

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

1.1 Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

1.1.1 Tinjauan Umum Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

Kedelai merupakan tanaman asli daratan Cina dan telah dibudidayakan sejak 2500 SM. Kedelai mulai dikenal di Indonesia sejak abad ke-16, awal mula penyebaran dan pembudidayaan kedelai yaitu di pulau Jawa, kemudian berkembang ke Bali, Nusa Tenggara, dan pulau-pulau lainnya. Tanaman kedelai adalah salah satu jenis tanaman kacang-kacangan yang digunakan sebagai bahan pangan sumber energi dan protein. Di Indonesia, kedelai umumnya dikonsumsi dalam bentuk pangan olahan seperti tahu, tempe, susu kedelai dan berbagai bentuk makanan ringan (Damardjati dkk., 2005). Kedelai merupakan salah satu tanaman pangan biji-bijian dengan kandungan protein yang tinggi dan juga kandungan gizi lainnya yang lengkap, hal tersebut tersirat di dalam Al-Qur'an Surat Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ^ج أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ^ج
إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari

tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.

Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa kata حبا متراكبا yang berarti butir yang banyak (Ibnu Katsir, 2004). Butir dimaksud dalam ayat ini adalah biji atau buah yang dihasilkan oleh suatu tanaman, didalam biji mengandung banyak komposisi zat gula, minyak, protein, berbagai zat karbohidrat dan zat tepung. Pentingnya biji-bijian sebagai sumber pangan ini dikisahkan pada masa nabi Yusuf A.S yang dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Yusuf ayat 47-48:

قَالَ تَزْرَعُونَ سَبْعَ سِنِينَ دَأَبًا فَمَا حَصَدْتُمْ فَذَرُوهُ فِي سُنْبُلِهِ إِلَّا قَلِيلًا مِّمَّا تَأْكُلُونَ - ٤٧ -
 ثُمَّ يَأْتِي مِنْ بَعْدِ ذَلِكَ سَبْعٌ شِدَادٌ يَأْكُلْنَ مَا قَدَّمْتُمْ لَهُنَّ إِلَّا قَلِيلًا مِّمَّا تُحْصِنُونَ - ٤٨ -

Artinya: “Dia (Yusuf) berkata, “Agar kamu bercocok tanam tujuh tahun (berturut-turut) sebagaimana biasa, kemudian apa yang kamu panen hendaklah kamu biarkan di tangkainya kecuali sedikit untuk kamu makan (47) Kemudian setelah itu akan datang tujuh (tahun) yang sangat sulit, yang menghabiskan apa yang kamu simpan untuk menghadapinya (tahun sulit), kecuali sedikit dari apa (bibit gandum) yang kamu simpan”

Berdasarkan ayat di atas terdapat kata تزرعون yang berarti bercocok tanam. Ayat di atas menerangkan bahwa Nabi Yusuf A.S memerintahkan kepada kaumnya untuk bercocok tanam selama tujuh tahun, dan ketika tiba waktu panen maka biji atau buah yang didapat untuk dibiarkan dan tidak agar tahan lama. Hal ini dimaksudkan untuk persiapan menghadapi tujuh tahun yang amat sulit yang akan datang (masa

paceklik) (Ash-shiddieqy, 2000). Dari kisah ini dapat dimaknai bahwa tanaman pangan merupakan tanaman yang sangat penting yang menjadi sumber makanan bagi makhluk hidup dan salah satu tanaman pangan yang banyak dimanfaatkan adalah kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

1.1.2 Deskripsi Morfologi Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

Kedudukan tanaman kedelai dalam sistematika tumbuh-tumbuhan (taksonomi) adalah sebagai berikut:

Kingdom Plantae

Divisi *Spermatophyta*

Kelas *Dicotyledonae*

Ordo *Polypetales*

Famili *Leguminosae*

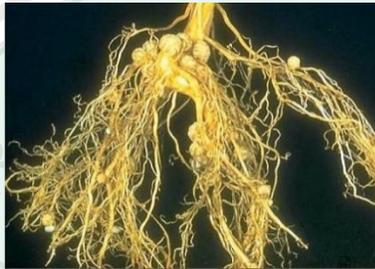
Genus *Glycine*

Spesies *Glycine max* (L.) Merril (Tjitrosoepomo, 1993).

1) Akar

Akar tanaman kedelai berupa akar tunggang yang membentuk cabang-cabang akar. Akar tumbuh ke arah bawah, sedangkan cabang akar berkembang menyamping (horizontal) tidak jauh dari permukaan tanah. Jika kelembaban tanah turun, akar akan berkembang lebih ke dalam agar dapat menyerap air dan unsur hara. Pertumbuhan ke samping dapat mencapai jarak 40 cm, dengan kedalaman hingga 120 cm. Selain berfungsi sebagai tempat bertumbuhnya tanaman dan alat pengangkut air maupun

unsur hara, akar tanaman kedelai juga merupakan tempat terbentuknya bintil akar (Pitojo, 2003). Rukmana dan Yuniarsih (1996) menambahkan bahwa struktur akar tanaman kedelai terdiri atas akar lembaga (*radicula*), akar tunggang (*radix primaria*), dan akar cabang (*radix lateralis*) berupa rambut akar.



Gambar 2.1 Akar kedelai (Syekhfani, 2004)

2) Batang

Tanaman kedelai termasuk berbatang semak yang dapat mencapai ketinggian antara 30-100 cm. Tipe pertumbuhan tanaman kedelai dibedakan atas tiga macam yaitu tipe *determinate*, *semi determinate* dan *indeterminate* (Rukmana dan Yuniarsih, 1996). Pertanaman *determinate* memiliki karakteristik tinggi tanaman pendek sampai sedang, ujung batang hampir sama besar dengan batang bagian tengah, daun teratas sama besar dengan daun batang tengah, dan berbunga serentak (Pitojo, 2003) sedangkan tipe *indeterminate* mempunyai ciri-ciri antara lain ujung tanaman lebih kecil dibandingkan dengan batang tengah, ruas-ruas batangnya panjang dan agak melilit, pembungaanya berangsur-angsur dari bagian pangkal ke bagian batang atas, pertumbuhan vegetatif terus menerus setelah berbunga, tinggi batang termasuk kategori sedang sampai tinggi, dan ukuran daun paling atas lebih kecil dibandingkan dengan daun pada batang tengah.

Dan tipe semi determinate mempunyai ciri-ciri diantara tipe *determinate* dan *indeterminate* (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).



Gambar 2.2. Batang kedelai (Dokumentasi pribadi)

3) Daun

Daun kedelai merupakan daun majemuk yang terdiri dari tiga helai anak daun dan umumnya berwarna hijau muda atau hijau kekuning-kuningan. Bentuk daun ada yang oval, juga ada yang segi tiga. Warna dan bentuk daun kedelai ini tergantung pada varietas masing-masing (Aak, 1989).



Gambar 2.3. Daun kedelai (Dokumentasi pribadi)

4) Bunga

Tanaman kedelai mulai berbunga pada umur antara 30-50 hari setelah tanam. Bunga kedelai memiliki kelamin jantan dan betina. Penyerbukan terjadi pada saat

mahkota bunga masih menutup, sehingga kemungkinan terjadinya persilangan alami sangat kecil. Sekitar 60 % bunga rontok sebelum membentuk polong (Pitojo, 2003). Bunga kedelai disebut bunga kupu-kupu dan mempunyai dua mahkota dan dua kelopak bunga. Warna bunga putih bersih atau ungu muda. Pada setiap ketiak daun biasanya terdapat 3-15 kuntum bunga. Bunga kedelai mempunyai 10 buah benang sari. Sembilan buah diantaranya bersatu pada bagian pangkal dan membentuk seludang yang mengelilingi putik, sedangkan benang sari yang kesepuluh terpisah pada bagian pangkalnya dan seolah-olah menjadi penutup seludang. Bila putik dibelah, di dalamnya terdapat tiga bakal biji (Aak, 1989).



Gambar 2.4. Bunga kedelai berwarna ungu (A) bunga kedelai berwarna putih (B) (Irwan, 2006)

5) Buah dan Biji

Buah kedelai disebut polong yang tersusun dalam rangkaian buah. Tiap polong kedelai berisi antara 1-4 biji. Jumlah polong pertanaman tergantung pada varietas kedelai, kesuburan tanah dan jarak tanam yang digunakan. Kedelai yang ditanam pada tanah subur pada umumnya dapat menghasilkan antara 100-200 polong/pohon. Biji kedelai umumnya berbentuk bulat atau bulat pipih sampai bulat lonjong. Warna kulit biji bervariasi antara lain kuning, hijau, coklat atau hitam. Ukuran biji berkisar antara

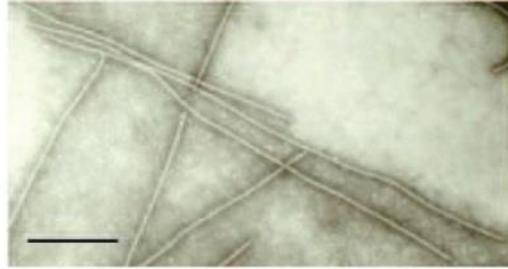
6-30 gram/biji. Di Indonesia ukuran biji kedelai diklasifikasikan dalam 3 kelas, yaitu biji kecil (6-10 gram/100 biji), sedang (11-12 gram/100 biji), dan besar (13 gram atau lebih/100 biji) (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).



Gambar 2.5. Morfologi biji kedelai (Dokumentasi Pribadi)

2.2 CPMMV (*Cowpea Mild Mottle Virus*)

CPMMV pertama kali ditemukan oleh Brunt dan Kanten pada tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata* (L.)) di Ghana pada tahun 1973 tetapi dilaporkan di Nigeria pada tahun 1980 (IITA, 1980; Taiwo, 2001). CPMMV berbentuk partikel filamen berukuran panjang sekitar 650 nm dan diameter 13 nm, oleh karena itu virus ini masuk dalam anggota dari kelompok Carlavirus, CPMMV ditransmisikan secara *non-persistent* oleh kutu kebul (*Bemisia tabaci*), virus ini masuk dalam genus *Carlavirus* dalam family *Betaflexiviridae* (Tavasoli, 2009). Transmisi *non-vector* dilakukan dengan inokulasi mekanis, transmisi dengan benih telah dibuktikan positif dalam sejumlah tanaman inang di negara yang berbeda, tetapi ada juga yang melaporkan negatif (Cabi dan Eppo, 1996)



Gambar 2.6. Partikel CPMMV dalam sap daun kacang panjang (Brito, 2012)

Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill.), kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), kacang tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.), kacang luas (*Vicia faba* L.) dan tembakau (*Nicotiana clevelandii* Gray.) telah dilaporkan sebagai tanaman inang diagnostik dari CPMMV (Demski dan Kuhn, 1989; Reddy, 1991). Urutan lengkap genom CPMMV terdiri dari 8.127 nukleotida (nt) termasuk 3' terminal poly (A) tail. Wilayah 5'-tidak diterjemahkan (UTR) dengan panjang 73 nt. Genom CPMMV terdiri dari RNA beruntai tunggal dari Mr $2,5 \times 10^6$ dengan enam *open reading frame* (ORF) yang mengkode protein diduga sebagai berikut : methyltransferase (Mt), *papain-like protease* (P-Pro), helikase (Hel), RNA-dependent, RNA polimerase (Pol), protein mantel (CP), nukleat acid binding protein (NB), dan tiga *triple gene block* (TGB) (Nolt *et al.*, 1997).

Tabel 2.1. Frame baca terbuka putatif (ORF) pada CPMMV

ORF	Protein	Berat Molekul	Fungsi
ORF1	Methyltransferase a, sebuah peptidase C23, sebuah helikase virus dan RNA polimerase RNA-dependent	209, 6 kDa	Replikasi
ORF2	<i>Three gene block</i>	25,9 kDa	Perpindahan virus antar sel
ORF3	<i>Three gene block</i>	13,7 kDa	Perpindahan virus antar sel
ORF4	<i>Three gene block</i>	7.5 kDa	Perpindahan virus antar sel
ORF5	Protein mantel (CP)	32,3 kDa	
ORF6	Asam nukleat binding protein	11,7 kDa	
ORF6	-	-	Regulator transkripsi virus

(Gramstat, 1990).

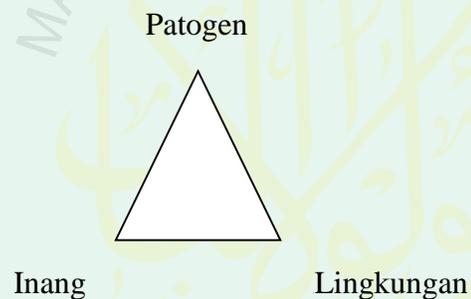
CPMMV merupakan Virus yang memiliki asam nukleat berupa RNA dan *positive sense*, berarti RNA-nya langsung bertindak sebagai mRNA. Dalam replikasinya, komponen-komponen inang yang diperlukan oleh mRNA virus untuk mensintesis protein antara lain adalah energi (ATP), 80 S ribosom sitoplasma, mRNA dan tRNA inang, beberapa molekul protein, mineral dan enzim polimerase. Pada mulanya, genom virus mempengaruhi metabolisme inang untuk mensintesis protein yang akan digunakan untuk keperluan replikasinya, enzim tersebut adalah polimerase (inang), RNA dependent RNA polimerase yang digunakan untuk mentranskripsi RNA dari RNA cetakan, replikasi guna mengkopikan keseluruhan genom RNA utuh. Dengan menggunakan enzim-enzim tersebut, secara umum proses awal terjadinya infeksi oleh virus yang memiliki ss-RNA *positive sense* adalah:

1. Sesaat setelah partikel virus masuk sel, RNA akan dibebaskan dari protein mantel dan menuju ke mRNA inang untuk bergabung. Pada awalnya, virus menggunakan RNA polimerase inang untuk menginisiasi transkripsi RNA polimerase virus. Virus (+) sense RNA akan langsung bertindak sebagai mRNA
2. RNA polimerase yang disandi virus digunakan untai RNA-tetunya untuk mentranskripsi kopinya menjadi untai negative sense RNA, dan berfungsi sebagai cetakan untuk membuat replika
3. Masing-masing untai positif dan negatif menggunakan enzim polimerase yang dihasilkan virus untuk mensintesis untai RNA keturunannya melalui suatu bentuk *replicative intermediate* (RI) dari RNA
4. Kopi RNA yang belum lengkap (parsial) disintesis menjadi molekul dengan panjang penuh dan kemudian bertindak sebagai monosistronik *messenger coat protein* yang akan mensintesis subunit-subunit protein untuk keperluan penyusunan protein mantel dalam jumlah banyak
5. Subunit protein akan bergabung dengan untai RNA bebas sehingga terakit sejumlah keturunan partikel virus yang terakumulasi dalam sitoplasma sel (Wahyuni, 2005).

Akin (2003) menjelaskan bahwa secara umum virus dapat menyebabkan penyakit pada tanaman dengan cara mengganggu substansi sel inang, mengganggu komponen dan proses fisiologis dalam sel, memenuhi ruangan dalam sel dan mengganggu proses metabolisme tanaman.

2.3 Interaksi CPMMV dan Tanaman Kedelai

Timbulnya penyakit diketahui sebagai hasil interaksi antara patogen, inang, dan lingkungan yang sering dinyatakan dalam bentuk hubungan segitiga (Gambar 2.7). Baik patogen maupun inang bersifat variabel dari segi genetik, aksi dan reaksi mereka dimodifikasi oleh lingkungan. Pengaruh keadaan lingkungan terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus terutama adalah terhadap inang, mengingat virus tidak dapat mengadakan metabolisme sendiri (Bos, 1994).



Gambar 2.7. Interaksi antara patogen, inang dan lingkungan (Bos, 1994)

Di alam tidak semua jenis tumbuhan dapat diinfeksi oleh virus tertentu, karena tumbuhan tersebut bukan inangnya, dan interaksinya dengan tumbuhan tersebut adalah tidak serasi. Reaksi tidak serasi ini terjadi pada tumbuhan tahan dengan seluruh bagian tumbuhan akan memberikan reaksi ketahanan yang bersifat sistemik bila diserang patogen. Apabila interaksi inang patogen bersifat serasi, maka virus dapat menginfeksi tumbuhan inang (Wahyuni, 2005)

Serangan CPMMV berpengaruh pada beberapa karakter agronomis kedelai seperti ukuran biji kecil, serta jumlah cabang, buku subur, polong, dan biji sedikit

(Kuswantoro, 2009). El-Hammady *et al.*, (2004) melaporkan adanya penurunan bobot biji sampai 36%. Berkurangnya bobot biji terjadi selain karena ukuran biji menjadi kecil, juga karena butiran biji biasanya menjadi lebih pipih yang dapat dianggap sebagai biji yang tidak normal. Zubaidah *et al.*, (2006) juga mengatakan bahwa serangan CPMMV dapat mengakibatkan pengurangan tinggi tanaman sampai mengakibatkan terjadinya pengerdilan (Gambar.2.8)



Gambar 2.8. Gejala kerdil pada tanaman kedelai (Dokumentasi Pribadi)

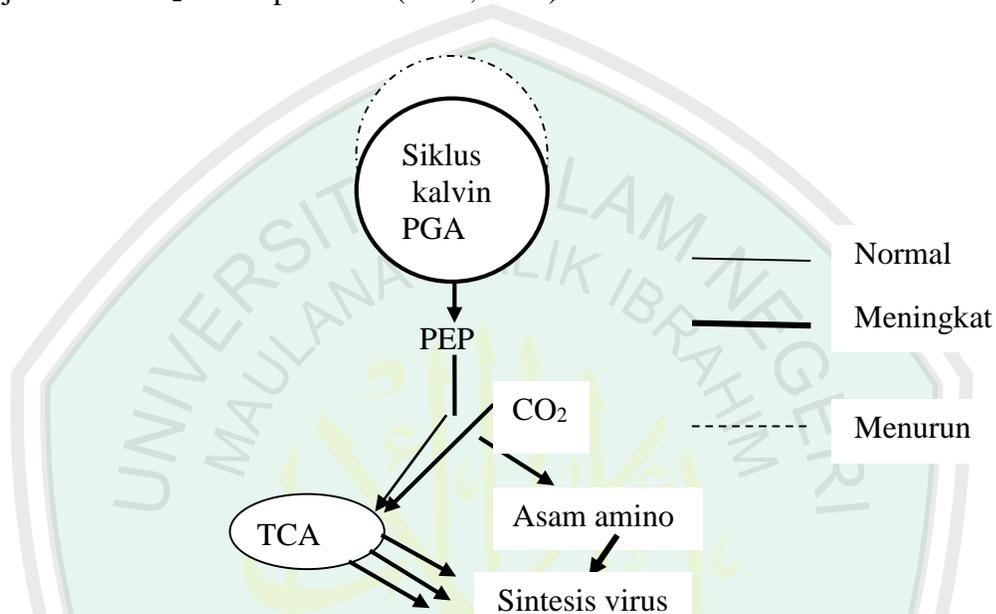
Akin (2006) menyebutkan bahwa Infeksi virus secara umum akan mengurangi pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman inang. Banyak penelitian infeksi virus menurunkan pertumbuhan tanaman, menurunkan hasil dan komponen hasil tanaman. Beberapa mekanisme virus menyebabkan berkurangnya pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan oleh gejala kerdil. Tiga mekanisme fisiologi yang dapat menimbulkan penghambatan pertumbuhan tanaman, yaitu perubahan aktivitas hormon pertumbuhan tanaman, berkurangnya hasil fotosintesis yang dapat dimanfaatkan tanaman, dan berkurangnya kemampuan tanaman dalam pengambilan nutrisi.

Penurunan hasil oleh virus terutama disebabkan terjadinya penurunan fisiologi tanaman kedelai seperti tingginya laju transpirasi tanaman sebagai akibat rusaknya daun, tingginya aktivitas respirasi dan rendahnya aktivitas fotosintesis sebagai akibat penurunan jumlah klorofil dan kerusakan stomata. Penurunan efisiensi klorofil dan penurunan pertumbuhan daun serta masih banyak lagi proses metabolisme dalam tanaman yang dihambat akibat serangan virus (Zubaidah *et al.*, 2006). Agrios (1996) menyebutkan bahwa patogen sering menyebabkan ketidak seimbangan dalam sistem hormonal tumbuhan dan sering menyebabkan respon pertumbuhan hormonal yang tidak sesuai dengan pertumbuhan tanaman sehat. Patogen juga dapat mempengaruhi sistem pengatur tumbuh dari tumbuhan terinfeksi yang dapat dibuktikan dengan berbagai respon pertumbuhan yang abnormal dari tanaman seperti kerdil dan terhambatnya pertumbuhan tunas.

Akin (2006) lebih lanjut menjelaskan mekanisme penurunan fotosintesis pada tanaman terinfeksi virus yang menunjukkan gejala mosaik atau menguning merupakan akibat efisiensi kloroplas yang menurun. Pada daun yang terinfeksi virus akan terjadi perubahan bentuk, ukuran, dan penggumpalan kloroplas, serta penumpukkan pati. Infeksi virus mengakibatkan terjadinya penurunan proses biokimia kloroplas, serta penurunan pigmen fotosintesis lainnya, seperti karoten dan xantofil, infeksi virus juga akan menurunkan kandungan klorofil total daun.

Selama replikasi virus, CO₂ yang pada fotosintesis tanaman normal seharusnya menjadi karbohidrat, pada tanaman terinfeksi virus cenderung mengarah menjadi asam

organik, seperti asam amino (Gambar.2.9). Infeksi virus juga menyebabkan jumlah dan aktivitas ribulose-1,5-bifosfat karboksilase menurun. Infeksi virus akan menurunkan laju fiksasi CO₂ mencapai 50 % (Akin, 2006).



Gambar 2.9. Skema dampak infeksi virus pada fotosintesis tanaman (Goodman *et al.*, 1996; Akin, 2006)

Infeksi virus biasanya akan merusak ukuran dan jumlah butir-butir pati dalam sel daun. Perubahan sitologi yang terjadi secara umum dibedakan menjadi dua macam: kerusakan dan modifikasi isi sel, dan terbentuknya benda-benda asing (badan inklusi). Badan inklusi seringkali dikaitkan dengan tumbuhan yang terinfeksi virus. Ada beberapa pendapat tentang badan inklusi, badan inklusi merupakan hasil langsung tumbuhan sebagai akibat infeksi virus, badan inklusi merupakan protoplasma sel yang mengalami koagulasi sebagai mekanisme pertahanan dari inang, dan badan inklusi merupakan stadium awal dari pembentukan virion yang terdiri atas kristal-kristal virus yang teragregasi (Wahyuni, 2005).

Mekanisme terbentuknya badan inklusi dalam sel-sel terinfeksi adalah, beberapa saat setelah terjadinya infeksi, gerakan sitoplasma meningkat, diikuti dengan terbentuknya granula yang berisi material sel dalam sitoplasma. Granula-granula ini bergerak cepat, masing-masing bergabung membentuk suatu granula yang besar. Pada tingkatan selanjutnya, granula menuju vakuola, dan bila vakuola sudah penuh berisi granula bergerak ke dekat inti sel. Vakuola juga dapat dijumpai di dekat mitokondria dan globula-globula minyak (Wahyuni, 2005).

Brunt dan Phillips (1981) juga melaporkan bahwa CPMMV menyebabkan bercak klorosis menyebar pada daun primer, bintik sistemik dan distorsi daun. Pada kacang tanah, menyebabkan lesi nekrotik, cincin klorosis atau pola garis diikuti oleh klorosis daun sistemik, daun menggulung dan nekrosis urat daun. Klorosis daun umum diikuti oleh nekrosis apikal, distorsi dan pengerdilan (Gambar 2.10).

Zubaidah (2006) menyebutkan bahwa CPMMV dapat menyebabkan gejala daun bercak-bercak kuning, mosaik halus atau mosaik kasar, berkerut-kerut, klorosis, nekrosis apikal dan malformasi daun, tergantung pada kultivar kedelai yang terinfeksi.



Gambar. 2.10. Klorosis lokal pada kacang tunggak terinfeksi CPMMV (A), gejala mosaik dan distorsi daun kedelai terinfeksi CPMMV (B), mosaik atau bintik kedelai terinfeksi CPMMV (C) (Tavassoli *et al.*, 2008).

Wahyuni (2005) menjelaskan bahwa secara umum diketahui bahwa sel yang baru saja terinfeksi akan kehilangan klorofil dan pigmen-pigmen lain. Sel ini kemudian mengalami klorosis sehingga timbul lesio klorosis setempat (*chlorotic localization*). Bagian yang mengalami klorosis lebih pucat dari bagian sekitarnya. Bagian di sekeliling lesio biasanya mengandung klorofil lebih banyak dari pada jaringan di sekitarnya. Jaringan yang membentuk lesio yang mati disebut lesio nekrotik lokal.

Secara teori, lesio lokal antara lain terbentuk karena terjadinya deposit kalose dalam sel, penebalan dinding sel yang terjadi secara fisik karena lignifikasi, sintesis molekul antibiotik vakuola, dan sintesis molekul-molekul protein tertentu, misalnya hydrolase dinding sel. Hal ini menyebabkan lamela tengah dinding sel yang terdiri atas pektin mengalami kelasi. Pektin akan terurai menjadi asam pektat, diikat oleh ion Ca^{2+} menjadi Ca-pektat dan menyebabkan sel mengalami pencoklatan (Wahyuni, 2005).

Perubahan morfologi juga dapat terjadi karena malformasi, yaitu perubahan bentuk bagian tumbuhan. Malformasi dapat berupa epinasti yaitu gerak membengkok ke bawah yang biasanya terjadi pada tangkai daun, sehingga posisi ujung daun membengkok arah ke tanah, dan distorsi yaitu pengurangan ukuran bagian tumbuhan. Gejala lain yaitu tumor, daun mengeriting (*leaf curl*), daun menggulung (*leaf roll*), roset, busuk atau nekrosis yang meluas, proliferasi, dan filodi (Wahyuni, 2005).

2.4 Macam-Macam Sifat Ketahanan Tanaman

Ketahanan tanaman inang terhadap hama, dapat bersifat: genetik, yaitu sifat tahan yang diatur oleh sifat-sifat genetik yang dapat diwariskan, morfologi, yaitu sifat tahan yang disebabkan oleh sifat morfologi tanaman yang tidak menguntungkan hama, dan ekologi, yaitu ketahanan tanaman yang disebabkan oleh pengaruh faktor lingkungan (Sumarno, 1992). Agrios (2005) juga menjelaskan bahwa mekanisme pertahanan inang terhadap patogen terdiri dari pertahanan struktural melalui hambatan fisik yang menekan patogen saat masuk ke dalam tanaman dan pertahanan biokimia sel serta jaringan tanaman dengan memproduksi substansi yang bersifat toksin terhadap patogen.

Sumarno (1992) menjelaskan bahwa berdasarkan susunan dan sifat-sifat gen, ketahanan genetik dapat dibedakan menjadi monogenik, yaitu sifat tahan diatur oleh satu gen dominan atau resesif, oligogenik, yaitu sifat tahan diatur oleh beberapa gen yang saling menguatkan satu sama lain, dan poligenik, yaitu sifat tahan diatur oleh banyak gen yang saling menambah dan masing-masing gen memberikan reaksi yang berbeda-beda terhadap biotipe hama sehingga mengakibatkan timbulnya ketahanan yang luas. Abadi (2004) selanjutnya menjelaskan bahwa ketahanan yang ditentukan oleh suatu gen (ketahanan monogen), atau yang ditentukan oleh sedikit gen (ketahanan oligogen) hanya efektif terhadap beberapa ras fisiologi atau strain patogen dan tidak menyebabkan ketahanan terhadap ras-ras lain. Ketahanan tipe ini sering disebut sebagai ketahanan gen utama (*major gene resistance*). Ketahanan inang hanya

berfungsi terhadap beberapa ras, tetapi tidak terhadap ras-ras lain dari patogen yang bersangkutan, ini adalah tipe ketahanan yang spesifik. Astuti (2012) contoh dari ketahanan monogenik ini adalah Kultivar padi unggul seperti PB 26, PB 28, PB 30, PB 34, dan Asahan yang merupakan kultivar padi yang tahan terhadap wereng coklat dengan gen ketahanan dominan Bph1.

Ketahanan genetik juga dapat dibedakan menjadi beberapa tipe yaitu ketahanan vertikal, yaitu ketahanan hanya terhadap satu biotipe hama, dan biasanya bersifat sangat tahan tetapi mudah patah oleh munculnya biotipe baru, ketahanan horizontal atau ketahanan umum, ketahanan terhadap banyak biotipe hama dengan derajat ketahanan “agak tahan”, dan ketahanan ganda, memiliki sifat tahan terhadap beberapa jenis hama (Sumarno, 1992).

Tipe ketahanan vertikal dikendalikan oleh gen tunggal (monogenik) atau oleh beberapa gen (oligogenik) dan hanya efektif terhadap biotipe hama tertentu. Secara umum sifat ketahanan vertikal mempunyai ciri-ciri: biasanya diwariskan oleh gen tunggal atau hanya sejumlah kecil gen, relatif mudah diidentifikasi dan banyak dipakai dalam program perbaikan ketahanan genetik, biasanya dikaitkan dengan hipotesis “gen for gen”, yang menghasilkan ketahanan genetik tingkat tinggi, tidak jarang mencapai imunitas, tetapi jika timbul biotipe baru maka ketahanan ini akan mudah patah dan biasanya tanaman menjadi sangat rentan terhadap biotipe tersebut, dan biasanya menunda awal terjadinya epidemi, tetapi apabila terjadi epidemi maka kerentanannya tidak akan berbeda dengan kultivar yang rentan (Sumarno, 1992).

Tipe ketahanan horizontal disebut juga ketahanan kuantitatif. Tanaman yang memiliki ketahanan demikian masih menunjukkan sedikit kepekaan terhadap hama tetapi memiliki kemampuan untuk memperlambat laju perkembangan epidemi. Secara teoritis, ketahanan horizontal efektif untuk semua biotip hama. Oleh karena itu, umumnya sulit dipatahkan meskipun muncul biotipe baru dengan daya serang yang lebih tinggi. Varietas dengan tipe ketahanan demikian dapat diperoleh dengan cara mempersatukan beberapa gen ketahanan minor ke dalam suatu varietas dengan karakter agronomik yang unggul melalui pemuliaan konvensional maupun non-konvensional. Ciri-ciri khusus ketahanan horizontal adalah: biasanya memiliki tingkat ketahanan yang lebih rendah dibandingkan dengan tipe ketahanan vertikal, dan jarang didapat imunitas, diwariskan secara poligenik dan dikendalikan oleh beberapa atau banyak gen, pengaruhnya terlihat dari penurunan laju perkembangan epidemi (Sumarno, 1992).

Matthews (1991) juga melaporkan bahwa mekanisme reaksi ketahanan tanaman terhadap infeksi virus dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu tanaman resisten, tanaman toleran, dan tanaman rentan. Tanaman resisten menunjukkan reaksi hipersensitif dengan mematikan sel-sel terlokalisasi pada tempat yang diinfeksi tanpa penyebaran virus lanjut sehingga pertumbuhan patogen dapat dibatasi. Pada tanaman toleran, virus dapat bereplikasi dan menyebar ke dalam tanaman tetapi pengaruhnya terhadap hasil hanya sedikit. Pada tanaman rentan, virus bereplikasi dan menyebar

kedalam tanaman yang mengakibatkan pengaruh terhadap hasil yang signifikan bahkan kematian pada tanaman.

2.5 Mekanisme Tanaman Toleran Patogen

Hasanuddin (1987) menjelaskan bahwa mekanisme toleran adalah suatu mekanisme ketahanan dimana virus dapat berkembang di dalam tanaman. Tetapi tidak memberikan dampak negatif terhadap tanaman yang tertular. Mekanisme avoidan terjadi melalui suatu mekanisme tertentu sehingga virus tidak dapat masuk ke dalam tanaman. Mekanisme lain adalah virus dapat masuk ke dalam sel tanaman tetapi tidak berkembang di dalam tanaman. Hal yang sama juga disampaikan oleh Goodman *et al.*, (1996) bahwa gen tahan terhadap infeksi virus bekerja dalam beberapa bentuk, antara lain berupa penekanan terhadap terjadinya infeksi penghambatan terhadap proses replikasi. Penghambatan penyebaran virus, mengurangi akumulasi partikel virus dengan menghambat perakitan dan stabilitas virus (Sumardiyono *et al.*, 2004)

Tanaman akan mempertahankan diri terhadap serangan patogen. Pertahanan tanaman dapat dilakukan secara fisik dan kimia (Lakani, 2008). Campbell (2003) menjelaskan bahwa garis pertahanan pertama adalah rintangan fisik “kulit” tumbuhan, yaitu epidermis tubuh tumbuhan primer dan periderm tubuh tumbuhan sekunder, namun sistem pertahanan pertama ini bukan tidak dapat ditembus, virus, bakteri, spora dan hifa pada fungi dapat memasuki tumbuhan melalui luka atau melalui pembukaan alamiah pada epidermis, seperti stomata. Sekali suatu patogen menginvasi, tumbuhan

akan mengeluarkan suatu serangan kimia sebagai garis pertahanan kedua yang membunuh patogen dan mencegah penyebarannya dari tempat infeksi. Sistem pertahanan kedua ini ditingkatkan oleh kemampuan tumbuhan yang diwariskan untuk mengenali patogen tertentu.

Resistensi spesifik terhadap penyakit didasarkan pada apa yang disebut pengenalan gen dengan gen, karena memerlukan kesesuaian yang tepat antara suatu alel dalam tumbuhan dengan suatu alel pada patogen. Suatu tumbuhan memiliki banyak gen R (untuk resistensi), dan setiap patogen memiliki sekumpulan *Avr*. Resistensi terjadi ketika tumbuhan memiliki suatu alel R dominan tertentu yang berhubungan dengan alel dominan *Avr* spesifik pada patogen. Gen R kemungkinan mengkode reseptor spesifik. Gen *Avr* menghasilkan senyawa yang berfungsi pada patogen yang juga bertindak sebagai ligan yang berikatan secara spesifik dengan reseptor sel inang tumbuhan. Penyakit timbul jika tidak terdapat pengenalan gen dengan gen karena patogen tersebut tidak memiliki alel *Avr* dominan yang sesuai dengan alel R pada tumbuhan, tumbuhan tidak memiliki alel R dominan yang sesuai dengan alel *Avr* pada patogen, atau baik patogen maupun tumbuhan tidak memiliki alel yang saling mengenal (Campbell, 2003).

Produk gen R kemungkinan merupakan suatu protein reseptor spesifik di dalam sel tumbuhan atau pada permukaannya. Gen *Avr* kemungkinan memproduksi beberapa molekul “sinyal” dari patogen, yaitu suatu ligan yang mampu berikatan secara spesifik dengan reseptor sel tumbuhan. Produk *Avr* diyakini memiliki beberapa fungsi yang

mana patogen tersebut bergantung padanya, tetapi tumbuhan itu mampu “mengunci” molekul ini sebagai pengumuman terhadap patogen tersebut. Pengikatan ligan pada reseptornya akan memicu suatu jalur transduksi sinyal yang menghasilkan respon pertahanan pada jaringan tumbuhan yang terinfeksi. Pertahanan ini meliputi baik peningkatan respon pada tempat infeksi maupun respon yang lebih umum pada keseluruhan tumbuhan itu (Campbell, 2003).

Tipe protein gen R dalam resistensi tanaman terhadap virus telah dikelompokkan, yaitu TIR-NBS-LRR (*Toll Interleukin-1 Resistance-Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat*) (Soosaar *et al.*, 2005). Ketahanan tanaman terinduksi adalah fenomena dimana terjadi peningkatan ketahanan tanaman terhadap infeksi oleh patogen setelah terjadi rangsangan, ketahanan ini merupakan perlindungan tanaman bukan untuk mengeliminasi patogen tetapi lebih pada aktivitas dari mekanisme pertahanan tanaman. Ketahanan terinduksi dikategorikan sebagai perlindungan secara biologi pada tanaman dimana tanaman adalah target metode ini bukan patogennya. Induksi resistensi atau imunisasi atau resistensi buatan adalah suatu proses stimulasi resistensi tanaman inang tanpa pengenalan gen-gen baru. Induksi resistensi menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif atau menstimulasi mekanisme resistensi alami yang dimiliki oleh inang (Lakani, 2008).

Ada dua bentuk ketahanan terinduksi yang umum yaitu SAR (*Systemic acquired resistance*) dan ISR (*Induced systemic resistance*) Ketahanan tanaman terinduksi

dapat dipicu dengan penambahan bahan-bahan kimia tertentu, mikroorganisme non patogen, patogen avirulen, ras patogen inkompatibel, dan patogen virulen yang infeksinya gagal karena kondisi lingkungan tidak mendukung. Ketahanan tanaman terinduksi karena penambahan senyawa kimia atau menginokulasikan patogen nekrotik sering diistilahkan dengan induksi SAR. Induksi SAR dicirikan dengan terbentuknya akumulasi asam salisilat (*salicylic acid*, SA) dan protein PR (*pathogenesis-related proteins*). Sedangkan ketahanan terinduksi karena agen biotik non-patogenik sering dikenal dengan ISR, seperti oleh rizobakteria (Lakani, 2008).

Serangan CPMMV akan menstimulasi ketahanan terinduksi tipe SAR. Pieterse *et al* (1996) menjelaskan bahwa beberapa ciri SAR antara lain, SAR diperoleh setelah inokulasi dengan necrotizing patogen, HR, atau aplikasi dari beberapa bahan kimia. Untuk menghadapi serangan patogen, membutuhkan asam salisilat sebagai molekul sinyal pada tanaman dan disertai dengan induksi *pathogenesis related protein*.

Mekanisme toleransi ini merupakan bentuk dari beberapa kekuasaan Allah terhadap semua makhluknya, Hal ini dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Ath-tholaq ayat 12 yang berbunyi:

اللَّهُ الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ وَمِنَ الْأَرْضِ مِثْلَهُنَّ يَتَنَزَّلُ الْأَمْرُ بَيْنَهُنَّ لِتَعْلَمُوْنَ أَنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ وَأَنَّ اللَّهَ قَدْ أَحَاطَ بِكُلِّ شَيْءٍ عِلْمًا ﴿١٢﴾

Artinya“ Allah-lah yang menciptakan tujuh langit dan seperti itu pula bumi. perintah Allah berlaku padanya, agar kamu mengetahui bahwasanya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu, dan Sesungguhnya Allah ilmu-Nya benar-benar meliputi segala sesuatu.”

Tafsir Qur'anul Majid menjelaskan kata **قَدِير** mempunyai makna sifat Allah yang kuasa atas segala sesuatu, dan kata **عَلِيمَا** yang bermakna sifat Allah yang maha mengetahui. Tidak ada sesuatupun yang tidak berlaku menurut kehendak dan pengetahuan Allah (Ash-shiddieqy, 2000). Quraish Shihab (2002) dalam buku tafsirnya Al-Misbah menjelaskan bahwa Allah ilmunya mencakup segala sesuatu, Dialah yang memerintahkan ketetapan-ketetapan hukum. Dia yang telah menurunkannya dan Dia mengetahui semua kondisi makhluk-Nya,. Ayat di atas dapat dimaknai bahwa Allah SWT mengetahui segala sesuatu dan proses yang terjadi dalam tubuh makhluknya termasuk proses fisiologis yang terjadi pada tumbuhan merupakan bentuk dari kekuasaan Allah.

Meskipun suatu tumbuhan terinfeksi oleh suatu galur virulen karena tumbuhan tersebut tidak memiliki resistensi genetik terhadap patogen virulen itu, tumbuhan itu dapat mengeluarkan serangan kimia terlokalisir sebagai tanggapan terhadap sinyal molekuler yang dibebaskan dari sel yang rusak akibat infeksi tersebut. Respon itu meliputi produksi senyawa antimikroba yang disebut fitoaleksin. Infeksi juga mengaktifkan gen yang menghasilkan protein PR. Beberapa protein ini adalah antimikroba, misalnya yang menyerang molekul dalam dinding sel sel bakteri, protein lain mungkin bisa berfungsi sebagai sinyal yang menyebarkan “berita” mengenai infeksi itu ke sel-sel tetangganya. Infeksi juga merangsang pengikatan silang molekul dalam dinding sel dan deposisi lignin, yaitu respon yang memasang barikade lokal yang memperlambat penyebaran patogen ke bagian lain pada tumbuhan (Campbell, 2003).

Tanaman tahan menghasilkan protein yang dapat menghambat enzim hidrolisis perusak sel yang dihasilkan patogen. Sel tanaman inang yang mengandung enzim hidrolisis, seperti glukonase dan kitinase, mampu merusak dinding sel patogen, yang menyebabkan inang tahan terhadap infeksi. Baik tanaman tahan maupun rentan menghasilkan fitoaleksin, tetapi tumbuhan yang tahan menghasilkannya lebih cepat dan lebih banyak (Semangun, 2001).

Deteksi dan pengenalan yang tepat dan cepat dari patogen yang potensial adalah langkah yang paling utama dalam usaha untuk melindungi tanaman dari serangan patogen. Tanaman memiliki suatu protein yang disebut protein reseptor (*plant receptors proteins*) yang dapat mengenali suatu senyawa yang dikeluarkan oleh patogen yang disebut elisitor. Elisitor di sini dapat berupa produk gen dari patogen, protein selubung virus, atau komponen dinding sel patogen lainnya. Interaksi inilah yang selanjutnya akan mendorong diaktifkannya mekanisme pertahanan tanaman. Kemungkinan mekanisme pertahanan konstitutif yang utama dari tanaman hanya untuk menghambat perkembangan patogen dan memberi kesempatan mekanisme pertahanan *inducible* (mekanisme pertahanan terinduksi) terekspresi (Agrios, 1997).

Pertahanan terinduksi ini termasuk pembentukan dinding sel tambahan dan menginduksi senyawa-senyawa toksik yang dapat mematikan sel tanaman dan patogen, sehingga perkembangan patogen dapat dihambat. Hasil dari respon ini dapat berupa reaksi hipersensitif yaitu suatu respon yang menginduksi kematian sel secara cepat mengelilingi patogen sehingga terlokalisasi (*apoptosis*). Selama respon ini

berlangsung, terjadi pengiriman signal ke bagian tanaman yang tidak terinfeksi untuk mengaktifkan mekanisme pertahanan *inducible* dan selanjutnya akan timbul resistensi yang sistemik (SAR) untuk mengurangi tingkat keparahan serangan (Agrios, 1997).

Campbell (2003) menjelaskan bahwa Respon pertahanan melawan suatu patogen avirulen terjadi melalui beberapa tahapan yaitu: resistensi spesifik didasarkan pada pengikatan ligan patogen ke reseptor sel spesifik pada jaringan tumbuhan yang terinfeksi, tahapan identifikasi ini memicu jalur transduksi sinyal (STP) yang menghasilkan respon hipersensitif (HR), pada HR, sel tumbuhan menghasilkan molekul antimikroba, yang menutup daerah terinfeksi dengan cara memodifikasi dindingnya, kemudian merusak selnya sendiri. Respon terlokalisir ini menyebabkan pelukaan dan pembengkakan yang ditunjukkan pada daun terinfeksi. Sel-sel yang terinfeksi membebaskan asam salisilat dan menyebarkannya ke seluruh bagian tumbuhan lain, kemudian sel tersebut mati. Pada sel-sel daun dan organ lain yang berada jauh dari tempat infeksi, pembawa pesan kimiawi memulai jalur transduksi sinyal yang mengaktifkan resistensi perolehan sistemik (SAR), SAR ini meliputi produksi molekul antimikroba yang membantu melindungi sel-sel tersebut untuk melawan berbagai patogen.

SAR dalam pertahanan tanaman terletak pada sistem interaksi elisitor dan regulasi yang terjadi pada tanaman model *Arabidopsis thaliana* (Yan, 2002). SAR tergantung pada tanaman dan elisitor patogen, ketahanan akan muncul pada periode tertentu dengan mengkorespondensikan waktu yang dibutuhkan untuk akumulasi PR-

protein dan produksi asam salisilat pada tanaman inang (Cameron *et al.*, 1994). SAR membutuhkan akumulasi asam salisilat atau PR-protein dalam sistem regulasi (Yan, 2002).

Asosiasi antara HR dan SAR merupakan ekspresi dari gen ketahanan yang mengkode PR-protein. Sintesis PR-protein dapat digunakan sebagai indikator dalam aktivasi mekanisme ketahanan tanaman (De Hu dan Klessig, 1997). Pemicu timbulnya respon hipersensitif pada tanaman yang terserang virus diduga berupa produksi asam salisilat setelah terjadi infeksi virus. Asam salisilat ini diproduksi beberapa menit setelah terjadi kontak antara sel tanaman dengan elisitor yang disekresikan oleh virus. Dengan memproduksi asam salisilat, maka tanaman akan mengaktifkan jalur mekanisme pertahanan dengan gen-gen yang terlibat akan diekspresikan, salah satunya adalah PR-*gene* yang akan menghasilkan protein yang dikenal dengan sebutan PR-protein, seperti yang dilaporkan van Loon (1985) dan Payne *et al.*, (1990). PR-protein adalah kelompok protein yang terlibat dalam mekanisme pertahanan tanaman baik pada keadaan infeksi antara tanaman dan patogen yang sesuai maupun yang tidak (Ashfield *et al.*, 1994). PR-Protein adalah kelompok protein karakteristik dari tanaman yang terakumulasi setelah adanya infeksi atau perlakuan elisitor (Faizah, 2010)

Naylor *et al.*, (1998) menyebutkan asam salisilat dapat mencegah perkembangan PVX (*Potato virus X*) dengan dua cara, yaitu menghambat replikasi virus pada daerah terinfeksi dan menunda perpindahan virus PVX untuk keluar dari jaringan atau sel yang terinfeksi. Lanjut Naylor *at al.*,(1998) penghambatan tersebut

terjadi dengan mengganggu translokasi fotosintat (karbohidrat) tanaman inang yang dapat dilihat pada metabolisme karbohidrat yang terganggu di sekitar infeksi virus. Pada tembakau, asam salisilat meningkat setelah terjadi serangan patogen *Tobacco mosaic virus* (TMV), yang berkorelasi dengan ekspresi gen PR. Menurut De Hu dan Klessig (1997) produksi asam salisilat digunakan untuk mengaktifkan respon ketahanan tanaman jagung hasil persilangan antara SA-CAT#17 dan tanaman yang mengandung NahG (Ye *et al.*, 1990).

Durrant (2004) menjelaskan bahwa sinyal SA dalam SAR disintesis dari chorismate melalui jalur isochorismate, Ekspresi gen penyandi enzim mengkatalis reaksi ini yaitu isochorismate sintase 1 (ICS1) dan isochorismate piruvat liase 1 (IPL1) pada tembakau dan *Arabidopsis* menyebabkan peningkatan akumulasi SA dan resistensi patogen. Untuk menanggapi sinyal SA, protein regulator positif NPR1 bergerak ke dalam nukleus dan berinteraksi dengan faktor transkripsi TGA untuk menginduksi ekspresi gen pertahanan, sehingga mengaktifkan SAR (Johnson *et al.*, 2003). Setelah paparan SA, NPR1 pada sitoplasma digerakkan ke dalam inti, dan mengikat Faktor TGA dan akibatnya menggantikan represor. Faktor NPR1-TGA kompleks kemudian direkrut untuk target promotor PR-1, sehingga pelepasan NPR1 dan peningkatan ekspresi gen ini (Johnson *et al.*, 2003).

Mekanisme lain resistensi tanaman terhadap virus adalah dengan *RNA Silencing*. Teknik RNA silencing adalah sebuah cara yang efektif untuk menguji fungsi biologi mRNA target pada tanaman. Berawal dari pemotongan (restriksi) *RNA* virus

yang beruntai ganda di dalam tanaman oleh enzim tanaman yang disebut *Dicer*. *RNA* akan terpotong menjadi kecil dengan ukuran antara 21 sampai dengan 24 nukleotida dan dinamai *siRNA* (*small interfering RNA*). *siRNA* ini lalu mengalami modifikasi yaitu dengan penambahan satu rantai *RNA* yang kemudian dikenali oleh *RISC* (*RNA-induced silencing complex*). Kompleks antara *RNA* dan protein (*ribonucleoprotein*) ini kemudian menghancurkan *RNA* virus (Hadiarto, 2008).

2.6 Pathogenesis related protein

Protein terkait pathogenesis (PR) pada tanaman umumnya diinduksi oleh berbagai jenis patogen seperti virus, bakteri, dan jamur (Van Loon, 1985; Sinha *et al.*, 2014). Beberapa protein ini juga berperan dalam respon terhadap beberapa bahan kimia yang bertindak dengan cara yang sama seperti infeksi patogen (Delaney *et al.*, 1994; Sinha *et al.*, 2014) Protein PR pertama kali diidentifikasi dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) terinfeksi virus mosaik tembakau dan kemudian telah terdeteksi di banyak tanaman (Van Loon dan Kammen, 1970; Sinha *et al.*, 2014) Protein-protein PR ini menunjukkan karakteristik biokimia yang berbeda yang diperlukan ketika tanaman berada di bawah infeksi patogen atau stres yang tidak diinginkan. Protein-protein PR mempunyai berat molekul rendah umumnya dalam kisaran 6-43 kDa, stabil pada pH rendah (<3) (Van Loon, 1985; Sinha *et al.*, 2014). Awalnya terdapat 5 kelompok protein PR yang telah diidentifikasi (Kitajima dan Sato, 1990) namun secara bertahap dengan identifikasi peningkatan protein PR baru, saat ini, diketahui terdapat

17 kelompok protein PR berdasarkan kesamaan urutan asam amino, aktivitas enzim, atau sifat biologis lainnya (Tabel.2) (Van Loon dan Strien, 1999; Sinha *et al.*, 2014).

Tabel 2.2. Klasifikasi dari patogenesis Related Protein

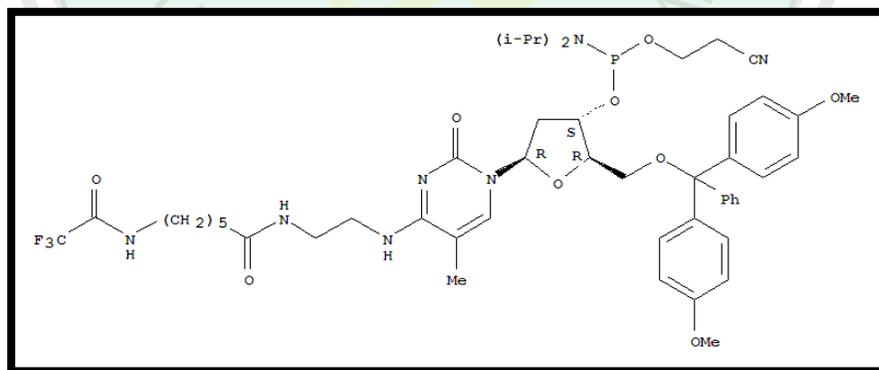
Kelompok	Protein	Fungsi
PR-1	PR-1 a, PR-1 b, and PR-1 c	Anti fungi
PR-2	β -1,3-Glucanase	Hidrolisis β -1,3-glukan
PR-3	Chitinase tipe I, II, IV, V, VI, and VII	Hidrolisis kitin
PR-4	Chitinase types I and II	Anti fungi dan hidrolisis kitin
PR-5	Thaumatin-like proteins	Antifungal
PR-6	Tomato proteinase inhibitor I	Proteinase inhibitor
PR-7	Tomato endoproteinase P	Hidrolisis protein
PR-8	Cucumber chitinase	Chitinase III
PR-9	Tobacco lignin-forming peroxidase	Metabolisme ROS (<i>Reactive oxygen species</i>) dan respon hipersensitif
PR-10	Parsley “PR-1” Bet v 1, Mal d 1, Api g 1, and Dau c 1	Hidrolisis Ribonuleat
PR-11	Tobacco chitinase type V	Chitinase
PR-12	Radish Rs-AFP3	Peptida antimikrobal
PR-13	Arabidopsis THI2.1	Toksik terhadap khamir (yeast), bakteri gram negatif, dan gram positif
PR-14	Lipid transfer proteins	Shuttling of phospholipids and fatty acids
PR-15	Barley OxOa	mengkatalisis konversi oksalat dan dioksigen menjadi hidrogen peroksida dan karbon dioksida
PR-16	Barley OxOLP	Oxalate-like oxidase
PR-17	Tobacco PRp27	Belum diketahui

(Sinha *et al.*, 2014).

2.7 Protein dan Analisis SDS-PAGE

Protein berasal dari bahasa Yunani “proteios” yang berarti pertama atau utama. Protein merupakan makromolekul yang menyusun lebih dari separuh bagian dari sel. Protein menentukan ukuran dan struktur sel, komponen utama dari sistem komunikasi antar sel serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel. Sebagian besar aktivitas penelitian biokimia tertuju pada protein khususnya hormon, antibodi, dan enzim (Fatchiyah dkk., 2011).

Protein merupakan suatu makromolekul kompleks yang tersusun dari rantai asam amino yang terikat melalui ikatan-ikatan peptida. Terdapat 20 macam asam amino yang membentuk badan dasar dari protein (Yatno, 2009). Satu asam amino terdiri atas satu gugus amino, satu gugus karboksil, satu atom hidrogen, dan satu rantai samping yang terikat pada atom karbon (Yuwono, 2005) (Gambar. 2.11).



Gambar 2.11. Struktur protein agglutinin

Protein adalah salah satu biomakromolekul yang penting perannya dalam makhluk hidup. Fungsi protein itu sendiri secara garis besar dapat dibagi ke dalam dua

kelompok besar, yaitu sebagai protein struktural, jenis protein ini berperan untuk menyangga atau membangun struktur biologi makhluk hidup dan protein fungsional yaitu protein yang berfungsi sebagai enzim, antibodi atau hormon yang bekerja pada tingkat molekular (Lehninger, 1982). Protein diperkenalkan sebagai molekul makro yang membawa keterangan genetik, karena urutan asam amino dari protein tertentu mencerminkan keterangan genetik yang terkandung dalam urutan basa dari bagian yang bersangkutan dalam DNA yang mengarahkan biosintesis protein. Tiap jenis protein memiliki ciri khas diantaranya susunan kimia yang khas, bobot molekular yang khas, dan urutan asam amino yang khas (Poedjiadi, 1994).

Semua jenis protein terdiri atas rangkaian dan kombinasi dari 20 jenis asam amino, setiap jenis protein mempunyai jumlah dan urutan asam amino yang khas. Di dalam sel, protein terdapat baik pada membran plasma maupun membran internal yang menyusun organel sel seperti mitokondria, retikulum endoplasma, nukleus dan badan golgi dengan fungsi yang berbeda-beda bergantung pada tempatnya (Koolman, 1994). Lehninger (1982) protein adalah ekspresi gen. Seperti juga terdapat ribuan gen didalam inti sel, masing-masing mencirikan satu sifat nyata dari organisme, didalam sel terdapat ribuan jenis protein yang berbeda, masing-masing membawa fungsi spesifik yang ditentukan oleh gen yang sesuai. Protein bukan hanya merupakan makromolekul yang paling berlimpah, tetapi juga amat bervariasi fungsinya. Hal ini sama dengan pernyataan Brock *et al.*, (1992) yang menyatakan bahwa protein merupakan ekspresi dari gen, karakter fenotip sebagai hasil interaksi antara faktor genotip dan lingkungan.

Protein merupakan kelompok biomakromolekul yang sangat heterogen. Ketika berada di luar makhluk hidup atau sel, protein sangat tidak stabil. Untuk mempertahankan fungsinya, setiap jenis protein membutuhkan kondisi tertentu ketika diekstraksi. Protein yang diekstraksi hendaknya dihindarkan dari proteolisis atau dipertahankan aktivitas enzimatisnya. Protein dapat juga dipisahkan satu dari yang lain oleh elektroforesis berdasarkan tanda dan jumlah muatan listrik pada gugus R dan gugus terminal amino dan terminal karboksil yang bermuatan. Rantai polipeptida protein mempunyai titik isoelektrik yang khas, yang akan mencerminkan jumlah relatif gugus R asam dan basa (Lehninger, 1982). Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang Bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian, elektroforesis dapat digunakan untuk pemisahan makromolekul (seperti protein dan asam nukleat) (Fatchiyah dkk., 2011).

Rodriguez (1996) dan Jemal *et al.*, (1998) mengatakan bahwa salah satu cara untuk mengetahui keberadaan protein dapat dilakukan dengan analisa profil protein. Analisis profil protein dapat dilakukan dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis*) yang merupakan metode pemisahan protein berdasarkan perbedaan berat molekulnya (Bollag *et al.*, 1991). Gel poliakrilamida dan agarosa merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk pemisahan protein dan asam nukleat, analisis SDS-PAGE merupakan prosedur dasar dalam banyak aplikasi analisis protein (Fatchiyah dkk., 2011).

Prinsip penggunaan metode SDS PAGE adalah migrasi komponen akril amida dengan N.N` bisakrilamida. Kisi-kisi tersebut berfungsi sebagai saringan molekul sehingga konsentrasi atau rasio akrilamid dengan bisakrilamid dapat diatur untuk mengoptimalkan kondisi migrasi komponen protein. Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein disamping untuk memonitor pemurnian protein (Wilson dan Walker, 2000). Penggunaan SDS-PAGE bertujuan untuk memberikan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis. Protein yang terdenaturasi sempurna akan mengikat SDS dalam jumlah yang setara dengan berat molekul protein tersebut (Dunn, 1989). Lebih lanjut Fatchiyah dkk., (2011) menjelaskan bahwa SDS merupakan detergen yang mempunyai sifat polar dan non polar yang dapat mengikat protein sedemikian rupa sehingga bagian non polar dari SDS tersembunyi ke dalam bagian non-polar (hidrofobik dari protein), sedangkan gugus sulfat dari SDS yang bermuatan negatif berhubungan langsung pada pelarut.