

Analisis Genetik Sifat Ketahanan terhadap *Tomato Leaf Curl New Delhi Virus* (ToLCNDV) pada Hasil Persilangan Interspesifik Squash dengan Pumpkin

Agung Adriansyah¹, Kuswanto^{2*}, dan Darmawan Saptadi²

¹PT. BISI International, Tbk.

Jl. Raya Pare-Wates KM 13 Desa Sumber Agung, Kecamatan Plosoklaten, Kediri 64175

²Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang 65145

*Alamat korespondensi: kuswantoas@ub.ac.id

INFO ARTIKEL	ABSTRACT/ABSTRAK
Diterima: 26-10-2022 Direvisi: 05-12-2022 Dipublikasi: 30-12-2022	Genetic Analysis of Resistance to <i>Tomato Leaf Curl New Delhi Virus</i> (ToLCNDV) in Interspecific Squash Cross with Pumpkin
Keywords: Dominant epistasis, Interspecific, Recessive epistasis, ToLCNDV	Assembling resistant varieties through interspecific cross between <i>Cucurbita maxima</i> (squash) and <i>Cucurbita moschata</i> (pumpkin) is an attempt to obtain <i>Tomato leaf curl New Delhi virus</i> (ToLCNDV) resistant squash. The interspecific cross produces individuals with squash characteristics and also individuals with combined squash and pumpkin characteristics. Tests with SSR markers were carried out to determine the success of interspecific cross in each individual plant P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ) and F1 (PK). Pool DNA samples were amplified with 10 pairs of polymorphic SSR primers that could distinguish P1(SQ) and P2 (PK) DNA patterns in previous tests, namely CMTm7, CMTm48, CMTm52, CMTm54, CMTm60, CMTm65, CMTm102, CMTp175, CMTp201, and CMTp245. The amplification results were then visualized with 2% agarose gel. The results showed that the squash and pumpkin (F1) cross a heterozygous pattern at 10 SSR loci. Segregation analysis using the Chi-square test showed that there was a pattern of gene interaction having a ratio of 3 Resistant-(AABB, AaBB) : 1 Susceptible-(aaBB), which indicated that the trait was controlled by one pair of dominant genes. In addition, the pattern of interaction of genes controlling the resistance of cross between susceptible parents (squash) and resistant parents (pumpkin) followed the pattern 13 Resistant-(A---, --bb) : 3 Susceptible-(aaB-), which indicated that resistance was controlled by one dominant gene and one recessive gene which interacted epistatically.
Kata Kunci: Dominan epistasis, Interspesifik, Resesif epistasis, ToLCNDV	Perakitan varietas tahan melalui kegiatan persilangan interspesifik antara <i>Cucurbita maxima</i> (squash) dengan <i>Cucurbita moschata</i> (pumpkin) merupakan upaya untuk mendapatkan squash tahan <i>Tomato Leaf Curl New Delhi Virus</i> (ToLCNDV). Persilangan interspesifik tersebut menghasilkan individu yang berkarakter squash dan juga individu yang berkarakter gabungan squash dengan pumpkin. Pengujian dengan penanda SSR dilakukan guna mengetahui keberhasilan persilangan interspesifik pada masing-masing individu tanaman P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ) dan F1 (PK). Pool DNA sampel diamplifikasi dengan 10 pasang primer SSR polimorf yang dapat membedakan pola DNA P1(SQ) dan P2 (PK) pada pengujian sebelumnya yaitu CMTm7, CMTm48, CMTm52, CMTm54, CMTm60, CMTm65, CMTm102, CMTp175, CMTp201, dan CMTp245. Hasil amplifikasi kemudian divisualisasi dengan 2% gel agarosa. Hasil pengujian menunjukkan bahwa hasil persilangan squash

dengan pumpkin (F1) terdapat pola heterozigot di 10 lokus SSR. Analisis segregasi dengan menggunakan Uji Khi-kuadrat menunjukkan bahwa terdapat pola interaksi gen memiliki nisbah 3 Tahan-(AABB, AaBB) : 1 Rentan-(aaBB), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu pasang gen dominan penuh. Selain itu pola interaksi gen-gen pengendali ketahanan hasil persilangan antara tetua rentan (squash) dan tetua tahan (pumpkin) mengikuti pola 13 Tahan-(A---, --bb) : 3 Rentan-(aaB-), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu gen dominan dan satu gen resesif yang berinteraksi secara epistasis.

PENDAHULUAN

Squash merupakan salah satu cucurbit yang banyak ditanam dan menjadi jenis sayuran penting di seluruh dunia (Yeşil, 2014). Namun demikian, infeksi virus pada tanaman cucurbit, termasuk tanaman squash, menjadi salah satu kendala produksi yang sangat penting (Lestari & Nurhayati, 2014; Yeşil, 2014). Gejala penyakit virus pada tanaman squash termasuk daun yang menjadi keriting, pertumbuhan terhambat dan kadangkala membuat buah menjadi berukuran kecil dengan bentuk tidak beraturan. Pada tanaman squash, virus yang menyerang termasuk dalam famili Geminiviridae genus *Begomovirus*. Penyakit yang disebabkan oleh *Begomovirus* di Indonesia dilaporkan cukup banyak pada beberapa pertanaman hortikultura, seperti *Tomato leaf curl virus* (ToLCV), dengan kerugian dan kehilangan hasil yang cukup besar bahkan insidensi penyakit ada yang mencapai 100% (Haerunisa dkk., 2016; Septariani dkk., 2014). Sejak tahun 2008, pertanaman mentimun di Klaten Jawa Tengah, terserang penyakit daun keriting kuning. Daun mentimun mengalami mosaik hijau kekuningan. Penyakit tersebut berasosiasi dengan infeksi *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) dan telah menyebar ke beberapa kabupaten lainnya antara lain Bogor, Tegal, Sukoharjo, dan Sleman (Mizutani *et al.*, 2011).

ToLCNDV merupakan *Begomovirus bipartite* yang ditransmisikan secara persisten oleh kutukebul/*silverleaf whitefly* (*Bemisia tabaci*) (Ramazani *et al.*, 2022). *Begomovirus* sangat sulit untuk dikontrol karena selain memiliki kisaran inang yang luas juga populasi kutukebul sebagai vektor yang umumnya sangat tinggi. *Begomovirus* sangat penting di daerah tropis dan sub-tropis karena faktor iklim yang mendukung penggandaan dan kemampuan vektor untuk mentransmisikan virus pada tanaman inang lainnya (Snehi *et al.*, 2016). Mengingat kesulitan manajemen kutukebul,

penyebaran kultivar tahan akan menjadi pilihan terbaik dalam upaya untuk mencegah kerugian produksi yang disebabkan oleh ToLCNDV. Namun, pendekatan ini pertama-tama membutuhkan pencarian yang mendalam untuk genotipe tahan di antara variabilitas genetik spesies tanaman dan kerabat dekatnya. Beberapa upaya telah dilakukan dalam pencarian Resistensi ToLCNDV pada tanaman cucurbit. Tanaman yang memiliki resistensi terhadap ToLCNDV diantaranya adalah lufa (*Luffa aegyptiaca*, syn. *L. cylindrica*), melon (*Cucumis melo*) dan labu kuning (*Cucurbita moschata*) (Islam *et al.*, 2010; Sáez *et al.*, 2016, 2017).

Pemuliaan tanaman dengan persilangan dapat digunakan untuk mengembangkan kultivar tanaman yang tahan terhadap serangan hama dan penyakit, dengan mempertimbangkan gen-gen ketahanan yang telah teridentifikasi (Crowder, 1990). Persilangan interspesifik dilakukan untuk mendapatkan karakter baru yang tidak dimiliki oleh induk tanaman dan dapat digunakan untuk menambah keragaman genetik serta memperoleh sifat ketahanan terhadap hama dan penyakit (Warda & Waluyo, 2020). Keturunan F1 hasil persilangan interspesifik merupakan kombinasi dari kedua induk atau membawa sifat unggul dari salah satu induk. Perkembangan kultivar interspesifik masih sangat sedikit. Umumnya persilangan dalam genus yang sama berhasil dilakukan akan tetapi juga bisa mengalami kegagalan pembentukan embrio pada keturunan yang dihasilkan (Rakha *et al.*, 2012). Tanaman *Cucurbita* spp. hasil persilangan interspesifik dapat menghasilkan peningkatan dalam pengendalian penyakit, toleransi suhu ekstrim, toleransi garam, hingga serapan hara yang efisien (Uretsky, 2012).

Upaya yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan persilangan interspesifik antara *Cucurbita maxima* dengan *Cucurbita moschata* dengan harapan gen resistensi terhadap ToLCNDV dapat terintrogesi pada squash. Dari

proses persilangan tersebut akan didapatkan informasi tentang aksi gen yang ada. Aksi gen nantinya akan berguna dalam proses pengembangan squash tahan ToLCNDV. Persilangan interspesifik antara squash dengan pumpkin dapat dilakukan, F1 yang dihasilkan dari persilangan tersebut memiliki karakter gabungan antara squash dengan pumpkin. Selain itu juga didapatkan hasil persilangan interspesifik tersebut memiliki karakter mirip dengan squash. Oleh karenanya hasil persilangan interspesifik antara *C. maxima* dengan *C. moschata* perlu dibuktikan secara molekuler menggunakan penanda SSR guna memastikan bahwasanya F1 yang dihasilkan bersifat heterozigot yang memiliki ketahanan terhadap ToLCNDV. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberhasilan persilangan interspesifik sekaligus mengetahui aksi gen ketahanan terhadap ToLCNDV.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Pujon Kabupaten Malang. Pelaksanaan awal adalah pembentukan materi genetik F2BC1P1 (hal ini dilakukan karena hasil persilangan interspesifik mengakibatkan tidak adanya benangsari pada bunga jantan) yang dilaksanakan pada bulan Januari sampai September 2021. Pembentukan F2BC1P1 berasal dari BC1P1 yang tahan ToLCNDV. Evaluasi ketahanan terhadap ToLCNDV pada populasi P1 (squash), P2 (pumpkin), F1, BC1P1 dan F2BC1P1 dilakukan pada bulan November 2021 sampai Februari 2022 di rumah biakan kutukebul PT. BISI International Tbk. Lokasi berada di Desa Ngroto Kecamatan Pujon, Kabupaten Malang, Jawa Timur.

Pengujian ketahanan tanaman terhadap ToLCNDV dilakukan dengan menggunakan serangga *B. tabaci* sebagai vektor. Hal ini dikarenakan ToLCNDV tidak dapat ditularkan secara mekanik, sehingga memerlukan serangga vektor dalam penularannya. Pengujian dilakukan dengan menyiapkan serangga vektor non virulivir yang diperoleh dari rearing serangga *B. tabaci* pada tanaman kapas di kotak yang memiliki *screen* dengan ukuran 60 x 60 x 60 cm dengan tinggi kaki kotak 10 cm. Virus target dilakukan identifikasi dengan PCR, tanaman dari lapang yang teridentifikasi positif ToLCNDV selanjutnya diperbanyak pada tanaman squash. Benih uji disemai pada polibag semai, menggunakan media *cocopeat* dan pupuk kandang sapi dengan perbandingan 2:1.

Bibit yang berumur 9 hari atau memiliki 2 daun sejati kemudian dipindahkan pada *tray* yang tertutup plastik untuk dilakukan aklimatisasi. Kutukebul dibiarkan berada pada tanaman inokulum selama 48 jam untuk makan akuisisi. Kemudian kutukebul tersebut dipindahkan sebanyak 10 ekor per tanaman uji untuk diberikan makan inokulasi selama 48 jam (Gasyanto dkk., 2015) dan serangga vektor dimatikan dengan insektisida. Tanaman uji selanjutnya dipindahkan ke polibag yang sesuai dengan karakter tanaman, untuk dilakukan inkubasi selama 14 hari. Pengamatan reaksi tanaman dilakukan 1-30 hari setelah inokulasi (HSI) dengan interval pengamatan 7 hari.

Percobaan Laboratorium

Untuk mengetahui keberhasilan pembentukan F1 yang bersifat heterozigot, secara molekuler dilakukan menggunakan 10 penanda SSR. Hal ini dikarenakan persilangan interspesifik yang dilakukan menghasilkan dua tipe individu, yang pertama berkarakter seperti squash dan yang kedua berkarakter gabungan antara squash dan pumpkin. Berikut tahapan pengujian yang dilakukan adalah melakukan isolasi DNA dilakukan pada masing-masing individu tanaman P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ) dan F1 (PK). Kemudian Pool DNA sampel diamplifikasi dengan 10 pasang primer SSR polimorf yang dapat membedakan pola DNA P1(SQ) dan P2 (PK) pada pengujian sebelumnya yaitu: CMTm7, CMTm48, CMTm52, CMTm54, CMTm60, CMTm65, CMTm102, CMTp175, CMTp201, dan CMTp245. Hasil amplifikasi kemudian divisualisasi dengan 2% gel agarosa. Profil DNA antara sampel P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ), F1(PK) dianalisis untuk mengetahui pola fragmen DNA di masing-masing sampel.

Analisis Data

Peubah yang diamati adalah insidensi penyakit dihitung pada 1-30 HSI dengan interval pengamatan 7 hari menggunakan rumus sebagai berikut: $IP = n/N \times 100\%$ dengan insidensi penyakit (IP), jumlah tanaman yang sakit (n), dan jumlah seluruh tanaman (N). Intensitas serangan ToLCNDV diamati dengan menghitung jumlah tanaman yang bergejala dan tanaman sehat dalam satu populasi mulai 7 HSI sampai fase generatif dengan interval pengamatan tiga hari sekali. Metode yang digunakan dalam pengamatan intensitas serangan ToLCNDV adalah metode nisbi yang beracuan pada tingkat keparahan penyakit/*disease*

severity (DS) (Yusnita & Sudarsono, 2004). Nilai DS diperoleh dengan rumus $DS = (n \times v) / (N \times V) \times 100\%$ yang merupakan akumulasi (Σ) indeks keparahan penyakit (v) pada tiap individu tanaman yang diamati (n) dibandingkan dengan jumlah keseluruhan tanaman yang diamati (N) dan indeks keparahan penyakit tertinggi (V). Indeks keparahan penyakit diamati dari tiap individu tanaman dengan memberi skor 0 sampai 4 (Tabel 1). Skor keparahan penyakit berdasarkan ketentuan yang digunakan Mosegosa *et al.* (2020). Data hasil perhitungan pada masing-masing nomor uji kemudian dikelompokkan sesuai kategori respon tanaman terhadap serangan ToLCNDV untuk menentukan tingkat ketahanannya menurut López *et al.* (2015) dengan modifikasi (Tabel 2).

Tabel 1. Skor keparahan penyakit yang diakibatkan oleh ToLCNDV

Skor	Keterangan
0	Tanaman tidak menunjukkan gejala virus
1	Sedikit menguning pada daun dan pertumbuhan normal
2	Daun menguning, mozaik ringan dan pertumbuhan tanaman normal
3	Keriting, menguning dan mozaik pada daun, pertumbuhan kerdil
4	Daun menguning dan mozaik di seluruh tanaman, kerdil dan pertumbuhan terhambat

Jumlah faktor efektif pengendalian ketahanan *C. maxima* terhadap virus, diduga berdasarkan pada sebaran frekuensi populasi F2BC1P1. Frekuensi F2 diuji apakah mengikuti sebaran normal atau tidak. Jika nilai χ^2 hasil perhitungan lebih kecil daripada χ^2 tabel, maka sebaran populasi F2 mengikuti nisbah yang diharapkan. Uji normalitas sebaran frekuensi F2 dilakukan dengan menggunakan metode Shapiro dan Wilk (1965). Jika sebaran frekuensi F2

membentuk sebaran terusan satu puncak dan menyebar normal, maka sifat yang ditelaah dikendalikan oleh banyak gen minor. Sebaliknya jika tidak mengikuti sebaran normal, maka kemungkinan ada peran gen mayor yang mengendalikan sifat tersebut. Untuk mengetahui jumlah gen mayor pengendali ketahanan terhadap ToLCNDV pada cucurbita maka sebaran frekuensi tersebut dibandingkan dengan nisbah tertentu dengan menggunakan uji khi kuadrat (χ^2).

Tabel 2. Klasifikasi ketahanan tanaman terhadap infeksi ToLCNDV

Keparahan penyakit (%)	Kategori ketahanan
0	Sangat tahan (high resistance)
$x \leq 10$	Tahan (resistance)
$10 < x \leq 20$	Moderat tahan (moderately resistance)
$20 < x \leq 30$	Moderat rentan (moderately susceptible)
$30 < x \leq 50$	Rentan (susceptible)
$x > 50$	Sangat rentan (high susceptible)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman squash yang diinokulasi mulai menunjukkan gejala pada 5 HSI. Gejala infeksi ToLCNDV pada squash diawali dengan terbentuknya bintik-bintik kuning pada daun, dan gejala selanjutnya berupa klorosis yang jelas dan daun menggulung ke bawah pada gejala lanjut tanaman mengalami keriting dan kerdil (Gambar 1). Gejala infeksi virus yang ditularkan lewat kutukebul pada tanaman lain juga dilaporkan memiliki kemiripan, pada tanaman melon gejala diawali semburat kuning disertai sedikit keriting pada tepi daun (Hermawan dkk., 2014).



Gambar 1. Gejala tanaman squash akibat infeksi ToLCNDV 1 = muncul semburat kuning disertai sedikit keriting, 2 = klorosis pada daun terlihat jelas, daun keriting, 3 = klorosis pada permukaan daun terlihat jelas, daun keriting, 4 = daun menggulung, ukuran daun mengecil dan kerdil, 0 = tanaman tidak bergejala

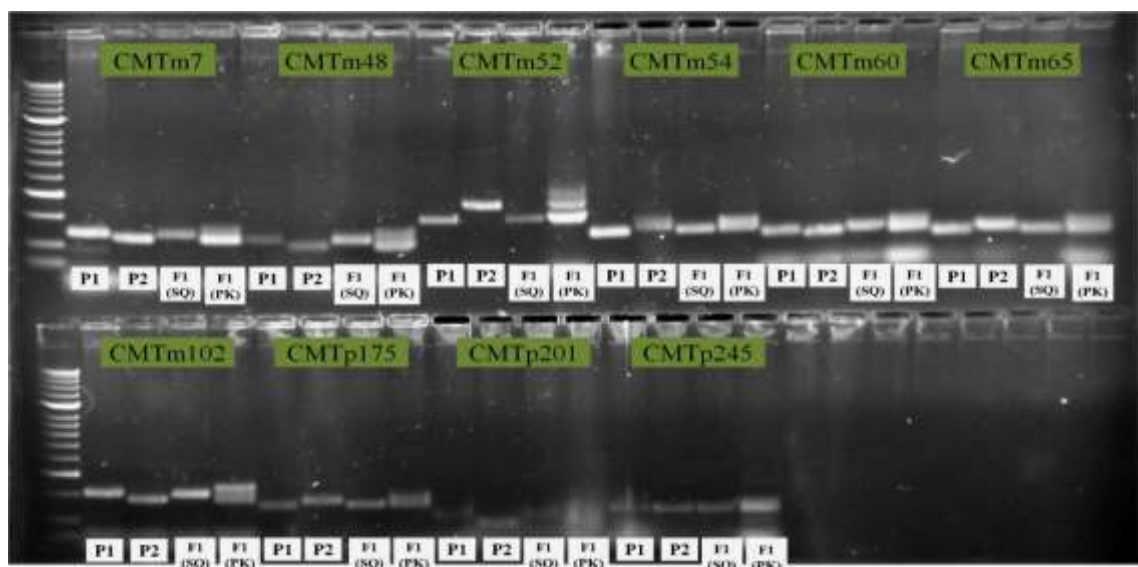
Pada tanaman cabe gejala diawali bintik kuning pada daun muda dan menyebar keseluruhan daun, gejala lanjut berupa mosaik selanjutnya daun keriting dan mengecil (Ganefianti dkk., 2010). Pada tanaman tomat gejala pada anakan daun kecil-kecil, mengerut dan cekung, serta pinggir daun dengan atau tanpa warna kuning dan tanaman kerdil (Al-ani *et al.*, 2011). Tanaman yang sakit telah dipastikan hanya tertular oleh ToLCNDV dengan menggunakan primer ToLCNDV F-R dengan Forward: 5'-ATGGCGAAGCGACCAG-3' dan Primer Reverse: 5'-TTAATTTGTGACCGAATCAT-3' dengan target pasang basa ± 771 pb.

Keberhasilan Persilangan Interspesifik

Persilangan interspesifik antara squash dengan pumpkin menghasilkan genotip F1 yang memiliki karakter tanaman yang bersifat heterozigot

yaitu gabungan antara squash dan pumpkin. Bentuk batang bersegi, warna batang hijau tua, warna daun hijau bercak putih seperti pumpkin, sedangkan untuk bentuk buah bulat pipih, warna buah oranye, bentuk biji dan warna biji seperti squash. Secara molekuler pembuktian keberhasilan persilangan interspesifik menggunakan penanda SSR.

Uji verifikasi genetik dengan menggunakan 10 pasang primer SSR dapat mengamplifikasi keseluruhan sampel P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ) dan F1 (PK). Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa pool F1 (SQ) memiliki pola monomorf dengan tetua P1 (SQ) di 10 lokus SSR dan hal ini diduga ada peristiwa apomiksis, sedangkan untuk sampel F1 (PK) memiliki pola heterozigot di 10 lokus SSR (Gambar 2). F1 (PK) merupakan rekombinasi dari squash dan pumpkin.



Gambar 2. Profil DNA P1 (SQ), P2 (PK), F1 (SQ) dan F1 (PK) yang teramplifikasi di 10 lokus SSR. M: *Hyperladder 50 bp* (BIOLINE, UK)

Status ketahanan setiap generasi terhadap ToLCNDV dapat diduga dengan menghitung kejadian, periode inkubasi dan keparahan penyakit (Tabel 3). Nilai kejadian penyakit digambarkan melalui nilai persentase tanaman yang mati, sedangkan nilai keparahan penyakit digambarkan melalui nilai skor keparahan. Tanaman Squash (P1) Sangat Rentan terhadap ToLCNDV dengan kejadian penyakit yang mencapai 100% dengan kisaran periode inkubasi yang singkat yaitu 6-12 hari setelah inokulasi. Untuk Pumpkin (P2) kejadian penyakit 0% (Sangat Tahan) dengan kisaran inkubasi 21-24 hari, dan generasi F1 (Squash x Pumpkin) memiliki skor Tahan dengan kejadian penyakit 13,3% dan

masa inkubasi 18-24 hari. Sementara itu, generasi BC1P1 dan F2BC1P1 memiliki skor kejadian penyakit Agak Tahan dengan nilai kejadian penyakit berturut-turut 16,6% dan 21% dan periode inkubasi 18-24 hari dan 12-30 hari. Generasi F2BC1P1 memiliki tingkat ketahanan yang hampir setara dengan generasi F1, dan menunjukkan bahwa faktor ketahanan pada P2 mampu terwariskan dengan konsisten dari generasi ke generasi. Sekalipun generasi F2 mengalami penurunan derajat ketahanan terhadap generasi F1, namun status ketahanan generasi F1 masih sama dari P2. Artinya, faktor ketahanan P2 bisa meningkatkan derajat ketahanan, baik pada generasi F1 maupun pada generasi F2.

Tabel 3. Kejadian, keparahan penyakit dan periode inkubasi ToLCNDV pada setiap generasi

Generasi	Jumlah tanaman	Kejadian penyakit				Skor keparahan penyakit	Periode inkubasi (hari)		
		Tahan	Rentan	%	Kriteria		Kisaran	Rerata	Modus*
P1	50	0	50	100,0	SR	100,0	6 - 12	7,9	6
P2	50	50	0	0,0	ST	2,0	21 - 24	23,3	24
F1	30	26	4	13,3	T	4,2	18 - 24	20,3	21
BC1P1	30	25	5	16,6	AT	12,5	18 - 24	21,0	21
F2BC1P1	200	158	42	21,0	AT	11,3	12 - 30	20,2	15

Keterangan: P1 = Squash, P2 = Pumpkin; ST = Sangat Tahan, T = Tahan, AT = Agak Tahan, AR = Agak Rentan, R = Rentan, SR = Sangat Rentan, *Modus menunjukkan hari terbanyak munculnya gejala pertama.

Berdasarkan data pada Tabel 3, generasi P2 menunjukkan pola ketahanan yang tegas yaitu memiliki status Sangat Tahan (ST) dan F1 memiliki status Tahan (T), yang mengindikasikan bahwa ketahanan dikendalikan oleh gen dominan. Segregasi terjadi pada generasi F2BC1P1, di mana status ketahanan generasi ini berubah menjadi Agak Tahan (AT), dengan nilai skor keparahan (11,3). Penurunan status ketahanan ini diduga disebabkan oleh munculnya gen resesif homozigot pada populasi generasi tersebut, sehingga beberapa individu menunjukkan fenotipe rentan. Hal tersebut semakin menegaskan bahwa galur P2 memiliki tingkat ketahanan lebih tinggi dari P1, atau dapat dikatakan bahwa P1 memiliki faktor kerentanan, sehingga pada saat proses silang balik, gen tersebut terekspresi pada generasi BC1P1 dan membuat kemampuan penghambatan penyakit menurun dan justru meningkatkan status keparahannya.

Pendugaan jumlah gen pengendali ketahanan dilakukan melalui perbandingan nisbah harapan

dengan nisbah teramati generasi F2BC1P1 menggunakan Uji Khi-kuadrat, masing-masing pada model satu, dua dan tiga lokus. Jika nilai $\chi^2_{hitung} > \chi^2_{tabel}$: $\chi^2 (0,05;1) = 3,841$ berarti nisbah fenotipik populasi F2BC1P1 yang teramati tidak sesuai nisbah fenotipik harapan.

Sebaliknya, jika nilai $\chi^2_{hitung} < \chi^2_{tabel}$: $\chi^2 (0,05;1) = 3,841$ berarti nisbah fenotipik populasi F2BC1P1 yang teramati mengikuti nisbah fenotipik harapan dan model itulah yang dianggap sesuai dan mampu menggambarkan pola pewarisan serta pola interaksi gen-gen pengendali ketahanan terhadap squash hasil persilangan interspesifik. Analisis segregasi dengan menggunakan Uji Khi-kuadrat menunjukkan bahwa terdapat dua aksi gen yang sesuai dengan pola segregasi yang teramati (Tabel 4), dan dianggap bisa menerangkan pola interaksi gen-gen pengendali ketahanan hasil persilangan antara tetua rentan (squash) dan tetua tahan (pumpkin).

Tabel 4. Pendugaan jumlah gen ketahanan menggunakan nisbah generasi F2BC1P1

Pengamatan				Harapan				Hipotesis	χ^2 hit		χ^2 tabel
Empat kelas											
T	AT	AR	R	T	AT	AR	R				
168	23	2	7	113	38	38	13	9:3:3:1	96,84	*	7.82
Tiga kelas											
T	AR		R	T	AR		R				
168	25		7	138	34		11	12:3:1	36,58	*	5.99
Dua kelas											
T		R		T		R					
158		42		150		50		3:1	1,71	tn	3.84
158		42		163		37		13:3	0,66	tn	3.84
158		42		188		12		15:1	79,79	*	3.84

Keterangan: T = Tahan, AT = Agak Tahan, AR = Agak Rentan, R = Rentan, * = berbeda nyata, tn = tidak berbeda nyata pada taraf α 5%.

Berdasarkan Tabel 4, pola interaksi gen memiliki nisbah 3 Tahan-(AABB, AaBB) : 1 Rentan-(aaBB), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu pasang gen dominan penuh. Selain itu pola interaksi gen-gen pengendali ketahanan hasil persilangan antara tetua rentan (squash) dan tetua tahan (pumpkin) mengikuti pola 13 Tahan-(A---, --bb) : 3 Rentan-(aaB-), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu gen dominan dan satu gen resesif yang berinteraksi secara epistasis (Strickberger, 1976), artinya gen dominan epistasis terhadap gen dominan dan resesif yang bukan sealel dan gen resesif epistasis terhadap gen dominan dan resesif yang bukan sealel. Dari uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa efek aksi gen *nonaditif* (dominan dan *epistasis*) berperan dalam mengendalikan karakter ketahanan penyakit akibat infeksi ToLCNDV. Penelitian sejenis menunjukkan hasil yang berbeda, Dhillon *et al.* (2021) melaporkan bahwa ketahanan terhadap *Squash leaf curl Philippines virus (Taiwan strain)* (SLCPV-TW) pada pumpkin genotip AVPU1426 dikendalikan oleh satu pasang gen resesif. Hal ini bisa saja terjadi karena gen yang mengendalikan ketahanan pada penelitian sejenis adalah gen yang berbeda, genotipe yang berbeda atau adanya perbedaan jenis virus dan virulensinya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil amplifikasi 10 lokus SSR M: *Hyperladder 50 bp* (BIOLINE, UK) menunjukkan bahwa pool F1 (SQ) memiliki pola monomorf dengan tetua P1 (SQ) di 10 lokus SSR, sedangkan untuk sampel F1 (PK) memiliki pola heterozigot di 10 lokus SSR (Gambar 2). F1 (PK) merupakan hasil persilangan interspesifik dari squash dan pumpkin. Analisa genetik pada F2BC1P1 pola interaksi gen memiliki nisbah 3 Tahan-(AABB, AaBB) : 1 Rentan-(aaBB), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu pasang gen dominan penuh dan pola 13 Tahan-(A---, --bb) : 3 Rentan-(aaB-), yang mengindikasikan bahwa sifat tahan dikendalikan satu gen dominan dan satu gen resesif yang berinteraksi secara epistasis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada segenap manajemen dan pimpinan PT. BISI International, Tbk atas Beasiswa Pendidikan

Magister di Departemen Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya yang diberikan kepada penulis pertama.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-ani, RA, MA Adhab, SAH Hamad, and SNH Diwan. 2011. Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), identification, virus vector relationship, strains characterization and a suggestion for its control with plant extracts in Iraq. *African Journal of Agricultural Research*. 6(22): 5149–5155.
- Crowder, LV. 1990. *Genetika Tumbuhan*. Cetakan Ketiga, Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Dhillon, NPS, S Srimat, S Laenoi, A Bhunchoth, B Phuangrat, N Warin, R Deeto, O Chatchawankanphanich, KN Jom, S Sae-tan, SW Jang, H Noh, R Schafleitner, YL Chan, B Picó, C Sáez, and L Kenyon. 2021. Resistance to three distinct *Begomovirus* species in the agronomical superior tropical pumpkin line AVPU1426 developed at the world vegetable center. *Agronomy*. 11: 1256. Doi: 10.3390/agronomy11061256.
- Ganefianti, DW, S Sujiprihati, SH Hidayat, dan M Syukur. 2008. Metode penularan dan uji ketahanan genotip cabai terhadap *Begomovirus*. *Akta Agrosia*. 11 (2):162-169.
- Gasyanto, R, M Syukur, BS Purwoko, dan SH Hidayat. 2015. Metode penularan massal untuk uji penapisan ketahanan cabai mutan terhadap *Begomovirus*. *Jurnal Hortikultura*. 25(3): 246–256.
- Haerunisa, R, G Suastika, dan TA Damayanti. 2016. Identifikasi Begomovirus yang Berasosiasi dengan Penyakit Kuning pada Mentimun di Jawa Barat dan Bali. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 7(1): 9–20.
- Hermawan, E, Sobir, D Efendi. 2014. Analisis genetik sifat ketahanan melon (*Cucumis melo* L.) terhadap virus kuning. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 42(2): 142–149.
- Islam, S, AD Munshi, B Mandal, R Kumar, and TK Behera. 2010. Genetics of resistance in *Luffa cylindrica* Roem. against *Tomato leaf curl New Delhi virus*. *Euphytica*. 174: 83–89.
- Lestari, SM, dan E Nurhayati. 2014. Efisiensi tular benih *Squash mosaic virus* pada *Cucurbitaceae*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(3): 81–86.

- López, C, M Ferriol, and MB Picó. 2015. Mechanical transmission of *Tomato leaf curl New Delhi virus* to cucurbit germplasm: Selection of tolerance sources in *Cucumis melo*. *Euphytica*. 204: 679–691.
- Mosegosa, JR, C Martinez, E Aguado, A Garcia, G Cebrian, JI Moya, HS Paris, dan M Jamilena. 2020. Response of *Cucurbita* spp. to *Tomato leaf curl New Delhi virus* inoculation and identification of dominant source of resistance in *Cucurbita moschata*. *Plant Pathology*. 00:1–13. DOI: 10.1111/ppa.13268.
- Mizutani, T, BS Daryono, M Ikegami, and KT Natsuaki. 2011. First report of *Tomato leaf curl New Delhi virus* infecting cucumber in Central Java, Indonesia. *Plant Diseases*. 95(11): 1485. DOI: 10.1094/PDIS-03-11-0196.
- Rakha, MT, EI Metwally, SA Moustafa, AA Etman, and YH Dewir. 2012. Production of cucurbita interspecific hybrids through cross pollination and embryo rescue technique. *World Applied Science Journal*. 20: 1366–1370.
- Ramazani, MA, K Ayazpour, AR Niazmand, and G Najafipour. 2022. *Australasian Plant Disease Notes*. 17:10. DOI: 10.1007/s13314-022-00458-y.
- Saez, C, C Martínez, M Ferriol, S Manzano, L Velasco, M Jamilena, C López, and B Picó. 2016. Resistance to *Tomato leaf curl New Delhi virus* in *Cucurbita* spp. *Annals of Applied Biology*. 169: 91–105.
- Sáez, C, C Esteras, C Martínez, M Ferriol, NPS Dhillon, C López, and B Picó. 2017. Resistance to *Tomato leaf curl New Delhi virus* in melon is controlled by a major QTL located in chromosome 11. *Plant Cell Reports*. 36(10): 1571–1584.
- Septariani, DN, SH Hidayat, dan E Nurhayati. 2014. Identifikasi penyebab penyakit daun keriting pada tanaman mentimun. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*. 14(1): 80–86.
- Snehi, SK, SS Parihar, G Gupta, V Singh, and AS Purvia. 2016. Molecular detection and identification of Begomovirus isolate on tomato from Central Region of India. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. 7: 12. DOI: 10.4172/2157-7471.1000389.
- Strickberger, MW. 1976. *Genetics*. Second Edition. Macmillan Publishing. New York.
- Uretsky, J. 2012. Development and evaluation of interspecific *Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata* hybrids for processing squash. [Thesis]. University of New Hampshire. Durham.
- Warda, IM, B Waluyo. 2020. Kompatibilitas persilangan interspesifik pada spesies cabai. *Jurnal Kultivasi*. 19(3): 1020–1216.
- Yeşil, S. 2014. Virus diseases of edible seed squash (*Cucurbita pepo* L.) in Konya Province. Fifth International Scientific Agricultural Symposium “Agrosym 2014”. Sarajevo. Pp. 576–581.
- Yusnita, dan Sudarsono. 2004. Metode inokulasi dan reaksi ketahanan 30 genotipe kacang tanah terhadap penyakit busuk batang sclerotium. *Hayati Journal of Biosciences*. 11: 53–58.