

IDENTIFIKASI PENYAKIT YANG DISEBABKAN OLEH VIRUS PADA TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) DI MALANG, JAWA TIMUR

Miladiyatul Fauziyah, Tutung Hadiastono, Fery Abdul Choliq

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia

ABSTRACT

Papaya ringspot is a new disease on papaya in Indonesia caused by pathogens *Papaya ringspot virus* (PRSV). The purpose of this study is to identify the virus that causes the disease in papaya. The research was conducted in the Laboratory of Virology, Department of Plant Pest and Disease, Faculty of Agriculture, Brawijaya University and *screen house* Karangwidoro Village, Dau District, Malang. The research employed a descriptive method to determine the type of virus that infects papaya plants. The results showed that papaya plants' symptoms were mosaic and chlorosis on the leaf lamina, and there was a ringspot on the fruit's surface. The results of virus infection to indicator plants *C. amaranticolor* and *C. quinoa* produce local necrotic lesions. Based on identification using TEM virus particle morphology classified as a family Potyvirus, flexuous filament-shaped about 800-900 nm x 12 nm. Virus tested had a host range of plants of the family *Caricaceae* and two types of plants of the family *Cucurbitaceae* that *C. sativus* and *C. melo* L. Based on the results of the virus physical characteristic test, the value of DEP, TIP, and LIV viruses are 10^{-5} - 10^{-6} , 65°C, and 24-48 hours at room temperature. Based on these values, the viruses that infect papaya plants in Malang included the Potyvirus family that is *Papaya ringspot virus* (PRSV).

Keywords : papaya, Potyvirus, PRSV

ABSTRAK

Papaya ringspot merupakan penyakit baru pada tanaman pepaya di Indonesia yang disebabkan oleh patogen *Papaya ringspot virus* (PRSV). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui virus penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Virologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan *Screenhouse* Desa Karangwidoro, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif untuk mengetahui jenis virus pada tanaman pepaya. Hasil penelitian menunjukkan gejala pada tanaman pepaya di lapang yaitu mosaik dan klorosis pada lamina daun serta adanya bercak cincin atau ringspot pada permukaan buah. Hasil penularan pada tanaman indikator *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* menghasilkan gejala lesio lokal nekrosis. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan TEM morfologi partikel virus tergolong kelompok Potyvirus, berbentuk filament flexuous dengan ukuran sekitar 800-900 nm x 12 nm. Virus yang diuji mempunyai kisaran inang tanaman dari famili *Caricaceae* dan dua jenis tanaman dari famili *Cucurbitaceae* yaitu *C. sativus* dan *C. melo* L. Berdasarkan hasil pengujian sifat fisik virus diketahui nilai DEP, TIP, dan LIV virus yang diuji yaitu 10^{-5} - 10^{-6} , 65°C, dan 24-48 jam pada suhu ruang. Berdasarkan nilai tersebut dapat disimpulkan virus yang menginfeksi tanaman pepaya di Malang termasuk dalam famili Potyvirus yaitu *Papaya ringspot virus* (PRSV).

Kata kunci : pepaya, Potyvirus, PRSV

PENDAHULUAN

Di Indonesia, tanaman pepaya umumnya dibudidayakan di dataran rendah dan dataran tinggi, yaitu sampai ketinggian 1.000 m di atas permukaan air laut (Kalie, 1994). Salah satu kendala yang dihadapi dalam peningkatan produksi pepaya yaitu serangan patogen yang menyebabkan penyakit. Beberapa patogen penting yang menginfeksi tanaman pepaya adalah *Papaya lethal yellowing virus*, *Papaya meleira virus*, *Papaya apical necrosis virus*, *Papaya ringspot virus* (Silva *et al.*, 2007).

Papaya ringspot merupakan penyakit baru pada tanaman pepaya di Indonesia dan menyebabkan kerugian secara ekonomi, penyakit ini disebabkan oleh patogen *Papaya ringspot virus* (Harmiyati, 2015). Istilah *Papaya ringspot virus* (PRSV) pertama kali dikemukakan oleh Jensen pada tahun 1949 untuk menggambarkan penyakit yang menyerang tanaman pepaya di Hawaii (Gonsalves *et al.*, 2010). PRSV adalah anggota famili *Potyviridae*, genus *Potyvirus* yang diketahui memiliki daerah sebar geografi yang sangat luas. Peraturan Menteri Pertanian nomor 51/ Permentan/ KR. 010/ 9/2015 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina menggolongkan PRSV sebagai organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) kategori A2 golongan I, yaitu kategori OPT yang sudah terdapat di wilayah Negara Indonesia dan tidak dapat dibebaskan dari media pembawanya (Anonim, 2015).

Berdasarkan survei pendahuluan pada pertanaman pepaya di wilayah Malang terdapat tanaman pepaya yang diduga terserang virus penyebab penyakit. Berdasarkan hal ini maka perlu adanya identifikasi terhadap virus penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang yang nantinya dapat digunakan untuk mencegah atau menekan penyebaran virus mengingat kemampuan sebaran virus yang cukup luas. Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang memberikan

informasi terkait identifikasi virus penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui virus penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang serta mengetahui reaksi beberapa inang, sifat fisik dan morfologi virus penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Virologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan *Screenhouse* Desa Karangwidoro, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mortar, kain kasa, cawan petri, botol semprot, tabung reaksi, mikro pipet 2 ml, *water bath*, polybag ukuran 3 kg, stirrer, sentrifuge, mikroskop elektron.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun tanaman terinfeksi virus, tanaman indikator *C. amaranticolor*, *C. quinoa* dan *G. globosa*, tanaman pepaya sehat 4 varietas (pepaya var. California, pepaya var. Lokal asal (Garut dan Sukabumi), pepaya var. Bangkok, dan pepaya var. Red lady), tanaman timun (*C. sativus*), tanaman melon (*C. melo* L.), tanaman tomat (*S. lycopersicum* L.) dan tanaman sawi (*B. juncea* L.) Bufer fosfat 0,01 M, Carborundun 600 mesh, alkohol 70%, aquadest steril, kloroform 12%, tanah, kompos.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif untuk mengetahui jenis virus pada tanaman pepaya dengan pengujian kisaran inang, pengujian sifat fisik virus, dan morfologi partikel virus.

Penyiapan Sampel Tanaman Pepaya Terinfeksi Virus

Pengambilan sampel tanaman pepaya terinfeksi virus dilakukan pada tanaman pepaya di daerah Malang. Sampel yang diperoleh digunakan sebagai sumber

inokulum untuk perbanyak inokulum virus.

Penyiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah campuran tanah dan kompos yang telah disterilkan dengan perbandingan 1:1. Media yang telah siap digunakan dimasukkan dalam polybag berukuran 3 kg.

Perbanyak Sumber Inokulum Virus

Perbanyak sumber inokulum virus dilakukan pada tanaman indikator *C. amaranticolor* yang berumur 2-3 minggu dengan metode inokulasi secara mekanis menggunakan sap. Bagian tanaman yang terinfeksi virus ditambahkan larutan bufer fosfat 0,01 M pH 7 dengan perbandingan 1:5 (b/v), kemudian digerus menggunakan mortar dan pistil dan disaring menggunakan kain kasa. Larutan sap diinokulasikan ke bagian jaringan daun tanaman sehat yang sebelumnya telah dilukai menggunakan karborundum 600 mesh. Kemudian dibilas dengan menggunakan aquadest.

Pengujian Kisaran Inang

Uji kisaran inang dilakukan pada 4 varietas pepaya, yaitu California, Bangkok, Lokal (Garut dan Sukabumi), dan Red Lady; serta 2 jenis tanaman dari famili *Cucurbitaceae*, yaitu timun (*C. sativus*), dan melon (*C. melo* L.), tanaman dari famili *Solanaceae* yaitu tomat (*S. lycopersicum* L.) dan tanaman dari famili *Brassicaceae* yaitu sawi (*B. juncea* L.). Inokulasi dilakukan

secara mekanis menggunakan sap tanaman sakit, jumlah tanaman yang dinokulasi sebanyak 3 tanaman untuk setiap jenis tanaman. Umur tanaman yang akan diinokulasi bervariasi berdasarkan jenis tanaman (Tabel 1).

Pengujian Sifat Fisik Virus

Dilution End-Point (DEP). Pengujian ini dilakukan dengan pengenceran sap tanaman 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} . Dimana 10^{-1} berarti 1 ml sap + 9 ml buffer, yang kemudian dihomogenkan dalam masing-masing tabung reaksi. Setiap hasil pengenceran diinokulasikan pada tanaman uji, pada masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji.

Thermal Inactivation Point (TIP). Metode yang dilakukan yaitu 2 ml sap yang telah siap dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Panaskan tabung dalam *water bath* selama 10 menit. Pengujian dilakukan dengan interval pemanasan 5°C yaitu dari $40-70^{\circ}\text{C}$. Setelah pemanasan tabung reaksi segera didinginkan menggunakan air es. Sap yang telah dipanaskan diinokulasikan pada tanaman uji. Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji.

Longevity In Vitro (LIV). Metode yang dilakukan yaitu mengisi 7 tabung reaksi yang tertutup dengan masing-masing tabung berisi 2 ml sap tanaman sakit. Diinokulasikan pada tanaman uji dengan 7 waktu setelah penyimpanan yaitu (1,5,8,12,24,48,72 jam). Pada masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji.

Tabel 1. Famili, spesies tanaman, dan umur tanaman yang digunakan dalam pengujian kisaran inang.

Famili	Jenis tanaman	Umur tanaman saat inokulasi (HST)*
Caricaceae	Pepaya var. California	26
	Pepaya var. Lokal	26
	Pepaya var. Bangkok	26
	Pepaya var. Red Lady	26
Cucurbitaceae	Timun (<i>Cucumis sativus</i>)	10
	Melon (<i>Cucumis melo</i> L.)	10
Solanaceae	Tomat (<i>S. lycopersicum</i> L.)	15
Brassicaceae	Sawi (<i>B. juncea</i> L.)	10

Identifikasi Sampel

Pembuatan sampel uji. Bagian tanaman yang terinfeksi virus ditambahkan larutan bufer fosfat 0,01 M pH 7 dengan perbandingan 1:5 (b/v). Kedua bahan digerus menggunakan mortar dan pistil steril, kemudian disaring menggunakan 2 lapis kain tipis. Ekstrak yang didapat dijernihkan dengan menambahkan 12% kloroform dan diaduk menggunakan stirrer selama 2 menit. Kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8000 rpm selama 20 menit, setelah selesai supernatan yang telah terpisah dikumpulkan.

Identifikasi dengan Mikroskop Elektron. Supernatan yang telah didapat kemudian diidentifikasi menggunakan TEM (*Transmission electron microscope*) di Laboratorium Kimia Universitas Gadjah Mada.

Variabel Pengamatan

Uji kisaran inang. Pengamatan yang dilakukan dalam uji kisaran inang meliputi masa inkubasi, dan jenis gejala yang muncul. Masa inkubasi ditentukan pada saat pertama gejala muncul setelah dilakukan inokulasi.

Dilution End-Point (DEP). Pengamatan dilakukan dengan melihat perkembangan gejala, serta menghitung jumlah lesio lokal pada tanaman yang diinokulasi pada akhir pengamatan. Titik batas pengenceran dinyatakan dengan dua pengenceran, diantara pengenceran tertinggi yaitu virus masih mempunyai daya tular dengan pengenceran tertinggi berikutnya.

Thermal Inactivation Point (TIP). Pengamatan dilakukan dengan melihat perkembangan gejala sejak awal inokulasi sampai tanaman berumur 3 minggu setelah inokulasi. Perhitungan jumlah lesio lokal pada tanaman yang diinokulasi pada akhir pengamatan. Temperatur tertinggi dari perlakuan yang dibuat sampai tidak muncul gejala merupakan nilai dari titik batas inaktivasi virus dalam sap selama 10 menit.

Longevity In Vitro (LIV). Pengamatan dilakukan dengan melihat perkembangan gejala, jika semisal gejala muncul pada

tanaman yang diinokulasi dengan sap yang disimpan pada suhu ruang 8 jam tetapi tidak muncul gejala lagi setelah disimpan 12 jam, dapat disimpulkan nilai LIV antara 8-12 jam. Perhitungan jumlah lesio lokal pada tanaman yang diinokulasi pada akhir pengamatan.

Pengamatan morfologi partikel virus.

Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop elektron berupa bentuk dan ukuran partikel virus yang berasal dari sampel preparat virus hasil isolasi dari tanaman sakit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Pepaya

Gejala yang tampak pada tanaman pepaya di lapang yaitu mosaik dan klorosis pada lamina daun serta bercak cincin atau ringspot pada permukaan buah (Gambar 1). Bercak cincin ini berwarna hijau lebih tua dibandingkan hijau permukaan buah secara keseluruhan. Untuk mengetahui penyebab penyakit pada tanaman pepaya ini dilakukan penularan secara mekanis pada tanaman indikator.

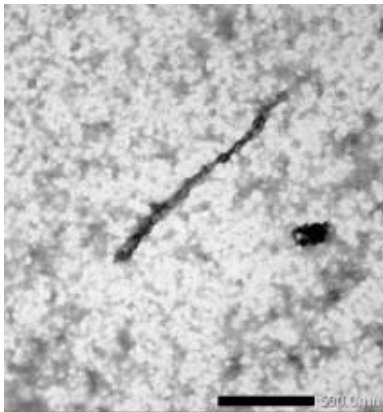


Gambar 1. Gejala penyakit pada tanaman pepaya di lapang

Hasil dari penularan terhadap tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* menunjukkan gejala lesio lokal nekrosis yang merupakan gejala penyakit yang disebabkan oleh virus penyebab penyakit pada tanaman. Menurut Saraswati (2014) *Papaya ringspot virus*

yang diinokulasikan pada tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* menghasilkan gejala lesio lokal nekrosis.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan TEM, morfologi partikel virus yang menginfeksi tanaman pepaya diketahui tergolong kelompok *Potyvirus*. Partikel virus diketahui berbentuk filament flexuous dengan ukuran sekitar 800-900 nm x 12 nm (Gambar 2). Berdasarkan hasil tangkapan TEM dapat diasumsikan berdasarkan bentuk dan ukuran partikel termasuk ke dalam famili *Potyviridae*. Untuk dapat lebih mendukung hasil identifikasi virus dilakukan pengujian lainnya seperti pengujian kisaran inang serta pengujian sifat fisik virus terhadap stabilitasnya dalam sap.



Gambar 2. Partikel Papaya ringspot virus

Pengujian Kisaran Inang

Dari hasil pengujian ini terdapat perbedaan respon dari setiap jenis tanaman baik dari variasi gejala maupun periode inkubasi (Tabel 2). Berdasarkan pengujian kisaran inang yang dilakukan dapat diketahui virus yang menginfeksi tanaman pepaya dapat menginfeksi tanaman dari famili *Caricaceae* dan *Cucurbitaceae* sedangkan pada famili *Brassicaceae* dan *Solanaceae* tidak dapat terinfeksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gonsalves *et al* (2010) bahwa kisaran inang PRSV terbatas pada famili *Caricaceae*, *Cucurbitaceae*, dan *Chenopodiaceae*.

Pengujian Sifat Fisik Virus

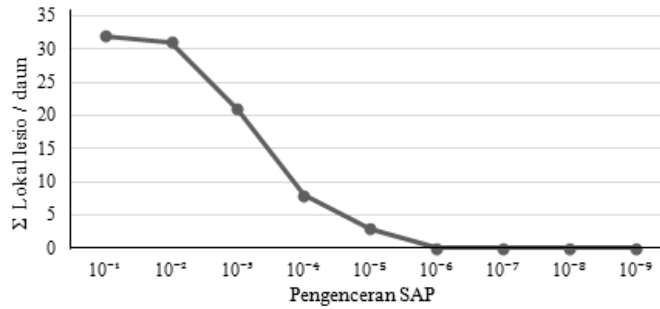
Dilution End Point (DEP). DEP merupakan suatu metode untuk mengetahui kemampuan suatu virus dalam sap setelah dilakukan pengenceran untuk tetap dapat menginfeksi tanaman. Setiap perlakuan pengenceran menyebabkan semakin berkurangnya konsentrasi virus dalam sap sehingga kemampuan untuk menginfeksi tanaman semakin menurun (Gambar 3).

Berdasarkan hasil pengujian dapat diasumsikan titik batas pengenceran pada virus yang diamati yaitu antara 10^{-5} sampai 10^{-6} . Berdasarkan hasil penelitian Jin, *et al* (2009) titik batas pengenceran PRSV dalam

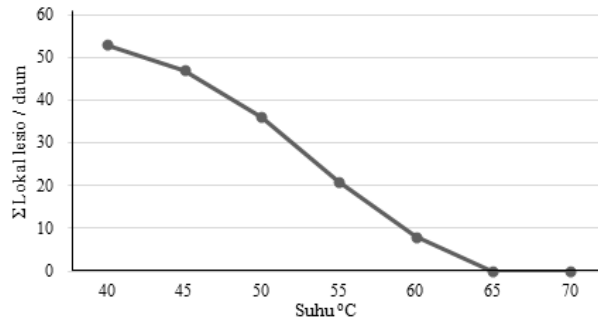
Tabel 2. Hasil uji kisaran inang melalui penularan mekanis

Jenis Tanaman	Reaksi Tan.	Jenis Gejala	Masa Inkubasi
Caricaceae			
Pepaya var. California	+	m, k, ml, kl, kt	19 hari
Pepaya var. Bangkok	+	kl	29 hari
Pepaya var. Red Lady	+	kl, ml	21 hari
Pepaya var. Lokal (Garut)	+	kl, ml, k, kt	17 hari
Pepaya var. Lokal (Sukabumi)	+	m, k, ml, kt	20 hari
Cucurbitaceae			
<i>C. sativus</i>	+	m, kt	12 hari
<i>C. melo</i> L.	+	m, kt	10 hari
Brassicaceae			
<i>B. juncea</i> L.	-	-	-
Solanaceae			
<i>S. lycopersicum</i> L.	-	-	-

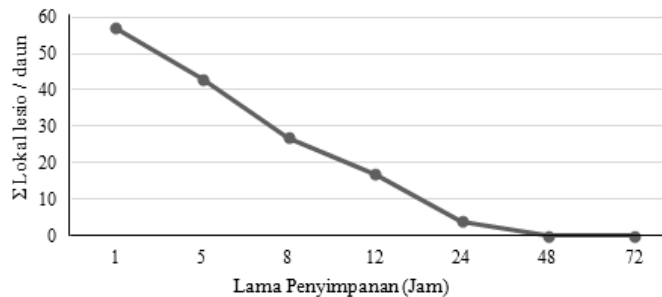
Keterangan: m= mosaik, ml= malformasi daun, k= kerdil, kl= klorotik, kt = mengkerut/keriting, (-) = tidak bergejala



Gambar 3. Rata-rata jumlah lesio lokal setiap daun pada pengujian *Dilution end-point* (DEP)



Gambar 4. Rata-rata jumlah lesio lokal setiap daun pada pengujian *Thermal inactivation Point* (TIP)



Gambar 5: Rata-rata jumlah lesio lokal setiap daun pada pengujian *Longevity in-vitro* (LIV).

sap berkisar antara 10^{-4} sampai 10^{-5} . Menurut Wahyuni (2005) kebanyakan virus memiliki nilai DEP berkisar antara 10^{-3} sampai 10^{-7} .

Thermal Inactivation Point (TIP). Pengujian TIP dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu virus dalam sap ketika dipanaskan untuk tetap dapat menginfeksi tanaman. Semakin tinggi perlakuan pemanasan sap menyebabkan jumlah gejala lesio lokal semakin menurun (Gambar 4).

Berdasarkan hal tersebut dapat diasumsikan bahwa pemanasan dengan suhu 65°C merupakan titik batas inaktivasi virus yang diuji. Berdasarkan hasil penelitian Jin, *et al* (2009) titik batas pemanasan PRSV dalam sap yaitu berkisar antara 65°C dan 70°C yang dipanaskan selama 10 menit.

Berdasarkan hasil penelitian Kumar, *et al* (2014), isolat PRSV yang diuji mempunyai nilai TIP 55°C . Menurut Hill (1984) virus yang termasuk dalam jenis *Potyvirus* mempunyai titik batas inaktivasi virus dalam sap antara $50-60^{\circ}\text{C}$.

Longevity In Vitro (LIV). Pengujian LIV dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu virus dalam sap terhadap lama penyimpanan dalam suhu ruang untuk tetap dapat menginfeksi tanaman. Semakin lama penyimpanan jumlah lesio lokal semakin menurun (Gambar 5). Hal ini disebabkan oleh berkurangnya kemampuan virus dalam menginfeksi akibat lama penyimpanan dalam suhu ruang.

KESIMPULAN

Hasil pengujian sifat fisik virus menunjukkan bahwa penyebab penyakit pada tanaman pepaya di Malang adalah virus dalam famili *Potyviriidae* yaitu *Papaya ringspot virus* (PRSV). Pada pengujian kisaran inang tanaman dari famili *Caricaceae* dan dua jenis tanaman *Cucurbitaceae* yaitu *C. sativus* dan *C. melo* L. merupakan inang dari PRSV sedangkan tanaman dari famili *Brassicaceae* yaitu *B. juncea* L. dan tanaman famili *Solanaceae* yaitu *S. lycopersicum* L. bukan merupakan inang dari PRSV. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap partikel virus diketahui partikel virus yang diuji termasuk dalam genus *Potyvirus* yaitu PRSV dengan bentuk filamen lentur dengan ukuran kurang lebih 700-800 x 12nm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 51 tahun 2015 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina. Jakarta
- Gonsalves, D. Tripathi S. Carr, J. B. Suzuki J. Y. 2010. *Papaya ringspot virus. Pant Health Instructor*.DOI” 10.1094/PHI-I-2010-1004-01. 149 (12):2435
- Hill, S.A. 1984. Methods in Plants Virology. Agricultural Develop-ment and Advisor Service Ministry of Agriculture. Fisheries and Food Cambridge. Oxford.
- Jin, T.S., S.M. Kim, S.J. Ko, S.H. Lee, H.S. Choi, J.W. Park, B.J. Cha. 2009. Occurrence of Papaya ringspot virus Infecting Cucurbit Crops in Korea. The Korean Journal of Pesticide Science. 13(4): 298-308
- Kalie, M. B. 1994. Bertanam Pepaya. Niaga Swadaya. Jakarta
- Kumar, S., A. Sankarlingam, R. Rabindran. 2014. Characterization and Confirmation of Papaya ringspot virus-W Strain Infecting Trichosanthese cucumerina at Tamil Nadu, India. J. Plant Pathology Microbiology. 5:225.
- Saraswati, U. 2014. Karakterisasi Molekular Coat Protein Gene Papaya Ringspot Virus Pada Tanaman Pepaya (*Carica Papaya* L.) Di Indonesia. Thesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Silva, Da. JA.T, Roshid Z, Nhut DT, Sivakumar D, Gera A, Souza MT Jr, Tennat PF. 2007. Papaya (*Carica papaya*L.) biology and biotechnology. Tree and Forestry Science and Biotechnology. 1(1):47-73. 2442.
- Harmiyati T. 2015. Kisaran Inang dan Penularan *Papaya ringspot virus*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wahyuni, W.S. 2005. Dasar-Dasar Virologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta