

Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Asam Salisilat dalam Tanaman Cabai Merah yang Diinduksi Ketahanannya terhadap Cucumber Mosaic Virus Oleh Ekstrak Daun Nanangkaan (*Euphorbia hirta*)
The Analysis of Peroxidase Enzyme Activity and Salicylic Acid Content of Resistant Red Chili Plant to Cucumber Mosaic Virus (CMV) Induced by Leaf Extract of Nanangkaan (*Euphorbia hirta*)

Hersanti

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

Cucumber Mosaic Virus (CMV) merupakan virus utama yang menyerang tanaman cabai merah. Alternatif pengendalian CMV yang terbaik adalah dengan menanam kultivar tanaman cabai merah yang tahan. Ketahanan tanaman terhadap patogen dapat diperoleh dengan menggunakan agen penginduksi yang diplikasikan ke tanaman. Ketahanan yang diperoleh dikenal dengan ketahanan sistemik terinduksi (KST).

Ekstrak daun Nanangkaan (*Euphorbia hirta*) merupakan salah satu agen penginduksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap serangan CMV. Salah satu mekanisme terjadinya KST pada tanaman adalah terjadinya perubahan kandungan asam salisilat dan aktifitas enzim peroksidase. Penelitian ini mengkaji aktifitas enzim peroksidase dan kandungan asam salisilat dalam tanaman cabai merah yang diinduksi ketahanannya terhadap serangan CMV dengan menggunakan ekstrak daun *E. hirta*

Hasil analisis diketahui bahwa tanaman cabai merah yang diinduksi ketahanannya terhadap serangan CMV oleh ekstrak daun *E. hirta* menunjukkan rendahnya intensitas serangan CMV, rendahnya konsentrasi virus, terjadi peningkatan aktivitas enzim peroksidase 1,08 – 6,7 kali, dan peningkatan kandungan asam salisilat sebanyak 1,2 – 2,9 kali dibandingkan dengan tanaman cabai merah yang tidak diinduksi (kontrol).

Kata Kunci: *E. hirta*, CMV, Enzim Peroksidase, Asam salisilat, Ketahanan Sistemik Terinduksi

ABSTRACT

Cucumber Mosaic Virus (CMV) is a major constraint in red chili cultivation. Resistant cultivar can be found is the best alternative to control the CMV on red chili. Resistant cultivar can be found by using inducer agent for resistance increase. Euphorbia hirta leaf extract is an inducer agent of systemic resistance of red chili to CMV. Mechanism of Systemic Induced Resistance (SIR) on plant are changes of peroxidase enzymes activity and salicylic acid content. This experiment was objected to study the activity of peroxidase enzyme and salicylic acid content in the induced resistant plant to CMV by E. hirta leaf extract.

The results showed that the induced resistant plant to CMV by leaf extract of E. hirta had a low CMV disease intensity, low concentration of Virus, increased the activity of peroxidase enzyme 1.08 – 6.7 times; increased the salicylic acid 1.2 – 2.9 times.

Key words: *E. hirta*, peroxidase enzyme activity, salicylic acid content, CMV, Systemic Induce Resistance

PENDAHULUAN

Cucumber Mosaic Virus (CMV) merupakan virus utama pada tanaman cabai merah (Duriat dkk., 1991). Kerugian akibat serangan CMV dapat menurunkan jumlah dan bobot buah per tanaman berturut-turut sebesar 81,4% dan 82,3% (Sari dkk., 1997). Usaha pengendalian serangan CMV yang efektif, murah dan mudah diterapkan oleh petani adalah penggunaan varietas tahan. Sampai saat ini diketahui belum ada satupun varietas cabai merah yang tahan terhadap CMV.

Ketahanan tanaman terhadap patogen tidak selalu diperoleh melalui program pemuliaan tanaman. Ketahanan dapat diperoleh dengan menginduksi ketahanan dengan menggunakan suatu agen penginduksi. Ketahanan yang diperoleh dikenal dengan ketahanan sistemik terinduksi (Kuc, 1987). Salah satu agen penginduksi yang mempunyai kemampuan dalam menginduksi ketahanan cabai merah terhadap CMV adalah ekstrak daun Nanangkaan (*Euphorbia hirta*) (Hersanti, 2003, Hersanti dkk., 2003).

KST pada berbagai tanaman terhadap serangan patogen akibat aplikasi agen penginduksi tidak terlepas dari peran senyawa-senyawa tertentu dan *PR-protein* (*Pathogenesis Related-protein*) seperti peroksidase, kitinase, β -1,3 glukanase, β -1,4glukosidase, dan asam salisilat sebagaimana ditunjukkan oleh peningkatan aktivitas dan kadarnya (Wei dkk., 1996).

Asam salisilat (AS) memegang peran penting dalam KST. Asam salisilat terbentuk pada tanaman sebagai reaksi terhadap infeksi patogen. Beberapa produk dari gen KST mempunyai sifat antimikrobia atau dapat dimasukkan ke dalam kelas protein anti mikrobia (Kessman dkk., 1994).

Penelitian ini mengkaji bagaimana aktifitas enzim peroksidase dan kandungan asam salisilat dalam tanaman cabai merah yang diinduksi ketahanannya terhadap serangan CMV dengan menggunakan ekstrak daun Nanangkaan (*E. hirta*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di rumah kaca dan laboratorium Virologi Balai Penelitian Tanaman Sayuran Lembang, dan Laboratorium Penelitian dan Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran.

Bahan dan alat yang digunakan adalah tanaman cabai merah varietas Jatilaba, ekstrak daun *E. hirta*, ELISA kit, spektrofotometer untuk mengukur aktifitas enzim peroksidase, *sentrifuge effendorf*, dan HPLC (*High Performance Liquidified Chromathography*) untuk mengukur kandungan asam salisilat.

Data hasil analisis kimia dan elektroforesis tidak diuji secara statistik. Jumlah tanaman cabai merah yang digunakan adalah 10 tanaman cabai merah. Untuk menghitung intensitas serangan setiap jenis tumbuhan terdiri atas 10 tanaman dan diulang tiga kali. Penginduksian dilakukan dengan mengoleskan ekstrak daun *E. hirta* pada dua daun diatas kotiledon tanaman cabai merah berumur \pm 4 minggu (4 daun sejati). Setelah kering angin (\pm 30 menit) dibilas dengan air. Konsentrasi ekstrak daun *E. hirta* yang digunakan yaitu 50% (1 bagian daun : 1 bagian air). Inokulasi CMV dilakukan 24 jam setelah aplikasi ekstrak, yaitu mengoleskan air perasan daun tembakau yang telah terinfeksi CMV2-RIV yang sudah dicampur dengan larutan buffer fosfat pada daun ketiga dan keempat (di atas kedua daun yang telah diinduksi ekstrak daun *E. hirta*).

Perhitungan intensitas serangan CMV ditentukan dengan rumus :

$$I = \frac{\sum (nxv)}{NxV} \times 100\%$$

Keterangan:

- I = Intensitas serangan
- n = jumlah tanaman dalam tiap katagori serangan
- v = nilai skala tiap katagori serangan
- V = nilai skala dari katagori serangan tertinggi
- N = banyaknya tanaman yang diamati

Skala serangan berdasarkan Dolores (1996) sebagai berikut :

- 0 = tanaman tidak menunjukkan gejala virus.
- 1 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sangat ringan, atau tidak ada penyebaran sistemik

- 2 = tanaman menunjukkan gejala mosaik sedang
- 3 = tanaman menunjukkan gejala mosaik atau belang berat tanpa penciutan atau kelainan bentuk daun
- 4 = gejala mosaik atau belang berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun
- 5 = gejala mosaik atau belang sangat berat dengan penciutan atau kelainan bentuk daun yang parah, kerdil atau mati.

Kandungan virus dalam daun cabai merah diamati berdasarkan nilai absorpsi pada λ 405 nm *Elisa reader* dengan metode I-ELISA (*Indirect Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*).

Parameter yang diamati adalah intensitas serangan CMV; kandungan asam salisilat dianalisis dengan menggunakan modifikasi metode Tenhaken dan Rubel (1997) dan Martinez dkk. (2000); Aktifitas Enzim peroksidase dengan mengukur kadar protein menggunakan metode Lowry (1959) dalam Loebenstein dan Lindsey (1961) dengan waktu pengamatan 24 jam setelah aplikasi ekstrak daun *E. hirta*, 7 hari setelah inokulasi (HSI) CMV, 14 HSI dan 21 HSI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

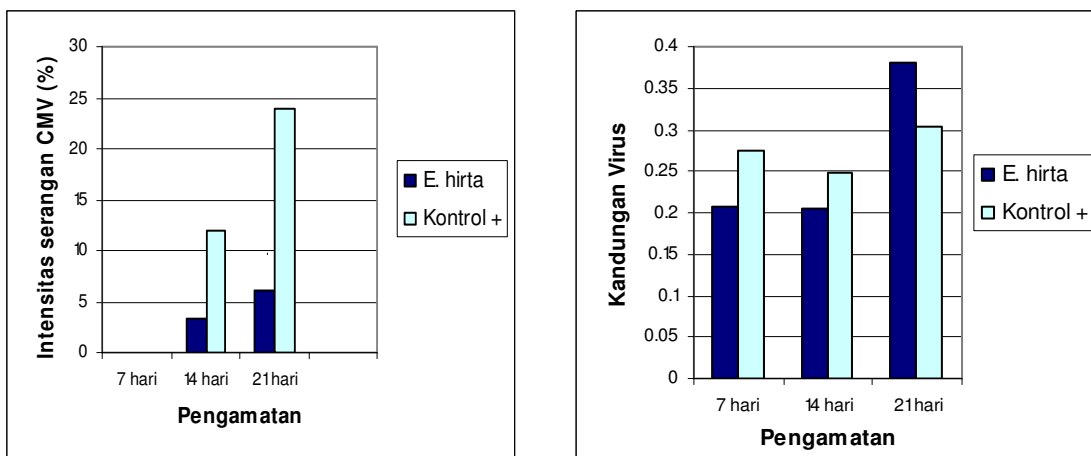
Hasil pengamatan mekanisme Ketahanan Sistemik Terinduksi Tanaman cabai merah akibat pengaplikasian ekstrak daun *E. hirta* berdasarkan intensitas serangan CMV dan kandungan virus tersaji pada Gambar 1, kandungan asam salisilat dan aktifitas enzim peroksidase tersaji pada Gambar 2.

Intensitas serangan CMV pertama kali diamati pada saat 14 HSI CMV, karena pada 7 HSI belum terdapat gejala serangan CMV pada tanaman cabai merah, tetapi sudah terdapat virus. Walaupun sudah terdapat virus pada tanaman cabai merah tetapi tanaman belum menunjukkan gejala. Menurut Nicks (1993) tingkat kerusakan atau gejala yang muncul pada tanaman tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat konsentrasi virus dalam tanaman.

Hasil pengamatan Intensitas serangan CMV pada tanaman cabai merah yang diaplikasi ekstrak daun *E. hirta* lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kontrol (tanpa

induksi). Begitu pula kandungan virus pada tanaman cabai merah yang diinduksi ekstrak daun *E. hirta* lebih rendah dari tanaman cabai kontrol. Banyak faktor yang mempengaruhi tingkat keparahan gejala serangan CMV pada tanaman inang diantaranya adalah faktor lingkungan terutama cahaya matahari dan suhu.

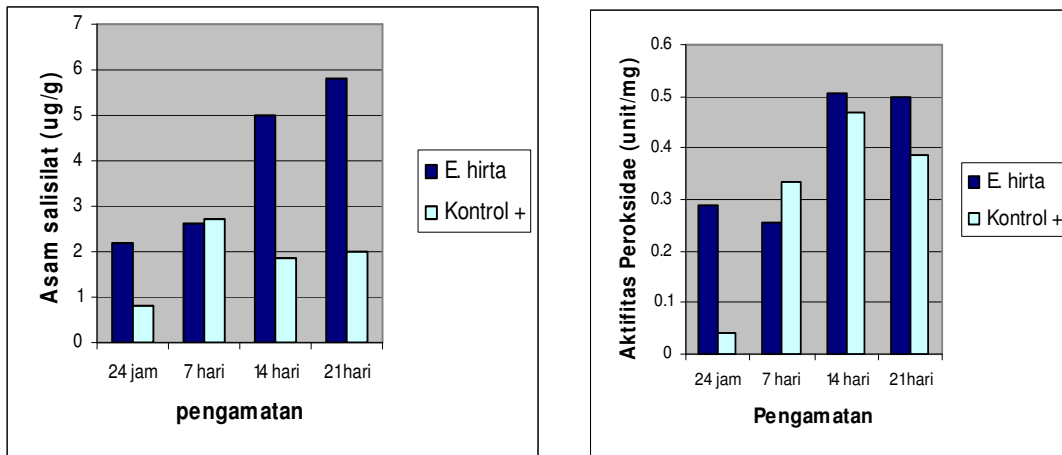
Aplikasi ekstrak daun *E. hirta* tidak begitu berpengaruh terhadap penghambatan gejala serangan CMV. Hasil ini didukung oleh pernyataan Dean dan Kuc (1987) bahwa induksi oleh ekstrak tanaman tidak membuat tahan menjadi tahan tetapi hanya meningkatkan derajat ketahanan. Hal ini menunjukkan bahwa induksi dengan ekstrak daun *E. hirta* membuat tanaman cabai merah kultivar Jatilaba yang bersifat rentan meningkat derajat ketahanannya menjadi toleran.



Gambar 1. Grafik Intensitas Serangan CMV dan Kandungan Virus dalam Daun Cabai Merah yang di Induksi Ketahanannya oleh Ekstrak Daun *E. hirta*

Kemampuan ekstrak daun *E. hirta* dalam menghambat serangan CMV diduga disebabkan terdapat senyawa dalam ekstrak daun *E. hirta* yang mampu meningkatkan kandungan asam salisilat. Peningkatan kandungan asam salisilat terjadi pada saat pengamatan 24 jam setelah aplikasi ekstrak daun *E. hirta* mencapai 2,204 $\mu\text{g/g}$, sedangkan pada tanaman cabai kontrol mencapai 0,8 $\mu\text{g/g}$. Kandungan asam salisilat pada tanaman cabai merah semakin meningkat setelah diinokulasi CMV yaitu pada pengamatan 7 hari setelah inokulasi (HSI), 14 HSI dan 21 HSI. Rata-rata kandungan asam salisilat dalam tanaman cabai merah yang diaplikasi ekstrak daun *E. hirta* meningkat 1,2 – 2,9 kali lipat

dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hasil ini sesuai dengan penelitian Yalpani dkk. (1993) bahwa kadar asam salisilat pada daun tembakau yang diinokulasi CMV meningkat sebanyak 70 kali lipat dibandingkan sebelum diinokulasi CMV.



Gambar 2. Grafik Kandungan Asam Salisilat dan Aktifitas Enzim Peroksidase dalam Daun Cabai Merah yang di Induksi Ketahanannya oleh Ekstrak Daun *E. hirta*

Hasil pengamatan terlihat rata-rata aktifitas enzim peroksidase pada tanaman cabai merah setelah 24 jam diinduksi ekstrak daun *E. hirta* (0,2894 unit/mg) lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman cabai merah yang tidak diinduksi (0,0429 unit/mg). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *E. hirta* mampu menginduksi peningkatan aktifitas enzim peroksidase. Aktifitas enzim peroksidase pada tanaman cabai merah semakin meningkat setelah diinokulasi CMV. Rata-rata aktifitas enzim peroksidase pada tanaman cabai merah yang diinduksi 1,08 – 6,7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman cabai kontrol.

Menurut van Loon dkk. (1994) enzim peroksidase merupakan suatu kelompok *PR-protein (Pathogenesis Related-protein)* dari golongan *PR-9* yang terakumulasi pada saat tanaman sakit atau sejenisnya. Selain itu peningkatan aktivitas enzim peroksidase dipengaruhi juga oleh adanya serangan virus. Gupta dkk. (1990) menyatakan bahwa tanaman yang tahan terhadap penyakit cenderung memperlihatkan aktivitas peroksidase yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman rentan. Menurut Zhou dkk. (1992) ekspresi

meningkatnya aktifitas enzim peroksidase diakibatkan tanaman terinfeksi patogen termasuk virus yang akan berkorelasi dengan tingkat ketahanan terhadap virus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan tanaman cabai merah yang diinduksi ketahanannya oleh ekstrak daun *E. hirta* menunjukkan rendahnya intensitas serangan CMV, rendahnya kandungan virus, terjadi peningkatan aktivitas enzim peroksidase 1,08 – 6,7 kali, dan kandungan asam salisilat sebanyak 1,2 – 2,9 kali dibandingkan dengan tanaman cabai merah yang tidak diinduksi (kontrol).

DAFTAR PUSTAKA

- Dean, R. and J. Kuc. 1986. Induced systemic protection in cucumber : time of the “signal”. *Phytopathology* 66:204-208.
- Duriat, A.S., W. Setiawati dan R. Sutarya. 1991. Bioekologi penyakit krupuk pada tanaman cabai. I. Studi penularan penyakit krupuk pada cabai. hal: 32-34. *Dalam* Pengendalian Terpadu Hama dan Penyakit kentang, kubis, cabai dan bawang merah Laporan PHT ARM 90/91. Balihort Lembang.
- Gupta, S.K., P.P. Gupta, T.P. Yadava, and C.D. Kaushik. 1990. Metabolic changes in mustard due to *Alternaria* leaf blight. *Indian Phytopathol.* 43(1): 64-69.
- Hersanti, C. Nasahi, dan T. Sunarto. 2003. Pengujian beberapa ekstrak tumbuhan sebagai agen penginduksi ketahanan tanaman cabai merah terhadap Cucumber Mosaic Virus (CMV). *J. Agrik.* 14 (3): 160-165.
- Hersanti. 2003. Pengujian potensi ekstrak 37 Species tumbuhan sebagai agen penginduksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap Cucumber Mosaic Virus. *J. Fitopat. Ind.* 7(2) : 54-58.
- Kessmann, H., T. Staub, C. Hofmann, T. Maetzke, J. Herzog, E. Ward, S. Uknes and J. Ryals. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32 : 439-459.
- Kuc, J. 1987. Plant Immunization and its Applicability for Disease Control. Pp. 225-272. *In* I. Chet (Ed.). *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. John Wiley and Sons, New York.
- Loebenstein, G. and N.N. Lindsey. 1961. Peroxidase activity in virus infected potatoes. *Phytopathology* 51: 533-537.

- Louws, F.J., K.H. Mary, F.K. John, and T.S. Cristine. 1996. Impact of reduced fungicide and tillage on blight, fruit rot and yield processing tomatoes. *Plant Dis.* 80: 1251-1256.
- Martinez, C., J.C. Baccou, E. Bresson, Y. Baissac, J.F. Daniel, A. Jalloul, J.L. Montilet, J.P. Geiger, K. Assigbetse, and M. Nicole. 2000. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic response of cotton challenged by a virulent race of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Plant Physiol.* 22 : 756 – 766.
- Niks, R.E., P.R. Ellis, and J.E. Palevliet. 1993. Resistance to Parasites. Pp. : 442-447. *In* M.D. Hayward, N.O. Bosemark, and I. Romagosa (Eds.) *Plant Breeding Principles and Prospects*. Chapman and Hall. London.
- Sari, C.N., I. R. Suseno, Sudarsono, dan M. Sinaga. 1997. Reaksi sepuluh galur cabai terhadap infeksi isolat CMV dan PVY asal Indonesia. *Prosiding Kongres Nasional dan Seminar Ilmiah PFI*. Palembang 27-29 Oktober 1997. hlm : 116-119.
- Tenhaken, R. and C. Rubel. 1997. Salicylic acid needed in hypersensitive cell death in soybean but does not act a catalase inhibitor. *Plant Physiol.* 115: 291-298.
- van Loon, L.C., W.S. Pierpoint, Th. Boller, and V. Conejero. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Report.* 12 : 245-264.
- Wei, G., J.W. Kloepper, and S. Tuzun. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86 : 221-224.
- Yalpani, N., V. Shulaev, and I. Raskin. 1993. Endogenous salicylic acid levels correlated with accumulation of pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Phytopathology.* 83: 702-708.
- Zhou, B.W., s.Y. Liu, D.Y. Chen, Q. Yu, J. Yang, and C. Wang. 1992. Peroxidase in relation to varietal resistance to virus disease in rapeseed (*Brassica napus*). (Abstract). *Oil Crops of China* 2 : 52-54.

