

# **Deteksi *Potyvirus* pada Gulma *Euphorbia heterophylla* Bergejala Mosaik di Areal Pertanaman Melon di Kota Denpasar**

DEBBIE OKTAVIANI DEPARI  
TRISNA AGUNG PHABIOLA \*)  
GUSTI NGURAH ALIT SUSANTA WIRYA

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana  
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80232  
\*)Email: trisnafabiola@gmail.com

## **ABSTRACT**

### **Detection of Potyvirus in Mosaic Symptomatic *Euphorbia heterophylla* in Melon Planting Area in the city of Denpasar**

Melon (*Cucumis melo* L.) is a horticultural plant which is included in the Cucurbitaceae group and is highly favored by the community. The development of melon cultivation has faced some obstacles that cause the level of consumption of melon can not be fulfilled. Viruses in plants have a wide range of hosts including several weeds that can be alternative hosts and as a source of inoculums. Potyvirus group is the largest group of plant viruses and plays an important role in causing harm. This research was conducted to determine whether weeds can potentially as an alternative host of Potyvirus so that they can be used as reference materials for academics and farmers so that they take strategies to control weeds in melon plants. Variations in symptoms found in the field include mosaics, vein banding, vein clearing, and chlorosis. The method used in this study was the Polymerase Chain Reaction (PCR). The research activities include (1) sampling and (2) detection and identification of potyviruses in weeds. The results of this study found that *Euphorbia heterophylla* weeds could become alternative hosts for Potyvirus. The RT-PCR technique succeeded in amplifying target DNA fragments measuring 683 bp according to the CIFOR / CIREV universal primers used in samples from Denpasar.

**Keywords:** Melon, *Potyvirus*, symptomatic weeds

## **1. Pendahuluan**

Melon (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman hortikultura yang termasuk dalam golongan Cucurbitaceae dan sangat digemari oleh masyarakat. Buah melon hadir di Indonesia sebagai buah Impor sebelum tahun 1980 dan belum dikenal masyarakat sebagai tanaman budidaya (Dwiragupti 1993). Namun upaya pengembangan budidaya melon dihadapkan pada kendala yang menyebabkan tidak terpenuhinya tingkat konsumsi buah melon, salah satunya adalah adanya serangan

oleh patogen yaitu virus pada tanaman. Virus pada tanaman mempunyai kisaran inang yang luas termasuk beberapa gulma yang dapat menjadi inang alternatif dan sebagai sumber inokulum.

Menurut Daryono (2006), virus yang paling banyak ditemukan di pertanaman melon di Indonesia antara lain: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), dan *Papaya ringspot virus strain semangka* (PRSV-W) yang sebagian besar merupakan kelompok *Potyvirus*. Hasil penelitian Rizwan (2019) berhasil mendeteksi *Potyvirus* pada tanaman melon di Bali yang menunjukkan beberapa gejala diantaranya: mosaik *vein banding*, dan juga menimbulkan klorosis. Beberapa virus yang termasuk kelompok *Potyvirus* memiliki tanaman inang alternatif sebagai tempat untuk mempertahankan komunitasnya.

Informasi tentang kisaran inang virus pada gulma yang umumnya tumbuh di sekitar pertanaman melon masih terbatas sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi *Potyvirus* secara molekuler pada gulma disekitar tanaman melon di Bali sehingga kita mengetahui apakah gulma berpotensi menjadi inang alternatif *Potyvirus*. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan referensi bagi akademis dan petani untuk mengambil langkah pengendalian gulma.

## **2. Metode Penelitian**

### **2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan pada Desember 2019 sampai Februari 2020 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.

### **2.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini adalah mortar, gunting, timbangan digital, tissue, kantong plastik, kertas label, alat tulis, kamera, masker, *glove*, lemari es, pestel steril, gelas ukur, erlenmeyer, *micropipette*, *centrifuge*, *collection tube*, *UV Transluminator*, *autoclave*, *waterbath*, mesin vortex, mesin PCR dan mesin elektroforesis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa primer, buffer CTAB, nitrogen cair, Sodium Asetat ( $\text{CH}_3\text{CooNa}$ ),  $\text{ddH}_2\text{O}$ , Isopropanol, buffer TE, marker, etanol,  $\beta$ -*mercaptoethanol*, aquades, gel Agarose, *greentag*, alkohol, serta 0,1 g daun gulma yang bergejala.

### **2.3 Pelaksanaan Penelitian**

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahapan yaitu pengambilan sampel gulma di lapangan dan deteksi *Potyvirus* dengan RT-PCR.

#### **2.3.1 Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel di lapangan dilakukan dengan mengambil gulma yang bergejala disekitar tanaman melon yang bergejala mosaik *vein banding*, dan klorosis dan kemudian disimpan dalam lemari es.

### 2.3.2 Deteksi Virus melalui RT - Polymerase Chain Reaction (PCR)

#### a. Ekstraksi RNA Total

Ekstraksi RNA secara manual dilakukan dengan mengikuti metode CTAB (Doyle dan Doyle, 1990) yang telah di modifikasi minor. Sampel tanaman gulma yang bergejala sebanyak 0.1 g digerus dan menambahkan nitrogen cair dan bufer ekstraksi yang dibuat dari pencampuran 500  $\mu$ l cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) dan 5  $\mu$ l  $\beta$ -merkaptotanol untuk membantu melisis sel. Hasil penggerusan dimasukkan kedalam tabung mikro dan diinkubasi dalam penangas air pada suhu 65° C selama 30 menit. Setiap 10 menit sekali tabung mikro dibolak-balik untuk membantu proses lisis. Setelah 30 menit, tabung mikro diangkat dari penangas air kemudian didiamkan selama 2 menit pada suhu ruang. Setelah itu, sebanyak 500  $\mu$ l campuran kloroform:isoamilalkohol (24:1) ditambahkan ke dalam tabung mikro. Kemudian, tabung mikro divorteks supaya tercampur dengan baik. Setelah divorteks, tabung disentrifugasi dengan kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit. Supernatan kemudian dipindahkan ke tabung mikro baru. Supernatan tersebut ditambahkan CH<sub>3</sub>COONa sebanyak 1/10 dari volume supernatan yang diperoleh dan isopropanol sebanyak 2/3 dari volume total. Tabung mikro tersebut diinkubasi pada -20 °C selama satu malam. Setelah diinkubasi, tabung mikro yang berisi supernatan, CH<sub>3</sub>COONa, dan isopropanol disentrifugasi dengan kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit. Setelah disentrifugasi akan terlihat pelet RNA, supernatan tersebut dibuang sehingga menyisakan pelet RNA dibagian bawah tabung mikro. Pelet RNA yang diperoleh dicuci dengan etanol 70% sebanyak 500  $\mu$ l kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Etanol dibuang lalu tabung mikro diletakkan secara terbalik diatas tisu selama 1-2 jam agar pelet kering. Pelet yang diperoleh dilarutkan dalam 50  $\mu$ l bufer TE.

#### b. Amplifikasi PCR

RT-PCR diawali dengan sintesis cDNA pada suhu 42°C selama 1 jam, dilanjutkan dengan PCR sesuai dengan program masing-masing pasangan primer. Komposisi reaktan dalam one step RT-PCR untuk volume total 25  $\mu$ l yaitu 12.5  $\mu$ l Go Taq green 2x , 2,5  $\mu$ l primer reverse 10  $\mu$ M, 2.5  $\mu$ l primer forward 10  $\mu$ M, 0.2 $\mu$ l Ribolock, Thermo scientific), 0.05  $\mu$ l MmuLV (Revertaid, Thermo scientific), 2.5  $\mu$ l DTT 50 mM, 2.75  $\mu$ l air bebas nuklease, dan 2  $\mu$ l RNA total. Amplifikasi cDNA dilakukan dengan menggunakan primer Universal Potyvirus dengan target gen protein menggunakan primer CIFOR 5'-GGI VVI GTI GGI WSI GGI AAR TCI AC -3' dan CIREV 5'-ACI CCR TTY TCD ATD ATR TTI GTI GC -3' dengan produk sebesar 683 bp (Ha et al., 2008). Amplifikasi dengan PCR dilakukan sebanyak 40 siklus dengan tahapan sebagai berikut (Hidayat *et al.*, 2012):

Tabel 1. Program PCR Deteksi *Potyvirus* pada gulma

Tahapan	Suhu (°C)	Durasi	Siklus
Pre Denaturasi	94	3 menit	1
Denaturasi	94	45 detik	40
Penempelan primer	40	1 menit	40
Ekstensi	72	1 menit	40
Ekstensi akhir	72	10 menit	1
Suhu penyimpanan	4	-	-

c. Visualisasi

Visualisasi dilakukan menggunakan mesin elektroforesis 100 volt. Pembuatan gel agarose terlebih dahulu dengan mencampurkan *buffer* TE sebanyak 20 ml dan agarose sebanyak 0.2 gram. Dalam gel agarose, marker yang digunakan 1 kb DNA ladder dan kemudian elektroforesis dilakukan selama 28 menit pada 100 volt dan visualisasi dengan *UV Transilluminator*.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Gulma pada Areal Pertanaman Melon

Sampel gulma diperoleh di lahan pertanian yang membudidayakan tanaman melon di Denpasar. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil gulma yang bergejala mosaik seperti pada Gambar 1.



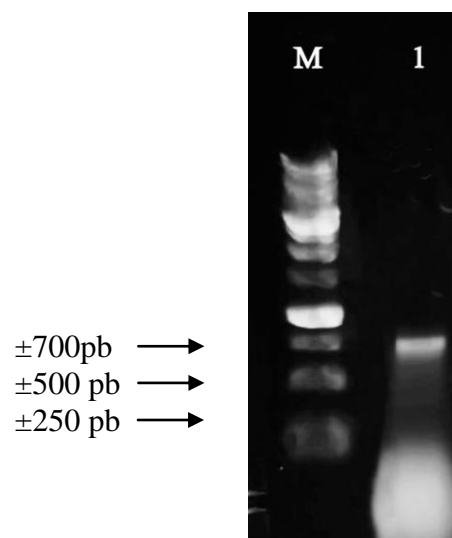
Gambar 1. Gejala mosaik vein banding dan klorosis yang di temukan di lapang  
(A) Tanaman Melon; (B) Gulma *Euphorbia heterophylla*

Berdasarkan pengamatan di lapang, ditemukan gulma yang bergejala mosaik *vein banding* disertai klorosis pada gulma *Euphorbia heterophylla*. Namun, pengamatan gejala saja belum cukup kuat untuk membuktikan bahwa gejala pada gulma merupakan gejala akibat infeksi *Potyvirus*, karena gejala yang diduga diinfeksi potyvirus bisa saja disebabkan oleh patogen lain, toksisitas serangga maupun faktor kekurangan unsur hara. Oleh karena itu perlu dilakukan deteksi

dengan metode RT-PCR untuk memastikan apakah gejala yang ditemukan dilapang merupakan gejala akibat infeksi virus.

### 3.2 Deteksi potyvirus pada Gulma di sekitar Pertanaman Melon dengan Menggunakan RT-PCR

Deteksi *Potyvirus* dilakukan dengan metode RT-PCR menggunakan sepasang primer universal *Potyvirus* yaitu CIFor dan CIRev, kemudian divisualisasi dengan elektroforesis.



Gambar 2. Hasil visualisasi deteksi sampel gulma dari lapang dengan ukuran 683 pb. (M) marker 1kb; (1) *Euphorbia heterophylla*.

Visualisasi hasil PCR menunjukkan adanya pita(band) pada keterangan A3 dari gulma *Euphorbia heterophylla*, bahwa gulma tersebut positif diinfeksi *Potyvirus*. Pita(band) pada A3 sesuai dengan ukuran primer universal CIREV dan CIFOR yang digunakan yaitu 683 bp (Ha *et al.* 2008). Hal ini membuktikan bahwa gulma *Euphorbia heterophylla* yang tumbuh disekitar tanaman melon dapat menjadi inang alternatif bagi *Potyvirus* dan memiliki gejala yang sama pada tanaman melon yang diinfeksi *Potyvirus* ditemukan oleh penelitian pendahuluan yaitu gejala mosaik *vein banding* disertai klorosis pada tanaman melon di Bali (Rizwan, 2019).

Hasil positif juga ditemukan pada penelitian (Veniani, 2016) telah berhasil mendeteksi bahwa gulma *Euphorbia hirta* yang memiliki gejala mosaik *vein banding* pada areal tanaman kacang panjang positif diinfeksi *Bean Common Mosaik Virus* (BCMV). Hal ini memperkuat bahwa gulma dari genus *Euphorbia* dapat menjadi inang alternatif bagi *Potyvirus*. Hasil penelitian ini memperkuat perlunya menerapkan strategi kontrol manajemen yang efisien untuk mengendalikan gulma di daerah sekitar tanaman melon yang bertujuan mengurangi sumber virus dan kemudian, kemungkinan menginfeksi tanaman lain.

## 4. Kesimpulan dan Saran

### 4.1 Kesimpulan

Gulma *Euphorbia heterophylla* yang tumbuh disekitar tanaman melon di Kota Denpasar dengan gejala mosaik disertai klorosis positif diinfeksi *Potyvirus*. Hal ini membuktikan bahwa gulma *Euphorbia heterophylla* dapat menjadi inang alternatif bagi *Potyvirus*.

### 4.2 Saran

Sanitasi area pertanaman melon dari pertumbuhan gulma merupakan suatu tindakan yang dapat mencegah terjadinya penyebaran sumber inokulum *Potyvirus* karena terdapat gulma yang berpotensi sebagai inang alternatif *Potyvirus*.

## Daftar Pustaka

- Daryono B, Natsuaki KT. Survey on the occurrence of viruses infecting cucurbit in Yogyakarta and Central Java. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(2):83-89.
- Doyle, J.J., J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Journal Focus* 12:13-5
- Dwiragupti M. 1993. Melon kini sudah merakyat. *Trubus* 281:9-10.
- Ha, C., Coombs S., Revill P.A., Harding R.M., Vu M., Dale J.L. 2008. Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of Potyviruses. *Archives of Virology* 53(1): 25-36.
- Rizwan FB. 2019. Identifikasi Virus Penyebab Penyakit Mosaik pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.) di Bali [Skripsi]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Veniari, N.K. 2016. "Peran Gulma sebagai Sumber Inokulum *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV) pada Kacang Panjang". Tesis. Program Studi Magister Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Udayana.