

TEMUAN PENYAKIT BARU

Sapu pada Kacang Hias (*Arachis pintoi*): Penyakit Baru yang Berasosiasi dengan Fitoplasma

Pinto Peanut (*Arachis pintoi*) Witches' Broom: A New Disease Associated with Phytoplasma

Budiyarto^{1,2}, Kikin Hamzah Mutaqin^{1*}

¹Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

²Penelitian Tembakau Jember PTPN X, Jember 68134

ABSTRAK

Sapu pada kacang pinto (*Arachis pintoi*) adalah penyakit baru yang ditemukan di Bogor dalam kejadian yang cukup tinggi dan sejauh ini belum dilaporkan di Indonesia. Tipe gejala ini sangat mirip dengan gejala sapu kacang tanah (*A. hypogea*) yang telah lama diketahui disebabkan oleh fitoplasma. Penyakit sapu *A. pintoi* dapat ditularkan ke *A. pintoi* atau *A. hypogea*, demikian juga penyakit sapu *A. hypogea* dapat ditularkan ke *A. hypogea* atau *A. pintoi* dengan masing-masing gejala khas dan tidak berbeda, melalui uji penularan baik penyambungan maupun vektor spesifik fitoplasma sapu kacang tanah, *Orosius argentatus*. Tanaman *A. pintoi* maupun *A. hypogea* sakit terdeteksi berasosiasi dengan fitoplasma melalui teknik *polymerase chain reaction* menggunakan pasangan primer untuk fitoplasma P1/P7 dan menghasilkan pita DNA berukuran 1800 pb. Fitoplasma penyakit sapu *A. pintoi* diduga kuat identik dengan fitoplasma penyakit sapu *A. hypogea*.

Kata kunci: *Arachis pintoi*, fitoplasma, *Orosius argentatus*, penyakit sapu

ABSTRACT

Pinto peanut (*Arachis pintoi*) witches' broom is a new disease found in Bogor at high incidence and has not yet been reported elsewhere. Symptom type of the disease is very similar to that of peanut (*A. hypogea*) witches' broom, which has been well known to be associated with phytoplasma. Both *A. pintoi* and *A. hypogea* witches' broom causal agent are transmissible to both healthy *A. pintoi* or *A. hypogea*, with grafting or vector transmission using peanut witches' broom phytoplasma specific vector, *Orosius argentatus*. All combination of transmission means resulted in an identical type of witches' broom symptom. Further confirmation using polymerase chain reaction detection and identification of phytoplasma employing universal primer pair for phytoplasmas (P1/P7), showed that all of the diseased plants, either from field or transmitted plants is associated with phytoplasma. The *A. pintoi* witches' broom phytoplasma is likely identical to that of *A. hypogea*.

Key words: *Arachis pintoi*, *Orosius argentatus*, phytoplasma, witches' broom

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus Darmaga, Bogor 16680
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: kikinhm@yahoo.com

Arachis pintoi adalah tanaman tahunan asli Brazil yang sekerabat dekat dengan kacang tanah (*A. hypogea*) dan dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak, tanaman hias, pengendali erosi dan penutup tanah (Carvalho *et al.* 2009). Tanaman ini telah didatangkan ke Indonesia dan dikenal sebagai kacang hias atau kacang pinto. Introduksi *A. pintoi* di Indonesia menyebabkan adanya gejala sapu yang mirip dengan gejala sapu kacang tanah. Gejala ini ditemukan pada *A. pintoi* di Kebun Percobaan Cikabayan IPB. Penyakit sapu pada kacang tanah disebabkan oleh fitoplasma dengan vektornya wereng daun *Orosius argentatus* (Iwaki *et al.* 1978). Fitoplasma yang dulu disebut organisme mirip mikoplasma adalah bakteri tanpa dinding sel yang diketahui menjadi patogen.

Gejala Penyakit Sapu

Gejala sapu pada *A. pintoi* berupa daun berujung meruncing, ukuran lebih kecil, lebih tebal, berwarna lebih hijau daripada daun tanaman sehat dengan tepi pucat, permukaan tidak merata, tepi tulang daun tidak menebal; tunas-tunas muda berkembang membentuk cabang-cabang tegak sehingga tanaman menyerupai sapu, dan tidak menghasilkan bunga. Gejala sapu *A. pintoi* sangat mirip dengan gejala sapu kacang tanah oleh fitoplasma (Gambar 1a dan 1b). *A. pintoi* yang

terinfeksi dini menunjukkan pertumbuhan tunas-tunas baru dari ketiak daun dalam jumlah banyak dan berukuran kecil, yang tumbuh tegak seperti sapu. Gejala dimulai pada tunas muda, kemudian semakin banyak sehingga tanaman kerdil, tidak menghasilkan bunga, bakal buah mengarah ke atas, polong jika terbentuk sangat kecil dan tidak berisi. Tanaman dapat merana dan kering. Penyakit ini menurunkan nilai estetika sebagai tanaman hias maupun fungsi penutup tanah atau pakan ternak.

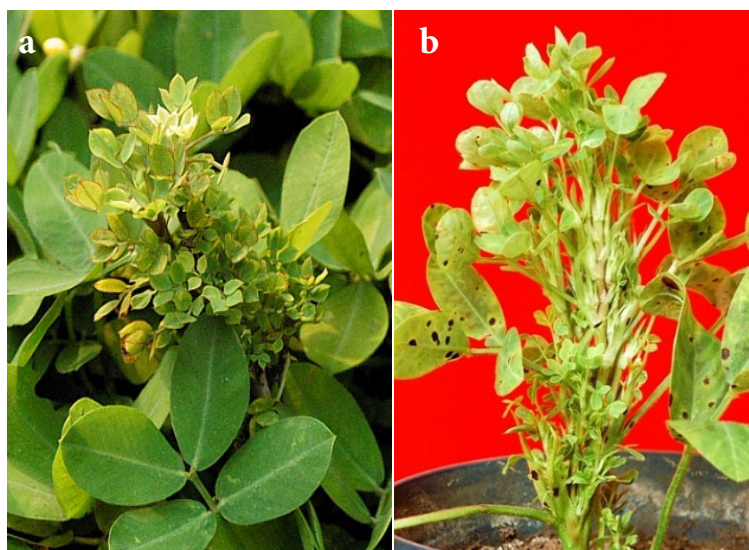
Kejadian Penyakit Sapu *A. pintoi* di Lapangan

Kejadian penyakit sapu pada *A. pintoi* di Kebun Percobaan Cikabayan dan sekitarnya diamati melalui pengambilan contoh sistematis dengan teknik pelemparan kuadran berukuran 30 cm x 30 cm sebanyak 10 kali per pertanaman *A. pintoi*. Kejadian penyakit sapu pada kacang tanah juga diamati dengan contoh 10% baris dari setiap pertanaman. Kejadian penyakit (KP) dihitung dengan rumus:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

dengan: n, jumlah rumpun bergejala; N, jumlah rumpun diamati

Kejadian penyakit sapu *A. pintoi* di Cikabayan cukup tinggi (68.23%) dan lebih



Gambar 1 Tanaman sakit yang menunjukkan gejala sapu pada: a, *Arachis pintoi*; b, *Arachis hypogea*.

tinggi daripada *A. hypogea* (Cikabayan A) yang ditanam berdekatan. Kejadian penyakit sapu *A. hypogea* di Cikabayan B (lokasi lebih jauh dari lokasi *A. pintoii*) lebih rendah dibandingkan dengan *A. hypogea* (Cikabayan A) maupun *A. pintoii* (Cikabayan). *A. pintoii* di perumahan dosen IPB yang terletak di luar kompleks KP Cikabayan masih terbebas dari penyakit sapu (Tabel 1). Kejadian penyakit yang cukup tinggi pada *A. pintoii* Cikabayan dan *A. hypogea* yang berdekatan diduga bahwa masing-masing pertanaman itu dapat menjadi sumber inokulum bagi yang lainnya.

Uji Penularan dengan Penyambungan dan Serangga Vektor

Sumber inokulum uji penularan berupa tanaman *A. pintoii* maupun *A. hypogea* bergejala sapu dari lapangan ditanam di media steril 3 kg, terdiri atas tanah dan pupuk kandang (2:1) dalam kantong plastik. Media tersebut juga digunakan untuk penanaman *A. pintoii* sehat dan *A. hypogea* sehat (varietas Gajah). Wereng daun *O. argentatus* yang ditangkap dari lapangan dipelihara pada kacang tanah sehat dalam kurungan sampai menghasilkan keturunan untuk digunakan dalam pengujian.

Penularan dilakukan dengan menyambungkan bagian batang pucuk (*scion*) tanaman sakit ke ketiak tanaman sehat (*stock*). Bagian sambungan dibalut kapas basah dan direkat parafilm. Penularan dengan vektor dilakukan dengan membiarkan 10 imago *O. argentatus* 2 hari makan akuisisi pada tanaman sakit, kemudian dipindahkan ke tanaman sehat untuk menjalani 7 hari periode laten dan

makan inokulasi. Tanaman lalu dibebaskan dari serangga.

Patogen tanaman sakit (*A. pintoii* atau *A. hypogea*) dapat ditularkan ke tanaman sehat (*A. pintoii* atau *A. hypogea*) baik dengan penyambungan maupun vektor (Tabel 2). Keberhasilan dan kompatibilitas penyambungan tanaman sakit-sehat sangat tinggi, yaitu *A. pintoii*-*A. pintoii* 100%, *A. pintoii*-*A. hypogea* 93.3%, *A. hypogea*-*A. pintoii* 100% dan *A. hypogea*-*A. hypogea* 90%. Hal ini penting karena uji penularan dengan penyambungan akan berhasil baik jika kompatibilitas dan keberhasilan penyambungannya tinggi. Penyakit sapu kedua tanaman terbukti dapat ditularkan satu sama lain. Keberhasilan penularan tertinggi dicapai oleh *A. hypogea*-*A. hypogea* sedangkan terendah *A. hypogea*-*A. pintoii*. Periode mulai munculnya gejala (masa inkubasi) yang dicapai oleh empat kombinasi penularan berkisar antara 32 dan 55 hari.

Uji penularan dengan vektor menunjukkan bahwa patogen sapu, baik *A. pintoii* maupun *A. hypogea*, dapat ditularkan oleh *O. argentatus* dengan keberhasilan 100%, kecuali *A. hypogea*-*A. pintoii* yang hanya 83.33%. Masa inkubasi pada keempat kombinasi penularan tidak berbeda nyata, yaitu 57.87-65.37 hari (Tabel 2). Masa inkubasi hasil penularan dengan penyambungan lebih singkat daripada dengan vektor. Melalui penyambungan, penularan patogen terjadi dalam konsentrasi lebih tinggi dengan memanfaatkan koneksi langsung antara jaringan pembuluh tanaman sakit dan tanaman sehat, dibandingkan dengan

Tabel 1 Kejadian penyakit sapu di lapangan pada pertanaman kacang tanah

Tanaman dan lokasi*	Jumlah pertanaman yang diamati	Kejadian penyakit (%)
<i>Arachis pintoii</i>		
Cikabayan	7	68.23
Perumahan dosen IPB	7	0.00
<i>A. hypogea</i>		
Cikabayan A	3	36.46
Cikabayan B	3	6.88

*Perumahan dosen IPB: Lokasi terpisah dari pertanaman *A. pintoii* Cikabayan; Cikabayan A: Lokasi berada di sekitar pertanaman *A. pintoii*; Cikabayan B: Lokasi berada jauh (>300 m) dari pertanaman *A. pintoii*

serangga vektor yang konsentrasi patogen yang ditularkan lebih sedikit.

Gejala sapu pada hasil penularan, baik penyambungan maupun *O. argentatus*, pada keempat kombinasi penularan antara *A. pintoi* dan *A. hypogea* dapat dikatakan khas, identik, dan tidak menunjukkan adanya perbedaan. (Gambar 2).

Berdasarkan tipe gejala, uji penularan dengan penyambungan maupun vektor spesifik fitoplasma penyakit sapu kacang tanah di atas, maka diduga kuat bahwa patogen penyebab

penyakit sapu pada tanaman *A. pintoi* adalah fitoplasma. Fitoplasma penyakit sapu *A. pintoi* ini kemungkinan besar tidak berbeda dengan fitoplasma *A. hypogea*.

Deteksi dan Identifikasi Fitoplasma dengan PCR

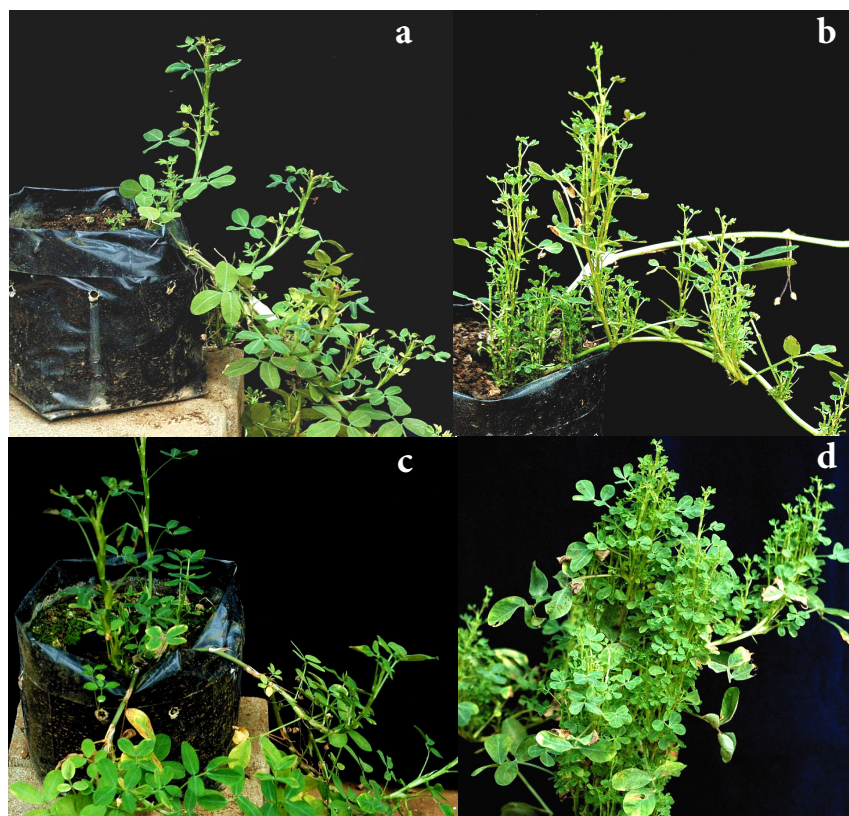
Konfirmasi penyakit sapu *A. pintoi* berasosiasi dengan fitoplasma dilakukan melalui deteksi dan identifikasi PCR menggunakan sepasang primer spesifik untuk fitoplasma P1

Tabel 2 Penularan penyakit sapu dengan teknik penyambungan dan serangga vektor *O. argentatus*

Tanaman sakit - sehat	Penyambungan		Vektor	
	KP (%)	Inkubasi (hari)	KP (%)	Inkubasi (hari)
<i>A. pintoi</i> - <i>A. pintoi</i>	56.3	44.2 ab	100.0	65.4 a
<i>A. pintoi</i> - <i>A. hypogea</i>	42.9	52.8 ab	100.0	57.9 a
<i>A. hypogea</i> - <i>A. pintoi</i>	6.3	55.0 a	83.3	62.4 a
<i>A. hypogea</i> - <i>A. hypogea</i>	90.0	32.0 b	100.0	60.5 a

KP, Kejadian penyakit

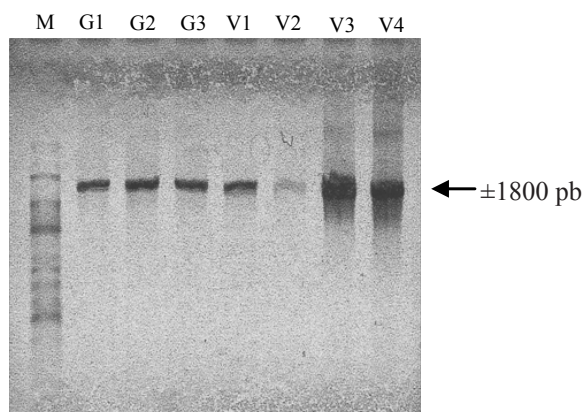
Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada α 0.05



Gambar 2 Contoh gejala sapu hasil penularan dengan penyambungan (a dan c) dan vektor *Orosius argentatus* (b dan d) dari tanaman sakit ke tanaman sehat: a, *Arachis pintoi* - *A. pintoi*; b, *A. pintoi* - *A. hypogea*; c, *A. hypogea* - *A. pintoi*; d, *A. hypogea* - *A. hypogea*.

(Deng dan Hiruki 1991) dan P7 (Kirkpatrick *et al.* 1994), yang hanya akan mengamplifikasi kelompok fitoplasma pada daerah sepanjang gen 16S RNA-*spacer region*-pangkal gen 23S rRNA, tetapi tidak untuk organisme atau prokariota selain fitoplasma. Templat DNA disediakan melalui ekstraksi DNA metode Dellaporta *et al.* (1983) dari tanaman *A. pintoii* atau *A. hypogea* dari lapangan maupun hasil penularan. PCR disiapkan dalam total volume 50 μ L, terdiri atas bufer PCR 10X; ddH₂O; MgCl₂ 1.5 mM; dNTPs 2.5 mM; primer P1/P7 45 pmol; polimerase *Taq* 0.5 U⁻¹ reaksi dan templat DNA 2 μ L. Pemanasan PCR sebanyak 35 siklus, terdiri atas denaturasi 95 °C, 1 menit; *annealing* 55 °C, 1 menit; dan sintesis DNA 72 °C, 1.5 menit (Gibb dan Padovan 1994). Elektroforesis gel menggunakan agarosa 1% (TAE 2x) dalam bufer TAE 1X, pada 75 V, 40 menit.

Fitoplasma pada tanaman di lapangan (data tidak disajikan) maupun hasil penularan berbagai kombinasi uji penularan baik melalui penyambungan maupun serangga *O. argentatus* berhasil terdeteksi, sekaligus teridentifikasi dengan PCR dengan ditunjukkannya pita DNA berukuran 1800 pasang basa (pb) (Gambar 3).



Gambar 3 Amplifikasi PCR dengan primer P1/P7 untuk mendeteksi fitoplasma pada tanaman hasil penularan dengan penyambungan (G1-G3) dan vektor *Orosius argentatus* (V1-V4). M, Marker; G1, *A. pintoii* - *A. pintoii*; G2, *A. pintoii* - *A. hypogea*; G3, *A. hypogea* - *A. hypogea*; V1, *A. pintoii* - *A. pintoii*; V2, *A. pintoii* - *A. hypogea*; V3, *A. hypogea* - *A. pintoii*; V4, *A. hypogea* - *A. hypogea*.

Hal ini semakin menguatkan bahwa penyakit sapu pada *A. pintoii* yang selama ini belum pernah dilaporkan terbukti berasosiasi dengan fitoplasma.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Edi Supardi dari Lab. Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, IPB atas informasi awal tentang keberadaan penyakit baru ini dan bantuan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Carvalho MA, Juncal EAP, Valls JFM. 2009. Flowering dynamics and seed production of *Arachis pintoii* and *Arachis repens* in the Brazilian Cerrados. *Tropical Grasslands*. 43(3):139-150
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. 1983. A plant DNA miniprep version II. *Plant Mol Biol Rep*. 1(4):19-21. doi: 10.1007/BF02712670
- Deng S, Hiruki C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable Mollicutes. *J Microbiol Meth*. 14:53-61.
- Gibb K, Padovan A. 1994. A DNA method that allows reliable PCR amplification of MLO DNA from difficult plant host species. *PCR Meth Appl*. 4(1):56-58.
- Iwaki M, Roechan M, Saleh N, Sugiura M, Hibino H. 1978. Identity of mycoplasma-like agents of legume witches' brooms in Indonesia. *Contr Centr Res Inst Agric*. 41:1-11.
- Kirkpatrick BC, Smart CD, Gardner SL, Gao JL, Ahrens U, Maurer R, Schneider B, Lorenz KH, Seemuler E, Harrison NA, Namba S, Daire X. 1994. Phylogenetic relationships of plant pathogenic MLOs established by 16/23S rDNA spacer sequences. *IOM Letters*. 3:228-229.