

Deteksi dan Respons Lima Varietas Pepaya terhadap Tiga Isolat *Papaya Ringspot Virus* (PRSV) (Detection and Response of Five Varieties of Papaya to Three Isolates of *Papaya Ringspot Virus* [PRSV])

Tutik Harmiyati, Sri H. Hidayat*, dan Abdul M. Adnan

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper, Kampus Darmaga, Bogor 16680 Indonesia
Telp. (0251) 8629364; Faks. (0251) 8629362; *E-mail: srihendrastutihidayat@gmail.com

Diajukan: 19 Agustus 2015; Direvisi: 10 September 2015; Diterima: 6 November 2015

ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) is one of favorite fruits for Indonesian people and known as a good vitamin source. Recently, a ring spot disease was reported in some growing areas and it potentially caused yield loss. The disease is caused by *Papaya ringspot virus* (PRSV) and considered as a new disease in Indonesia. Therefore, preliminary research was done to study the response of some varieties of papaya against PRSV infection. Field isolates of PRSV were collected from Medan, Aceh, and Bogor. Identification of the isolates was done based on the nucleotide sequence analysis of coat protein gene. Response of papaya varieties was evaluated based on the results of mechanical inoculation. Identification results showed that the nucleotide sequences of PRSV isolates Medan, Aceh, and Bogor, have a high similarity to that from other countries, i.e. Thailand, Australia, China, Japan, Vietnam, and Taiwan (93.0–98.3%). Disease incidence reached 100% for all isolates of PRSV on all test varieties, although based on the DIBA's result, it was known that the virus titer in plants are different. No varieties of papaya showed resistant to PRSV.

Keywords: DIBA, mechanical inoculation, RT-PCR, nucleotide sequences.

ABSTRAK

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu buah yang banyak mengandung vitamin dan banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia. Beberapa tahun terakhir dilaporkan munculnya penyakit bercak cincin yang menyebabkan menurunnya produksi pepaya di beberapa daerah. Penyakit bercak cincin ini disebabkan oleh *Papaya ringspot virus* (PRSV) dan merupakan penyakit baru di Indonesia. Penelitian telah dilakukan untuk mendeteksi dan mempelajari respons beberapa varietas pepaya terhadap infeksi PRSV. Isolat PRSV yang digunakan berasal dari Medan, Aceh, dan Bogor. Identifikasi isolat dilakukan berdasarkan analisis sekuen nukleotida pada gen protein selubung. Evaluasi respons varietas pepaya didasarkan pada hasil inokulasi mekanis virus. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sekuen nukleotida PRSV isolat Medan, Aceh, dan Bogor memiliki kemiripan yang tinggi dengan sekuen nukleotida PRSV dari negara lain, yaitu Thailand, Australia, Cina, Jepang, Vietnam, dan Taiwan (93,0–98,3%). Insidensi penyakit mencapai 100% untuk semua isolat PRSV pada semua varietas uji, walaupun berdasarkan hasil DIBA diketahui bahwa titer virus pada tanaman berbeda-beda. Semua varietas pepaya menunjukkan respons tidak tahan terhadap infeksi semua isolat PRSV.

Kata kunci: DIBA, inokulasi mekanis, RT-PCR, sekuen nukleotida.

PENDAHULUAN

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L., famili Caricaceae) merupakan tanaman buah yang banyak ditanam di negara-negara tropik dan subtropik di seluruh dunia (Usharani *et al.*, 2012). Produktivitas pepaya sangat dipengaruhi oleh faktor alam, termasuk gangguan hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang paling merusak pada tanaman pepaya dan Cucurbitaceae di beberapa negara adalah penyakit bercak cincin yang disebabkan oleh *Papaya ringspot virus* (PRSV) (Tennant *et al.*, 2007) dan sangat merugikan petani (Awasthi *et al.*, 2011). Bergantung pada waktu infeksi dan umur tanaman, kehilangan hasil yang disebabkan infeksi PRSV berkisar antara 40–90%, bahkan dapat mencapai 100% di beberapa negara penghasil pepaya (Tennant *et al.*, 2007).

Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 93/Permentan/OT 140/12/2011 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina, PRSV termasuk ke dalam daftar organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) kategori A1, yaitu kategori OPT yang belum dilaporkan keberadaannya di wilayah Indonesia. Namun, Hidayat *et al.* (2012) melaporkan bahwa PRSV telah menginfeksi tanaman pepaya di Aceh dengan insidensi mencapai 100%. Hasil analisis urutan basa nukleotida menunjukkan bahwa PRSV isolat Aceh mempunyai kemiripan yang sangat tinggi (92,7–94,7%) dengan PRSV asal Filipina dan Thailand. Pertanaman pepaya yang terinfeksi PRSV juga ditemukan di daerah Yogyakarta, seperti Sleman, Bantul, Gunung Kidul, dan Kulon Progo; beberapa daerah di Jawa Tengah, seperti Kebumen, Boyolali, dan Magelang (Saraswati, 2014); Bogor (Lestari, 2014).

Tanaman pepaya yang terinfeksi PRSV menunjukkan gejala yang khas, yaitu mosaik menonjol pada daun, klorosis pada lamina daun, garis-garis seperti berminyak pada tangkai, dan jika serangan parah daun akan berbentuk seperti tali sepatu (*shoestrings*). Gonsalves *et al.* (2010) mengungkapkan bahwa buah tanaman yang terinfeksi PRSV menunjukkan benjolan mirip dengan buah tanaman yang kekurangan boron dan sering menunjukkan gejala bercak cincin.

PRSV yang digolongkan ke dalam genus *Potyvirus*, famili *Potyviridae*, memiliki sinonim *Papaya distortion mosaic virus*, *Papaya distortion ringspot virus*, *Papaya leaf distortion virus*, dan *Papaya ringspot potyvirus* (CABI, 2014). PRSV dibedakan menjadi dua strain, yaitu PRSV-P dan PRSV-W. PRSV-P dapat menginfeksi tanaman dari famili Caricaceae dan Cucurbitaceae, sedangkan PRSV-W hanya dapat menginfeksi tanaman dari

famili Cucurbitaceae (Gonsalves, 1998). PRSV dapat ditularkan baik secara mekanis maupun melalui vektor, namun tidak dapat ditularkan melalui benih. Banyak spesies kutu daun (*aphid*) yang dapat menularkan PRSV secara nonpersisten (Tripathi *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 1998). *Aphis gossypii* merupakan vektor utama PRSV, diikuti oleh *A. craccivora* dan *Myzus persicae* (Kalleshwarashwamy *et al.*, 2007).

Deteksi PRSV dapat dilakukan dengan metode *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) dan *dot-immunobinding assay* (DIBA). RT-PCR merupakan metode diagnosis PRSV yang penting dan cepat. Selain itu, DIBA juga sangat berguna untuk pengindeksan virus karena metode ini sederhana dan murah untuk deteksi virus skala besar.

Status PRSV di Indonesia perlu diketahui lebih lanjut sebagai landasan untuk menentukan langkah pengendalian penyakit. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi PRSV dan mengetahui respons beberapa varietas pepaya populer di Indonesia terhadap PRSV.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan Inokulum PRSV

PRSV isolat Aceh dan Bogor diperoleh dari tanaman pepaya terinfeksi koleksi Laboratorium Virologi Tumbuhan, IPB, sedangkan PRSV isolat Medan diperoleh dari tanaman pepaya terinfeksi di Desa Namo Belin, Medan. Ketiga isolat virus diperbanyak di Rumah Kaca Cikabayan, IPB, pada tanaman pepaya varietas California berumur 3–4 minggu yang diinokulasi secara mekanis. Daun-daun muda ditaburi karborondum 600 mesh kemudian diolesi dengan sap tanaman terinfeksi PRSV. Sap tanaman yang digunakan diperoleh dengan cara menggerus daun tanaman terinfeksi dalam bufer fosfat yang mengandung β -mercaptoethanol 1% dengan perbandingan 1 : 5 (b/v). Tanaman yang menunjukkan gejala penyakit digunakan sebagai sumber inokulum virus.

Deteksi PRSV dengan Metode *Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

RNA total diekstraksi dari daun tanaman ber-gejala PRSV menggunakan bufer *cetyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB) yang mengandung β -mercaptoethanol 1% (Doyle dan Doyle, 1987). RNA digunakan sebagai cetakan dalam reaksi transkripsi balik untuk menghasilkan cDNA. Setiap 10 μ l reaksi transkripsi balik terdiri atas 2 μ l bufer RT, 0,50 μ l dNTP

10 mM, 0,35 μ l DTT 50 mM, 0,35 μ l *RNAse inhibitor* (Thermo Scientific™), 0,35 μ l M-MuLV (Thermo Scientific™), 3,7 μ l H₂O bebas nuklease, 0,75 μ l Oligo d(T), dan 2 μ l cetakan RNA (*template*). Transkripsi balik RNA dilakukan pada suhu 37°C selama 1 jam dan 70°C selama 10 menit. cDNA yang dihasilkan digunakan sebagai cetakan DNA dalam reaksi amplifikasi DNA. Setiap reaksi amplifikasi (25 μ l) terdiri atas 1 μ l cDNA, sepasang primer spesifik gen protein selubung PRSV (10 μ M) 1 μ l masing-masing, 12,5 μ l *GTG Master mix* (Thermo Scientific™), dan 9,5 μ l d₂H₂O. Primer yang digunakan adalah PRSV 326 dan PRSV 800 dengan urutan basa berturut-turut 5'-TCGTGCCACTCAATCACAAT-3' dan 5'-GTTACTGACACTGCCGTCCA-3' dengan target ampikon berukuran 475 bp (Mohammed *et al.*, 2012). Program amplifikasi terdiri atas tahap pradenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus, dilanjutkan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada 50°C selama 1 menit, ekstensi pada 72°C selama 1 menit, dan ekstensi final pada 72°C selama 7 menit.

DNA hasil amplifikasi dijalankan pada gel agarosa 1% yang dilarutkan dalam bufer 0,5 \times *Tris-borate EDTA* (TBE). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 volt selama 50 menit. Selanjutnya, gel direndam dalam larutan etidium bromida 1% selama 15 menit. DNA divisualisasi di bawah *UV transilluminator* dan didokumentasi dengan kamera digital.

Analisis Sekuen Nukleotida

DNA hasil amplifikasi dirunut di *First Base* (Singapura). Hasil perunutan DNA dibandingkan dengan susunan nukleotida PRSV asal negara lain yang terdaftar di *GenBank*®, kemudian dianalisis menggunakan program *Basic Local Alignment Search*

Tool (BLAST) pada situs *National Center for Biotechnology Information* (www.ncbi.nlm.nih.gov). Tingkat homologi nukleotida dihitung menggunakan program *ClustalW-Multiple Sequence Alignment* setelah dilakukan pengeditan terhadap susunan nukleotida menggunakan perangkat lunak BioEdit 7.05.

Ketahanan Lima Varietas Tanaman Pepaya terhadap Inokulasi Tiga Isolat PRSV

Bibit pepaya varietas California, Calina, Lokal, Bangkok, dan Red Lady ditanam dalam polibag berukuran 25 cm \times 25 cm pada media tanam tanah dan kompos dengan perbandingan 2 : 1. Tanaman pepaya disiram setiap 2 hari sekali. Setelah berumur 3–4 minggu, bibit diinokulasi secara mekanis dengan ketiga isolat PRSV. Setiap perlakuan varietas diulang 5 kali (5 tanaman) dengan 1 tanaman yang tidak diinokulasi PRSV sebagai perlakuan pembandingan (kontrol). Pengamatan dilakukan setiap hari selama 1 bulan terhadap periode inkubasi, jenis gejala yang muncul, insidensi penyakit, dan keparahan penyakit. Periode inkubasi ditentukan pada saat pertama gejala muncul. Insidensi penyakit dihitung menggunakan rumus berikut ini:

$$IP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

dengan

IP = insidensi penyakit

n = jumlah tanaman yang sakit

N = jumlah seluruh tanaman.

Jumlah tanaman yang sakit ditentukan pada hasil deteksi PRSV menggunakan metode DIBA. Deteksi DIBA dilakukan dengan merujuk pada Mahmood *et al.* (1997). Jaringan tanaman yang terinfeksi PRSV digerus dengan *Tris buffer saline/TBS* (*Tris-HCl* 0,02 M dan *NaCl* 0,15 M, pH 7,5, 1 : 10 [b/v]). Sebanyak 2 μ l sap tanaman ditetaskan di atas

Tabel 1. Skor gejala penyakit bercak cincin yang disebabkan oleh PRSV (Pacheco *et al.*, 2013).

Skor	Gejala
0	Tidak bergejala
1	Mosaik ringan pada daun
2	Mosaik sedang, tulang daun memucat (<i>vein clearing</i>), malformasi daun ringan, penebalan lamina daun (<i>rugos</i>)
3	Mosaik parah/sebagian besar lamina daun menguning, tulang daun menebal (<i>vein banding</i>), <i>shoestring</i> , kerdil
4	Tanaman mati

Tabel 2. Kriteria ketahanan tanaman terhadap infeksi PRSV.

Keparahan penyakit (KP)	Respons ketahanan	Kategori gejala penyakit
0%	Imun	Tidak ada gejala
1% < KP \leq 25%	Tahan	Ringan
26% < KP \leq 50%	Agak rentan	Sedang
51% < KP \leq 75%	Rentan	Berat
KP \geq 75%	Sangat rentan	Sangat berat

membran nitroselulosa. Membran direndam dalam 10 ml larutan *blocking* (*nonfat milk* 2% dalam TBS yang mengandung *Triton X-100* dengan konsentrasi akhir 2%), digoyang 50 rpm selama 180 menit. Membran dicuci dengan *Tween* 0,05% dalam TBS (TBST). Setelah itu, membran direndam dalam TBS yang mengandung antibodi PRSV (Agdia, Inc.) dan *nonfat milk* dengan konsentrasi akhir 2%, diinkubasi semalam pada suhu ruang dengan digoyang pada kecepatan 50 rpm. Membran dicuci menggunakan TBST sebanyak 5 kali dan direndam dalam 5 ml TBS yang mengandung 5 μ l *goat anti-rabbit* (GAR) *secondary antibody* dan *nonfat milk* dengan konsentrasi akhir 2%, diinkubasi selama 60 menit pada 50 rpm. Membran dicuci kembali dengan TBST dan direndam dalam 10 ml bufer substrat (Tris-HCl 0,1 M, NaCl 0,1 M, dan MgCl₂ 5 mM) yang mengandung 45 μ l *nitro-blue tetrazolium* (NBT) dan 35 μ l *5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate* (BCIP). Perendaman dihentikan saat tetesan sap tanaman pada membran nitroselulosa berubah warna menjadi ungu. Reaksi perubahan warna dapat dihentikan dengan merendam membran dalam dH₂O.

Keparahan penyakit dihitung dengan rumus berikut ini:

$$KP = \frac{\sum (n \times v)}{N \times Z} \times 100\%$$

dengan

KP = keparahan penyakit

n = jumlah sampel untuk setiap kategori serangan

v = skor untuk setiap kategori serangan

N = jumlah sampel yang diamati

Z = skor tertinggi dalam kategori serangan

Gejala penyakit diskor pada skala 0–4 (Pacheco *et al.*, 2013) (Tabel 1). Respons ketahanan varietas dikelompokkan berdasarkan keparahan penyakit (Tabel 2).

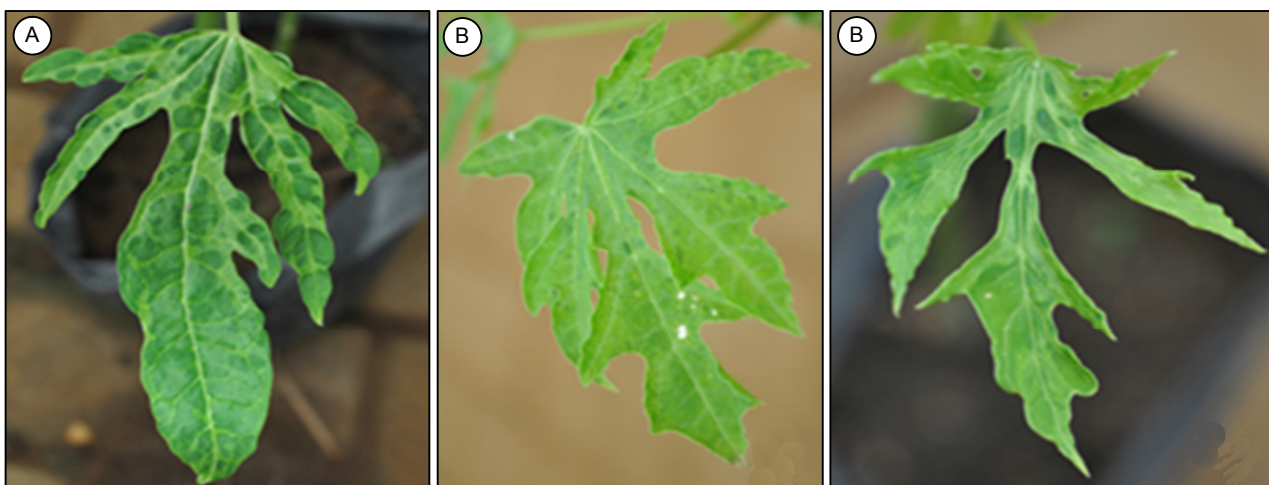
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sampel Tanaman Pepaya yang Diduga Terinfeksi PRSV

Daun pepaya asal Desa Namo Belin yang dikumpulkan sebagai sampel adalah daun yang menunjukkan gejala mosaik, malformasi daun, dan didukung dengan mosaik hijau bergaris pada petiolnya. Tanaman pepaya varietas California yang diinokulasi dengan cairan perasan daun tanaman bergejala tersebut menunjukkan gejala mosaik, klorosis, malformasi daun, *shoestring*, garis-garis hijau tua berminyak pada batang, dan kerdil. Gejala ini yang berasosiasi dengan PRSV (Gambar 1). PRSV isolat Bogor berasal dari tanaman pepaya bergejala mosaik kuning dan *shoestring* pada daun, mosaik hijau pola pulau-pulau pada batang, dan bercak cincin dan bercak hijau tua pada buah (Lestari, 2014). PRSV isolat Aceh berasal dari tanaman pepaya yang bergejala mosaik berat pada daun, mosaik pada batang dan tangkai daun, dan bercak hijau tua pada buah (Hidayat *et al.*, 2012).

Deteksi PRSV dengan RT-PCR

Amplifikasi DNA ketiga isolat menghasilkan amplicon berukuran ~470 bp (Gambar 2). Ukuran pita DNA ini mendekati ukuran target amplicon, yaitu 475 bp untuk PRSV.



Gambar 1. Gejala infeksi PRSV pada pepaya varietas California yang diinokulasi secara mekanis. A = isolat Aceh, B = isolat Bogor, dan C = isolat Medan.

Peruntan dan Analisis Sekuen Nukleotida

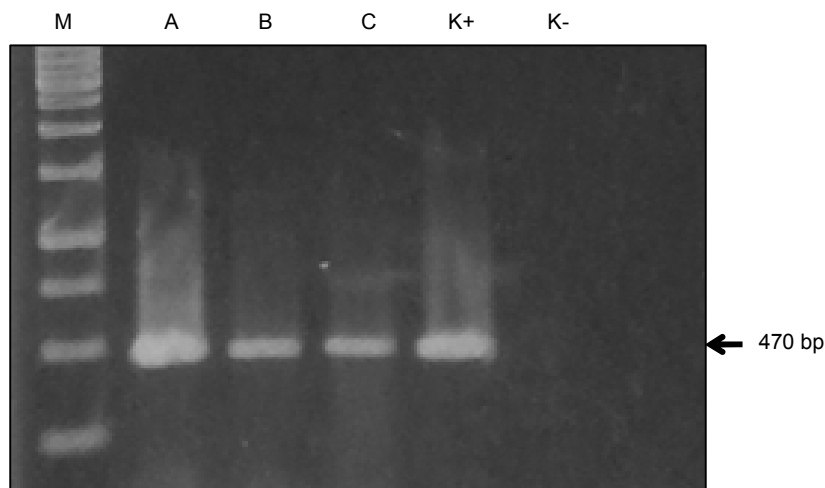
Berdasarkan analisis sekuen nukleotida, diketahui bahwa PRSV isolat Aceh, Bogor, dan Medan memiliki homologi yang sangat tinggi satu dengan lainnya (98,7–99,3%) (Tabel 3). Sekuen nukleotida ketiga isolat tersebut juga memiliki homologi yang tinggi dengan sekuen nukleotida PRSV dari beberapa negara, seperti Thailand, Australia, Cina, Jepang, Vietnam, dan Taiwan. Homologi tertinggi dan terendah berturut-turut dengan PRSV asal Thailand (98–98,3%) dan PRSV asal Taiwan (93–93,6%) (Tabel 3).

Dilaporkan oleh Martinez *et al.* (2014) bahwa isolat-isolat PRSV dari wilayah yang sama di Amerika Selatan memiliki tingkat homologi sekuen gen, isolat-isolat Brasil misalnya, yang tinggi (91–100%). Demikian pula dengan beberapa isolat PRSV dari Kuba (92–99%). Tingkat homologi sekuen gen protein selubung PRSV yang tinggi antarisolat menunjuk-

kan kemiripan antarisolat atau rendahnya keragaman genetik PRSV di suatu daerah. Untuk strain virus yang sama pada kelompok *Potyvirus*, tingkat kesamaan sekuen nukleotida berkisar antara 83–99%, sedangkan untuk strain virus yang berbeda antara 39–53% (Frenkel *et al.*, 1989).

Ketahanan Lima Varietas Tanaman Pepaya terhadap Inokulasi Tiga Isolat PRSV

Lima varietas tanaman pepaya yang diinokulasi secara mekanis dengan ketiga isolat PRSV menunjukkan gejala yang tidak banyak berbeda (Tabel 4). Umumnya tanaman menunjukkan gejala mosaik, klorosis, malformasi daun, *vein banding*, dan *vein clearing* pada daun, namun pada varietas California dan Calina, tanaman juga menunjukkan *shoestring* (malformasi daun yang sangat parah), mosaik (garis-garis) hijau pada batang, dan tanaman menjadi kerdil.



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA PRSV dengan teknik RT-PCR menggunakan primer PRSV 326/PRSV 800. Sampel DNA berasal dari daun pepaya yang diinokulasi secara mekanis dengan PRSV. M = penanda DNA, A = isolat Aceh, B = isolat Bogor, C = isolat Medan, K+ = kontrol positif (tanaman pepaya positif terinfeksi PRSV), K- = kontrol negatif (tanaman sehat).

Tabel 3. Tingkat homologi runutan nukleotida PRSV isolat Aceh, Medan, dan Bogor, serta isolat dari negara lain.

Asal isolat PRSV	Homologi (%)								
	IDN-Aceh	IDN-Medan	IDN-Bogor	TH	AT	CN	JP	VN	TW
IDN-Aceh	100								
IDN-Medan	98,7	100							
IDN-Bogor	99,3	98,9	100						
TH	98,3	98,0	98,3	100					
AT	97,4	97,2	97,4	98,3	100				
CN	95,1	94,9	95,1	95,9	95,5	100			
JP	94,9	94,7	94,9	95,7	95,7	96,8	100		
VN	94,4	94,2	94,4	95,3	95,3	98,5	97,0	100	
TW	93,6	93,0	93,6	94,4	94,0	95,9	95,3	96,1	100

IDN = Indonesia, TH = Thailand (AF374862.1), AT = Australia (AF506898.1), CN = Cina (JN559382.1), JP = Jepang (AB583225.1), VN = Vietnam (FN822239.1), TW = Taiwan (JX448370.1). Tingkat homologi urutan basa nukleotida PRSV dihitung menggunakan program BioEdit versi 6.05.

Berdasarkan periode inkubasi, PRSV isolat Medan merupakan isolat yang paling virulen karena 5 hari setelah inokulasi, tanaman pepaya telah menunjukkan adanya gejala berupa pemucatan tulang

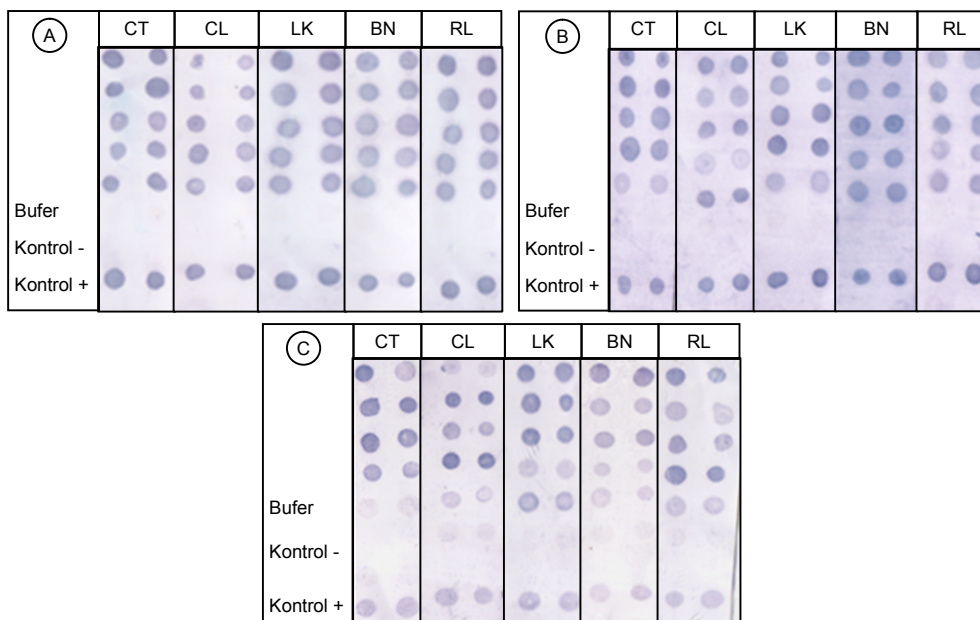
daun dan mosaik ringan (Tabel 4). Kemunculan gejala yang cepat menunjukkan pergerakan virus dari sel ke sel dan jaringan tanaman yang sangat cepat (Dolja *et al.*, 1994).

Tabel 4. Periode inkubasi dan gejala infeksi PRSV pada lima varietas pepaya yang diinokulasi secara mekanis.

Varietas	PRSV isolat Aceh		PRSV isolat Bogor		PRSV isolat Medan	
	PI (hari)	Gejala	PI (hari)	Gejala	PI (hari)	Gejala
California	8-11	m, s, r, vb, vc, k	10-12	m, s, r, vb, vc, k	5-10	m, s, r, vb, vc, k
Calina	9-10	m, s, r, vb, vc, k	10-11	m, s, r, vb, vc, k	5-10	m, s, r, vb, vc, k
Lokal	8-10	m, r, vc,	10-11	m, r, vc,	10-14	m, s, r, vb, vc
Bangkok	10-11	m, r, vc	10-12	m, r, vc,	5-12	m, r, vc
Red Lady	10-11	m, r, vc	10-14	m, r, vc,	10-11	m, vc

PI = periode inkubasi.

m = mosaik, s = *shoestring*, r = rugos (penebalan lamina daun), vb = *vein banding* (penebalan tulang daun), vc = *vein clearing* (pemucatan tulang daun), k = kerdil.



Gambar 3. Hasil deteksi PRSV pada lima varietas pepaya dengan metode DIBA menggunakan antibodi PRSV. Isolat PRSV: A = Aceh, B = Bogor, dan C = Medan. Varietas pepaya: CT = California, CL = Calina, LK = Lokal, BN = Bangkok, RL = Red Lady, Kontrol + = kontrol positif (tanaman pepaya positif terinfeksi PRSV), Kontrol - = kontrol negatif (tanaman sehat).

Tabel 5. Insidensi penyakit, keparahan penyakit, dan respons lima varietas pepaya yang diinokulasi PRSV isolat Aceh, Bogor, dan Medan secara mekanis.

Varietas	Keparahan penyakit (%) dan respons tanaman*			Insidensi penyakit (%)**		
	Aceh	Bogor	Medan	Aceh	Bogor	Medan
California	63,8	50,5	77,3	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)
	R	R	SR			
Calina	58,5	55,6	76,8	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)
	R	R	SR			
Lokal	43,6	46,6	62,1	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)
	AR	AR	R			
Bangkok	46,6	33,8	69,7	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)
	AR	AR	R			
Red lady	42,9	36,8	55,4	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)
	AR	AR	R			

*Respons ketahanan tanaman: SR = sangat rentan, R = rentan, AR = agak rentan.

**n/N = insidensi penyakit, n = jumlah tanaman positif terdeteksi virus, N = total tanaman yang diuji.

Hasil deteksi DIBA (Gambar 3) menunjukkan bahwa insidensi penyakit untuk semua varietas pepaya mencapai 100% (Tabel 5), tetapi dengan intensitas warna ungu yang berbeda-beda, yang menandakan adanya perbedaan titer virus antarvarietas (Gambar 3).

Berdasarkan persentase keparahan penyakit, kelima varietas pepaya uji tidak ada yang tahan terhadap infeksi PRSV dengan respons ketahanan yang berbeda-beda. Varietas California dan Calina rentan terhadap PRSV isolat Aceh dan Bogor dan sangat rentan terhadap infeksi PRSV isolat Medan. Pepaya varietas Lokal, Bangkok, dan Red Lady rentan terhadap isolat Medan, namun agak rentan terhadap isolat Aceh dan Bogor.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa PRSV yang menginfeksi tanaman pepaya di Aceh, Bogor, dan Medan merupakan PRSV dengan strain yang sama, yaitu PRSV-P. Selain itu, diperoleh kepastian bahwa PRSV telah ada di beberapa daerah sehingga sudah tidak lagi tergolong OPTK A1, melainkan OPTK A2, yaitu OPTK yang telah ada di Indonesia, namun keberadaannya masih terbatas di beberapa daerah saja. Oleh karena varietas pepaya yang populer di Indonesia terbukti tidak ada yang tahan terhadap infeksi PRSV dan PRSV yang telah tersebar di beberapa daerah di Indonesia, perlu dilakukan pengendalian berupa pencegahan penyebaran PRSV di dalam wilayah Indonesia. Strategi pengendalian tersebut dapat dilakukan dengan pencegahan terjadinya infeksi, antara lain melalui pengendalian terhadap serangga vektor, pemusnahan tanaman sakit, pencarian tanaman pepaya tahan PRSV, dan pengawasan peredaran buah dan bibit pepaya dari daerah yang telah terinfeksi ke daerah yang masih bebas PRSV.

KESIMPULAN

Tiga isolat PRSV yang berasal dari Bogor, Medan, dan Aceh memiliki tingkat kemiripan susunan nukleotida DNA yang tinggi (98,9–99,3%). Hal tersebut menunjukkan bahwa ketiga isolat merupakan strain PRSV yang sama. Respons varietas pepaya terhadap infeksi ketiga isolat PRSV berkisar antara agak rentan sampai sangat rentan. Tanaman pepaya varietas California dan Calina merupakan varietas pepaya yang sangat rentan terhadap infeksi PRSV dibanding dengan varietas Lokal, Bangkok, dan Red Lady.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua sampel tanaman yang diuji terinfeksi oleh PRSV sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sebaran PRSV di Indonesia, potensi penularannya melalui kutu daun, dan kisaran inangnya. PRSV juga

terbukti ditemukan di beberapa daerah di Indonesia sehingga perlu dipertimbangkan perubahan statusnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Awasthi, L., S. Singh, and R. Singh. 2011. Induction of systemic resistance through antiviral agents of plant origin against papaya ring spot disease (*Carica papaya* L.). Arch. Phytopathol. Plant Protect. 44(17):1676–1682.
- CABI. 2014. Crop Protection Compendium. The Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI). Willingford, UK.
- Dolja, V.V., R. Haldeman, N.L. Robertson, W.G. Dougherty, and J.C. Carrington. 1994. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of *Tobacco etch potyvirus* in plants. EMBO J. 13:1482–1491.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation of procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19:11–19.
- Frenkel, M.J., C.W. Ward, and D.D. Shukla. 1989. The use of 3' noncoding nucleotide sequences in taxonomy of *Potyvirus*: Application to *Watermelon mosaic virus 2* and *Soybean mosaic virus-N*. J. Gen. Virol. 70:2775–2783.
- Gonsalves, D. 1998. Control of *Papaya ringspot virus* in papaya: A case study. Annu. Rev. Phytopathol. 36:415–437.
- Gonsalves, D., S. Tripathi, J.B. Carr, and J.Y. Suzuki. 2010. *Papaya ringspot virus*. The Plant Health Instructor 149(12):2435–2442.
- Hidayat, S.H., S. Nurulita, dan S. Wiyono. 2012. Temuan penyakit baru infeksi *Papaya ringspot virus* pada tanaman pepaya di Nangroe Aceh Darussalam. J. Fitopatol. Indones. 8(6):184–187.
- Kalleshwaraswamy, C.M., N.K. Khrisnakumar, A. Verghese, M.R. Dinesh, H.R. Ranganath, and R. Venungopalan. 2007. Role of transient aphid vectors on the temporal spread of *Papaya ringspot virus* in South India. Acta Hortic. 740:251–258.
- Lestari, G.S. 2014. Deteksi *Papaya ringspot virus* asal tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) berdasarkan teknik *reverse transcription-polymerase chain reaction*. Skripsi S1, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mahmood, T.M., G.L. Hein, and R.C. French. 1997. Development of serological procedures for rapid and reliable detection of *Wheat streak mosaic virus* in single wheat curl mite. Plant Dis. 81:250–253.
- Martinez, D.R., P.S.G. Duarte, J.G. Olmedo, and A.R. Figuera. 2014. Molecular and biological studies of *Papaya ringspot virus* isolates from Brazil and Cuba. Am. J. Agric. Forest. 2(5):209–218.
- Mohammed, H., A. Manglli, S. Zicca, A. El Hussein, M. Mohamed, and L. Tomassoli. 2012. First report of

- Papaya ringspot virus* in pumpkin in Sudan. *New Dis. Rep.* 26:26. doi: 10.5197/lj.2044-0588.2012.026.026.
- Pacheco, D.A., J.A.M. Rezende, and S.M.S. Piedade. 2003. Biomass, virus concentration, and symptomatology of cucurbits, infected by mild and severe strain of PRSV. *Sci. Agric.* 60(4):691–698.
- Saraswati, U. 2014. Karakterisasi molekuler *coat protein gene Papaya ringspot virus* pada tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) di Indonesia. Tesis S2, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Tennant, P.F., G.A. Fermin, and M.E. Roye. 2007. Viruses infecting papaya (*Carica papaya*): Etiology, pathogenesis, and molecular biology. *Plant Viruses* 1:178–188.
- Tripathi, S., J.Y. Suzuki, S.A. Ferreira, and D. Gonsalves. 2008. *Papaya ringspot virus*: Characteristics, pathogenicity, sequence variability, and control. *Mol. Plant Pathol.* 9:269–280.
- Usharani, T.R., V. Laxmi, S. Jalali, and M. Krishnareddy. 2012. Duplex PCR to detect both *Papaya ringspot virus* and *Papaya leaf curl virus* simultaneously from naturally infected papaya (*Carica papaya* L.). *Indian J. Biotechnol.* 12:269–272.
- Wang, R.Y., G. Powell, J. Hardie, and T.P. Pirone. 1998. Role of the helper component in vector specific transmission of *Potyvirus*s. *J. Gen. Virol.* 79:1519–1524.
-