

TEMUAN PENYAKIT BARU

Infeksi *Papaya ringspot virus* pada Tanaman Pepaya di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam

Infection of *Papaya Ringspot Virus* on Papaya in Nanggroe Aceh Darussalam Aceh Province

Sri Hendrastuti Hidayat*, Sari Nurulita, Suryo Wiyono
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Pertanaman pepaya di Desa Meuse, Kecamatan Kutablang, Kabupaten Bireun dan Desa Lambaro Teunom, Kecamatan Lembah Seulawah, Kabupaten Aceh Besar menunjukkan gejala mosaik yang berat pada bagian daun, tangkai daun, batang, dan buah. Deteksi virus dilakukan dengan metode *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan pasangan primer universal *Potyvirus*. Pita DNA berukuran 320 pb berhasil diperoleh dari sampel daun dan buah yang menunjukkan gejala. Fragmen DNA hasil amplifikasi tersebut selanjutnya digunakan untuk perunut basa nukleotida. Hasil analisis urutan basa nukleotida menunjukkan bahwa sikuen *Potyvirus* asal pepaya dari Aceh mempunyai kemiripan yang sangat tinggi (92.7% sampai 94.7%) dengan sikuen *Papaya ringspot virus* (PRSV) asal Filipina, Thailand, dan Indonesia. Tulisan ini merupakan laporan pertama infeksi PRSV pada pepaya di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam.

Kata kunci: *Potyvirus*, RT-PCR, sikuen

ABSTRACT

Severe mosaic symptoms was observed on papaya plants in Meusa village, Kutablang sub district, Bireun district and Lambaro Teunom village, Lembah Seulawah sub district, Aceh Besar district. Systemic mosaic was found in leaves, stem, twig, and fruit. *Reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) was conducted to detect the virus causing mosaic symptoms using universal primer for *Potyvirus*. Amplification of 320 bp DNA fragment was successfully obtained from leaves and fruits bearing severe mosaic symptoms. Nucleotide sequencing was proceeded using the DNA amplicon as the template. Further sequence analysis indicated that *Potyvirus* isolates from papaya in Aceh show the highest homology (92.7% to 94.7%) with *Papaya ringspot virus* (PRSV) from Philippines, Thailand, and Indonesia. This is the first report on PRSV infection on papaya in Nanggroe Aceh Darussalam province.

Key words: *Potyvirus*, RT-PCR, sequencing

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

Gejala penyakit mosaik pada pertanaman pepaya (*Carica papaya*) di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam (NAD) dilaporkan sejak awal tahun 2012. Petani dan para petugas dari Dinas Pertanian dan Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi NAD, termasuk di antaranya pengamat hama dan penyakit dan petugas penyuluhan lapangan menyatakan bahwa penyakit mosaik tersebut merupakan penyakit baru. Survei lapangan dilakukan oleh penulis ke pertanaman pepaya di Desa Meuse, Kecamatan Kutablang, Kabupaten Bireun dan Desa Lambaro Teunom, Kecamatan Lembah Seulawah, Kabupaten Aceh Besar. Pertanaman pepaya di Desa Meuse seluas 400 ha dan di Desa Lambaro Teunom seluas 50 ha, berumur antara 7 bulan sampai 3 tahun, menunjukkan gejala mosaik dengan insidensi penyakit mencapai 100%. Gejala mosaik berat tampak jelas pada daun muda (Gambar 1a) dan batang serta tangkai daun (Gambar 1b). Pada kondisi infeksi yang sangat parah gejala muncul pada buah dan menyebabkan bercak hijau tua pada buah (Gambar 1c), tanaman merana dan akhirnya mengalami mati pucuk.

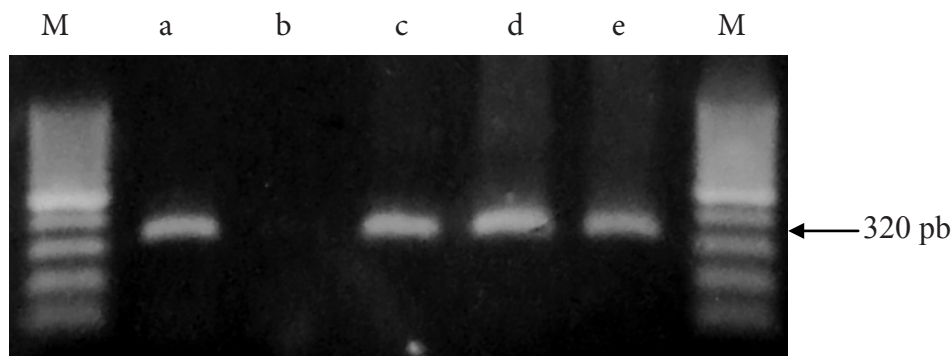
Diagnosis penyebab penyakit dilakukan dengan teknik deteksi *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Ekstraksi RNA dari sampel daun dan buah pepaya (100 mg) menggunakan Xprep Plant RNA Mini Kit (Phile, Korea). Reaksi transkripsi balik dilakukan menggunakan primer oligo d(T) dan cDNA yang dihasilkan digunakan untuk reaksi amplifikasi. Amplifikasi dilakukan menggunakan primer

universal *Potyvirus*, yaitu Poty MJ-1(5'-ATGGTHTGGTGTGYATHGARAAAYGG-3') dan PotyMJ-2 (5'-TGCTGCKGACYTTCATYTG-3'), yang akan mengamplifikasi bagian gen protein selubung anggota genus *Potyvirus* dengan ukuran 320 pb (Marie-Jeanne *et al.* 2000). *Polymerase chain reaction* diawali dengan perlakuan pradenaturasi pada suhu 94 °C selama 3 menit, amplifikasi sebanyak 45 siklus dengan kondisi denaturasi pada 96 °C selama 30 detik, penempelan primer pada 61 °C selama 1 menit, ekstensi 72 °C selama 1 menit, dilanjutkan dengan ekstensi final pada 72 °C selama 2 menit. Fragmen DNA berukuran ~320 pb berhasil diamplifikasi dari sampel tanaman pepaya yang bergejala (Gambar 2). Hasil amplifikasi tersebut menjadi indikasi adanya infeksi virus dari kelompok *Potyvirus* pada sampel tanaman pepaya dari daerah Aceh. Tahapan identifikasi lanjut melalui perunut basa nukleotida (*sequencing*) dilakukan untuk memastikan spesies *Potyvirus* yang berasosiasi dengan gejala pada sampel pepaya tersebut.

Pita DNA hasil amplifikasi digunakan sebagai DNA cetakan untuk perunut basa nukleotida yang dilakukan di 1st Base, Malaysia. Urutan basa nukleotida yang diperoleh kemudian digunakan untuk analisis homologi menggunakan program Wu-Blastn (www.ebi.ac.uk). Matriks identitas nukleotida diperoleh menggunakan perangkat BioEdit (Hall 1999). Hasil analisis urutan basa nukleotida menunjukkan bahwa sikuen *Potyvirus* asal pepaya dari Aceh mempunyai kemiripan yang sangat tinggi (92.7% sampai



Gambar 1 Gejala penyakit mosaik pada tanaman pepaya di Desa Meuse, Kecamatan Kutablang, Kabupaten Bireun dan Desa Lambaro Teunom, Kecamatan Lembah Seulawah, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. a, mosaik berat pada daun; b, mosaik pada batang dan tangkai daun; c, bercak hijau tua pada buah.



Gambar 2 Visualisasi hasil amplifikasi DNA menggunakan primer universal *Potyvirus*. M, penanda DNA (100 bp); a, kontrol positif (DNA *Potyvirus*); b, kontrol negatif (tanpa DNA); c, sampel daun dari Desa Lambaro Teunom; d, sampel daun dari Desa Meuse; e, sampel buah dari Desa Meuse.

Tabel 1 Homologi (%) sikuen basa nukleotida virus yang menginfeksi pepaya di Aceh dengan beberapa sikuen *Papaya ringspot virus* (PRSV) yang tersedia di *GenBank*

Isolat virus	No. aksesori GenBank*	Isolat virus					
		Bireun (daun)	Aceh Besar (daun)	Aceh Besar (buah)	PRSV Filipina	PRSV Thailand	PRSV Indonesia
Bireun (daun)	na	ID**					
Aceh Besar (daun)	na	98.0	ID				
Aceh Besar (buah)	na	97.3	99.3	ID			
PRSV Filipina	AF374862.1	94.0	94.7	94.4	ID		
PRSV Thailand	DQ085857.1	92.7	93.4	93.4	98.3	ID	
PRSV Indonesia	AF374865.1	92.4	93.0	92.4	97.0	96.3	ID

*na, belum didaftarkan pada GenBank; ** ID, sikuen identik

94.7%) dengan sikuen *Papaya ringspot virus* (PRSV) asal Filipina, Thailand, dan Indonesia (Tabel 1).

Papaya ringspot virus adalah anggota famili *Potyviridae*, genus *Potyvirus* yang diketahui memiliki daerah sebar geografi yang sangat luas. Penularan di lapangan terutama terjadi melalui kutudaun, *Aphis craccivora*, *A. gossypii*, dan *Myzus persicae*, secara nonpersisten (Kalleshwaraswamy dan Kumar 2008). Penularan dapat terjadi juga secara mekanis, tetapi PRSV umumnya tidak bersifat tular benih (Purcifull *et al.* 1984). Dilaporkan bahwa isolat-isolat PRSV dapat dibedakan menjadi dua tipe utama (galur), yaitu galur P dan W. Kedua galur tersebut dapat dibedakan berdasarkan pada kisaran inangnya karena PRSV-P dapat menginfeksi pepaya dan *Cucurbitaceae*, sedangkan PRSV-W

tidak dapat menginfeksi pepaya dan hanya menginfeksi *Cucurbitaceae* (You *et al.* 2005). Analisis protein selubung mengindikasikan bahwa PRSV-P merupakan hasil evolusi dari PRSV-W yang mengalami mutasi (Bateson *et al.* 1994, 2002). Infeksi PRSV-P pada pepaya telah sejak lama dilaporkan terjadi di Hawaii tahun 1949, Queensland-Australia tahun 1991, Guam tahun 1994, dan Polynesia tahun 2005 (Davis *et al.* 2005).

Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 93/Permentan/OT.140/12/2011 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina, PRSV termasuk dalam daftar Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina (OPTK) kategori A1, yaitu kategori OPT yang belum dilaporkan keberadaannya di wilayah Negara Indonesia. Walaupun demikian, informasi yang diperoleh dari <http://ugm>.

ac.id/id/post/page?id=4773 (diunduh pada 1 November 2012) menyatakan bahwa PRSV telah menginfeksi pertanaman pepaya di daerah Sleman, Bantul, Gunung Kidul, dan Kulon Progo, di Daerah Istimewa Yogyakarta. Sikuen basa nukleotida PRSV asal Indonesia juga telah terdaftar pada *GenBank* dengan nomor akses AF374865.1. Tulisan ini merupakan laporan pertama mengenai infeksi PRSV pada pepaya di daerah Aceh dan menguatkan keberadaan PRSV di wilayah Negara Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Bateson MF, Hendersen J, Chaleeprom W, Ha CV, Gibbs AJ, Dale JL. 1994. *Papaya ringspot potyvirus*: Isolate variability and the origin of *Papaya ringspot virus* type P (Australia). *J Gen Virol.* 75(12):3547-3553. doi: 10.1099/0022-1317-75-12-3547.
- Bateson MF, Lines RE, Revill P, Chaleeprom W, Ha CV, Gibbs AJ, Dale JL. 2002. On the evolution and molecular epidemiology of the *potyvirus Papaya ringspot virus*. *J Gen Virol.* 83(10):2575-2585. doi: 10.2575-2585.
- Davis RI, Mu L, Maireroa N, Wigmore WJ, Grisoni M, Bateson MF, Thomas JE. 2005. First records of the papaya strain of *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) in French Polynesia and the Cook Island. *Austr Plant Pathol.* 34(1):125-126. doi:10.1071/AP04094.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Window 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser.* 41:95-98.
- Kalleshwaraswamy CM, Kumar NK. 2008. Transmission efficiency of *Papaya ringspot virus* by three aphid species. *Phytopathology.* 98(5):541-546. doi: 10.1094/PHYTO-98-5-0541.
- Marie-Jeanne V, Loos R, Peyre J, Alliot B, Signoret P. 2000. Differentiation of Poaceae *Potyvirus*es by reverse transcription polymerase chain reaction and restriction analysis. *J Phytopathol.* 148(3):141-151. doi:10.1046/j.1439-0434.2000.00473.x.
- Purcifull DE, Edwardson J, Hiebert E, Gonsalves D. 1984. *Papaya ringspot virus*. CMI/AAB Description of Plant Viruses, No. 292.
- You BJ, Chiang CH, Chen LF, Su WC, Yeh SD. 2005. Engineered mild strains of *Papaya ringspot virus* for broader cross protection in cucurbits. *Phytopathology.* 95(5):533-540. doi: 10.1094/PHYTO-95-0533.