

**SEBARAN DAN RESPON KETAHANAN LIMA KULTIVAR BENGKUANG
(*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) TERHADAP PENYAKIT MOSAIK**

Tri Asmira Damayanti

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jl. Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
triadys@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of this experiment was to investigate the yam bean mosaic disease spread in the fields (Bogor, Jawa Barat dan Prembun, Jawa Tengah) and to study the response of five yam bean cultivars against a mosaic disease. The cultivars were Wulung, Porselen, Kapas, Hideung and Paris. Plants were inoculated by viruliferous *Aphis craccivora* at 14 days after seedling. The incubation period, viral accumulation, disease incidence and severity were observed. The results showed that the mosaic disease distributes in all surveyed yam bean fields in Bogor and Prembun with incidence ranged from 14.2-100%. RT-PCR detection of the virus by using a pair of universal primer for *Potyvirus* was positively amplified a 1.7 kb DNA fragment, suggested the identity of the virus as a member of *Potyvirus*. Based on incubation periods, severity, and viral accumulation showed that cultivar from central Java is tolerant, while others are susceptible against the mosaic disease.

Keyword : Yam bean, Mosaic disease, *Potyvirus*, Resistance

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sebaran penyakit mosaic bengkuang di lapang (Bogor, Jawa Barat dan Prembun, Jawa Tengah) dan mempelajari respon lima kultivar bengkuang terhadap penyakit mosaik. Kultivar yang digunakan Wulung, Porselen, Kapas, Hideung dan Paris. Tanaman diinokulasi vector *Aphis craccivora* yang mengandung virus pada umur 14 hari setelah tanam. Parameter yang diamati adalah waktu inkubasi, akumulasi virus, kejadian dan

keparahan penyakit. Hasil survei menunjukkan bahwa penyakit mosaic ditemukan di semua lokasi dengan intensitas 14.2-100%. Deteksi RT-PCR dengan primer universal untuk *Potyvirus* menunjukkan DNA fragment berukuran 1.7 kb yang mendukung identitas virus sebagai salah satu anggota *Potyvirus*. Berdasarkan pengamatan waktu inkubasi, keparahan penyakit dan akumulasi virus menunjukkan bahwa kultivar Wulung asal Jawa Tengah toleran, sedangkan kultivar lain rentan terhadap penyakit mosaik

Kata kunci : Bengkuang, Penyakit mosaik, *Potyvirus*, Ketahanan

PENDAHULUAN

Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) (Fabaceae) adalah salah satu tanaman kacang-kacangan yang dikenal luas di Indonesia. Umumnya bengkuang dimanfaatkan dalam sebagai bahan baku dalam industri kosmetik, bahan rujak, dan makanan olahan seperti manisan baik manisan basah ataupun kering (Hasbullah, 2001). Selain itu biji dan daun bengkuang dapat dimanfaatkan sebagai pestisida botani. Daun-daun bengkuang bermanfaat untuk menyuburkan tanah, dan tanaman ini memiliki kemampuan bersimbiosis yang efisien dengan bakteri yang memfiksasi nitrogen *Rhizobium* dan *Bradyrhizobium*, sehingga menyediakan nitrogen yang cukup di tanah. Sehingga tanaman ini tidak memerlukan tambahan pupuk (Sorenson, 1996). Di Indonesia bengkuang banyak diproduksi oleh beberapa daerah seperti di Jawa Barat, Prembun (Jawa Tengah) dan Sumatera Barat.

Penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus ditemukan menginfeksi tanaman bengkuang di beberapa pertanaman bengkuang di Bogor dan sekitarnya. Tanaman yang terinfeksi virus menunjukkan gejala mosaik, *green vein-banding* dan malformasi daun (Gambar 1). Berdasarkan gejala phenotif diduga penyakit mosaik ini disebabkan oleh virus dari genus *Potyvirus*. Hal ini diperkuat dengan hasil uji serologi dengan ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) positif terdeteksi dengan antiserum *Potyvirus*. Virus ini dapat ditularkan secara mekanis dan efisien ditularkan oleh 3 spesies kutu daun serta terbawa benih (Nurlaelah, 2006; Damayanti *et al.*, 2008). Selain itu virus mosaik memiliki kisaran inang yang terbatas pada kacang-kacangan (Desmiarti, 2006; Damayanti *et al.*, 2007).

Sampai saat ini belum tersedia informasi dasar berkaitan dengan sebaran dan respon kultivar-kultivar bengkuang yang ditanam petani terhadap infeksi virus. Penelitian ini mengetahui sebaran dan mengkaji tingkat ketahanan lima kultivar bengkuang terhadap infeksi virus mosaik bengkuang (VMB).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah tanaman bengkuang sakit, benih bengkuang (penamaan benih berdasarkan nama yang diberikan petani setempat yaitu Wulung, Porselen, Paris, Hideung, Kapas), tanah dan pupuk kandang steril, *Aphis craccivora* Koch, carborundum 600 mesh, dan ELISA (*Enzyme linked-immunosorbent assay*) kit.

Survei lapang. Survei dilakukan untuk mengetahui sebaran dan incidence penyakit di lapang. Adapun di daerah Darmaga Bogor empat lokasi (Babakan Raya, Cibeureum, Cifor, Situgede) dan di Prembun Jawa Tengah di pertanaman bengkuang di tiga desa (Kedung Bulus, Mulyo Sri, Sembir Kadipaten). Kejadian penyakit dihitung berdasarkan pengamatan visual gejala pada seluruh tanaman di tiap lokasi.

Ekstraksi Asam Nukleat. Total RNA diekstraksi dari tanaman sakit dengan menggunakan RNAasy kit sesuai dengan manual yang direkomendasikan pembuatnya (Qiagen Sciences, Germantown, MD, USA).

Konstruksi cDNA. Transkripsi balik (*Reverse transcription*) dengan menggunakan primer M4T(5'-GTTTTCCCAGTCACGACTTTTTTTTTTTTTTTT T-3') 10 pmol, 2 ul total RNA, 10mM dNTP 1 ul, 20U RNase inhibitor (NEB), 40U M-MULV (NEB) didalam total reaksi 20 ul, pada suhu 42°C selama 1 jam.

Deteksi Asam Nukleat. cDNA virus dideteksi dengan *Polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan pasangan primer M4 (5'-GTTTTCCCAGTCACGAC-3') dan Sprimer (5'-GGNAAYAAAYAGYGGNCARCC-3'; N= A, C, G atau T; Y = C atau T; R = A atau G). Sprimer yang didesain mendeteksi *conserved region* sekuen asam amino GNNSGQP pada gen NIB dalam famili *Potyviridae* (Chen *et al.* 2001). Program PCR yang digunakan adalah 30 siklus pada suhu 94°C selama 30 detik, 47°C selama 1 menit, 72°C selama 2 menit dan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit.

Visualisasi DNA. DNA hasil PCR diseparasi pada 1% gel agarose dalam bufer TBE (Tris-Boric EDTA) yang mengandung ethidium bromide. Elektroforesis dilakukan pada voltase 90 Volt selama 35 menit. Penanda DNA yang digunakan adalah λ HindIII.

Uji Tingkat Ketahanan Kultivar Terhadap Infeksi Virus. Untuk mengetahui respon beberapa kultivar bengkuang terhadap infeksi virus, digunakan 25 tanaman tiap kultivar yang ditanam dalam polibag berisi campuran dan pupuk kandang steril dengan perbandingan 1:1. Adapun kultivar yang digunakan adalah kultivar yang banyak ditanam petani di Jawa Barat yaitu Porselen, Kapas, Hideung, Paris dan Wulung, dari Jawa Tengah. Inokulum VMB yang digunakan adalah asal Bogor.

A. craccivora diidentifikasi menggunakan manual identifikasi Blackman & Eastop (2000). Kutudaun dibebas viruskan dan diperbanyak pada tanaman talas. Sebelum digunakan, *A. craccivora* dipuaskan, kemudian diberi makan akuisisi selama 1 jam. Tanaman berumur 14 hari, diinokulasi virus dengan menggunakan *A. craccivora* sebanyak 5 ekor per tanaman uji dan dibiarkan makan inokulasi selama 1 jam. Kemudian kutu daun dimatikan. Pengamatan terhadap munculnya gejala dilakukan sampai 4 minggu setelah inokulasi.

Parameter yang diamati adalah waktu inkubasi, kejadian dan keparahan penyakit, dan kandungan virus dengan I-ELISA (*indirect ELISA*) menggunakan antiserum *general Potyvirus* dengan metode sesuai dengan rekomendasi pembuatnya (DSMZ, Jerman).

Keparahan penyakit mosaik diukur menggunakan skala 0; tanaman tidak menunjukkan gejala virus, 1; gejala mosaik ringan, 2; gejala mosaik berat tanpa malformasi daun, 3; gejala mosaik berat disertai malformasi daun dan

4; gejala mosaik berat, malformasi daun dan kekerdilan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil survei di beberapa lokasi pertanaman bengkoang di Darmaga Bogor dan Prembun, menunjukkan bahwa gejala mosaik ditemukan di semua lokasi pengamatan. Kejadian penyakit ditemukan bervariasi dan dapat mencapai 100% (Tabel 1).

Tabel 1. Kejadian Penyakit Mosaik Pada Pertanaman Bengkoang di Bogor (Jawa Barat) dan Prembun (Jawa Tengah)

Lokasi	Umur Tanaman (MST)	Σ Tanaman bergejala (n)	Σ Tanaman yang diamati (N)	KP (%)
<u>Darmaga, Bogor</u>				
Babakan Raya	4	301	2126	14.20
Cibeureum -1*	16	56	60	93.30
Cibeureum -2	12	6627	8138	81.40
Cifor	8	1344	5051	26.60
Situ Gede	20	4610	4610	100.00
<u>Prembun, Jawa Tengah</u>				
Ds. Kedung Bulus 1	16	2500	2500	100.00
Ds. Kedung Bulus 2	8	1440	7200	20.00
Ds. Kedung Bulus 3	12	788	2250	35.00
Ds. Mulyo Sri	10	6000	6000	100.00
Ds. Sembir Kadipaten	14	2304	3840	60.00

* Pertanaman untuk diambil benihnya, KP = kejadian penyakit ($n/N \times 100\%$)

Selain itu terlihat bahwa kejadian penyakit lebih tinggi pada tanaman yang berumur lebih tua dibandingkan tanaman muda; ekspresi gejala fenotif lebih jelas terlihat pada tanaman yang berumur lebih tua, dibandingkan tanaman muda. Pada beberapa lokasi ditemukan bengkoang yang bergejala mosaik dipelihara untuk diambil benihnya.

Gejala fenotif yang ditunjukkan oleh tanaman sakit asal Bogor dan Prembun tidak menunjukkan perbedaan yang mencolok; daun menunjukkan gejala khas infeksi *Potyvirus* berupa mosaik, *green-vein banding* dan malformasi daun (Gambar 1).

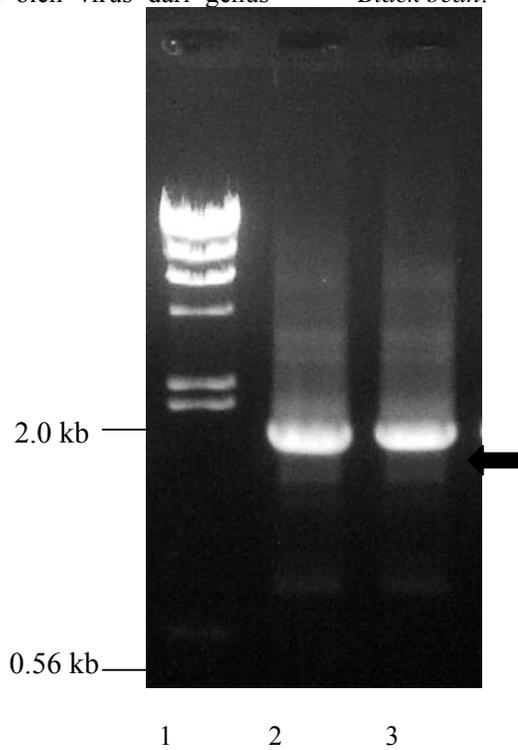


Foto : Kikin HM

Gambar 1. Gejala infeksi virus mosaik pada bengkoang di lapang

Deteksi total RNA asal Bogor dan Prembun dengan RT-PCR menggunakan pasangan primer universal untuk virus dari genus *Potyvirus* positif teramplifikasi fragmen DNA berukuran 1.7 kilobasa (kb) (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa VMB disebabkan oleh virus dari genus

Potyvirus. Damayanti *et al* (2008) telah melaporkan bahwa VMB disebabkan oleh *Bean common mosaic Potyvirus* isolate Iybn yang memiliki homologi yang tinggi dengan BCMV isolat VN/BB2-5 asal Vietnam yang menginfeksi *Black bean*.



Gambar 2. Elektroforesis DNA VMB hasil RT-PCR asal Bogor (2) dan Jawa Tengah (3) berukuran 1.7 kb (panah). (1) penanda DNA λ HindIII.

Hasil pengujian respon ketahanan kultivar bengkoang terhadap infeksi VMB menunjukkan kisaran masa inkubasi 12.1-13.9 tergantung kultivar uji (Tabel 2). Begitu juga halnya dengan kejadian penyakit. Kejadian penyakit (KP) tidak berkorelasi positif dengan keparahan penyakit. Kultivar Paris menunjukkan KP terendah mencapai 42% dibandingkan Wulung dan Porselen yang mencapai 72%. Namun, keparahan penyakit yang ditunjukkan oleh kultivar Paris nyata tertinggi dan Wulung menunjukkan

keparahan nyata terendah dibandingkan kultivar lainnya. Selain itu keberhasilan penularan ditentukan oleh peran *A. craccivora* saat menularkan virus. Fase makan akuisisi pada tanaman sakit dimana pada fase ini kutudaun cukup membawa virus atau tidak sampai fase inokulasi sangat menentukan keberhasilan penularan virus. Penggunaan 5 ekor kutu daun menunjukkan cukup efisien untuk menularkan VMB.

Tabel 2. Periode Inkubasi dan Kejadian Penyakit

Kultivar	Rata-rata Periode Inkubasi (Hari)*	Kejadian Penyakit (%)**
Wulung	13.9	72
Hideung	12.1	60
Porselen	12.4	72
Paris	12.8	48
Kapas	13.1	52

*Rata-rata dari 25 tanaman uji/kultivar

** KP = $n/N \times 100\%$

Keparahan penyakit berkorelasi positif dengan hasil uji serologi (Tabel 3). Kultivar Paris menunjukkan NAE tertinggi walau tidak berbeda nyata dengan kultivar lainnya, sedangkan NAE kultivar Wulung nyata terendah dibandingkan dengan NAE kultivar lainnya. Hanya kultivar Wulung yang menunjukkan NAE 5-8 kali kontrol sehat (toleran), sedangkan kultivar lainnya menunjukkan NAE > 8 kali kontrol sehat (rentan).

Berdasarkan masa inkubasi, tipe gejala, kejadian dan keparahan penyakit, kelima kultivar ini menunjukkan bahwa tidak ada kultivar yang tahan terhadap infeksi VMB. Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk merakit kultivar bengkoang tahan VMB mengingat virus ini dominan menginfeksi bengkoang di lapang.

Tabel 3. Hasil deteksi Serologi dan Keparahannya Penyakit

Kultivar	Rata-rata NAE*	Keparahan	Respon**
Wulung	0.9666b	1.78c	++
Hideung	1.7990a	2.69b	+++
Porselen	1.9983a	2.72b	+++
Paris	2.2070a	3.64a	+++
Kapas	2.1517a	2.31bc	+++

*NAE : nilai absorban ELISA pada 405 nm, uji positif jika NAE sampel > 2 kali dari NAE kontrol negatif. NAE kontrol negatif = 0.170

Rata-rata NAE diperoleh dari 25 tanaman uji tiap kultivar

**Konsentrasi virus - = NAE < 2 kali NAE kontrol negatif

+ = NAE 2-5 kali NAE kontrol negatif

++ = NAE 5-8 kali NAE kontrol negatif

+++ = NAE > 8 kali NAE kontrol negatif

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingginya kejadian penyakit di lapang sangat dimungkinkan oleh penggunaan benih yang diambil dari tanaman sakit dan adanya kutudaun yang efisien dalam menularkan virus. Nurlaelah (2006) melaporkan bahwa VMB dapat ditularkan oleh 3 spesies kutudaun (*A. craccivora*, *A. glycine* dan *A. gossypii*) secara efisien. Selain itu, VMB dapat menginfeksi kacang panjang, buncis dan kapri (Desmiarti, 2006). Kenyataan di lapang, bengkoang dan kacang panjang ditanam secara tumpang sari, terutama di daerah Jawa Barat. Sehingga, infeksi silang kemungkinan dapat terjadi. Oleh sebab itu, jika pertanaman difokuskan sebagai hanya untuk bengkoang, sebaiknya tidak melakukan tumpang sari dengan tanaman kacang-kacangan lainnya. Penggunaan benih sehat dan pengendalian kutudaun merupakan salah satu cara untuk mengurangi infeksi VMB di lapang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

VMB tersebar di pertanaman bengkoang secara luas, terutama di daerah Bogor dan Prembung, Jawa Tengah. Virus mosaik ini disebabkan oleh virus dari genus *Potyvirus*. Secara umum semua kultivar uji dapat diinfeksi oleh virus dengan intensitas bervariasi. Namun, kultivar Wulung asal Jawa Tengah memiliki respon ketahanan yang toleran, sedangkan kultivar Hideung, Porselen, Paris dan kapas termasuk rentan terhadap infeksi virus.

Saran

Perlu diadakan survei pada lokasi yang lebih luas di beberapa sentra produksi bengkoang untuk mengetahui sebaran, jenis-jenis kultivar bengkoang dan keragaman genetik virus mosaik bengkoang yang ada di Indonesia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tulisan ini merupakan sebagian dari hasil riset yang dibiayai oleh dana hibah penelitian fundamental, DIKTI 2007 dengan Nomor 012/SP2H/PP/DP2M/III/2007, tanggal 2 April

2007. Terimakasih kepada Edi Supardi atas bantuannya selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Blackman RL, Eastop VF (2000). Aphids on the world's crops. An identification and information guide. 2nd ed, John Willey and Sons, Ltd, New York.
- Chen J, Chen J, Adams MJ (2001). A universal primer to detect members of *Potyviridae* and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. *Arch Virol* 146: 757-766.
- Damayanti TA, Nurlaelah S. 2007. A mosaic disease infecting yam bean; molecular detection and transmission. The Proceeding of the Third Asian Conference on Plant Pathology. Yogyakarta, 20-24 Agustus 2007.
- Damayanti TA, Desmiarti S, Siti N, Dewi S, Okuno T, Mise K. 2008. First report of *Bean common mosaic virus* on yam bean (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urban) in Indonesia. *J.Gen. Plant Pathology*, Vol. 74 No.6. p 438-442
- Desmiarti. 2006. Uji Kisaran Inang dan Deteksi Virus Mosaik Pada Bengkoang. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, IPB .[Skripsi].
- Hasbullah. 2001. Teknologi tepat guna agroindustri kecil Sumatera Barat. Jakarta:BPPT. <http://www.ristek.go.id>.
- Nurlaelah S. 2006. Deteksi Benih dan Penularan Virus Mosaik Bengkoang oleh Tiga Spesies Kutudaun. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, IPB .[Skripsi].
- Sorensen M (1996) Yam bean (*Pachyrhizus* DC). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops 2. Institute of Plant Genetic and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resource Institute, Rome.

