

Phytoalexin, Metabolisme Cekaman, dan Ketahanan Penyakit pada Tanaman

Diterjemahkan Dari:

J. Kuc. 1995. Phytoalexins, Stress Metabolism, and Disease Resistance in Plants. *Annual Review of Phytopathology*. 33: 275-297.

Diterjemahkan Oleh:

Willy Bayuardi Suwarno, SP, MSi

willy@ipb.ac.id

Dipublikasi di <http://willy.situshijau.co.id> tanggal 27 April 2008

Terjemahan artikel ini dapat digunakan dan disebarakan secara bebas, baik sebagian maupun seluruhnya, untuk tujuan non-komersial dengan syarat mencantumkan nama penulis dan sumbernya. Di luar tujuan itu, pengguna harus memperoleh izin tertulis dari penulis.

Daftar Isi

Konsep Phytoalexin	1
Distribusi, Struktur, Biosintesis	3
Distribusi dan Struktur	3
Biosintesis	3
Phytoalexin Dalam Ketahanan Terhadap Penyakit.....	5
Fungitoksisitas dan Asosiasi dengan Perkembangan Patogen.....	5
Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas	5
Detoksifikasi	6
Phytoalexin Ganda dan Stereoisomer	6
Phytoalexin yang Hilang	6
Penekanan Akumulasi.....	7
Arah untuk Penelitian Selanjutnya.....	8
Phytoalexin sebagai Pestisida	8
Ekspresi Gen untuk Akumulasi Phytoalexin dan Pengendalian Penyakit	9
Penutup.....	11

Konsep Phytoalexin

Phytoalexin adalah senyawa antimikroba dengan berat molekul yang kecil yang terakumulasi dalam tanaman sebagai akibat dari infeksi atau cekaman. Kecepatan dan level akumulasinya ditentukan oleh pelepasan prekursor langsung dari konjugasi dan/atau sintesis *de novo*. Kecepatan akumulasi phytoalexin berasosiasi dengan ketahanan tanaman terhadap penyakit yang disebabkan oleh fungi dan bakteri, meskipun informasi genetik untuk sintesis phytoalexin ditemukan pada tanaman peka dan tahan.

Muller dan Borger memperlihatkan bukti yang kuat bahwa ketahanan tanaman kentang terhadap *Phytophthora infestans* disebabkan oleh produksi senyawa fungitoksik oleh inang. Pada tanaman yang peka, produksi senyawa tersebut tertekan atau terdetoksifikasi. Ketahanan ras-spesifik yang dipelajari tidak disebabkan oleh ketiadaan infeksi. Mereka mengemukakan, senyawa toksik terbentuk setelah infeksi pada interaksi resisten. Konsep ini merupakan dasar teori phytoalexin. Ini menjadi bukti bahwa kecepatan dan besarnya senyawa antifungi yang dihasilkan adalah penting dalam ketahanan terhadap penyakit dan umbi kentang dapat dilindungi dari penyakit yang disebabkan oleh ras *P. infestans* yang kompatibel melalui inokulasi sebelumnya dengan ras yang inkompatibel. Selain itu terbukti juga bahwa kepekaan tidak disebabkan oleh ketiadaan gen untuk senyawa pertahanan pada inang, namun lebih disebabkan oleh waktu dan intensitas ekspresinya.

Pada tahun-tahun berikutnya, Muller merancang metode klasik untuk elisitasi phytoalexin pada tanaman. Berdasarkan studi tersebut dan pengamatan sebelumnya pada kentang, Muller mendefinisikan phytoalexin sebagai senyawa yang dihasilkan setelah infeksi di bawah pengaruh sistem metabolik inang dan parasit, serta bersifat menghambat parasit. Penelitian Cruickshank & Perrin membuktikan konsep phytoalexin pada level molekuler.

Definisi Muller tentang phytoalexin tidak cukup inklusif lagi ketika diketahui bahwa akumulasi phytoalexin tidak dibatasi oleh infeksi, meskipun terjadi setelah infeksi. Seiring dengan kemajuan penelitian tentang phytoalexin,

banyak definisi phytoalexin yang diusulkan, diantaranya adalah: phytoalexin adalah senyawa antimikroba dengan berat molekul yang kecil yang terakumulasi dalam tanaman sebagai akibat dari infeksi atau cekaman. Penting ditekankan bahwa phytoalexin tidak unik untuk infeksi dan akumulasinya setelah infeksi hanya mencerminkan akumulasinya sebagai respon terhadap cekaman akibat infeksi belaka.

Distribusi, Struktur, Biosintesis

Distribusi dan Struktur

Lebih dari 350 phytoalexin telah dikarakterisasi secara kimia dari sekitar 30 famili tanaman. Jumlah yang paling besar, 130, telah dikarakterisasi dari *Leguminosae*. Kebanyakan phytoalexin telah diisolasi dari dikotiledon, tetapi ada juga yang diisolasi dari monokotiledon termasuk padi, jagung, sorghum, gandum, barley, bawang, dan lili. Phytoalexin telah diisolasi dari batang, akar, daun, dan buah. Distribusi phytoalexin dan responsivitas organ tanaman dalam hubungannya terhadap formasi phytoalexin harus ditentukan untuk menaksir kontribusinya sebagai senyawa pertahanan.

Phytoalexin phenylpropanoid terdistribusi diantara famili *Leguminosae*, *Solanaceae*, *Convolvulaceae*, *Umbelliferae*, dan *Gramineae*. Phytoalexin isoflavonoid umum terdapat pada *Leguminosae*, sedangkan phytoalexin sesquiterpenoid umum terdapat pada *Solanaceae*. Di dalam famili, level spesifitas juga terlihat jelas, contohnya phytoalexin norsesquiterpenoid, rishitin, ditemukan pada kentang dan tembakau tetapi tidak ditemukan pada lada, sedangkan phytoalexin sesquiterpenoid, capsidiol, ditemukan pada tembakau dan lada tetapi tidak pada kentang.

Biosintesis

Jalur biosintesis utama (shikimate, acetate-malonate, acetate-mevalonate) yang menyediakan prekursor phytoalexin adalah umum untuk semua tanaman. Jalur tersebut bertanggungjawab untuk sintesis senyawa *housekeeping* yang penting untuk semua tanaman. Phytoalexin timbul dari peralihan sebagian prekursor *housekeeping*. Peralihan tersebut seringkali berasosiasi dengan peningkatan aktivitas enzim dalam jalur biosintesis untuk senyawa *housekeeping* dan penampakan enzim untuk tahap yang berasosiasi dekat dengan biosintesis phytoalexin. Enzim-enzim yang terakhir itu mungkin berada pada situs regulator dan menjadi enzim utama dalam urutan biosintesis phytoalexin.

Prekursor phytoalexin dapat berasal dari salah satu dari tiga jalur biosintesis atau kombinasi dari dua atau tiga jalur. Percobaan dengan inhibitor sintesis RNA dan protein dan analisis mRNA yang tepat menunjukkan bahwa respon hipersensitif dan akumulasi phytoalexin melibatkan sintesis *de novo* protein. Penggunaan kultur suspensi sel dan molekul elisitor yang dimurnikan memudahkan penelitian enzimologi dan regulasi molekuler akumulasi phytoalexin dengan baik.

Percobaan kritis yang dilakukan oleh Graham dkk. menghasilkan perspektif baru dalam menaksir kebutuhan sintesis *de novo* phytoalexin untuk menghitung akumulasi cepat dari phytoalexin setelah infeksi.

Phytoalexin Dalam Ketahanan Terhadap Penyakit

Fungitoksisitas dan Asosiasi dengan Perkembangan Patogen

Karena phytoalexin terakumulasi pada situs infeksi dan menghambat pertumbuhan dan bakteri *in vitro*, diketahui bahwa phytoalexin merupakan senyawa pertahanan tanaman untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh fungi dan bakteri.

Ketika mengkonsep peran phytoalexin dalam ketahanan terhadap penyakit, Cruickshank dkk. mengemukakan adanya beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas phytoalexin sebagai senyawa pertahanan, yakni : aktivitas antimikroba yang diukur *in vitro*, kecepatan sintesis, lokalisasi dalam hubungannya dengan perkembangan penyakit, keberadaan senyawa *in vivo* yang mempengaruhi aktivitas antimikroba, dan kerapuhan phytoalexin terhadap detoksifikasi oleh mikroorganisme atau oleh tanaman.

Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas

Pada interaksi yang inkompatibel, akumulasi phytoalexin menghentikan pertumbuhan patogen, sehingga memberikan ketahanan bagi tanaman. Pada interaksi yang kompatibel, patogen terlihat mentoleransi akumulasi phytoalexin, mendetoksifikasinya, menekan akumulasi phytoalexin, dan/atau menghindari phytoalexin yang ada.

Dengan melihat akumulasi phytoalexin dan kecepatan akumulasinya setelah inokulasi, ketahanan bukan inang (*non-host*) dan ras-spesifik tidak dapat dibedakan. Level phytoalexin *per se* adalah bukan penanda biokimia yang baik untuk ketahanan terhadap penyakit tanpa kualifikasi. Kualifikasi tersebut diperkirakan beragam diantara patogen, tanaman, organ atau jaringan inang yang diinokulasi, umur tanaman, dan faktor lingkungan.

Detoksifikasi

Patogen dan tanaman dapat mendegradasi, memetabolisasi, dan mengasingkan phytoalexin. Akumulasi phytoalexin, baik diinduksi secara biotik maupun abiotik, tidak hanya tergantung pada kecepatan sintesis, namun juga dipengaruhi oleh konjugasi, kompartementalisasi, pelepasan dari konjugasi, pengasingan dalam dinding sel atau vakuola, serta degradasi semua level phytoalexin yang mempengaruhi.

Phytoalexin Ganda dan Stereoisomer

Stereoisomer dari phytoalexin dapat memiliki aktivitas antifungi yang berbeda. Phytoalexin pterocarpan ditemukan sebagai stereoisomer (+) dan (-). Kebanyakan kacang-kacangan mengakumulasi bentuk (-), kecuali kacang polong, yang menghasilkan pistatin (+), dan *Sophora japonica*, yang menghasilkan maackiain (+) dan (-). Aktivitas antifungi dari maackiain dan pistatin terhadap beberapa fungi bersifat stereospesifik. Sejumlah patogen yang diisolasi dari alfalfa dan red clover, yang menghasilkan pterocarpan (-), lebih dihambat oleh maackiain (+) dibandingkan maackiain (-). Perbedaan dalam sensitivitas terlihat menyebabkan ketidakmampuan patogen untuk mendegradasi isomer (+). Data-data tersebut memberi ide untuk meningkatkan ketahanan salah satu jenis tanaman kacang-kacangan terhadap penyakit melalui modifikasi satu atau dua gen yang akan menyebabkan inang menghasilkan phytoalexin alami dengan konfigurasi yang berbeda.

Phytoalexin yang Hilang

Level dimana phytoalexin dapat menentukan ketahanan dipengaruhi oleh banyak faktor. Sebagai contoh, meskipun phytoalexin sesquiterpenoid terakumulasi dalam umbi kentang, sedikit atau tidak ada phytoalexin sesquiterpenoid yang terakumulasi pada daun kentang. Produk lipid peroksidatif, termasuk aldehid volatil, akan hilang setelah ekstraksi fenolik dan phytoalexin sesquiterpenoid.

Penekanan Akumulasi

Suppressor phytoalexin antara lain adalah polisakarida yang memiliki berat molekul rendah atau glikopeptida. Pada kacang panjang, suppressor tidak hanya mereduksi akumulasi medicarpin dan maackiain tetapi juga beberapa isovlafone. Pada kentang, glukukan bercabang yang memiliki berat molekul rendah dapat menentukan spesifitas ras dalam interaksi umbi dengan *P. infestans* dalam menekan akumulasi phytoalexin sesquiterpenoid.

Arah untuk Penelitian Selanjutnya

Phytoalexin sebagai Pestisida

Konsekuensi logis dari informasi yang berkaitan dengan phytoalexin adalah penggunaannya untuk melindungi tanaman melawan penyakit. Satu skenario yang akan muncul adalah menyemprot tanaman dan memperlakukan benih atau menyiram tanah dengan senyawa yang terbentuk secara alami seperti phytoalexin. Asumsi tersebut mendasari pemikiran bahwa senyawa-senyawa tersebut aman karena terbentuk secara alami, dan akan efektif karena senyawa-senyawa tersebut terdapat di alam untuk melindungi tanaman, dan tanaman-tanaman yang ada telah bertahan dari tekanan seleksi dalam evolusi. Namun demikian, ada kekurangan pada alasan tersebut. Senyawa-senyawa yang terbentuk secara alami tidak selalu aman. Banyak racun-racun yang sangat berbahaya di dunia ini yang berasal dari tanaman. Beberapa jaringan tanaman secara ekstrim toksik terhadap hewan karena mengandung senyawa protektif, seperti daun kentang, tomat, dan tembakau, serta kulit kentang. Phytoalexin tidak selalu bersifat antimikroba, meskipun terakumulasi pada situs infeksi hingga level yang cukup untuk menghambat perkembangan beberapa fungi dan bakteri. Jika phytoalexin tidak ditranslokasi, tanaman perlu sering disemprot tidak hanya untuk menghindari kehilangan akibat hujan, tetapi juga untuk melindungi daun atau buah yang sedang berkembang. Degradasi phytoalexin oleh mikroorganisme dan tanaman akan memerlukan aplikasi lebih sering. Penggunaan senyawa pertahanan yang terbentuk secara alami terlihat tidak ekonomis. Struktur kebanyakan senyawa tersebut bersifat kompleks, sintesisnya sulit, dan memerlukan biaya yang tinggi untuk isolasi dari sumber alami.

Disisi lain, diketahui bahwa ada senyawa pertahanan alami yang aktif, dapat disintesis dengan mudah dan ekonomis, dan aman digunakan. Jika suatu senyawa tidak dapat digunakan secara langsung, senyawa tersebut dapat dijadikan model untuk sintesis pestisida baru. Namun demikian, jika senyawa-senyawa tersebut digunakan sebagai pestisida, akan menimbulkan kembali masalah-masalah yang berkaitan dengan penggunaan pestisida saat ini. Dengan demikian,

mempelajari senyawa-senyawa pertahanan tanaman untuk memahami mekanisme alami untuk ketahanan terhadap penyakit akan lebih baik dibandingkan menggunakannya secara langsung dalam pengendalian penyakit.

Ekspresi Gen untuk Akumulasi Phytoalexin dan Pengendalian Penyakit

Alternatif untuk penggunaan senyawa-senyawa pertahanan secara langsung untuk melindungi tanaman adalah membuat senyawa tersebut diproduksi oleh tanaman melalui pengaturan ekspresi gen, dan, akhirnya, produk gen menyebabkan sintesis dan akumulasi senyawa-senyawa tersebut. Jika pada beberapa komponen dinding sel dari fungi, bakteri, dan tanaman terdapat akumulasi phytoalexin, penyemprotan daun dengan molekul elisitor telah diuji sebagai cara pengendalian penyakit. Namun demikian, penyemprotan dengan phytoalexin tidak efektif. Sebagai tambahan, aplikasi phytoalexin secara berulang menghasilkan tanaman yang resisten, tetapi kerdil, mungkin karena elisitor menyebabkan pengalihan prekursor karbon dan energi dari proses-proses vital. Tanaman yang mengakumulasi phytoalexin secara konstitutif juga akan bersifat kerdil dan non-produktif. Secara alami, phytoalexin dihasilkan di sekitar situs infeksi ketika diperlukan.

Untuk mengelakkan kerugian menggunakan elisitor phytoalexin secara langsung pada tanaman, digunakan strategi dimana elisitor hanya dilepaskan setelah infeksi dan pada situs infeksi.

Peningkatan ketahanan tanaman dapat dilakukan dengan memasukkan gen-gen untuk sintesis phytoalexin dari tanaman-tanaman yang tidak berelasi. Contohnya, phytoalexin dari wortel, yang tidak peka terhadap banyak penyakit kacang-kacangan, akan melindungi kacang-kacangan dari sejumlah patogennya. Hal ini berguna untuk pengendalian penyakit karena phytoalexin memiliki spektrum yang luas dalam aktivitas biologis. Jalur sintesis phytoalexin bersifat kompleks dan berbeda pada banyak enzim. Dengan demikian, transformasi satu gen diperkirakan tidak cukup untuk sintesis sebagian besar phytoalexin asing.

Penggunaan stereoisomer phytoalexin merupakan pendekatan lain untuk mengendalikan penyakit. Beberapa stereoisomer dapat resisten terhadap enzim mikroba dan tanaman yang mendegradasi phytoalexin normal. Metode pertama adalah aplikasi secara langsung dengan penyemprotan, namun dapat menimbulkan masalah. Metode kedua, yang secara potensial lebih efektif, adalah melalui rekayasa genetika tanaman dengan mengintroduksi enzim utama dalam sebuah jalur biosintesis untuk menghasilkan stereoisomer yang diinginkan atau prekursornya. Dengan demikian, mekanisme pertahanan alami akan menghasilkan phytoalexin yang tahan terhadap patogen pada saat dan tempat dimana diperlukan.

Jika ketahanan tanaman terhadap penyakit tidak ditentukan oleh keberadaan atau ketiadaan gen-gen untuk produk gen yang menghambat perkembangan patogen dan jika ketahanan dalam bagian besar ditentukan oleh kecepatan dan besarnya ekspresi gen dan aktivitas beberapa produk gen, dimungkinkan semua tanaman memiliki potensi genetik untuk ketahanan. Potensi ini dapat diekspresikan secara sistematis melalui inokulasi terbatas dengan patogen, patogen yang dilemahkan, dan nonpatogen yang dipilih, dan dengan perlakuan kimia dimana tanaman yang diinokulasi atau diberi perlakuan akan memberikan sinyal atau bahan kimia tersebut yang akan melepas sinyal. SIR efektif melawan penyakit yang disebabkan oleh beberapa fungi, bakteri, dan virus; dan telah diuji di laboratorium dan di lapang. Imunisasi secara sistematis meningkatkan level beberapa senyawa yang diduga berkaitan dengan pertahanan, seperti kitinase, $\beta_{1,3}$ glukukanase, dan peroksidase. Efek utama lainnya dihasilkan dengan membuat tanaman untuk merespon dengan cepat setelah infeksi dengan mengkumulasi phytoalexin, glikoprotein yang kaya hidroksiprolin, dan lignin pada situs infeksi, dan dengan meningkatkan level kitinase, $\beta_{1,3}$ glukukanase, PR-protein lain, dan peroksidase. Dengan demikian, SIR mengaktifkan mekanisme ganda untuk ketahanan.

Penutup

Phytoalexin adalah salah satu mekanisme ketahanan pada tanaman. Meskipun demikian, walaupun pada fungi dimana kontribusinya sangat kuat, masih terdapat kualifikasi. Pemahaman tentang kontribusi phytoalexin terhadap ketahanan akan memudahkan eksploitasinya untuk pengendalian penyakit. Beberapa eksploitasi bergantung pada pemahaman dan integrasi mekanisme ganda untuk ketahanan terhadap penyakit dan faktor-faktor seperti sinyal, transduksi sinyal, elisitor, surpressor, dan detoksifikasi. Kesulitan yang dihadapi dalam penelitian di bidang ini adalah terdapat banyak mekanisme ketahanan dan terdapat banyak gen yang menyandi beberapa mekanisme tersebut, meskipun seringkali terdapat satu gen pada inang yang menentukan ketahanan.