

KARAKTERISTIK BIOLOGI DAN MOLEKULER SERTA PENGENDALIAN VIRUS PENYEBAB PENYAKIT KERDIL PADA LADA *Characteristics and Molecular Biology and Control of Viral Diseases of Dwarf Pepper*

MIFTAKHUROHMAH dan RODIAH BALFAS
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Research Institute for spices and Medical Crops.
Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111
E-mail: miftah_tia05@yahoo.co.id

Diterima: 10 Februari 2014; Direvisi: 1 April 2014, Disetujui: 7 April 2014

ABSTRAK

Piper yellow mottle virus (PYMoV) dan *Cucumber mosaik virus* (CMV) adalah penyebab penyakit kerdil yang merupakan satu penyakit utama pada lada. Perkembangan penelitian tentang penyakit ini dan pengendaliannya berlangsung lambat. Hasil penelitian terkini menyebutkan bahwa gejala penyakit akibat infeksi tunggal virus adalah berupa klorotik pada daun, sedangkan infeksi ganda menyebabkan gejala lebih parah sampai tanaman kerdil. PYMoV yang tergolong ke dalam genus *Badnavirus* memiliki genom DNA dengan panjang 7.662 nukleotida, sedangkan CMV (*Cucumovirus*) pada lada tergolong ke dalam subgrup I, dekat dengan CMV dari sirih dan *Indian long pepper*. Kedua virus ini menyebar sangat efektif melalui bahan tanaman yang diperbanyak secara vegetatif, serangga vektor atau secara mekanis. PYMoV memiliki kisaran inang yang sempit, sedangkan CMV kisaran inangnya luas. Kehadiran virus dapat dideteksi secara serologi di Indonesia dengan antiserum BSV. Secara molekuler deteksi dilakukan dengan PCR. Pengendalian virus yang disarankan adalah secara preventif, yaitu penggunaan bahan tanaman bebas/tahan virus, pengendalian serangga vektor dan sanitasi lingkungan. Perlu dukungan penelitian tentang potensi penularan kedua virus melalui biji dan vektor lain, jenis tanaman inang lain dari famili *Piperaceae*, mendapatkan protokol standar *multiplex* PCR, dan produksi bahan tanaman bebas dan tahan virus.

Kata kunci: PYMoV, CMV, penularan, deteksi, pengendalian

ABSTRACT

Piper yellow mottle virus (PYMoV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV) are the causal agents of dwarf disease, one of the major diseases on pepper. The development of research on the disease and its control is slow. The results of the current study states that the symptoms of diseases caused by a single infectious virus is a chlorotic on leaves, whereas double infection causes more severe symptoms until the dwarf plants. PYMoV belonging to the genus *Badnavirus* have genomic DNA with a length of 7,662 nucleotides, whereas CMV (*Cucumovirus*) on pepper belong to the subgroup I, close to CMV of betel and Indian long pepper. Both of these viruses spread very effectively through plant material which propagated vegetatively, insect vectors or mechanically. PYMoV has a narrow host range, whereas CMV has a wide host range. The presence of the virus can be detected serologically in Indonesia with antiserum BSV. Molecular detection performed by PCR. Management strategies to control virus are : using virus-free plant material, insect vector control and environmental sanitation. The research support which are required : the potential of virus transmission through seeds and other vectors, other host plants from *Piperaceae*, get a standard *multiplex* PCR protocol and production of virus-free and resistant plant material.

Keyword: PYMoV, CMV, transmission, detection, control

PENDAHULUAN

Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) merupakan tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi tinggi, baik sebagai penyumbang devisa negara maupun kegunaannya. Ekspor lada Indonesia pada tahun 2011 mencapai 72,974 ton, yang meningkat dari tahun 2009 dan 2010 (Anonim, 2012a). Namun demikian, posisi Indonesia sebagai eksportir telah tergeser oleh Vietnam yang disebabkan oleh rendahnya produktivitas dan mutu lada nasional. Beberapa permasalahan budidaya lada yang dihadapi adalah tingginya intensitas serangan hama dan penyakit, belum menggunakan benih unggul dan perawatan tanaman lada belum dilakukan secara intensif (Anonim, 2012b).

Salah satu penyakit penting pada pertanaman lada adalah penyakit kerdil yang disebabkan oleh *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) dan *Cucumber mosaic virus* (CMV). Kedua virus tersebut menyebabkan penyakit kerdil pada lada di Srilanka, Brazil, Thailand, India dan Malaysia (Sarma *et al.* 2001; de Silva *et al.* 2002; Eng, 2002; Duarte *et al.* 2002; Bhat *et al.* 2003; Oliveira *et al.* 2010). Sedangkan di Filipina dan Thailand virus yang ditemukan pada lada hanya PYMoV (Lockhart *et al.* 1997).

Di Indonesia, penyakit kerdil telah dilaporkan sejak tahun 1987, meskipun penyebabnya masih diduga oleh mikoplasma (Firdausil, 1992). Pada tahun 2000, keberadaan PYMoV telah dipastikan ada pada contoh tanaman lada yang terserang penyakit kerdil oleh Lockhart di University of Minnesota (USA) dan ditemukan virus dengan partikel berbentuk batang pendek yang diketahui sebagai PYMoV (Supriadi, komunikasi pribadi). Selain PYMoV, CMV juga ditemukan berasosiasi dengan penyakit kerdil lada (Hartati, *et al.*, 2005).

Kerugian hasil akibat penyakit kerdil bervariasi tergantung pada stadia tanaman; apabila menanam bibit lada yang sudah terinfeksi virus maka kerugiannya mencapai 100% karena pertumbuhan tanaman menjadi kerdil dan bunga mudah gugur, sedangkan tanaman yang terinfeksi pada stadia generatif perkiraan kehilangan hasil berkisar antara 5-10% (Eng, 2002). Di Indonesia, kerugian penyakit ini belum dikaji, namun

serangan di Lampung tahun 1987 intensitasnya mencapai 23,3% dari populasi yang diamati, dan meningkat menjadi 30-40% pada tahun 1990 (Firdausil, 1992). Data intensitas penyakit kerdil maupun kerugiannya di Indonesia belum dilaporkan lagi hingga saat ini.

Ulasan mengenai perkembangan penelitian penyakit kerdil pada lada tentang gejala, penularan, vektor, deteksi, strategi pengendalian telah dikupas oleh Supriadi dan Sukamto (2005) dan Balfas (2009a). Tulisan ini menguraikan perkembangan penelitian dan tindak lanjut yang diperlukan untuk menanggulangi penyakit kerdil pada lada.

KARAKTERISTIK VIRUS PENYEBAB PENYAKIT KERDIL

1. Gejala Penyakit Kerdil

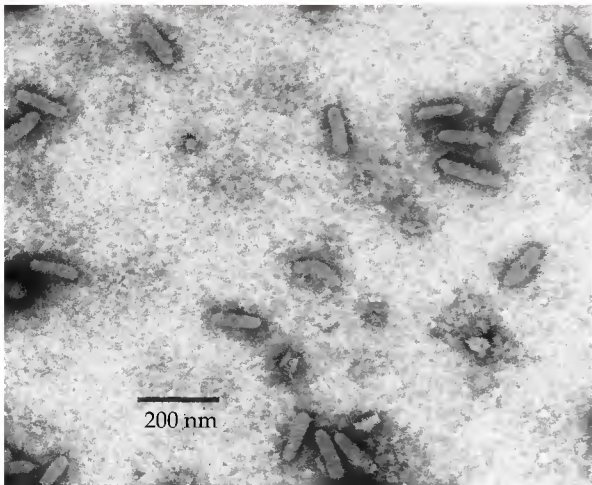
Virus pada umumnya menyebabkan gejala sistemik pada tanaman inang utama, yaitu menyebar ke seluruh bagian tanaman. Dengan demikian, tanaman yang sudah terinfeksi virus tidak dapat diselamatkan, dan sebaiknya tidak digunakan sebagai bahan tanaman karena akan menjadi sumber inokulum di lapang.

Infeksi tunggal PYMoV dan CMV menyebabkan gejala yang berbeda. Tanaman lada yang ditulari CMV melalui *Aphis*(?). *gossypii* (penyebutan pertama kali sebaiknya lengkap baru genusnya disingkat) memperlihatkan gejala yang tidak jelas, hanya berupa bercak klorotik samar, daun sedikit menebal. Gejala ini juga baru muncul beberapa bulan setelah penularan, yang merupakan gejala awal serangan CMV (Balfas, *et al.* 2007). Menurut Duarte *et al.*, (2002), infeksi tunggal CMV pada lada menyebabkan gejala bercak klorotik tidak beraturan pada daun. Sedangkan gejala pada tanaman yang ditulari dengan PYMoV memperlihatkan klorotik yang jelas pada daun muda, daun agak mengeras dan bergelombang (Balfas *et al.*, 2007). Menurut Eng (2002), infeksi tunggal PYMoV hanya menyebabkan sedikit kerdil dan ukuran daun tidak berkurang.

Infeksi ganda virus pada tanaman lada menyebabkan gejala lebih parah, yaitu daun bergejala klorotik, mosaik, belang, mengerut serta

mengecil. Gejala ini disertai dengan kekerdilan pada seluruh bagian tanaman, yang mengarah pada penurunan hasil (Eng, 2002; de Silva *et al.*, 2002).

Namun demikian, keberadaan virus tidak dapat dideteksi hanya berdasarkan gejala saja. Berdasarkan penelitian Bhadramurthy *et al.* (2008), sebagian tanaman lada yang terinfeksi PYMoV dan atau CMV tidak menunjukkan gejala (gejala laten). Hal ini berbahaya karena dapat menjadi sumber infeksi yang tidak diketahui, terutama bila dijadikan sebagai sumber benih. Bhat, *et al.* (2012) melaporkan bahwa virus yang terdeteksi pada tanaman tidak bergejala dapat ditularkan ke tanaman lain melalui vektor dan penyambungan, sehingga tanaman tersebut bergejala. Dengan demikian, diperlukan informasi tentang genom virus, untuk mengembangkan metode deteksi yang akurat tentang kesehatan tanaman.



Gambar 1. Partikel PYMoV pada daun lada bergejala, diamati dengan ISEM (Balfas *et al.* 2002)

2. Genom dan Partikel Virus

PYMoV tergolong ke dalam genus *Badnavirus* famili *Caulimoviridae*. Genom PYMoV adalah DNA utas ganda, dengan panjang 7.662 nukleotida, ditranslasikan menjadi empat Open Reading Frame (ORF) (Hany *et al.* 2014). Partikel PYMoV berbentuk batang dan tidak memiliki membran amplop, berukuran kira - kira 30 x 120 - 130 nm (Gambar 1) (Bhat *et al.* 2003; de Silva, *et al.*

2002). Bentuk partikel PYMoV ini menjadi informasi awal deteksi virus pada lada dengan teknik ISEM (*Immunosorbent electron microscope*), yang dilakukan di University Minnesota, USA (Balfas, *et al.* 2002).

CMV tergolong ke dalam genus *Cucumovirus*, famili *Bromoviridae* dengan bentuk partikel isometrik, memiliki genom 3 utas RNA positif sense, yang terbagi ke dalam dua kelompok berdasarkan serologi dan kesamaan nukleotidanya (subgrup I dan II). Partikel CMV dari sirih berdiameter 25 nm (Singh dan Rao, 1988; Hareesh *et al.*, 2006). Menurut Duarte *et al.* (2002), CMV yang ditemukan pada lada merupakan strain khusus (CMV-Pn) karena hanya menginfeksi lada, sebaliknya Hareesh *et al.* (2006) menyebutkan bahwa CMV yang ditemukan pada sirih dan *Indian long pepper* memiliki kekerabatan yang dekat dengan CMV dari lada. Sekuen nukleotida gen CP CMV dari lada berukuran 657 pb telah didaftarkan dalam GenBank oleh Bhat *et al.* (unpublish). Seperti halnya CMV dari sirih dan *Indian long pepper*, CMV dari lada tergolong ke dalam subgrup 1 (Hareesh *et al.*, 2006).

3. Penularan PYMoV dan CMV

Virus merupakan salah satu patogen yang bersifat parasit obligat dan tidak mampu aktif di luar sel hidup. Dengan demikian virus memerlukan media untuk penyebarannya.

Perbanyakan tanaman lada umumnya dilakukan secara vegetatif dengan menggunakan setek yang berasal dari sulur panjang, karena lebih praktis, efisien, dan bibit yang dihasilkan sama dengan induknya (Suparman *et al.*, 1992). Hal ini merupakan salah satu cara penularan utama virus melalui penggunaan bahan tanaman vegetatif (Eng, 2002; de Silva *et al.*, 2002; Duarte *et al.*, 2002).

Selain melalui bahan tanaman vegetatif, PYMoV ditemukan pada buah lada matang kering. Bibit lada yang berasal dari biji juga terdeteksi terinfeksi PYMoV dengan insiden berkisar antara 22 - 30% (Hareesh and Bhat 2010). Sedangkan penularan CMV melalui biji lada belum pernah dilaporkan. Namun, pada kopi dan bayam, CMV ditemukan pada biji, bibit yang berasal dari biji asal induk terinfeksi, dan bibit hasil persilangan induk yang terinfeksi (Abdullahi *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 1997). Penggunaan biji lada sebagai bahan tanaman

jarang digunakan karena relatif cepat berkurang daya tumbuhnya dan bibit yang dihasilkan cenderung memiliki sifat dan morfologi yang tidak seragam (Anonim, 1994). Namun demikian, ketika dilakukan perkawinan silang, bila salah satu tetua terinfeksi virus, akan dihasilkan tanaman yang terinfeksi virus karena polen atau ovarium kemungkinan juga terinfeksi (Haresh and Bhat 2010).

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa PYMoV tidak dapat ditularkan secara mekanis (de Silva, *et al.* 2002; Eng 2002), sedangkan CMV secara mudah ditularkan secara mekanis. Sebaliknya Bhat *et al.* (2003) mengungkapkan bahwa PYMoV bisa ditularkan secara mekanis namun cukup sulit dilakukan, karena harus memurnikan virus terlebih dahulu dari cairan perasan tanaman.

Di lapang, penularan virus sangat efisien melalui vektor. Pada pertanaman lada di Srilanka PYMoV ditularkan oleh *Planococcus citri* dan *Donocoris distanti*, di India *P. citri* dan *Ferrisia virgata*, di Brazil *F. virgata*, (de Silva, 2002; Bhat *et al.* 2003; Bhat *et al.* 2005b; Boari *et al.*, 2010). Sedangkan vektor CMV di Brazil adalah *A. spiricolae*, di Srilanka oleh *A. gossypii* (Duarte *et al.* 2002; de Silva, 2002). Sedangkan di Indonesia PYMoV ditularkan oleh dua spesies kutu putih, yaitu *P. minor* dan *F. virgata* dengan efisiensi mencapai 100%. CMV ditularkan oleh *A. gossypii* dengan kemampuan penularan yang rendah. Hasil ini diduga karena serangga berasal dari tanaman tapak dara, sehingga mungkin perlu diadaptasikan dulu pada tanaman lada (Balfas *et al.* 2007).

4. Tanaman Inang PYMoV dan CMV

Selain menginfeksi lada, PYMoV juga ditemukan menginfeksi tanaman famili Piperaceae lain, yaitu sirih (*P. bettle*) dan *Indian long pepper* (*P. longum*) (Siju *et al.* 2008). PYMoV pada sirih sebelumnya juga telah dilaporkan dari Thailand (Lockhart *et al.* 1997). Selanjutnya, PYMoV juga ditemukan menginfeksi *P. hapnium*, *P. colubrinum* dan *P. mullesua*. *P. colubrinum* digunakan untuk batang bawah pada pemuliaan tanaman dengan teknik penyambungan, karena bersifat tahan terhadap *Phytophthora* pada lada (Bhadramurthy, *et al.* 2005).

Infeksi PYMoV pada *P. colubrinum* dan *Piper* sp. di Indonesia telah dilaporkan oleh Hartati *et al.* (2005). Balfas (2009a) juga menemukan tanaman sirih bergejala sama dengan penyakit kerdil pada lada, namun belum dilakukan deteksi virusnya. Penyebaran PYMoV pada tanaman famili Piperaceae lain diduga disebabkan oleh penularan melalui vektor, karena vektor PYMoV memiliki kisaran inang yang luas.

CMV memiliki kisaran inang yang luas, menginfeksi 85 famili tanaman, dan lebih dari 1 000 spesies (Fauquet *et al.* 2005). Seperti halnya PYMoV, CMV juga ditemukan pada beberapa spesies Piperaceae lain, yaitu *P. longum*, *P. chaba*, *P. colubrinum* dan sirih (Bhat, *et al.* 2004a; Haresh dan Bhat, 2006). Di Indonesia, CMV juga telah dilaporkan menginfeksi tanaman nilam (Miftakhurohmah, *et al.*, 2013).

DETEKSI

Deteksi virus dapat dilakukan berdasarkan sifat biologis (kisaran inang, penularan, stabilitas virus *in vitro*) dan bagian partikel virus. Deteksi berdasarkan sifat biologis membutuhkan waktu dan tenaga yang banyak, sehingga umumnya yang digunakan adalah deteksi menggunakan bagian partikel virus, yang dapat dilakukan secara serologi dan molekuler.

1. Secara Serologi

Deteksi virus pada lada secara serologi telah banyak dilakukan pada penelitian-penelitian terdahulu menggunakan teknik ELISA dengan beberapa kombinasi. Dengan menggunakan antiserum komersial *Banana streak virus* (BSV) dan *Sugarcane bacilliform virus* (ScBV), beberapa sampel daun lada yang dideteksi menunjukkan reaksi positif (Bhat *et al.* 2003). Selanjutnya, antiserum spesifik PYMoV dan CMV berhasil diproduksi dan dapat digunakan untuk mendeteksi kedua virus tersebut pada lada dan beberapa spesies Piperaceae lain (Bhadramurthy, *et al.* 2005; Bhat *et al.*, 2004b).

Deteksi serologi PYMoV di Indonesia berhasil dilakukan menggunakan antiserum BSV, karena antiserum PYMoV belum tersedia secara komersial. Deteksi serologi juga memberikan informasi bahwa insiden CMV ditemukan

dominan pada pertanaman lada di Bangka, Lampung dan Sukamulya, sedangkan di Bogor dominan terinfeksi PYMoV (Hartati *et al.*, 2005).

2. Secara Molekuler

Deteksi molekuler PYMoV dengan PCR telah dilakukan sejak tahun 1999 oleh Eng *et al.* (2002) menggunakan 21-mer dan 17-mer primer yang dibuat mengacu pada salah satu sekuen *Badnavirus*. Teknik ini berhasil mendapatkan pita DNA berukuran 700 pasang basa (pb). Selanjutnya, dengan menggunakan beberapa pasang primer, hanya pasangan primer Badna-T dan SCBV R1 yang menghasilkan pita DNA berukuran 700 pb (de Silva, *et al.* 2002).

Hartati *et al.* (2005) berhasil mendeteksi PYMoV pada lada di Bangka, Lampung, Sukabumi dan Bogor dengan menggunakan primer Badna-T dan SCBV-R1 yang digunakan oleh de Silva *et al.* (2002), walaupun ukuran DNA yang didapatkan lebih pendek, yaitu 650 pb.

Teknik RT-PCR untuk mendeteksi CMV dari lada telah dilakukan oleh Siju *et al.* (2007). Salah satu kendala dalam ekstraksi RNA dari lada adalah kandungan fenol yang tinggi. Kendala ini dapat diatasi dengan menambahkan sodium sulfit pada bufer ekstraksi yang mampu meningkatkan sensitifitas deteksi virus.

Teknik PCR yang dikembangkan untuk mendeteksi beberapa target sekaligus (*Multiplex PCR*) yang prinsipnya menggunakan beberapa pasang primer yang berbeda dalam satu reaksi PCR. *Multiplex PCR* telah berhasil digunakan untuk deteksi beberapa virus dari satu sampel pada beberapa tanaman (Lee dan Chang 2006). Dengan menggunakan primer berukuran 650 pb untuk CMV dan 450 pb untuk PYMoV, berhasil mendeteksi kedua virus dengan *multiplex PCR* (Bhat dan Siju, 2007).

Publikasi Bhat *et al* 2013: Rapid detection of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum*) by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) bisa ditambahkan.

PENGENDALIAN

Penyebaran virus pada tanaman yang bersifat sistemik menyebabkan tanaman yang telah

terinfeksi virus tidak dapat diselamatkan. Oleh karena itu, pengendalian secara preventif dengan sanitasi lingkungan merupakan langkah penting dalam teknik pengendalian virus. Selain itu, media penular virus juga perlu diperhatikan untuk mencegah penyebarannya. Bahan tanaman yang terinfeksi virus dan vektor merupakan media penular virus utama, sehingga fokus utama tindakan pengendalian adalah penggunaan bahan tanaman bebas virus dan pengendalian vektor.

Sanitasi lingkungan bertujuan untuk memusnahkan sumber inokulum di lapang. Eradikasi tanaman yang terinfeksi, baik tanaman budidaya, maupun gulma merupakan salah satu teknik sanitasi lingkungan (Duarte *et al.* 2002; Eng, 2002; Bhat 2012), karena infeksi virus bersifat menyebar ke seluruh tanaman. Hal ini terbukti pada penelitian Bhadrarmurthy *et al.* (2008), yaitu PYMoV dan CMV ditemukan pada seluruh bagian tanaman yang dideteksi (daun muda, daun tua, batang, spike, akar). Selain itu, karena PYMoV dan CMV memiliki inang-inang lain, maka sangat dianjurkan untuk tidak menanam tanaman inang tersebut di sekitar areal penanaman lada.

Usaha untuk mengeliminasi virus pada bahan tanaman lada telah dilakukan dengan cara perlakuan perendaman air panas pada setek lada pada 3 kombinasi suhu (35, 40 dan 45 °C) dan 3 waktu lama perendaman (10, 20 dan 30 menit). Namun demikian, cara tersebut masih kurang efektif untuk mengeliminasi virus (Hartati *et al.*, 2007). Hasil yang sama juga didapatkan pada perlakuan perendaman air panas dengan suhu 50-60 °C dan waktu 10-30 menit, tetapi tidak dapat mengeliminasi *Potyvirus* pada setek nilam (Noveriza *et al.*, 2012). Perlakuan perendaman air panas pada bahan tanaman harus memperhatikan titik panas inaktivasi virus, yaitu temperatur yang dibutuhkan untuk menginaktivasi virus, dan titik batas pemanasan bagi tanaman yang dapat menghambat pertumbuhannya. Untuk virus-virus yang memiliki titik panas inaktivasi tinggi, perlakuan pemanasan pada bahan tanaman tidak efektif dilakukan.

Serangga vektor merupakan penular virus yang potensial di lapang. Beberapa teknik pengendalian vektor telah dilakukan. Berbeda dengan pengendalian hama tanaman, pengendalian serangga vektor menghendaki tingkat keber-

hasilan yang tinggi. Karena satu ekor serangga vektor telah dapat menularkan virus, maka penyemprotan dengan insektisida lebih dianjurkan. Beberapa insektisida kimia yang dapat digunakan adalah MIPC, BPMC, pyretroid, methamidophos, beta-cyfluthrin, omethoate, fenitotion, metil pirimifos, karbofenothion, permethrin, naled, kartap, hidroklorida, kuinalfos, endosulfan, fentoat, karbaryl dan fention (Trisawa dan Laba, 2005). Sedangkan insektisida nabati yang efektif adalah cengkeh, mimba, jarak kepyar, mimba dan kacang babi (Mustika, *et al.* 2004; Karmawati dan Balfas, 2008; Balfas 2008).

TINDAK LANJUT PENELITIAN

Gejala ditemukan beragam baik yang disebabkan oleh infeksi tunggal PYMoV atau CMV maupun oleh infeksi ganda kedua virus tersebut. Sampai saat ini, deskripsi gejala tersebut belum jelas, sehingga diperlukan kajian penelitian yang dapat dilakukan dengan pengamatan langsung di lapang maupun dengan penularan buatan di laboratorium baik secara mekanis maupun melalui serangga vektor.

Tanaman inang lain PYMoV dan CMV perlu diteliti dengan mendeteksi kedua virus tersebut pada tanaman famili Piperaceae lain yang umum dibudidayakan, misalnya cabe jawa (*Piper retrofractum*) dan beberapa spesies sirih. Penelitian sebelumnya telah menemukan PYMoV pada *Indian long pepper* dan sirih (Siju *et al.*, 2008 dan Lockhart *et al.*, 1997). Pengetahuan tentang tanaman inang lain kedua virus tersebut berfungsi untuk menghilangkan sumber inokulum di lapang. Penanaman paprika dan kentang yang bukan menjadi inang lain *Tomato mottle virus* (TmoV) di sekitar penanaman tomat menyebabkan terjadinya penurunan insiden virus tersebut pada tanaman tomat (Polston, *et al.*, 1993).

Serangga vektor selain kutu putih dan Aphid, terdapat beberapa serangga pengisap lain yang ditemukan pada pertanaman lada, diantaranya *Dasyneus hewetti* (pengisap bunga), *D. piperis* (pengisap buah), *P. jackbearsleyi* dan *Toxoptera aurantii* (Laba *et al.*, 2005; Balfas *et al.*, 2009a). Serangan *D. hewetti* menyebabkan bunga lada tidak berkembang menjadi buah (Soetopo *et al.*,

1988), sedangkan *D. piperis* menyebabkan buah gugur (Trisawa dan Laba, 2005). Selain peranannya sebagai hama, perlu dikaji juga potensinya dalam menularkan virus penyebab penyakit kerdil.

Penularan PYMoV dan CMV melalui biji lada belum pernah dilaporkan di Indonesia, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Adanya potensi penyebaran virus melalui biji lada yang berasal dari tanaman lada yang telah terinfeksi virus, maka penggunaan biji lada dalam rangka memperkaya keragaman genetik melalui persilangan secara konvensional perlu dipertimbangkan.

Penemuan teknik deteksi *multiplex* PCR memberikan harapan baru untuk kegiatan mendeteksi sekaligus kedua virus pada lada. Namun demikian, kegiatan *multiplex* PCR memerlukan serangkaian optimasi baik bahan PCR maupun programnya karena penggunaan beberapa primer bisa menyebabkan DNA non target teramplifikasi lebih efisien dibandingkan DNA target (Henegariu *et al.* 1997; Elnifro *et al.* 2000). Sebelumnya *multiplex* RT-PCR telah berhasil dilakukan untuk mendeteksi secara langsung *Potyvirus*, *Broad bean wilt virus 2* dan *Cymbidium mosaic virus* pada nilam (Miftakhurohmah, komunikasi pribadi). Apabila teknik ini dapat dilakukan untuk mendeteksi kedua virus penyebab penyakit kerdil lada sekaligus, akan menghemat waktu dan penggunaan bahan-bahan kimia. (Bagaimana dengan penemuan Bhat, 2013 di *Journal Virological Methods* yang melaporkan: "The assay successfully detected both viruses in infected plants". Apakah mungkin dicoba di lab anda?.

Selanjutnya, kegiatan penelitian yang paling penting untuk dilakukan adalah produksi bahan tanaman lada bebas virus. Selama ini bahan tanaman lada yang digunakan diperbanyak secara vegetatif dengan setek. Dengan teknik ini, bila tanaman induk yang digunakan terinfeksi virus, seluruh bahan tanaman yang diperoleh akan terinfeksi virus. Pada lada, belum ada penelitian produksi tanaman bebas virus melalui kultur jaringan. Bhat (2012) hanya menyarankan bila mendapatkan tanaman bebas virus di lapang, maka tanaman harus dipelihara dalam rumah kaca bebas vektor, bebas sumber infeksi, kemudian diperbanyak. Hal ini sulit dilakukan di Indonesia

karena sebagian besar tanaman lada yang ada telah terinfeksi virus. Demikian juga varietas lada yang telah dilepas tidak ada yang tahan terhadap virus lada (Hartati *et al.*, 2005). Oleh karena itu, perlu pendekatan lain untuk mendapatkan bahan tanaman bebas virus.

Peluang untuk mendapatkan tanaman lada bebas virus dapat dilakukan melalui kultur jaringan yang dikombinasikan dengan beberapa perlakuan, yang telah berhasil dilakukan pada tanaman lain. Perlakuan pemanasan pada kultur meristem bawang putih berhasil mengeliminasi *Onion yellow dwarf virus* 90-100% (Robert *et al.* 1998). Kombinasi perlakuan panas dan kimia pada media perakaran *Begonia spp.* dari petiol menghasilkan tanaman bebas *Prunus necrotic ringspot virus* sebesar 57.5% ketika dideteksi dengan RT-PCR (Verma *et al.*, 2005).

Di Indonesia, perbanyak tunas lada melalui kultur jaringan berhasil mendapatkan tunas lada *in vitro* dari eksplan batang, daun dan biji dengan tingkat multiplikasi yang bagus dan perakaran yang bagus (Yelnititis *et al.* 1999; Husni dan Kosmiatin 2005), namun sayangnya belum dilanjutkan ke aklimatisasi. Sebaliknya, teknik kultur jaringan lada yang dilakukan oleh Hussain *et al.* (2011) dan Ahmad *et al.* (2013) berhasil mendapatkan lada kultur jaringan dengan produksi piperin yang tinggi serta tanaman lada dengan pertumbuhan yang bagus pada kondisi lokal.

Selain produksi tanaman bebas virus, juga perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan varietas resisten terhadap serangan virus lada dan serangga vektor. Cara ini merupakan cara yang paling efektif dan mudah untuk diterapkan, hanya saja memerlukan waktu yang cukup lama. Sampai saat ini belum diperoleh bahan tanaman lada yang toleran terhadap virus penyebab penyakit kerdil maupun vektornya. Sebagai langkah awal perlu dilakukan skrining ketahanan varietas-varietas hibrida lada yang telah dimiliki oleh Balitro melalui penularan virus ke tanaman tersebut dengan serangga vektor atau secara mekanis. Selain itu, skrining ketahanan juga dapat dilakukan dengan pengamatan kejadian penyakit di lapang berdasarkan gejala.

KESIMPULAN

Karakteristik biologi dan molekuler PYMoV dan CMV pada lada yang telah dilaporkan yaitu : (1) Genom lengkap PYMoV dan gen CP CMV (2) PYMoV dan CMV dapat ditularkan melalui vektor dan secara mekanis. Selain itu, PYMoV juga terbukti menular melalui biji, (3) PYMoV ditemukan pada beberapa spesies Piperaceae, yaitu sirih (*P. bettle*), *long pepper* (*P. longum*), *P. hapnium* dan *P. mullesua*, sedangkan CMV telah diketahui memiliki kisaran inang yang luas.

Deteksi virus dapat dilakukan secara serologi dan molekuler. Deteksi secara serologi PYMoV di Indonesia telah dilakukan dengan menggunakan antiserum BSV, sedangkan CMV menggunakan antiserum spesifik CMV. Secara molekuler, telah ditemukan deteksi *multiplex* PCR untuk mendeteksi secara langsung kedua virus tersebut dalam 1 sampel.

Beberapa penelitian yang perlu dilanjutkan adalah potensi penularan PYMoV melalui biji, penularan melalui vektor lain, deteksi PYMoV pada tanaman *Piperaceae* lain. Dengan informasi-informasi tersebut, maka diharapkan akan didapatkan strategi pengendalian virus yang tepat.

Strategi pengendalian utama yang dilakukan adalah : (1) penggunaan bahan tanaman bebas virus, (2) pengendalian vektor, (3) sanitasi lingkungan. Peluang untuk mendapatkan tanaman bebas virus dapat dilakukan melalui kultur jaringan yang dikombinasikan dengan perlakuan lain. Selain itu, skrining ketahanan varietas-varietas lada juga perlu dilakukan untuk mendapatkan tanaman tahan di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullahi, I., T. Ikotun, S. Winter, G. Thottappilly, G.I. Atiri. 2001. Investigation on seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in Cowpea. African Crop Science Journal. 9 (4) : 677 - 684.
- Ahmad, N., B.H. Abbasi, H. Fazal, M.A. Khan. M.S. Afridi. 2013. Effect of reverse photoperiod on *in vitro* regeneration and piperine production in *Piper nigrum* L. C.R. Biologies. 337 : 19 -28.

- Anonim. 1994. Perbanyak Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.). Balai Informasi Pertanian Irian Jaya. 4 hlm.
- Anonim. 2012a. Buku Saku : Statistik Makro, Sektor Pertanian. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Kementerian Pertanian. 4 (2). 54 hlm.
- Anonim. 2012b. Peningkatan produksi, produktivitas dan mutu tanaman rempah dan penyegar : Pedoman teknis rehabilitasi dan perluasan tanaman lada tahun 2012. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian. 45 hlm.
- Balfas, R., Supriadi, T.L. Mardiningsih, E. Sugandi. 2002. Penyebab dan serangga vektor penyakit keriting pada tanaman lada. *Jurnal Litri*. 8 (1) : 7 - 11.
- Balfas, R., I. Lakani, Samsudin, Sukamto. 2007. Penularan penyakit kerdil pada tanaman lada oleh tiga jenis serangga vektor. *Jurnal Litri*. 13(4) : 136 - 141.
- Balfas, R. 2008. Potensi minyak daun cengkeh sebagai pengendali *Planococcus minor* (Mask.) ((Pseudococcidae; Homoptera) pada tanaman lada. *Bul. Litro*. 19 (1) : 78 - 85.
- Balfas, R. 2009a. Status penelitian serangga vektor penyakit kerdil pada tanaman lada. *Perspektif*. 8 (1) : 42 - 51.
- Balfas, R. 2009b. Tanaman inang serangga vektor penyakit kerdil. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan*. 15 (1) : 29 - 31.
- Bhadramurthy, V., S. Rethesh, A.I. Bhat, R. Madhubala, P.S. Hareesh, R.P. Pant. 2005. Development of ELISA-based technique for detection of a putative *Badnavirus* infecting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Indian Phytopath.* 58 (3) : 314 - 318.
- Bhadramurthy, V., A.I. Bhat, J. George, C.K. Thankamani, P.A. Mathew. 2008. Variation in the concentration and indexing black pepper plants for PYMV and CMV through DAS-ELISA. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 17(2) : 197-201.
- Bhat, A.I., S. Devasahayam, Y.R. Sarma, R.P. Pant. 2003. Association of a *Badnavirus* in black pepper (*Piper nigrum* L.) transmitted by mealybug (*Ferrisia virgata*) in India. *Current Science*. 84 (12) : 1547 - 1550.
- Bhat, A.I., Y.R. Sarma, P. Sreenivasulu, R.P. Pant. 2004a. Occurrence and identification of a *Cucumber mosaic virus* isolate infecting Indian long pepper (*Piper longum*). *Jornal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*. 26 : 279 - 284.
- Bhat, A.I., T.H. Faisal, R. Mandhubala, P.S. Haresesh, R.P. Pant. 2004b. Purification, production of antiserum and development of enzyme linked immunosorbent assay-based diagnosis for *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 13 (1) : 16 - 21.
- Bhat, A.I., S. Devasahayam, M.N. Venugopal, R.S. Bhai. 2005a. Distribution and incidence of viral disease of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Karnataka and Kerala, India. *Journal of Plantation Crops*. 33 (1) : 59 - 64.
- Bhat, A.I., S. Devasahayam, P.S. hareesh, N. Preethi, T. Tresa. 2005b. *Planococcus citri* (Risso)-an additional mealybug vector of *Badnavirus* infecting black pepper (*Piper nigrum* L.) in India. *Short Communication : Entomon*. 50 (1). 85 - 90.
- Bhat, A.I. and S. Siju. 2007. Development of single-tube multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of *Cucumber mosaic virus* and *Piper yellow mottle virus* associated with stunt disease of black pepper. *Current Science*. 93 (7) : 973 - 976.
- Bhat, A.I., A. Siljo, M.V. Jiby, C.K. Thankamani, P.A. Mathew. 2009. Polymerase chain reaction (PCR) based indexing of black pepper (*Piper nigrum* L.) plants against *Piper yellow mottle virus*. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 18 (1) : 28 - 32.
- Bhat, A.I., A. Siljo, S. Devasahayam. 2012. Occurrence of symptomless source of *Piper yellow mottle virus* in black pepper (*Piper nigrum* L.) varieties and a wild *Piper* species. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 45 (9) : 1000 - 1009.
- Bhat, I., H. Sankaran., R. Madhubala. Coat protein gene sequence based characterization of *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum* L.) in India. *Unpublish*.
- Boari, A.J., A.C.S. Oliveira, E. Prado, K.F.C Pantoja, C.M. Sousa. 2010. *Ferrisia virgata*

- (Cockerell) : vector of *Piper yellow mottle virus* on black pepper. *Hortic bras.* 28 (2) (Suplemento-CDRom) : 958-962.
- Duarte, M.L.R., P.C. Filho, M.S.F. Dantas. 2002. Pest and Diseases of Black Pepper in Brazil. *International Pepper News Bulletin. The Journal for the Pepper Industry.* July-December 2002. 24-34.
- Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. 2000. Multiplex PCR : optimization and application in diagnostic virology. *Clin Microbiol Review* 13 (4) : 559-570.
- Eng, L., J. Jadol, C-A. Ong, P. Jones. 1999. The Application of Molecular Techniques in The Diagnosis of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Viruse in Sarawak. 5th International Conference on Plant Protection in the Tropics. Kuala Lumpur, 15-18 March 1999. p35-38.
- Eng, L. 2002. Viral disease and root-knot nematode problems of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Sarawak, Malaysia. *International Pepper News Bulletin. The Journal for the Pepper Industry.* July-December 2002. p39-45.
- Firdausil, A.B. 1992. Stunted disease of black pepper. *Proceedings of International Workshop on Black Pepper Diseases.* Research Institute for Spice and Medicinal crops. Bogor. 220-225.
- Hany, U., I.P. Adams, R. Glover, A.I. Bhat, N. Boonham. 2014. The complete genome sequence of *Piper yellow mottle virus* (PYMoV). *Arch Virol.* 159(2) : 385-388.
- Haresh, P.S., R. Madhubala, A.I. Bhat. 2006. Characterization of *Cucumber mosaic virus* infecting Indian long pepper (*Piper longum* L.) and betel vine (*Piper betle* L.) in India. *Indian Journal of Biotechnology.* 5 : 89-93.
- Haresh, P.S. dan A.I. Bhat. 2010. Seed transmission of *Piper yellow mottle virus* in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Plantation Crops.* 38 (1) : 62-65.
- Hartati, S.Y., R. Balfas, R. Noveriza, G. Suastika, I. Lakani. 2005. Identification of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* from *Piper* spp. *Proceeding of the 1st International Conference on Crop Security 2005 (ICCs 2005).* Malang, September 20th - 22nd, 2005. 314-319.
- Hartati, S.Y., R. Noveriza, R. Balfas. 2007. Perlakuan Perendaman Air Panas untuk Eliminasi Virus Penyebab Penyakit Kerdil pada Setek Lada. *Prosiding Seminar Nasional Rempah.* Bogor, 21 Agustus 2007 : 162-167.
- Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. 1997. Multiplex PCR : critical parameters and step-by-step protocol. *BioTechniques* 23 (3) : 504-511.
- Hussain, A., S. Naz, H. Nazir, Z.K. Shinwari. 2011. Tissue culture of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Pakistan. *Pak. J. Bot.* 43(2) : 1069-1078.
- Husni A. dan M. Kosmiatin. 2005. Seleksi *in vitro* tanaman lada untuk ketahanan terhadap penyakit busuk pangkal batang. *Jurnal AgriBiogen.* 1(1) : 13-19.
- Karmawati, E. dan R. Balfas. 2008. Pengendalian kutu daun dengan beberapa pestisida nabati dan *Beauveria bassiana*. *Prosiding Lokakarya Nasional III Inovasi Teknologi Jarak Pagar Untuk Mendukung Program Desa Mandiri Energi.* Malang, 5 November 2007. 75-78.
- Laba, I.W., A. Rauf, U. Kartosuwondo, M. Soehardjan. 2005. Hubungan antara kerapatan populasi kepik renda, *Diconocoris hewetti* (Dist) (Hemiptera : Tingidae) dan kehilangan hasil pada tanaman lada. *Jurnal Littri.* 11 (1) : 1-6.
- Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT-PCR detection of two orchid viruses with an internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull* 15 : 187-196.
- Lockhart, B.E.L., K. Kirativa-Angul, P. Jones, L. Eng, P. de Silva, N.E. Olszewski, N. Lockhart, N. Deema, J. Sangalang. 1997. Abstrak : Identification of *Piper yellow mottle virus*, a mealybug-transmitted *Badnavirus* infecting *Piper* spp. in Southeast Asia. *European Journal of Plant Pathology.* 103(4) : 303-311.
- Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT-PCR detection of two orchid viruses with an internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull* 15 : 187-196.
- Miftakhurohmah, G. Suastika, T. Asmira. 2013. Deteksi secara serologi dan molekuler beberapa jenis virus yang berasosiasi

dengan penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Jurnal Littri. 19 (3): 130-138.

- Mustika, I., R. Harni, R. Balfas. 2004. Status penyakit kerdil pada tanaman lada (*Piper nigrum* L.) dan strategi pengendaliannya. Prosiding Simposium Rempah Indonesia II. Jakarta, 8 Oktober 2004. 252-258.
- Noveriza R, Suastika G, Hidayat SH, Kartosuwondo U. 2012c. Eliminasi *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan kultur meristem apikal dan perlakuan panas. Jurnal Littri. 18(1):107-114.
- Oliveira, A.C.S., A.J. Boari, C.M. de Sousa, K.F.C. Pantoja, C.A. Souza. 2010. Detection of *Piper yellow mottle virus* on black pepper (*Piper nigrum*) in the States of Minas Gerais, Espirito Santo and Amazonas, Brazil. Abstrak : Horticultura Brasileira 28 : S952 - S956.
- Polston, J.E., E. Hiebert, R.J. McGovern, P.A. Stansly, D.J. Schuster. 1993. Host range of *Tomato mottle virus*, a new geminivirus infecting tomato in Florida. Plant Dis. 77 : 1181-1184.
- Robert, U., Z. Jana, M. Ravnkar. 1998. Thermotherapy in virus elimination from garlic : influences on shoot multiplication from meristem and bulb formation in vitro. Scientia Horticulturae. 73: 193-202.
- Sarma, Y.R., G. Kiranmai, P. Sreenivasulu, M. Anandaraj, M. Herma, M. Venkatramana, A.K. Murthy, D.V.R. Reddy. 2001. Partial characterization and identification of a virus associated with stunt disease of black pepper (*Piper nigrum*) in South India. Current Science. 80 (3): 459-462.
- Siju, S., R. Mandhubala, A.I. Bhat. 2007. Sodium sulphite enhances RNA isolation and sensitivity of *Cucumber mosaic virus* detection by RT-PCR in black pepper. Abstrak : Journal of Virological Methods. 141 (1):107-110
- Siju, S., A.I. Bhat, P.S. Hareesh. 2008. Identification and characterization of *Badnavirus* infecting betel vine and Indian long pepper. Short communication : J. Plant Biochemistry & Biotechnology. 17(1):1-4.
- de Silva, D.P.P., P. Jones, M.W. Shaw. 2002. Identification and transmission of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka. Plant Pathology. 51 : 537-545.
- Singh, S.J. dan R. Rao. 1988. *Betel vine mosaic* - A new virus disease. Curr. Sci. 57 : 1024-1025.
- Soetopo, D, Siswanto, Z. Asnawi. 1988. Kemampuan merusak hama bunga lada *Dinocoris hewetti* Dist. Bull. Litro. III (2) : 68-71.
- Suparman, U., A. Sopandi, A. Burhan. 1992. Beberapa keuntungan penggunaan bibit lada asal setek satu ruas. Bul. Litro. VII (1): 05-09.
- Supriadi dan Sukamto. 2005. Perkembangan penelitian penyakit kerdil pada tanaman lada. Perkembangan teknologi tanaman rempah dan obat. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 17 (2) : 52-57.
- Trisawa, I.M. dan I.W. Loba. 2005. Hama utama tanaman lada dan pengendaliannya. Perkembangan teknologi tanaman rempah dan obat. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 17 (2) : 115-120.
- Verma, N., R. Ram, A.A. Zaidi. 2005. In vitro production of *Prunus necrotic ringspot virus*-free begonias through chemo- and thermotherapy. Scientia Horticulturae. 103 : 239-247.
- Yang, Y., K.S. Kim, E.J. Anderson. 1997. Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in Spinach. Phytopathology. 87 (9): 924-931.
- Yelnitis, N. Bermawie, Syafaruddin. 1999. Perbanyak klon lada varietas Panniyur secara *in vitro*. Jurnal Littri. 5 (3) : 109-114.