

Insidensi dan Identifikasi Molekuler *Papaya ringspot virus* pada Pepaya di Jawa

Incidence and Molecular-Based Identification of *Papaya ringspot virus* Infecting Papaya in Java

Naimatul Farida, Tri Asmira Damayanti, Darda Efendi, Sri Hendrastuti Hidayat*
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Infeksi *Papaya ringspot virus* (PRSV) di Indonesia pertama kali dilaporkan pada pepaya di Nangroe Aceh Darussalam pada tahun 2012. Sejak itu, PRSV atau penyakit bercak bercincin pada pepaya menyebar ke beberapa daerah di Jawa, Sumatera, Bali, dan Nusa Tenggara Barat. Penelitian ini dilakukan untuk mengonfirmasi keberadaan PRSV di beberapa daerah penanaman pepaya di Jawa dan mengetahui identitas molekulernya. Metode *double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (DAS-ELISA) dengan antiserum spesifik PRSV digunakan untuk mendeteksi sampel dari lapangan. Insidensi PRSV hasil deteksi DAS-ELISA di Bogor, Purworejo, Kebumen, dan Bantul berturut-turut sebesar 59.1%, 51.4%, 84.2%, dan 96.2%. Identifikasi lebih lanjut dilakukan dengan *reverse transcription-polymerase chain reaction* menggunakan primer spesifik (PRSV326/PRSV800), dilanjutkan dengan sekuensing DNA. Fragmen DNA berukuran 475 pb berhasil diamplifikasi dari sampel lapangan dan analisis nukleotida menunjukkan bahwa semua sampel terkonfirmasi PRSV dengan homologi antarisolat berkisar antara 95.4% sampai 99.4%. Analisis filogenetika menunjukkan bahwa isolat-isolat PRSV di Jawa berada dalam satu grup yang sama dengan isolat PRSV-P pepaya dari Thailand.

Kata kunci: analisis filogenetika, DAS-ELISA, insidensi penyakit,
reverse transcription-polymerase chain reaction, sampel lapangan

ABSTRACT

Infection of *Papaya ringspot virus* (PRSV) in Indonesia was first reported in papaya in Nangroe Aceh Darussalam. Since then, ring spot disease in papaya has spread to several areas in Java, Sumatra, Bali, and West Nusa Tenggara. This study was conducted to confirm the presence of PRSV in several papaya growing areas in Java and to characterize its molecular identity. Double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) method using PRSV-specific antiserum was carried out to detect PRSV infection from field samples. The incidence of ring spot disease based on DAS-ELISA in Bogor, Purworejo, Kebumen, and Bantul was 59.1%, 51.4%, 84.2%, and 96.2%, respectively. Further identification was done by reverse transcription-polymerase chain reaction using specific primers (PRSV326/PRSV800), followed by DNA sequencing. DNA fragment of 475 bp was successfully amplified from field samples and nucleotide analysis showed that all samples confirmed as PRSV with homology between isolates ranging from 95.4% to 99.4%. Phylogenetic analysis showed that PRSV isolates from Java belongs to the same group with PRSV-P isolate from Thailand.

Keywords: DAS-ELISA, disease incidence, field samples, phylogenetic analysis,
reverse transcription-polymerase chain reaction

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629364, Surel: srihendrastuti@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Papaya ringspot virus (PRSV) (Genus *Potyvirus*, Famili Potyviridae) merupakan penyebab penyakit penting pada tanaman pepaya di dunia. Sampai saat ini diketahui bahwa PRSV galur P (PRSV-P) dapat menginfeksi tanaman famili Caricaceae dan Cucurbitaceae, sementara PRSV galur W (PRSV-W) hanya dapat menginfeksi tanaman dari famili Cucurbitaceae. Penyakit bercak bercincin yang disebabkan oleh PRSV-P sangat merugikan terutama untuk negara-negara penghasil pepaya. Infeksi PRSV-P di Taiwan pertama kali tercatat pada tahun 1975 dan dalam waktu empat tahun virus telah menghancurkan sebagian besar pertanaman pepaya di sepanjang pantai barat Pulau Taiwan (Yeh *et al.* 1984). Dilaporkan pula di Brazil bahwa penyakit yang disebabkan oleh PRSV-P menyebabkan kematian pada hampir semua tanaman pepaya di Sao Paulo (Gonsalves *et al.* 2010). Awasthi *et al.* (2011) menyatakan bahwa infeksi PRSV pada tanaman pepaya dapat menyebabkan kehilangan hasil antara 40% dan 90% bergantung pada waktu infeksi dan umur tanaman. Insidensi infeksi PRSV-W pada tanaman dari famili Cucurbitaceae dilaporkan di Australia pada tahun 1991 dan di Sudan pada tahun 2012 (Gonsalves *et al.* 2010; Mohammed *et al.* 2012).

Insidensi PRSV di Indonesia pertama kali dilaporkan pada tanaman pepaya di Kota Aceh Besar, yaitu mencapai 100% (Hidayat *et al.* 2012). Sejak saat itu PRSV telah menyebar di wilayah Indonesia, dan berdasarkan Permentan No. 25 tahun 2020 PRSV dinyatakan memiliki daerah sebar di Sumatera, Jawa, Bali, dan Nusa Tenggara Barat. Kerugian akibat PRSV terhadap produksi pepaya di Indonesia belum banyak diteliti. Namun, infeksi PRSV isolat Medan diketahui dapat menyebabkan penurunan bobot kering tanaman pepaya berkisar antara 50% dan 80% pada umur tanaman empat minggu setelah tanam (Harmiyati 2015). Oleh karena itu upaya untuk menekan penyebaran PRSV penting dilakukan.

Informasi tentang insidensi dan keparahan penyakit bercak bercincin di sentra pertanaman

pepaya menjadi penting untuk menyusun strategi pengendalian penyebaran PRSV. Identitas molekuler galur PRSV yang menginfeksi tanaman di lapangan juga perlu dipastikan mengingat perbedaan kisaran inang PRSV-P dan PRSV-W. Menurut data Kementan (2017), beberapa daerah di Pulau Jawa menjadi salah satu sentra pertanaman pepaya di Indonesia, yaitu di antaranya Kabupaten Bogor, Sukabumi, Kebumen, Purworejo, dan Lumajang. Oleh karena itu penelitian dilakukan untuk mengetahui penyebaran dan status penyakit bercak bercincin di beberapa daerah penanaman pepaya di Jawa serta menentukan identitas PRSV secara molekuler.

BAHAN DAN METODE

Survei dan Pengambilan Sampel

Survei dilakukan di pertanaman pepaya di Kabupaten Bogor (Jawa Barat), Purworejo dan Kebumen (Jawa Tengah), serta Bantul (DI Yogyakarta) (Tabel 1). Penentuan tanaman contoh mengikuti metode zig-zag dengan jumlah tanaman contoh sebesar 20% dari populasi tanaman di setiap lahan. Gejala pada tanaman diamati untuk menentukan insidensi dan keparahan penyakit.

Insidensi penyakit (IP) dan keparahan penyakit (KP) dihitung dengan rumus:

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

IP, insidensi penyakit (%); n, jumlah tanaman yang bergejala; dan N, jumlah tanaman yang diamati.

$$KP = \frac{\sum_{i=0}^i (n_i \times v_i)}{N \times V} \times 100\%, \text{ dengan}$$

n_i , jumlah tanaman pada kategori infeksi ke- i ; v_i , nilai skor kategori infeksi ke- i ; N, jumlah tanaman yang diamati; V, nilai skor tertinggi dalam kategori infeksi.

Skor keparahan penyakit diukur menggunakan skala dengan kriteria: 0, tanaman tidak bergejala; 1, mosaik ringan pada daun; 2, mosaik daun sedang, tulang daun memucat, penebalan lamina daun; 3, mosaik daun sedang, mosaik bergaris pada tangkai daun, malformasi daun ringan; 4, mosaik berat, daun

Tabel 1 Kondisi tipe tanaman atau varietas pepaya di lokasi pengamatan

Sampel	Lokasi dan Koordinat lokasi	Tipe atau varietas	Umur (bulan)	
Kabupaten Bogor, Jawa Barat				
Tanah sereal	Kp. Prapatan, Kec. Tanah Sereal	6°32'14.7"S 106°46'19.7"E	Tipe California	6
Dramaga 1	Kp. Babakan, Ds. Petir, Dramaga	6°36'06.4"S 106°43'42.6"E	Tipe California	8
Dramaga 2	Bulog, Dramaga	6°34'08.1"S 106°43'55.2"E	Tipe California	8
Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah				
Grabag 1	Ds. Ukirsari, Kec. Grabag	7°48'58.2"S 109°50'05.9"E	Tipe California	8
Grabag 2	Ds. Ketawangrejo, Kec. Grabag	7°49'46.7"S 109°53'19.4"E	Var. Orange lady	10
Grabag 3	Ds. Ketawangrej, Kec. Grabag	7°49'46.9"S 109°53'22.7"E	Tipe California	7
Kabupaten Kebumen, Jawa Tengah				
Klirong	Ds. Jagasima, Kec. Klirong	7°45'23.3"S 109°36'13.2"E	Orange lady	12
Petanahan 1	Ds. Karanggadung, Kec. Petanahan	7°45'50.6"S 109°34'46.0"E	Tipe California	12
Petanahan 2	Ds. Karanggadung, Kec. Petanahan	7°45'50.1"S 109°34'43.8"E	Var. Orange lady	8
Kabupaten Bantul, DI Yogyakarta				
Jetis 1	Ds. Trimulyo, Kec. Jetis, Kab. Bantul	7°53'04.3"S 110°22'48.2"E	Tipe California	18
Jetis 2	Ds. Trimulyo, Kec. Jetis, Kab. Bantul	7°53'12.9"S 110°23'07.4"E	Var. Bangkok	12
Jetis 3	Ds. Trimulyo, Kec. Jetis, Kab. Bantul	7°52'48.3"S 110°22'45.6"E	Tipe California	9

melepuh, lamina daun menguning, penebalan tulang daun, bercak bercincin pada buah; dan 5, daun berbentuk tali dan tanaman kerdil (Pacheco *et al.* 2003).

Sampel daun dari lapangan disimpan di dalam pelepah pisang, dimasukkan ke dalam plastik, kemudian dibawa ke laboratorium. Setiap sampel ditimbang sebanyak 0.1 g dan dimasukkan dalam kantong plastik tebal, selanjutnya disimpan dalam freezer -80 °C sampai digunakan.

Deteksi PRSV dengan Metode *Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (DAS-ELISA)

Deteksi PRSV dari sampel lapangan dilakukan dengan metode DAS-ELISA menggunakan antiserum spesifik PRSV sesuai dengan prosedur dari produsen antiserum

(Agdia Inc, AS). Analisis hasil ELISA secara kuantitatif ditentukan menggunakan ELISA reader (BIO-RAD model 550) pada panjang gelombang 405 nm. Reaksi ELISA sampel dinyatakan positif apabila nilai absorbansi ELISA (NAE) lebih besar atau sama dengan 2x NAE kontrol negatif. Sebagai kontrol negatif digunakan daun tanaman sehat; sedangkan sebagai kontrol positif digunakan sampel yang sudah terkonfirmasi sebelumnya positif PRSV.

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

Ekstraksi RNA total dari sampel daun pepaya (0.1 g) dilakukan dengan mengikuti metode CTAB (Doyle dan Doyle 1987). Modifikasi dilakukan pada waktu inkubasi hasil gerusan sampel daun dari 60 menit

menjadi 30 menit untuk meningkatkan efisiensi metode CTAB. Reaksi transkripsi balik dilakukan menggunakan primer oligo d(T), selanjutnya cDNA yang dihasilkan digunakan sebagai templat untuk reaksi amplifikasi. Amplifikasi dilakukan menggunakan primer spesifik PRSV326 ('5-TCGTGCCACTCAATCACAAT-3') dan PRSV800 (5'-GTTACTGACACTGCCGTCCA-3') dengan target gen protein selubung (CP) PRSV berukuran \pm 475 pb (Mohammed *et al.* 2012).

Amplifikasi dimulai dengan tahapan predenaturasi pada suhu 94 °C selama 5 menit, tahapan selanjutnya sebanyak 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada 94 °C selama 30 detik, penempelan pada 50 °C selama 1 menit, ekstensi pada 72 °C selama 1 menit, dan ekstensi akhir pada 72 °C selama 7 menit. Visualisasi DNA hasil amplifikasi dilakukan pada gel agarosa 1% yang dilarutkan dalam bufer 0.5x *Tris-boric EDTA* (TBE) dan diberi pewarna asam nukleat *FluoroVue TM* (Smobio, Taiwan) (1:40 000). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 volt selama 50 menit dan hasil elektroforesis divisualisasi dengan transiluminator ultraviolet.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika

DNA hasil amplifikasi dikirimkan ke *First Base* (Malaysia) untuk perunutan DNA, selanjutnya hasil runutan DNA disejajarkan dengan data virus yang terdapat pada situs *National Center for Biotechnology Information* (www.ncbi.nlm.nih.gov) menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Tingkat homologi nukleotida dianalisis dengan perangkat lunak BioEdit 7.2, sedangkan hubungan kekerabatan dianalisis dengan perangkat lunak MEGA V6.0 menggunakan *bootstrap* 1000x. Beberapa data sikuen pada Genbank digunakan sebagai pembandingan untuk analisis runutan DNA.

HASIL

Kondisi Pertanaman dan Gejala Penyakit

Tanaman yang berada di lokasi pengamatan berada pada fase generatif dengan umur

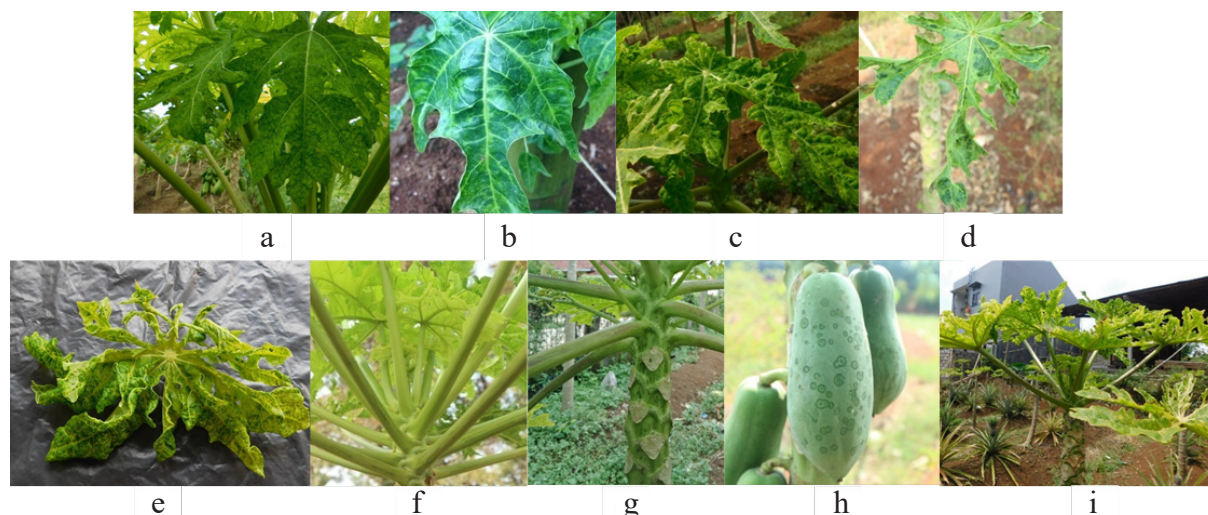
tanaman berkisar antara 6 dan 18 bulan (Tabel 1). Jenis varietas pepaya yang paling banyak ditanam petani adalah pepaya tipe California. Pepaya tipe California ini masih belum jelas jenis varietasnya, karena terdapat beberapa varietas pepaya yang tergolong tipe California, di antaranya varietas Calina dan Merah Delima (Budiyanti dan Sunyoto 2011).

Gejala infeksi PRSV yang ditemukan di Bogor, Purworejo, Kebumen, dan Bantul bervariasi (Gambar 1). Gejala yang paling dominan adalah mosaik daun, pemucatan tulang daun, dan bercak bercincin pada buah yang ditemukan di semua daerah survei; sedangkan jenis gejala yang paling sedikit ditemukan adalah keriting daun dan daun melepuh yang hanya ditemukan di Bogor. Keragaman gejala tertinggi ditemukan pada lahan di Bogor dengan 10 jenis gejala, sedangkan keragaman gejala terendah ditemukan pada lahan di Purworejo dengan empat jenis gejala (Tabel 2).

Insidensi dan Keparahan Penyakit

Berdasarkan pengamatan gejala di lapangan diperoleh nilai IP berkisar antara 27.3% (Grabag 2, Purworejo) dan 100% (Dramaga 1, Bogor). Lebih lanjut, konfirmasi infeksi PRSV melalui DAS-ELISA menunjukkan bahwa nilai IP berkisar antara 25% dan 100%. Terdapat lima lahan yang seluruh sampelnya bereaksi positif dengan DAS-ELISA, yaitu Grabag 3 (Purworejo), Petanahan 1 dan Petanahan 2 (Kebumen), serta Jetis 1 dan Jetis 3 (Bantul) (Tabel 3). Keparahan penyakit paling tinggi terjadi pada lahan di Dramaga 1 (Bogor), yaitu sebesar 72.5% dan terendah terjadi pada lahan di Grabag 2 (Purworejo), yaitu sebesar 5.5%.

Secara umum nilai IP berdasarkan gejala berbeda dengan nilai IP berdasarkan deteksi menggunakan DAS-ELISA. Nilai IP berdasarkan DAS-ELISA lebih rendah dibandingkan IP berdasarkan gejala. Hal ini dapat terjadi karena tanaman yang bergejala tidak selalu berasosiasi dengan infeksi PRSV, tetapi gejala tersebut dapat disebabkan oleh patogen lain atau faktor abiotik. Selain itu, metode ELISA juga mampu mendeteksi PRSV pada sampel yang tidak menimbulkan gejala.



Gambar 1 Variasi gejala PRSV pada tanaman pepaya di lapangan: a, Mosaik daun; b, Pemucatan tulang daun; c, Daun keriting; d, Daun melepuh/*blistering*; e, Daun melepuh dan seperti tali sepatu (*shoestring*); F, Bercak bergaris pada tangkai daun; G, Mosaik pada batang; H, Bercak bercincin pada buah; dan I, Tanaman kerdil.

Tabel 2 Variasi gejala pada tanaman pepaya di lapangan

Gejala	Lokasi			
	Bogor	Purworejo	Kebumen	Bantul
Mosaik ringan	+	+	+	+
Mosaik berat	+	+	+	+
Pemucatan tulang daun	+	+	+	+
Keriting daun	+	-	-	-
Daun melepuh/ <i>blistering</i>	+	-	-	-
Tali sepatu (<i>shoestring</i>)	+	-	+	-
Bercak bergaris tangkai daun	+	-	-	+
Mosaik batang	+	-	-	+
Bercak bercincin buah	+	+	+	+
Tanaman kerdil	+	-	-	-

(+), gejala dapat ditemukan; dan (-), gejala tidak dapat ditemukan

Identifikasi PRSV melalui RT-PCR

Sebanyak 48 sampel yang bereaksi positif melalui DAS-ELISA dipilih untuk dikonfirmasi melalui RT-PCR. Pita DNA gen CP spesifik PRSV berukuran 475 pb berhasil diamplifikasi dari 35 sampel (Gambar 2). Primer PRSV326/PRSV800 berhasil mengamplifikasi gen CP PRSV asal pepaya dan mentimun.

Perunutan Basa Nukleotida dan Analisis Filogenetika

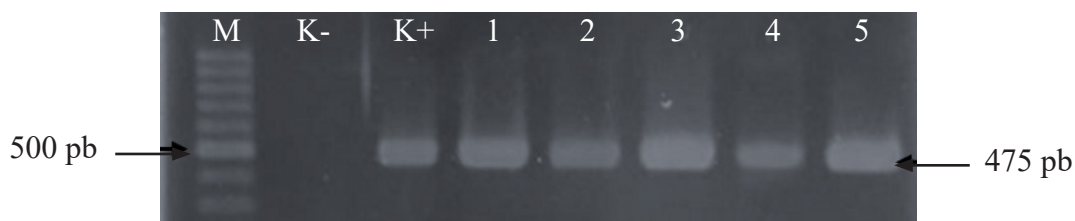
Berdasarkan analisis runutan nukleotida gen CP diketahui bahwa PRSV isolat Bogor, Purworejo, Kebumen, dan Bantul memiliki homologi yang sangat tinggi satu dengan

lainnya (95.4-99.4%). Apabila dibandingkan dengan aksesori pada GeneBank, isolat-isolat tersebut menunjukkan homologi tertinggi (93.4%-97.4%) dengan isolat PRSV asal Indonesia lainnya (Bali dan Nganjuk) serta isolat PRSV asal Thailand. Homologi runutan nukleotida isolat-isolat dari penelitian ini dengan isolat PRSV-W asal Brazil (AY094985.1) berkisar 88.6–90.4% (Tabel 4).

Analisis homologi tersebut menunjukkan bahwa 5 isolat dari Pulau Jawa merupakan PRSV galur P. spesies dalam genus *Potyvirus* dinyatakan sebagai galur yang sama apabila homologi runutan nukleotida berkisar antara 83% dan 99%.

Tabel 3 Insidensi dan keparahan penyakit PRSV pada tanaman pepaya berdasarkan gejala dan keparahan penyakit

Asal sampel	Insidensi penyakit (%)		Keparahan penyakit (%)
	Gejala	ELISA	
Bogor (Jawa Barat)			
Tanah sereal	83.0	58.3	38.0
Dramaga 1	100	87.5	72.5
Dramaga 2	91.7	50.0	45.8
Purworejo (Jawa Tengah)			
Grabag 1	62.5	25.0	12.5
Grabag 2	27.3	45.5	5.5
Grabag 3	40.0	100	14.0
Kebumen (Jawa Tengah)			
Klirong	81.3	62.5	45.0
Petanahan 1	83.3	83.3	53.3
Petanahan 2	81.3	100	32.5
Bantul (DI Yogyakarta)			
Jetis 1	50.0	100	17.1
Jetis 2	79.0	92.9	30.0
Jetis 3	60.0	100	24.0



Gambar 2 Visualisasi DNA hasil amplifikasi dengan primer spesifik PRSV 326/PRSV800. M, Penanda DNA 100 pb; 1 dan 2, Isolat asal Bogor; 3, Isolat asal Purworejo; 4, Isolat asal Kebumen; dan 5, Isolat asal Bantul.

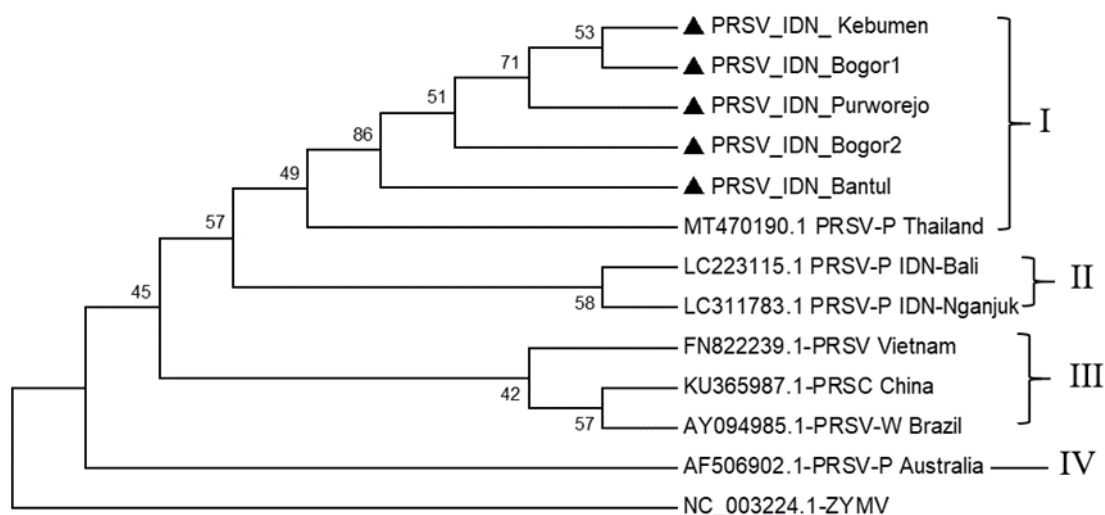
Analisis filogenetika memperlihatkan pengelompokan PRSV menjadi empat grup, yaitu grup I, II, III, dan IV yang terpisah dari *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) (Genus *Potyvirus*, Famili Potyviridae) dari Taiwan sebagai *outgroup*. Isolat PRSV asal Bogor, Kebumen, Purworejo, dan Bantul berada pada kelompok yang sama dengan PRSV dari Thailand namun berbeda kelompok dengan PRSV asal Indonesia lainnya, yaitu isolat Bali dan Nganjuk (Gambar 3). Berdasarkan analisis filogenetika terlihat bahwa PRSV-W asal Brazil (AY094985.1) ternyata berada dalam grup III bersama dengan PRSV-P asal Vietnam dan China. Hasil ini menunjukkan kedekatan hubungan antara PRSV-P dan PRSV-W.

PEMBAHASAN

Gejala infeksi virus yang ditemukan pada tanaman pepaya di lapangan sangat bervariasi, dengan gejala mosaik daun dan bercak bercincin buah menjadi gejala yang paling dominan. Diuraikan oleh Noshad *et al.* (2015) bahwa infeksi parah PRSV pada tanaman pepaya menyebabkan gejala mosaik berat yang sering disertai dengan perubahan bentuk dan permukaan daun seperti daun keriput, melepuh dan daun berbentuk seperti tali sepatu. Variasi gejala akibat infeksi PRSV di Indonesia juga dilaporkan oleh Harmiyati *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa gejala penyakit disebabkan oleh perbedaan varietas, umur tanaman, dan kondisi lingkungan. Umur

Tabel 4 Homologi runutan nukleotida gen CP PRSV isolat pepaya yang berasal dari beberapa daerah di Jawa terhadap isolat dari negara lain yang tersedia pada *GenBank*

Asal Isolat	Nomor akses	Homologi (%)				
		Bogor1	Bogor2	Purworejo	Kebumen	Bantul
Bogor1		ID				
Bogor2		97.7	ID			
Purworejo		99.4	98.2	ID		
Kebumen		98.7	97.4	99.2	ID	
Bantul		95.7	97.4	96.2	95.4	ID
IDN_Bali	LC223115.1	95.9	94.7	96.4	95.7	93.4
IDN_Nganjuk	LC311783.1	96.9	95.7	97.4	96.7	94.2
Thailand	MT470190.1	96.7	95.4	97.2	96.7	93.7
Vietnam	FN822239.1	93.7	92.9	94.2	93.7	92.1
China	KU365987.1	92.6	91.9	93.1	92.4	91.9
Australia	AF506902.1	92.4	90.6	92.4	91.9	89.6
PRSVWBrazil	AY094985.1	89.9	89.1	90.4	89.6	88.6
ZYMV*	NC_003224.1	65.7	64.7	65.9	65.4	64.2



Gambar 3 Pohon filogenetika gen CP PRSV-P asal Bogor, Kebumen, Purworejo, dan Bantul dengan PRSV dari negara lain pada *Genbank* dengan *outgroup* *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV).

tanaman pepaya di lokasi survei di Bogor, Kebumen, Purworejo, dan Bantul pada saat pengamatan sudah memasuki fase generatif sehingga gejala parah yang terlihat diduga disebabkan oleh infeksi virus yang sudah lanjut, yaitu sejak awal pertumbuhan tanaman. Selain itu, jenis pepaya California dilaporkan sebagai jenis pepaya yang tergolong rentan terhadap infeksi PRSV (Harmiyati 2015).

Pengamatan gejala merupakan langkah awal dalam diagnosis penyebab penyakit, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus.

Namun, pengamatan gejala saja tidak cukup akurat untuk menentukan virus penyebab suatu penyakit karena gejala yang diduga disebabkan oleh virus dapat pula disebabkan oleh patogen lain, atau faktor lainnya di antaranya toksisitas serangga, faktor abiotik misalnya kekurangan dan kelebihan unsur hara, serta faktor cekaman lingkungan lainnya. Oleh karena itu, diagnosis suatu penyakit tidak dapat didasarkan hanya pada gejala saja, tetapi deteksi juga harus dilakukan untuk memastikan ada atau tidaknya infeksi virus pada tanaman. Metode DAS-

ELISA diketahui memiliki tingkat kesensitifan yang cukup baik sehingga mampu mendeteksi virus pada sampel tanaman yang tidak menunjukkan gejala.

Hasil survei lapangan dan deteksi di laboratorium menunjukkan bahwa infeksi PRSV pada pepaya telah menyebar di sentra pertanaman pepaya di Jawa. Penelitian sebelumnya melaporkan adanya infeksi PRSV pada pepaya di Aceh, Medan, Bogor, dan Bali (Hidayat *et al.* 2012; Harmiyati *et al.* 2015; Nurhantoro *et al.* 2018). Lebih lanjut dilaporkan berdasarkan hasil pemantauan OPTK bahwa daerah sebar PRSV juga mencakup Nusa Tenggara Barat (Kementan 2020). Selain penting memantau daerah sebar PRSV, perlu juga diketahui identitas galur PRSV yang menyebar di Indonesia. Berdasarkan runutan nukleotida gen CP diketahui bahwa PRSV isolat Jawa yang dikoleksi dari penelitian ini memiliki homologi yang tinggi dengan PRSV-P asal Thailand. Tingkat homologi yang tinggi menunjukkan kemiripan runutan nukleotida gen CP PRSV dan rendahnya keragaman genetik PRSV di beberapa daerah tersebut. Analisis filogenetika menunjukkan bahwa lima isolat PRSV-P yang dipelajari berada dalam satu grup yang sama dengan isolat PRSV-P asal Thailand. Hal ini mengindikasikan adanya perpindahan galur virus antarwilayah sehingga perlu diteliti lebih lanjut pembawa yang berperan pada penyebaran virus tersebut.

Hasil survei dan deteksi penyakit bercak bercincin pada beberapa sentra pertanaman pepaya di Pulau Jawa menunjukkan status insidensi penyakit yang cukup tinggi dan keparahan penyakit sedang. Analisis runutan nukleotida gen CP mengonfirmasi galur PRSV-P sebagai penyebab penyakit tersebut; hal ini sesuai dengan kisaran inang galur PRSV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui dana penelitian program Pendidikan Magister Menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU).

DAFTAR PUSTAKA

- Budiyanti T, Sunyoto. 2011. Varietas unggul baru pepaya merah delima si merah yang manis. *Sinartani. Agroinovasi.* 2–8 Nov. (3429):5–7.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. CTAB DNA extraction in plants. *Phytochem Bull.* 19:11–15.
- Frenkel MJ, Ward CW, Shukla DD. 1989. The use of 3' non coding nucleotide sequences in taxonomy of Potyvirus: application to Watermelon mosaic virus and Soybean mosaic virus. *J Gen Virol.* 70:2775–2783. DOI: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-10-2775>.
- Gonsalves D, Tripathi S, Carr JB, Suzuki JY. 2010. *Papaya ringspot virus*. *Plant Health Instructor.* 149(12):2435–2442. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2010-1004-01>.
- Harmiyati T. 2015. Kisaran inang dan penularan *Papaya ringspot virus* [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Harmiyati T, Hidayat SH, Adnan AM. 2015. Deteksi dan respons lima varietas pepaya terhadap tiga isolat *Papaya ringspot virus* (PRSV). *J Agr Biogen.* 11(3):87–94. DOI: <https://doi.org/10.21082/jbio.v11n3.2015.p87-94>.
- Hidayat SH, Nurlita S, Wiyono S. 2012. Temuan penyakit baru-Infeksi *Papaya ringspot virus* pada tanaman pepaya di Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam. *J Fitopatol Indones.* 8(6):184–187. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.8.6.184>.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2017. *Petunjuk Teknik Budidaya Pepaya*. Aceh (ID): Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2020. *Peraturan Menteri Pertanian Nomor 25 tahun 2020 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina*. Jakarta (ID): Kementrian Pertanian Indonesia.
- Listihani, Damayanti TA, Hidayat SH, Wiyono S. 2018. Karakterisasi molekuler

- Papaya ringspot virus* tipe P pada tanaman mentimun di Jawa. J Fitopatol Indones. 14(3):75–82. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.14.3.75>.
- Matthews REF. 2002. *Plant Virology*. San Diego (US): Academic Press.
- Mohammed H, Manggil A, Zicca S, Hussein EA, Tomassol. 2012. First report of *Papaya ringspot virus* in pumpkin in Sudan. New Dis Rep. 26(1):26–33. DOI: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2012.026.026>.
- Noshad QQ, Zafar Y, Khan MA, Rashid N, Zahid N, Bashir T, Ali Z, Naseem S. 2015. First record of *Papaya ringspot virus* (PRSV) strain in Malir District Sindh and in Islamabad Pakistan. Int J Agric Biol. 17(2):399–402.
- Nurhantoro I, Mutaqin KH, Hidayat SH, 2018. Penggunaan pelacak DNA untuk deteksi *Papaya ringspot virus* dengan metode hibridisasi asam nukleat. J Fitopatol Indones. 14(3):89–96. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.14.3.89>.
- Pacheco DA, Rezende JAM, Piedae SMS. 2003. Biomass, virus concentration, and symptomatology of cucurbits, infected by mild and severe strain of PRSV. Sci Agric. 60(4):691–698. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162003000400013>.
- Singh S, Awasthi LP, Singh RK. Induction of systemic resistance through antiviral agents of plant origin against *Papaya ring spot disease* (*Carica papaya* L.). Arch Phytopathol Plant Prot. 44(17):1676–1682. DOI: <https://doi.org/10.1080/03235408.2010.482742>.
- Yeh SD, Gonsalves D, Provvidenti R. 1984. Comparative studies on host range and serology of *Papaya ringspot virus* and *Watermelon mosaic virus*. Phytopathology. 74(9):1081–1085. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-74-1081>.