting melalui kutukebul (*Bemisia tabaci*) dengan cara kutukebul dikumpulkan dari pertanaman cabai merah milik petani yang terserang penyakit virus kuning keriting di daerah endemik virus kuning keriting Magelang, Jawa Tengah. Kutu kebul diambil dengan menggunakan aspirator dan dimasukkan ke dalam baki yang berisi semaian cabai yang telah ditutup kain kasa. Setiap baki percobaan menggunakan 50 ekor kutukebul. Kutukebul dimatikan setelah 24 jam dengan insektisida berbahan aktif *imidacloprid* (konsentrasi 1 ml/l). Semaian cabai yang sudah diinfeksi untuk menghindari terjadinya infeksi lain ditempatkan dalam kurungan kasa di dalam rumah kaca.

Tingkat serangan (insiden) dan intensitas diamati pada semua tanaman, dilakukan pada saat tanaman berumur 21 hari setelah inokulasi (HSI) virus kuning keriting dengan kutukebul dengan interval seminggu sekali.

Tingkat serangan (insiden) gejala virus digunakan rumus :

dimana:

P = Insiden/kejadian (%)

a = Jumlah tanaman yang bergejala per petak

N = Jumlah tanaman yang diamati per petak

$$P \% = \frac{a}{N} 100\%$$

Penentuan intensitas serangan gejala virus digunakan rumus (Dolores 1996) sebagai berikut:

dimana:

I = Intensitas gejala serangan

n = Jumlah tanaman yang termasuk ke dalam skala gejala tertentu

v = Nilai skor gejala tertentu

N = Jumlah tanaman yang diamati

V = Nilai skor keparahan gejala tertinggi

$$I\% = \frac{\sum (n \times v)}{N \times V} \times 100\%$$

Skor keparahan gejala diklasifikasikan sebagai berikut:

- Tanaman tidak menunjukkan gejala virus (sehat) (0%)
- Tanaman menunjukkan gejala mosaik ringan (1–25%)
- Tanaman menunjukkan gejala mosaik, dan alur kuning terlihat jelas (kontras) (> 25–50%)
- Tanaman menunjukkan gejala mosaik, alur kuning terlihat jelas (kontras) dan terjadi perubahan bentuk pertumbuhan (> 50–75%)
- Tanaman menunjukkan gejala mosaik berat, alur kuning terlihat jelas (kontras), terjadi perubahan bentuk pertumbuhan, dan tanaman kerdil (> 75–100%).

Perkembangan penyakit dan penghambatan penyebaran penyakit

Total luas area yang berada di bawah kurva perkembangan penyakit (AUDPC = *area under disease progress curve*) dari penyakit dihitung dengan rumus (Louws *et al.* 1996):

dimana:

AUDPC = Kurva perkembangan penyakit

Y_i + 1 = Data pengamatan ke i + 1

Y_i = Data pengamatan ke 1

t_i + 1 = Waktu pengamatan ke- i + 1

t_i = Waktu pengamatan ke-1

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left| \frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right| (t_{i+1} - t_i)$$



Gambar 1. Skor gejala virus kuning keriting (*Scoring of pepper yellow leaf curl virus symptoms*)

Persentase penghambatan penyebaran (*P*) penyakit virus mosaik akibat perlakuan dihitung berdasarkan rumus :

Pengujian ELISA

$$P = \left| \frac{1 - \text{AUDPC perlakuan}}{\text{AUDPC kontrol}} \right| \times 100\%$$

Pengujian ELISA dilakukan untuk membuktikan kebenaran virus pada tanaman yang diinduksi ekstrak tanaman dan atau diinokulasi virus kuning keriting melalui vektor *B. tabaci* sehingga kemampuan ekstrak tanaman sebagai penginduksi ketahanan sistemik dapat menekan replikasi virus pada tanaman uji. Pengujian dilakukan dengan metode serologi ELISA secara langsung (*direct ELISA*) menggunakan antiserum Gemini. Sampel menggunakan tanaman empat perlakuan terbaik berdasarkan persentase intensitas gejala virus terendah dan konsisten, mempunyai daya hambat lebih di atas rerata, dan secara visual tidak bergejala setelah diinfeksi virus kuning keriting melalui kutukebul. Pengujian dilakukan pada umur 49 HSI. Hal ini disebabkan, menurut (Suzuki *et al.* 1989), puncak infeksi pertama dan kedua pada tanaman yang diinfeksi virus tungro pada tanaman padi berturut-turut terjadi 2,5 minggu dan 6–8 minggu (42–56) setelah inokulasi dimana konsentrasi virus pada tanaman dalam keadaan tinggi. Dari setiap perlakuan diambil lima tanaman dari setiap tanaman diambil lima helai daun sebagai sampel. Prosedur uji ELISA adalah sebagai berikut: IgG dilarutkan dengan *coating buffer* pada konsentrasi 1 : 200. Tiap lubang *plate* diisi 100 µl larutan. *Plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. *Plate* kemudian dicuci dengan 0,02 M PBS-T sebanyak tiga kali. Sampel antigen yang telah dilumatkan dengan konsentrasi 1 : 10 (g/v) dengan 0,02 M PBS-T yang mengandung 2% PVP dan 0,2% ovalbumin dimasukkan ke dalam lubang *plate* sebanyak 100 µl. *Plate* yang telah berisi sampel diinkubasi pada suhu 4°C selama semalam. Keesokan hari *plate* dicuci dengan 0,02 M PBS-T sebanyak enam kali. Enzim *conjugate* dilarutkan dalam 0,02 PBS-T

dengan konsentrasi 1 : 200. Setiap lubang *plate* diisi 100 µl. *Plate* diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 jam. *Plate* dicuci dengan 0,02 M PBS-T sebanyak enam kali. Substrat PNP 1 mg/ml dalam penyangga Diethanolamin ditambahkan dan tiap lubang *plate* diisikan sebanyak 150 ul. Pengamatan dilakukan terhadap (a) visual terhadap reaksi perubahan warna pada *plate* yang diinkubasikan selama 30 sampai 60 menit, reaksi berubah dari berwarna bening menjadi kuning pada beberapa lubang *plate*, (b) *absorbance* diukur dengan menggunakan alat *ELISA reader* (Bio-Rad Model 550) pada A 405 nm, nilai absorban sampel lebih besar 2–3 kali nilai absorban kontrol negatif berarti reaksi positif (sampel mengandung virus).

Analisis Protein Tanaman

Analisis kandungan protein dilakukan pada sampel yang sama pada uji ELISA, dengan pembanding tanaman yang diinokulasi dengan keempat ekstrak tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting (kontrol positif) dan tanaman sehat (kontrol negatif).

Protein tanaman diekstraksi dengan menggunakan metode Sun (1994) yang dimodifikasi. Ekstrak protein dianalisis dengan menggunakan metode elektroforesis pada SDS-PAGE 10%. Tahapan yang dilakukan untuk analisis protein adalah ekstraksi protein, pembuatan gel, dan elektroforesis.

Larutan *separating gel* dibuat dengan menggunakan bahan pereaksi 8,0 ml akuades (H₂O); 5 ml Tris-HCl 1,5 M pH 8,8; 0,2 ml SDS 10%; 6,7 ml Akrilamid; 0,1 ml amonium Persulfat (APS) 10%, dan 0,010 ml TEMED. Larutan *stacking gel* dibuat dengan menggunakan 6,1 ml akuades (H₂O); 0,5 ml Tris HCl 0,5 M pH 6,8; 0,1 ml SDS 10%; 0,05 ml APS 10%, dan 0,010 ml TEMED. Masing-masing sampel sebanyak 10 µl dimasukkan ke dalam sumur. Deteksi protein pada gel dilakukan dengan pewarnaan *coomasie blue* selama semalam dan digoyang menggunakan *shaker*. Larutan pewarna terdiri atas metanol 45,5%, H₂O 45,5%, asam asetat 9%, dan 0,09% *coomasie blue* R 250. Penyimpanan gel dilakukan dengan merendam gel pada larutan asam asetat 7%. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap ketebalan pola pita protein.

Pengujian Kandungan Asam Salisilat

Analisis kandungan asam salisilat dilakukan pada sampel yang sama dengan analisis kandungan protein tanaman dan ditentukan berdasarkan dua hasil terbaik. Ekstraksi dan analisis kandungan asam salisilat dilakukan berdasarkan metode modifikasi Tenhaken & Rubel (1997). Sampel tanaman (0,3 g) dilumatkan dengan menambahkan 1 ml metanol : aseton (1:1 v/v) dan diberi geratan pada sonifikator selama 10 menit. Setelah itu disentrifugasi selama 10 menit, supernatan diambil. Reekstraksi dilakukan dengan menambahkan 1 ml metanol : aseton (1:1 v/v), kemudian disentrifugasi selama 10 menit. Supernatan pada langkah ini digabungkan dengan supernatan langkah 1. Supernatan hasil sentrifugasi dikeringkan secara vakum. Residu kering diresuspensi dengan menambahkan 30% metanol dan kontaminan tak terlarut dibuang melalui sentrifugasi.

Kandungan asam salisilat pada daun tanaman cabai dianalisis secara kumulatif dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Fase gerak yang digunakan adalah metanol : buffer natrium asetat 50 mM pH 4,5 (30:70) dengan laju alir 0,6 ml/menit. Sebelum digunakan, sampel dan larutan untuk fase gerak disaring terlebih dahulu dengan menggunakan membran filter selulosa asetat 0,2 µm. Adapun kromatopak yang digunakan adalah waters 490E. Panjang gelombang yang digunakan dalam analisis asam salisilat ini adalah 280 nm dengan jenis kolom yang dipakai adalah C-18 (ODS) ultrasphere 30 cm yang berdiameter 3,9 nm.

Analisis kualitatif dilakukan dengan mengetahui kandungan asam salisilat dalam sampel dengan cara mengkonversikan luas area sampel dengan luas area standar yang telah diketahui konsentrasinya pada kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi diperoleh dari data luas area beberapa konsentrasi asam salisilat standar yang selanjutnya dibuat hubungan antara luas area dengan kandungan asam salisilat.

Data yang terkumpul dianalisis secara statistik. Perbedaan pengaruh perlakuan diuji dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Empat Ekstrak Tanaman Terpilih

Penentuan empat *inducer* terbaik berdasarkan data insiden dan intensitas gejala virus kuning keriting terendah. Pengamatan terhadap perkembangan insiden dan intensitas gejala penyakit virus kuning keriting dilakukan sejak pertama kali gejala muncul. Data

insiden dan intensitas gejala disajikan pada (Tabel 1 dan 2).

Persentase insiden dan intensitas gejala virus bervariasi antarperlakuan *inducer*. Gejala umumnya terlihat pada pengamatan 21 HSI kecuali pada perlakuan pagoda dan meningkat sesuai dengan bertambahnya umur tanaman. Gejala virus kuning keriting pada semua perlakuan tampak lebih rendah dibandingkan kontrol dan kontrol asam salisilat. Empat gejala virus terendah berturut - turut tampak pada perlakuan pagoda, beluntas, nimba, dan tapak dara. Diduga bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang dikandung ekstrak tumbuhan dapat menginduksi ketahanan cabai merah terhadap virus kuning keriting. Keempat perlakuan terpilih tersebut di atas diduga dapat berpotensi sebagai penginduksi ketahanan cabai merah terhadap virus kuning keriting dan digunakan sebagai dasar untuk pengujian di laboratorium untuk melihat kandungan asam salisilat, kandungan protein dan pengujian ELISA untuk melihat nilai absorpsi antara tanaman yang diinduksi ekstrak tanaman dan atau diinokulasi virus kuning keriting dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa perlakuan dan hanya diinfeksi virus kuning keriting.

Perkembangan insiden dan intensitas gejala virus kuning keriting meningkat sesuai dengan bertambahnya umur tanaman. Menurut Suganda (2002) bertambahnya jumlah dan ukuran daun cabai dapat memengaruhi skor tingkat gejala sehingga secara langsung memengaruhi besar kecilnya intensitas serangan. Menurut Genefianti *et al.* (2008), semakin besar infeksi tanaman bergejala dan skor gejala berarti intensitas penyakit semakin besar.

Pada Tabel 2 nampak intensitas serangan penyakit virus kuning keriting pada semua perlakuan *inducer* kecuali kontrol umumnya tidak mengalami peningkatan sampai akhir pengamatan. Intensitas serangan yang stabil pada minggu - minggu tertentu yaitu 4 minggu (28 HST) dan 7 minggu (35 HST), hal ini diduga karena bekerjanya gen - gen pertahanan pada tanaman cabai merah sehingga dapat menekan penyakit virus kuning keriting. Menurut Subekti *et al.* (2006), genom tanaman memiliki reseptor sehingga akan mengenali virus yang masuk ke dalam sel tanaman dan menyebabkan terjadinya respons ketahanan.

Menurut Suganda *et al.* (2002), penginduksi ketahanan dengan berbagai perlakuan eksternal tidak menjadikan tanaman menjadi imun atau tidak terserang sama sekali, tetapi hanya meningkatkan derajat ketahanan, yaitu menghambat perkembangan penyakit. Keempat jenis tanaman terbaik masing-masing memberikan kemampuan yang berbeda dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai merah.

Tabel 1. Rerata insiden gejala virus kuning keriting (*The average of incidence of pepper yellow leaf curl virus*)

Perlakuan (Treatments)	Insiden gejala penyakit virus kuning keriting pada pengamatan keHSI (Incidence of pepper yellow leaf curl virus diseases symptom atDAI), %				
	21	28	35	42	49
Kontrol (<i>Control</i>)	6,94 a	11,87 a	19,92 a	22,53 a	22,53 a
Pukul empat (<i>M. jalapa</i> Linn.) (50%)	2,16 ab	6,41 abc	10,54 abc	12,01 abc	11,84 abc
Bayam duri (<i>A. spinosus</i> Linnaeus.) (40%)	6,78 a	8,92 ab	12,73 ab	12,73 ab	13,52 ab
Pagoda (<i>C. japonicum</i> Thunb.) (50%)	0,00 b	0,67 c	0,67 e	0,67 bcde	0,67 d
Beluntas (<i>P. indica</i> (L). Less.) (40%)	1,39 ab	2,28 abc	2,78 bcde	2,79 de	3,45 cd
Iler (<i>C. scutellarioides</i> Linn. Benth.) (40%)	3,10 ab	3,89 bc	3,89 de	5,59 abcd	5,69 bcd
Kenikir (<i>T. erecta</i> L.) (50%)	2,67 ab	7,33 abc	7,33 bcde	9,68 cde	9,68 abc
Nimba (<i>A. indica</i> A. Juss) (50%)	1,90 ab	1,91 bc	1,91 de	3,19 abcd	3,19 cd
Sirsak (<i>A. muricata</i> Linn.) (40%)	3,40 ab	8,16 abc	8,16 abcd	11,71 de	16,42 ab
Tapak dara (<i>C. roseus</i> L.) (50%)	1,36 ab	1,36 abc	1,36 cde	3,36 bcde	4,81 bcd
<i>Plant activator salicylic acid</i> (10 mM)	5,58 ab	10,24 ab	10,24 abcd	13,02 ab	14,17 ab
KK (CV), %	11,50	13,49	13,09	11,55	12,13

HSI (DAI) = Hari setelah inokulasi (*Day after inoculation*)

Nilai rerata yang sama diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata menurut uji jarak berganda Duncan taraf 5% (*Mean score followed by the same letter are not significantly different at the 5% significance level according to DMRT*)

Tabel 2. Rerata intensitas gejala virus kuning keriting (*The average intensity pepper yellow leaf curl virus*)

Perlakuan (Treatments)	Intensitas gejala penyakit virus kuning keriting pada pengamatan keHSI (Intensity of pepper yellow leaf curl virus diseases symptom atDAI), %				
	21	28	35	42	49
Kontrol (<i>Control</i>)	2,78 a	5,24 a	9,08 a	10,16 a	10,16 a
Pukul empat (<i>M. jalapa</i> Linn.) (50%)	0,54 ab	1,61 abc	3,02 abc	3,82 abcd	3,82 abc
Bayam duri (<i>A. spinosus</i> Linnaeus.) (40%)	2,71 a	4,59 ab	5,70 ab	5,70 ab	5,90 ab
Pagoda (<i>C. japonicum</i> Thunb.) (50%)	0,00 b	0,33 c	0,33 d	0,33 e	0,33 d
Beluntas (<i>P. indica</i> (L). Less.) (40%)	0,35 ab	0,69 abc	0,69 cd	0,58 de	0,92 cd
Iler (<i>C. scutellarioides</i> Linn. Benth.) (40%)	1,55 ab	0,97 bc	1,94 bcd	2,84 bcde	2,84 bcd
Kenikir (<i>T. erecta</i> L.) (50%)	0,83 ab	2,67 abc	2,67 bcd	3,84 abcd	3,84 abc
Nimba (<i>A. indica</i> A. Juss) (50%)	0,71 ab	0,71 bc	0,71 cd	1,35 cde	1,35 cd
Sirsak (<i>A. muricata</i> Linn.) (40%)	1,36 ab	2,89 abc	2,89 abcd	4,49 abc	6,60 ab
Tapak dara (<i>C. roseus</i> L.) (50%)	0,34 ab	0,34 bc	1,01 cd	2,01 bcde	2,73 bcd
<i>Plant activator salicylic acid</i> (10 mM)	2,39 ab	4,55 ab	4,55 abc	5,15 abc	5,72 ab
KK (CV), %	7,36	7,98	9,11	7,73	7,72

Hasil pengamatan kemampuan jenis tanaman berpotensi sebagai penginduksi tanaman cabai merah terhadap virus kuning keriting dapat dilihat pada (Tabel 3). Gejala virus kuning keriting pada tanaman cabai pertama kali muncul pada daun muda/pucuk

berupa bercak kuning di sekitar tulang daun, kemudian berkembang dan menjadikan urat daun berwarna kuning (*vein clearing*), cekung dan mengerut dengan warna mosaik ringan atau kuning. Gejala berlanjut hingga hampir seluruh daun muda atau pucuk

Tabel 3. Kemampuan jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai penginduksi ketahanan cabai merah terhadap virus kuning keriting (*The ability of plant species as a potential inducer of resistance against of pepper yellow leaf curl virus*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Masa inkubasi (<i>Time of incubation</i>) Hari (<i>Day</i>)	AUDPC Hari (<i>Day</i>)	Daya hambat (<i>Resistivity</i>), %
Kontrol (<i>Control</i>)	21	216,65	-
Pukul empat (<i>M. jalapa</i> Linn.) (50%)	21	92,41	57,34
Bayam duri (<i>A. spinosus</i> Linnaeus.) (40%)	21	142,07	34,42
Pagoda (<i>C. japonicum</i> Thunb.) (50%)	28	8,09	96,27
Beluntas (<i>P. indica</i> (L.), Less.) (40%)	21	34,27	84,18
Iler (<i>C. scutellarioides</i> Linn. Benth.) (40%)	21	55,62	74,33
Kenikir (<i>T. erecta</i> L.) (50%)	21	80,61	62,79
Nimba (<i>A. indica</i> A, Juss) (50%)	21	26,60	87,72
Sirsak (<i>A. muricata</i> Linn.) (40%)	21	99,74	53,96
Tapak dara (<i>C. roseus</i> L.) (50%)	21	18,17	91,61
<i>Plant activator salicylic acid</i> (10 mM)	21	128,14	40,85
Rerata (<i>Average</i>), %			68,35

berwarna kuning cerah, ada pula yang berwarna kuning bercampur dengan hijau, daun cekung, mengerut berukuran lebih kecil, dan lebih tebal.

Masa inkubasi tanaman cabai yang diberi perlakuan ekstrak tanaman berbeda-beda terhadap penyakit virus kuning keriting (Tabel 3). Ekstrak pagoda, tapak dara, nimba, dan bluntas mampu menghambat munculnya gejala serangan penyakit virus kuning keriting yang diakibatkan virus Gemini. Umumnya masa inkubasi virus kuning keriting berlangsung selama 21 hari setelah inokulasi kecuali pagoda 28 HSI. Menurut Muis (2002) perbedaan periode inokulasi disebabkan jaringan tanaman masih muda sehingga memudahkan bagi patogen untuk masuk dan berkembang. Perlakuan ekstrak tanaman yang diuji berpengaruh terhadap munculnya gejala virus kuning keriting pada tanaman cabai merah. Munculnya gejala selain dipengaruhi oleh induksi ekstrak tanaman tersebut di atas, menurut Wahyuni (1999), gejala penyakit virus salah satunya dapat dipengaruhi oleh jenis tanaman inang.

Hasil perhitungan nilai AUDPC menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai AUDPC semakin rendah persentase penghambatannya. *Area under diseases progress curve* (AUDPC) dan persentase penghambatan dapat dilihat pada Tabel 3. Secara umum ekstrak tanaman yang diuji mempunyai potensi sebagai penginduksi ketahanan tanaman cabai yang ditunjukkan oleh nilai AUDPC pada perlakuan tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kontrol.

Dari sembilan jenis tanaman yang diuji ternyata terdapat empat jenis tanaman yang mempunyai daya

hambat di atas nilai rerata 68,35% yaitu berturut-turut pagoda dengan nilai AUDPC 8,09 dan nilai penghambatan 96,27%, tapak dara dengan nilai AUDPC 18,17 dan nilai penghambatan 91,61%, nimba dengan nilai AUDPC 26,60 dan nilai penghambatan 87,72%, serta beluntas dengan nilai AUDPC 34,27 dan nilai penghambatan 84,18%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tanaman tersebut dapat menginduksi ketahanan terhadap serangan penyakit virus kuning keriting.

Uji ELISA

Uji ELISA dilakukan pada tanaman cabai yang tidak bergejala setelah masing-masing diberi empat perlakuan ekstrak tanaman terpilih yaitu pagoda, tapak dara, nimba, dan beluntas dan diinfeksi virus kuning keriting. Hasil uji ELISA menunjukkan bahwa ternyata sampel tersebut di atas terdeteksi oleh antiserum Gemini (Tabel 4).

Pada Tabel 2 tampak bahwa intensitas serangan penyakit virus kuning keriting pada semua perlakuan *inducer* kecuali kontrol umumnya tidak mengalami peningkatan sampai akhir pengamatan. Intensitas serangan yang stabil pada minggu - minggu tertentu yaitu 4 minggu (28 HST) dan 7 minggu (35 HST). Hal ini diduga karena bekerjanya gen - gen pertahanan pada tanaman cabai merah sehingga dapat menekan penyakit virus kuning keriting. Menurut Sebekti *et al.* (2006), genom tanaman memiliki reseptor sehingga akan mengenali virus yang masuk ke dalam sel tanaman dan menyebabkan terjadinya respons ketahanan.

Tabel 4. Hasil uji ELISA pada keempat inducer terpilih (ELISA test results for the four selected inducer)

Sampel (Sample)	Gejala (Symptoms)	Antiserum Gemini	
		Visual	Absorbsi
Pagoda (<i>C. japonicum</i> Thunb.)	Tidak bergejala (sehat)	++	1,519 a
Tapak dara (<i>C. roseus</i> L.)	Tidak bergejala (sehat)	+	0,859 b
Nimba (<i>A. indica</i> A. Juss)	Tidak bergejala (sehat)	+	0,917 b
Beluntas (<i>P. (L.)</i> Less	Tidak bergejala (sehat)	+	0,795 b
Kontrol sehat (<i>Healthy control</i>)	Tidak bergejala (sehat)	-	0,353 c
Kontrol positif terinfeksi gemini virus (<i>Positively infected by Gemini virus</i>)	Daun berwarna kuning (<i>vein clearing</i>), cekung dan mengkerut dengan warna mosaik ringan atau kuning	++	1,126 ab
KK (CV), %			25,38

- = Reaksi negatif (visual berwarna bening) ; + = reaksi positif (visual berwarna kuning); ++ = reaksi positif (visual berwarna kuning tua)

Menurut Suganda *et al.* (2002), penginduksi ketahanan dengan berbagai perlakuan eksternal tidak menjadikan tanaman menjadi imun atau tidak terserang sama sekali, tetapi hanya meningkatkan derajat ketahanan, yaitu menghambat perkembangan penyakit. Keempat jenis tanaman terbaik masing - masing memberikan kemampuan yang berbeda dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai merah.

Nilai absorpsi pengukuran dengan menggunakan alat *ELISA reader* ternyata pada kontrol positif terdeteksi antiserum gemini dengan nilai sebesar 2–3 kali lebih tinggi dari kontrol tanaman sehat. Lebih rendahnya nilai absorpsi pada tanaman yang diinduksi menunjukkan bahwa ekstrak tanaman mampu menekan replika virus. Perlakuan ekstrak empat jenis tanaman diduga dapat menghambat perkembangan penyakit virus kuning keriting sehingga tanaman cabai tidak bergejala (laten).

Analisis Protein

Dari hasil uji ELISA pada sampel yang sama dilanjutkan dengan pengujian analisis pola pita protein. Hasil analisis SDS-PAGE terlihat ada perbedaan pola pita protein antara tanaman yang diberi perlakuan ekstrak dan diinfeksi virus kuning keriting (Gambar 2).

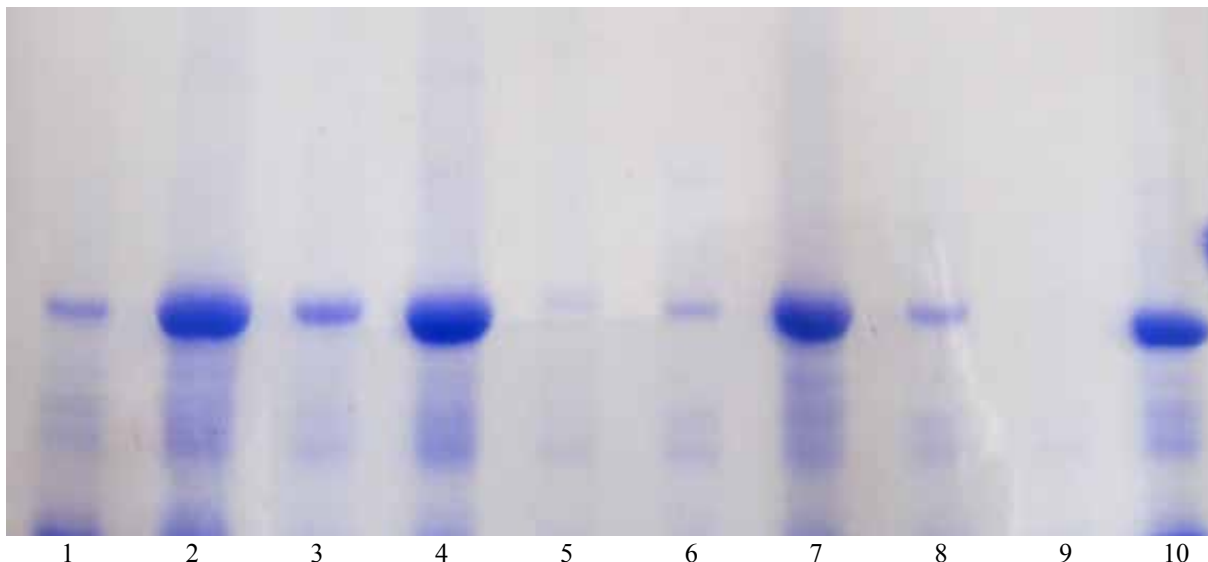
Pada tanaman cabai yang diberi perlakuan ekstrak tanaman + diinfeksi virus kuning keriting mempunyai pita protein yang lebih tebal dibandingkan dengan yang hanya diberi ekstrak saja. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya respons tanaman terhadap ekstrak tanaman dan virus kuning keriting. Pada tanaman cabai sehat tidak tampak adanya pita protein, sedangkan pada tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting yang diakibatkan oleh virus gemini (kontrol positif) pita protein tanaman terinfeksi lebih tipis dibandingkan tanaman cabai diberi perlakuan ekstrak. Ekspresi pita menjadi lebih tipis diduga terjadi karena

adanya penurunan akibat aktivitas gen-gen pengkode protein tertentu pada tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting. Menurut Albert *et al.* (2002), ketebalan pita protein menunjukkan konsentrasi protein tersebut, protein dengan intensitas yang lebih tebal memiliki konsentrasi yang lebih tinggi. PR-Protein berpengaruh pada pencegahan, multiplikasi, penyebaran, dan lokalisasi virus pada jaringan yang diinduksi (Metraux *et al.* 1990)

Hasil analisis kandungan protein pada tanaman cabai terlihat ekstrak daun pagoda dan tapak dara memberikan hasil yang terbaik dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai terhadap virus kuning keriting. Menurut Verma *et al.* (1996) mekanisme penginduksi ketahanan tanaman oleh ekstrak tanaman terhadap virus adalah disebabkan oleh protein berukuran 34 kDa dalam ekstrak daun *C. japonicum* (pagoda) dapat berfungsi sebagai agen penghambat virus, penghambat replikasi, dan sebagai protein penghambat virus. Pada *C. roseus* (tapak dara) mempunyai senyawa aktif bersifat antimikrobia dengan kandungan gula terlarut serta protein yang dominan dalam peningkatan produksi tanaman (Govindasamy & Srinivasan 2012).

Analisis Kandungan Asam Salisilat

Analisis kandungan asam salisilat dilakukan pada ekstrak pagoda dan tapak dara dengan menggunakan alat HPLC diperoleh waktu retensi yang hampir sama antara sampel cabai merah yang diinduksi ekstrak tanaman yaitu 10,85 menit dengan standar asam salisilat yaitu 10,57 menit. Sampel tanaman cabai yang diuji tersebut disimpulkan mengandung asam salisilat. Analisis kualitatif diperoleh dengan menghitung perbandingan luas puncak standar asam salisilat. Hasil analisis kandungan asam salisilat sampel tanaman cabai merah yang diberi perlakuan induksi ekstrak tanaman memperlihatkan perbedaan dengan tanaman



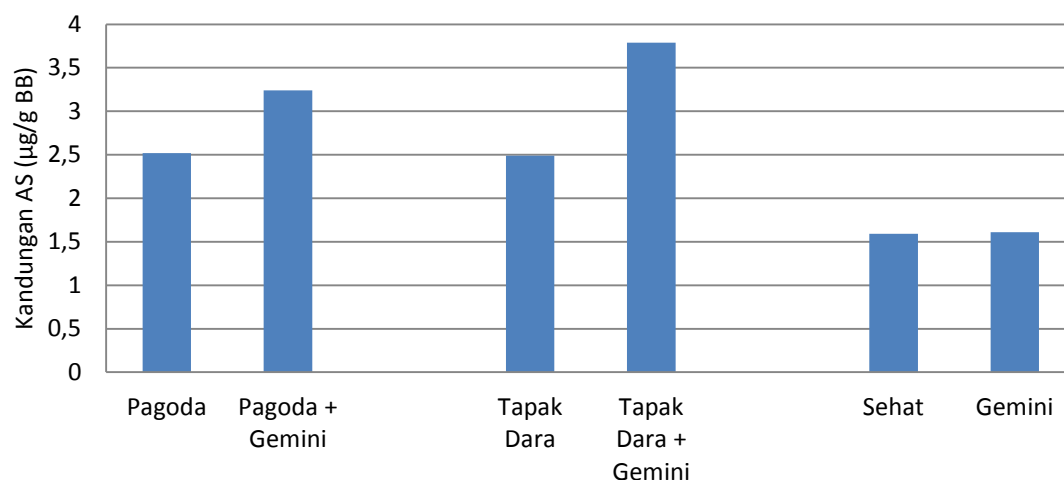
Gambar 2. Pola pita protein pada *inducer* terpilih berdasarkan hasil elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid (SDS- PAGE 10%). (*Inducer protein banding pattern was chosen based on results using polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE 10%)*)

(1) Tanaman cabai + pagoda (2) tanaman cabai + pagoda + virus kuning keriting (3) tanaman cabai + tapak dara (4) tanaman cabai + tapak dara + virus kuning keriting (5) tanaman cabai + nimba (6) tanaman cabai + nimba + virus kuning keriting (7) tanaman cabai + beluntas + virus kuning keriting (8) tanaman cabai + beluntas (9) tanaman cabai sehat, dan (10) tanaman cabai terinfeksi virus kuning keriting

cabai tanpa induksi (kontrol). Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai dapat dilihat pada (Gambar 3).

Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah yang diinduksi dengan ekstrak tanaman mencapai 2,49–3,79 $\mu\text{g/g}$ atau 53,99–134,38% ternyata sudah mampu mengaktifkan ketahanan tanaman cabai merah terhadap virus kuning keriting. Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah yang diinduksi ekstrak tanaman diduga berasal dari senyawa - senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman yang dapat meningkatkan kandungan

asam salisilat dalam tanaman cabai. Untuk tanaman sehat yang tidak diinduksi (kontrol sehat) terlihat kandungan asam salisilat lebih rendah (1,51 $\mu\text{g/g}$) dibandingkan tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting (1,62 $\mu\text{g/g}$). Aktivitas asam salisilat pada tanaman cabai meningkat setelah terjadi infeksi *cucumber mosaic virus* (Taufik *et al.* 2010). Menurut Yalpani *et al.* (1993), kandungan minimal asam salisilat yang mampu mengaktifkan ketahanan sistemik diinduksi pada tanaman tembakau terhadap *Alternaria solani* sebesar 0,33 $\mu\text{g/g}$ bobot segar. Hal



Gambar 3. Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah yang diinduksi dua ekstraksi tanaman (*Salicylic acid content in chilli pepper plants induced two extraction plant*)

ini mengindikasikan tanaman yang terinfeksi virus ternyata kandungan asam salisilatnya meningkat. Menurut Faizah *et al.* (2012), peningkatan akumulasi asam salisilat merupakan bentuk reaksi cepat dari tanaman untuk melawan infeksi virus, yaitu dengan memobilisasi metabolit sekunder. Menurut Yalpani *et al.* (1993), kadar asam salisilat pada daun tembakau yang sebelumnya diinokulasi CMV meningkat sebanyak 70 kali dibandingkan sebelum diinokulasi CMV. Menurut Hersanti (2005), rerata kandungan asam salisilat dalam tanaman cabai merah yang diinduksi bunga pukul empat (*M. jalapa*) meningkat 1,6–5 kali setelah diinokulasi CMV dibandingkan tanaman kontrol. Asam salisilat merupakan senyawa penting bagi tanaman berperan dalam proses pertahanan terhadap patogen. Menurut Murphy *et al.* (2001) dan Viot *et al.* (2009), asam salisilat diketahui merupakan sinyal endogenous pada ketahanan sistemik. Menurut Gautam & Stein (2011), asam salisilat merupakan komponen kunci dari jalur sinyal transduksi yang mengaktifasi gen ketahanan terhadap berbagai macam jamur, bakteri dan virus secara sistemik. Ketahanan sistemik yang diperoleh tersebut memberikan sinyal pertahanan pada tempat patogen berada. Sinyal ini bersifat sistemik dan bergerak dalam floem. Pada tempat terjadinya infeksi, asam salisilat dan PR-Protein (*pathogenesis related protein*) terakumulasi sangat banyak. Menurut Naylor *et al.* (1998), peran asam salisilat adalah sebagai penghambat pergerakan sistemik virus secara tidak langsung melalui pembuluh tanaman inang sehingga sifatnya hanya menunda gejala penyakit.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas diperoleh dua jenis tanaman yaitu pagoda (*C. japonicum*) dan tapak dara (*C. roseus*) yang dapat digunakan sebagai penginduksi ketahanan sistemik dalam menekan virus kuning keriting pada cabai merah yang mudah diaplikasikan dan ramah lingkungan.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Diperoleh jenis tanaman yang berpotensi sebagai bahan penginduksi resistensi tanaman cabai merah terhadap penyakit virus kuning keriting yaitu tanaman pagoda (*C. japonicum*) dan tapak dara (*C. roseus*).
2. Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah yang diberi *inducer* ekstrak tanaman pagoda dan tapak dara lebih tinggi (53,99–134,38%) dibandingkan tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting.
3. Hasil analisis protein menunjukkan bahwa ekspresi pola pita protein tanaman yang diberi *inducer* lebih tebal 1,5 kali dibandingkan dengan tanaman yang terinfeksi virus kuning keriting.

DAFTAR PUSTAKA

1. Albert, B, Johnson, A, Lewis, J, Raff, M, Roberts, K & Walter, P 2002, 'Molecular biology of the cell', edition 4, Garland Science, New York, in and lignan glycoside from *Amaranthus spinosus* Linn', *Polish Journal of Chemistry*, vol. 80, pp. 259 - 63.
2. Ardiansyah, Nuraida, L & Andarwulan, N 2003, 'Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica* Less) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH', *J. Teknologi dan Industri Pangan*, vol. 14 no. 2, hlm. 90 - 7.
3. Azhar-ul-Haq, A, Malik N, Afza, SB, Khan, P, Muhammad, Polish 2006, 'Organic chemistry coumaroyl adenosine and lignan glycoside from *Amaranthus spinosus*', *Journal of Enzym Inhibition and Medical Chemistry*, vol. 21, no. 5, pp. 527 - 9.
4. Chen, H, Zhang, Z, Teng, K, Lai, J, Zhang, Y, Huang, Y, Li Y, Liang, L, Wang, Y & Chu, C 2010, 'Up-regulation of LSBI/GDU3, Effects gemini virus infection by activating the salicylic acid pathway', *Plant Journal*, vol. 62, pp. 12 - 3.
5. Dolores, LM 1996, 'Management of pepper viruses', in AVNET-II', *Final Workshop Proceeding*, AVRDC-Tainan-Taiwan. pp. 334 - 42.
6. Duriat, AS 2008, 'Pengaruh ekstrak bahan nabati dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai terhadap vektor dan penyakit kuning keriting', *J. Hort.*, vol. 18, no. 4, hlm. 446-56.
7. El-DougDoug, Kh, A, Gomaa, HHA & Daoud, RA 2007, 'Elimination of some viruses infecting tomato plants by phyto-antivirus', *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, vol. 3, no. 6, pp. 994 - 1001.
8. Ganefianti, DW, Sujiprihatis, Hidayat, SH & Syukur, M 2008, 'Metode penularan dan uji ketahanan genotip cabai terhadap begomovirus', *Akta Agrosia*, vol. 11, no. 2, hlm. 162 - 9.
9. Gautam, P & Stein, J 2011, 'Induction of systemic acquired resistance to *Puccinia sorghi* in corn', *International Journal of Plant Pathology*, vol. 2, no. 1, pp. 43 - 50.
10. Govindasamy, C & Srinivasan, R 2012, 'In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of *Catharanthus roseus* (Linn). G. Don', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp. 155 - 58.
11. Hartono, S 2003, 'Penyakit virus kuning keriting pada cabai di Yogyakarta dan upaya pengendaliannya', Makalah pada Seminar Sehari Pengenalan dan Pengendalian Penyakit Virus pada Cabai', *Dir. Perlindungan Hortikultura, Dir. Jen. Bina Produksi Hortikultura*, Jakarta 20 Februari 2003.
12. Hidayat, SH 2003, 'Rangkuman hasil penelitian gemini virus di Indonesia : Sebagai bahan diskusi untuk menghadapi peningkatan infeksi gemini virus pada cabai', Makalah disampaikan pada Seminar Sehari Pengenalan dan Pengendalian Penyakit Virus pada Cabai, *Dir. Perlindungan Hortikultura, Dir. Jen. Bina Produksi Hortikultura*, Jakarta 20 Februari 2003.
13. Hersanti 2005, 'Analisis aktivitas peroksidase dan kandungan alam asam salisilat dalam tanaman cabai merah yang diinduksi ketahanan terhadap *cucumber mosaic virus* oleh ekstrak daun bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*)', *J. Perlindungan Tanaman Indonesia*, vol. 11, no. 1, hlm. 11 - 20.

14. Louws, FJ, Mary, KH, John, FK & Cristine, TS 1996, 'Impact of reduced fungicide and tillage on blight, fruit root and yield processing tomatoes', *Plant Diseases*, vol. 8, pp. 1251 - 6.
15. Mettraux, JP, Siger, H, Ryals, J, Ward, E, Wyss Benz, M, Guadin, J, Raschdoorf, K, Schmid, E, Blum, W & Inverardi, B 1990, 'Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber', *Science*, vol. 250, pp. 1004 - 6.
16. Morales, FJ & Anderson, PK 2001, 'The emergence and dissemination of whitefly transmitted gemini viruses in Latin America', *Journal of Virology*, vol. 146, pp. 415 - 41.
17. Muis, A 2002, 'Sugarcane mosaic virus (SCMV) penyebab penyakit mosaik pada tanaman jagung di Sulawesi', *Jurnal Litbang Pertanian*, vol. 21, no. 2, hlm. 64 - 8.
18. Murphy, AM, Gilliland, A, Wong, CE, West, J, Singh, DP & Carr, JP 2001, 'Signal transduction in resistance to plant viruses', *Euro Journal, Plant Pathol.*, vol. 107, pp. 121 - 8.
19. Naylor, M, Murphy, AM, Berry, JO & Carr, JP 1998, 'Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement', *Molecular Plant Microbe Interac.*, vol. 11, pp. 860 - 6.
20. Rokhana, F, Sujiprihati, S, Syukur, M & Hidayat, SH 2012, 'Ketahanan biokimia tanaman cabai merah terhadap begomovirus penyebab penyakit daun keriting kuning', *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, vol. 8, no. 5, hlm. 138 - 44.
21. Setiawati, W, Murtiningsih, R, Gunaeni, N & Rubiati, T 2008, 'Tumbuhan bahan pestisida nabati dan cara pembuatannya untuk pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT)', Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 203 hlm.
22. Subekti, D, Hidayat, SH, Nurhayati, E & Sujiprihati, S 2006, 'Infeksi cucumber mosaic virus dan chili veinal mottle virus terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman cabai', *J. Hayati*, vol. 13, no. 2, hlm. 53 - 7.
23. Suganda, T, Rismawati, E, Yulia, E & Nasahi, C 2002, 'Pengujian bahan kimia dan air perasan daun tumbuhan dalam menginduksi resistensi tanaman padi terhadap penyakit bercak daun Cercospora', *J. Biol.*, vol. 4, hlm. 17 - 20.
24. Sulandari, S, Suseno, R, Hidayat, SH, Harjosudarmo, J & Sastromarsono 2011, 'Deteksi virus gemini di Daerah Istimewa Yogyakarta', *Prosiding KNSP-XVI. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia di Bogor*, hlm. 200 - 2.
25. Sun, SSM 1994, *Methods in plant molecular biology and agricultural biotechnology*, A Laboratory Training Manual', Asian Vegetable Research and Development Centre-Council of Agricultural, ROC., 94 pp.
26. Suzuki, Y, Astika, GN, Gede, GN, Widrawan, KR, Yasis, NR & Soeroto 1989, 'Field epidemiology of rice tungro disease and its management', Kongres Nasional X PFI, Denpasar, Nov. 1989, hlm. 57 - 9.
27. Tanhaken, R & Rubel, C 1997, 'Salicylic acid needed in hypersensitive cell death in soybean but does not act a catalase inhibitor', *Plant Physiol.*, vol. 115, pp. 291 - 89.
28. Taufik, M, Rahman, A, Wahab, A & Hidayat, SH 2010, 'Mekanisme ketahanan terinduksi oleh plant growth promoting rhizobakteria (PGPR) pada tanaman cabai terinfeksi cucumber mosaic virus (CMV)', *J. Hort.*, vol. 20, no. 3, hlm. 274 - 83.
29. Vardhana Harsha S. 2011, 'In vitro antibacterial activity of *Amaranthus spinosus* root extracts', *International Research J. Pharmacophore*, vol. 2, no. 5, pp. 266 - 70.
30. Verma, HN, Srivastava, S, Varsha & Kumar, D 1996, 'Induction of systemic resistance in plant against viruses by a basic protein from *Clerodendrum aculeatum* leaves', *J. Phytopathology*, vol. 86, pp. 485 - 92.
31. Vlot, AC, Dempsey, DA & Klessig, DF 2009, 'Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease', *J. Phytopathology*, vol. 47, hlm. 177 - 206.
32. Vogt, T 2010, 'Review article : Phenylpropanoid biosynthesis', *Molecular Plant*, vol. 3, no. 1, hlm. 2 - 20.
33. Wahyuni, WS 1999, 'Bagaimana respons tanaman tahan terhadap infeksi virus', *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*, Purwokerto, September 1999, hlm. 717 - 20.
34. Yalpani, N, Shulaev, V & Raskin, I 1993, 'Endogenous salicylic acid levels correlated with accumulation of pathogenesis-related protein and virus resistance in Tobacco', *Journal Phytopathology*, vol. 83, pp. 702 - 8.