

Research Article

Karakterisasi Virus Penyebab Penyakit Belang pada Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.)

Characterization of Virus Causes of Mottle Disease on Pepper (*Piper nigrum* L.)

Trisnani Alif^{1)*}, Sedyo Hartono¹⁾, & Sri Sulandari¹⁾

¹⁾Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora No. 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: trisnanielif@gmail.com

Diterima 17 November 2017; diterima untuk diterbitkan 8 Juni 2018

ABSTRACT

*Mottle disease is an important disease in pepper plants caused by Piper yellow mottle virus (PYMoV). This study aims to determine the characterization of PYMoV biologically and molecularly. The pepper plant samples were obtained from pepper farmland in Kleben, Putat (Yogyakarta), and Air Buluh (Bangka). Virus particles are measured by electron microscopy. Virus transmission studies include mechanical transmission, vector, cuttings, grafting, and seeds. The molecular detection was done by using Polymerase chain reaction (PCR) method with PYMoV-F and PYMoV-R specific primers. The result, virus particles were found to be $\pm 30 \times 130$ nm in shape. Virus transmission studies indicate that PYMoV can be transmitted by *Ferrisia virgata* vectors, cuttings, grafts and seeds but cannot be transmitted through mechanical inoculation. Molecular test results showed that samples of Kleben, Putat and Air Buluh pepper plants were positively detected to contain PYMoV and amplified at 400 bp. The result of nucleotide base sequence analysis showed the isolates of Putat and Air Buluh had the highest homology with PYMoV of India 2 about 95% while Kleben isolate had 96% homology with PYMoV of India 1.*

Keywords: characteristic, mottle disease, pepper, PYMoV

INTISARI

Penyakit belang merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman lada yang disebabkan oleh *Piper yellow mottle virus* (PYMoV). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi PYMoV secara biologi dan molekuler. Sampel tanaman lada diperoleh dari lahan petani lada di Desa Kleben, Putat (Yogyakarta), dan Air Buluh (Bangka). Partikel virus diukur dengan mikroskop elektron. Kajian penularan virus meliputi penularan mekanik, vektor, stek, penyambungan, dan biji. Deteksi secara molekuler dengan metode *Polymerase chain reaction* (PCR) dengan pasangan primer spesifik PYMoV-F dan PYMoV-R. Partikel virus yang ditemukan berukuran $\pm 30 \times 130$ nm berbentuk batang. Kajian penularan virus menunjukkan bahwa PYMoV dapat ditularkan melalui vektor *Ferrisia virgata*, stek, penyambungan dan biji namun tidak dapat ditularkan melalui inokulasi mekanik. Hasil uji molekuler menunjukkan bahwa sampel tanaman lada Kleben, Putat dan Air Buluh positif terdeteksi PYMoV dan teramplifikasi pada 400 bp. Hasil analisis sekuen basa nukleotida menunjukkan isolat Putat dan Air Buluh memiliki homologi tertinggi dengan PYMoV India 2 sekitar 95% sedangkan isolat Kleben memiliki homologi 96% dengan PYMoV India 1.

Kata kunci: karakteristik, penyakit belang, tanaman lada, PYMoV

PENDAHULUAN

Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman penting pada daerah tropis maupun subtropis di dunia. Tanaman lada merupakan tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi baik di dalam negeri maupun di luar negeri. Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) banyak dibudidayakan di Indonesia oleh masyarakat, khususnya di wilayah Yogyakarta.

Data produktivitas tanaman lada Indonesia sangat fluktuatif dalam 5 tahun terakhir. Produksi tertinggi

lada nasional mencapai 91.039 ton pada tahun 2013, dan produksi terendah terjadi pada tahun 2014 yaitu ton 81.501 ton (Anonim, 2016). Adapun ekspor lada cenderung menurun. Dari data statistik menunjukkan bahwa ekspor lada terendah terjadi pada tahun 2016 dengan jumlah volume ekspor sebesar 33.645 ton dan nilai 319.829 US\$ sedangkan ekspor tertinggi lada terjadi pada tahun 2012 dengan jumlah 62.605 ton dan nilai 423.460 US\$ (Anonim, 2016).

Rendahnya nilai ekspor lada disebabkan oleh beberapa faktor di antaranya rendahnya kualitas lada serta terjadinya penurunan produktivitas lada.

Hal-hal yang berpengaruh terhadap penurunan produktivitas dan kualitas lada di antaranya kurangnya penerapan teknik budidaya yang baik dan benar serta adanya serangan dari organisme pengganggu tanaman (OPT). Beberapa OPT penting yang menyerang pada tanaman lada diantaranya patogen jamur dan nematoda yaitu *Phytophthora capsici*, *Fusarium solani*, dan *Meloidogyne incognita* (Suryanti *et al.*, 2015) serta patogen virus. Patogen virus yang menginfeksi tanaman lada salah satunya yaitu *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) dari genus *Badnavirus*. Penyakit yang disebabkan oleh virus ini dikenal dengan beberapa nama diantaranya penyakit kuning lada, penyakit kerdil dan penyakit belang (Lakani, 2006). Telah banyak dilaporkan infeksi virus ini diberbagai negara penghasil lada seperti India, Sri Lanka, Malaysia, Vietnam, Thailand, Filipina, dan Brazil (Lockhart *et al.*, 1997; Sarma *et al.*, 2001; de Silva *et al.*, 2002; Duarte *et al.*, 2002; Eng, 2002; Bhat *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2010).

Terdapat 33 provinsi di Indonesia yang mengembangkan budidaya tanaman lada salah satunya Provinsi D.I. Yogyakarta yang tersebar di Kabupaten Gunungkidul dan Kabupaten Sleman. Karakteristik gejala, cara penularan, informasi sebaran dan molekuler diperlukan untuk sebuah perencanaan dalam usaha pengendalian. Analisis nukleotida dapat mengungkapkan variasi dan hubungan kekerabatan pada level genetik antar isolat PYMoV, serta gambaran dan sebaran dari infeksi virus PYMoV. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi PYMoV pada tanaman lada secara biologi maupun molekuler.

BAHAN DAN METODE

Pengamatan Gejala di Lapangan

Pengamatan dilakukan dengan cara survei di lapang untuk mengetahui tingkat kejadian dan intensitas penyakit di lahan. Adapun wilayah pengamatan yang dipilih adalah perkebunan lada di DIY yaitu Desa Kleben, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman, Desa Putat, Kecamatan Patuk, Kabupaten Gunung Kidul, dan Desa Air Buluh, Kecamatan Mendo Barat, Kabupaten Bangka. Kejadian penyakit (KP) dilakukan dengan menghitung jumlah tanaman sakit per jumlah tanaman total dengan rumus:

$$KP = \frac{\text{Jumlah tanaman terinfeksi}}{\text{Jumlah tanaman yang diamati}} \times 100\%$$

Pengamatan intensitas penyakit (IP) dihitung dengan melakukan skoring terhadap gejala penyakit berdasarkan kriteria tertentu (Tabel 1); adapun rumus intensitas penyakit sebagai berikut:

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

Keterangan:

IP : intensitas penyakit

n : jumlah tanaman terserang dengan kategori tertentu

v : nilai skala setiap kategori serangan

Z : nilai skala tertinggi

N : jumlah tanaman yang diamati

Pengamatan Partikel Virus dengan Mikroskop Elektron

Pengamatan morfologi virus dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA UGM menggunakan mikroskop elektron (TEM JEOL JEM 1400) dengan tahapan sebagai berikut:

Siapan virus yang berasal dari 1×1 cm daun bergejala belang parah yang digerus dengan menggunakan ddH₂O kemudian dilarutkan dalam 2% *Phosphotungstic acid* (PTA) pH 6,5 selama ± 15 detik. Kemudian diteteskan pada grid berukuran 400 mesh, selanjutnya dikeringkan dengan kertas filter. Siapan virus yang menempel pada grid diamati di bawah mikroskop elektron yang dioperasikan pada 100KV.

Uji Penularan Virus

Uji penularan PYMoV dengan cara mekanik.

Tanaman uji yaitu *Nicotiana tabacum*, *Chenopodium amaranticolor*, dan *Piper nigrum* L. ditaruh di tempat yang gelap selama satu malam, kemudian sebanyak 0,1 g daun bergejala digerus menggunakan *buffer phosphat* pH 7 sebanyak 1 ml (1:10). Hasil gerusan disaring menggunakan kapas steril. Cairan yang diperoleh ditambahkan *carborundum* kemudian diinokulasikan pada tanaman uji masing-masing perlakuan menggunakan 5 ulangan. Kemudian dibiarkan beberapa saat dan disemprot menggunakan air steril. Pengamatan dilakukan setiap hari dan dicatat waktu awal munculnya gejala. Hasil pengamatan berupa data masa inkubasi virus serta perkembangan gejala penyakit

Uji penularan PYMoV dengan serangga vektor.

Uji penularan virus melalui vektor berdasarkan metode Balfas *et al.* (2007) dengan modifikasi jumlah penularan serangga vektor. Sumber inokulum virus berasal dari tanaman lada yang terserang penyakit belang

Tabel 1. Skor penilaian gejala infeksi PYMoV

Skor	Gejala
0	Tanaman tidak bergejala
1	Daun belang ringan dan persentasi sulur yang bergejala 5–10%
2	Daun belang jelas dan persentasi sulur yang bergejala 11–25%
3	Daun belang jelas, menyempit dengan persentasi sulur yang bergejala 26–50%
4	Daun belang jelas, menyempit dengan persentasi sulur yang bergejala 50–75%
5	Daun belang jelas, menyempit dan kerdil dengan persentasi sulur yang bergejala >75%

berasal dari perkebunan lada di Desa Putat, Patuk, Yogyakarta. Serangga vektor yaitu *Ferrisia virgata* (sebelumnya dilakukan identifikasi vektor oleh Laboratorium Entomologi UGM) diperoleh dari tanaman lada di kebun petani di Desa Putat, Patuk, Yogyakarta, kemudian dipelihara pada bibit lada sehat di rumah kaca Fakultas Pertanian, UGM. Nimfa instar awal dipindahkan ke sumber inokulum (lada bergejala belang) selama 24 jam. Setelah itu dipindahkan ke lada sehat (tanaman uji) selama 36 jam. Setiap tanaman ditulari dengan serangga sebanyak kontrol, 1, 5, dan 10 ekor serangga untuk setiap tanaman dengan ulangan sebanyak lima kali. Gejala yang muncul diamati dan dikonfirmasi dengan deteksi molekuler melalui PCR.

Uji Penularan PYMoV menggunakan stek. Uji penularan pada stek dilakukan dengan mengambil sulur panjang dari inang tanaman sakit. Pada pengujian ini digunakan 20 sulur panjang dari 20 tanaman bergejala yang memiliki minimal 1 ruas. Sulur kemudian ditanam pada polybag yang mengandung tanah steril dan kompos dengan perbandingan 1:2. Pengamatan gejala dilakukan pada tunas-tunas daun yang muncul dan mencatat variasi gejala. Kemudian dikonfirmasi dengan deteksi molekuler melalui PCR.

Uji penularan PYMoV melalui biji. Uji penularan virus pada biji dilakukan dengan menyemai biji lada yang diperoleh dari tanaman yang terinfeksi sebanyak 20 biji. Kemudian diamati gejala yang muncul dan dideteksi dengan metode PCR.

Deteksi Molekuler dengan PCR (Polymerase chain reaction)

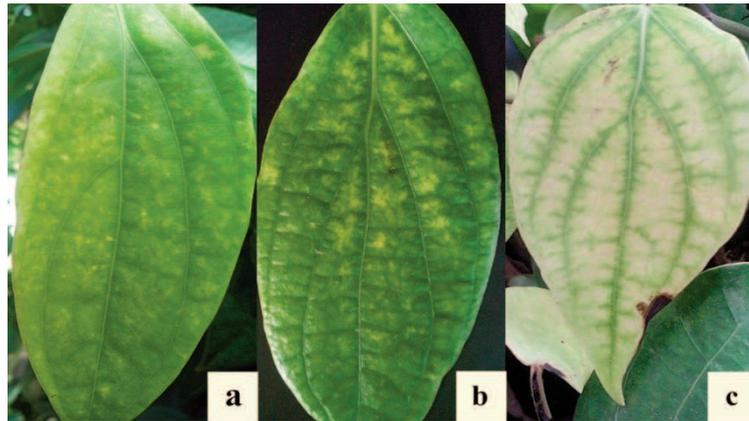
Sampel tanaman lada bergejala terinfeksi PYMoV diambil dari Air Buluh Bangka, Putat, dan Seyegan. Isolasi total DNA tanaman dilakukan menggunakan ATP Genomic DNA mini kit (Plant) (Vogelstein & Gillespie, 1979). Amplifikasi DNA menggunakan primer PYMoV-F: CTATATGAATGGCTAGTGATG dan PYMoV-R: TTCCTAGGTTTGGTATGTATG

(Bhat *et al.*, 2009). Tahap PCR digunakan *PureTaq Ready To Go PCR Beads* yang terdiri dari: *free water* (dH₂O) sebanyak 20 µl, Primer PYMoV-R dan PYMoV-F masing-masing 1 µl, DNA template 3 µl. Program PCR mengacu pada penelitian Bhat *et al.* (2009) dengan modifikasi suhu anealing, yaitu denaturasi awal pada suhu 94°C selama 1 menit dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari: suhu denaturasi 94°C selama 20 detik, suhu anealing 53°C selama 1 menit, suhu ekstensi 72°C selama 1 menit, ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 3 menit. Hasil PCR dielektroforesis pada agarose 1% (0,15 g agarose dalam 15 ml TBE 1X) pada tegangan 50 V selama 45 menit. Selanjutnya, hasil elektroforesis divisualisasi di bawah *transilluminator ultraviolet* dan didokumentasi. Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR yang positif terdeteksi PYMoV kemudian dikirim ke 1stBASE untuk dilakukan analisis sekuensing. Data sekuensing berupa kromatogram dianalisis dengan menggunakan *software* program MEGA 6.

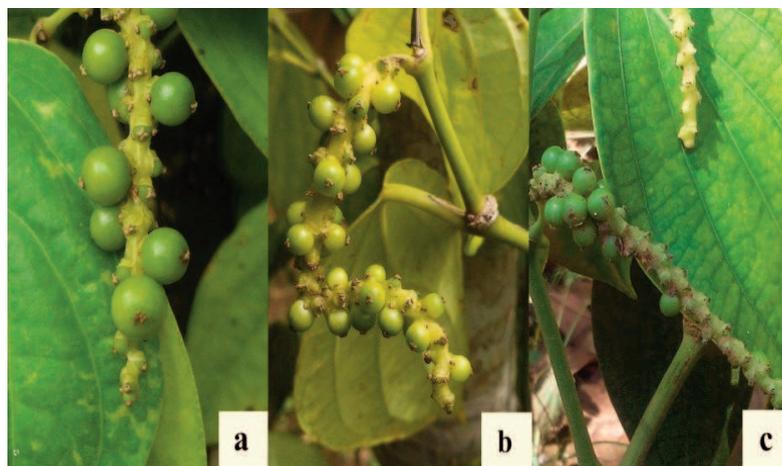
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Gejala di Lapangan

Pengamatan variasi gejala infeksi PYMoV dilakukan di Desa Kleben Kecamatan Sayegan Kabupaten Sleman dan di Desa Putat Kecamatan Patuk Kabupaten Gunungkidul. Pengamatan gejala pada daun menunjukkan gejala berupa belang kekuningan pada daun, klorotik disertai penebalan daun, dan *vein banding* (Gambar 1). Pengamatan pada fase generatif, gejala berupa ukuran malai lebih pendek, ukuran buah lebih kecil, serta jumlah buah dalam dompolan lebih sedikit atau tidak terbentuk dengan sempurna (Gambar 2). Pengamatan variasi gejala penyakit belang pada dua lokasi areal pertanaman lada di Yogyakarta menunjukkan variasi gejala yang sama. Variasi gejala yang diamati mirip dengan gejala yang telah dilaporkan sebagai infeksi dari PYMoV (Bhat *et al.*, 2003; Lakani, 2006).



Gambar 1. Variasi gejala pada daun lada di lapangan; (a) klorotik, (b) belang disertai penebalan daun, (c) *vein banding*



Gambar 2. Variasi gejala pada malai; (a) ukuran malai lebih pendek, (b) ukuran buah lebih kecil, (c) jumlah buah dalam dompok sedikit

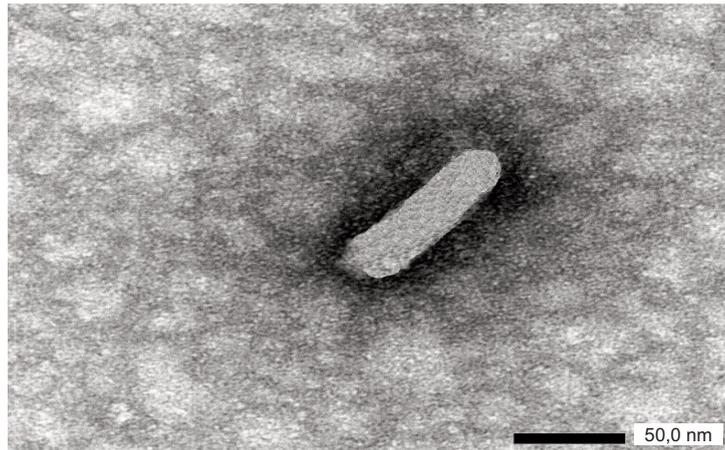
Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan kejadian dan intensitas penyakit belang yang berbeda-beda. Pengamatan di Desa Kleben, dengan ketinggian tempat 137 mdpl kejadian penyakit paling tinggi yaitu 93,75% dan intensitas penyakit 86%, intensitas penyakit di Desa Putat, Patuk, Gunungkidul dengan ketinggian tempat 155 mdpl, sebesar 62,54% dan kejadian penyakit sebesar 85%. Sedangkan tingkat intensitas dan kejadian penyakit terendah pada Desa Air buluh, Mendo, Bangka pada ketinggian tempat 48 mdpl yaitu sebesar sebesar 15% dan kejadian penyakit yaitu 25%. Perbedaan ketinggian tempat akan memengaruhi faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan dan curah hujan; faktor lingkungan akan memengaruhi adaptasi tanaman terhadap lingkungan, perkembangan dan penyebaran vektor virus. Namun pada penelitian ini diketahui bahwa tidak ada pengaruh antara ketinggian tempat dengan kejadian maupun intensitas penyakit.

Pengamatan Partikel Virus dengan Mikroskop Elektron

Metode pengamatan *quick deeping* dengan larutan 2% *Phosphotungstic acid* (PTA) pH 6,5 selama \pm 15 detik. Partikel virus yang teramati berbentuk batang dengan ukuran 30×130 nm (Gambar 3). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa PYMoV berbentuk batang dengan ukuran 30×130 nm (de Silva *et al.*, 2002). Hal ini sesuai dengan morfologi pararetrovirus, famili Caulimovirus, genus Badnavirus yang memiliki bentuk batang, genom berupa dsDNA (Lockhart *et al.*, 1997).

Uji Penularan Virus

Penularan PYMoV dengan cara mekanik. Hasil penularan penyakit belang secara mekanik menunjukkan dari masing-masing perlakuan tidak ada kenampakan gejala. Uji konfirmasi menggunakan PCR diperoleh hasil yang negatif. Penularan PYMoV



Gambar 3. Partikel *Piper yellow mottle virus* pada tanaman lada, metode *quick deeping electron microscope* dengan cat *Phosphotungstic acid* (PTA) 2%; partikel berbentuk *bacilliform*, bar = 50nm



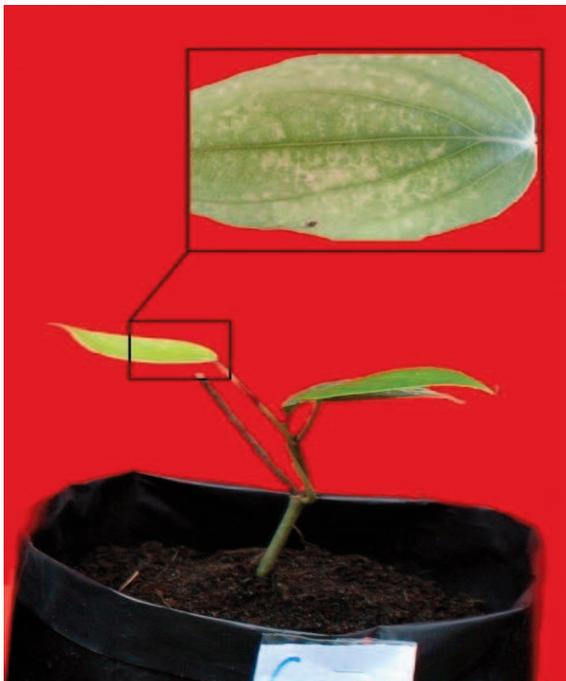
Gambar 4. Hasil uji penularan melalui vektor; daun muda klorotik ringan, sedikit mengeras dan sedikit bergelombang (tanda panah menunjukkan daun bergejala dengan masa inkubasi 7 minggu)

secara mekanik yang dilakukan oleh de Silva *et al.* (2002) dengan menggunakan tanaman indikator tembakau (*Nicotiana* spp.) dan *Ch. amaranticolor* menunjukkan hasil yang negatif. Bhat *et al.* (2003) melaporkan bahwa PYMoV dapat ditularkan secara mekanik namun konsentrasi virus pada saat ditularkan sangat rendah. Hal ini membuktikan bahwa penularan PYMoV sangat sulit ditularkan melalui penularan mekanik, diduga adanya pengaruh kandungan fenol yang tinggi pada daun lada sebagai inhibitor virus. Hal inilah yang menyebabkan virus tidak dapat ditularkan secara mekanik.

Uji penularan PYMoV melalui vektor. Hasil penularan melalui vektor *Ferrisia virgata* menunjukkan hasil yang positif. Penularan dengan 10 maupun 5 ekor vektor diperoleh hasil 80% tanaman terinfeksi virus namun pada penularan dengan 1 ekor vektor tidak ditemukan adanya gejala pada

tanaman uji. Hal ini diduga adanya perbedaan konsentrasi awal virus yang terbawa oleh setiap vektor, sehingga baik 5 maupun 10 ekor diperoleh hasil yang sama. Daya tular vektor tergantung pada karakter virus dan dapat bertahan selama virus masih terdapat dalam serangga dan sangat bergantung pada jumlah virus yang masuk ke dalam tubuh serangga (Bos, 1983; Omura *et al.*, 1983). Salah satu karakteristik BSV genus Badnavirus yang merupakan satu genus dengan PYMoV yaitu virus semipersisten yang tidak ditularkan secara transovarial dan tidak pula sirkulatif di dalam tubuh vektor (Daniells *et al.*, 1995; Bhat *et al.*, 2016). Gejala yang muncul terlihat pada daun muda berupa belang, klorotik ringan dan daun sedikit mengeras (Gambar 4). Gejala muncul pada minggu ke-7 setelah penularan. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa PYMoV di Indonesia dapat ditularkan dengan vektor *Ferrisia virgata* dengan hasil penularan sampai 100% (Balfas *et al.*, 2007).

Uji penularan PYMoV melalui stek. Tanaman lada umumnya diperbanyak melalui bahan perbanyak vegetatif berupa stek yang diambil dari lahan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa stek tanaman lada yang berasal dari inang yang telah terinfeksi PYMoV positif menunjukkan gejala khas PYMoV pada minggu ke-7, dari total tanaman hasil stek yaitu 20 tanaman yang menunjukkan gejala khas sebesar 95%. Hal ini sesuai dengan penelitian Bhat *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa kemunculan gejala khas PYMoV yang ditularkan melalui stek sekitar 2–3 bulan atau 6–12 minggu. Gejala awal daun menjadi transparan dan belang-belang ringan terlihat pada daun muda (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil uji penularan PYMoV melalui stek dengan masa inkubasi 3 minggu; daun muda klorotik (belang)

Uji penularan PYMoV melalui biji. Penularan melalui biji merupakan penularan untuk mengetahui keterbawaan PYMoV melalui biji lada. Dari pengujian ini diketahui bahwa dari 20 biji lada yang ditumbuhkan menunjukkan gejala khas PYMoV dengan insidensi 5%. Adapun gejala yang muncul meliputi daun mengalami klorotik ringan, klorotik berat atau belang, namun tidak mengurangi ukuran daun (Gambar 6). Munculnya gejala yaitu pada minggu ke-18 setelah tanam. Setelah dikonfirmasi dengan deteksi melalui PCR dapat diketahui bahwa sampel yang bergejala positif terinfeksi PYMoV.



Gambar 6. Gejala khas PYMoV pada daun berupa belang/klorotik ringan hasil uji penularan melalui biji dengan masa inkubasi 18 minggu

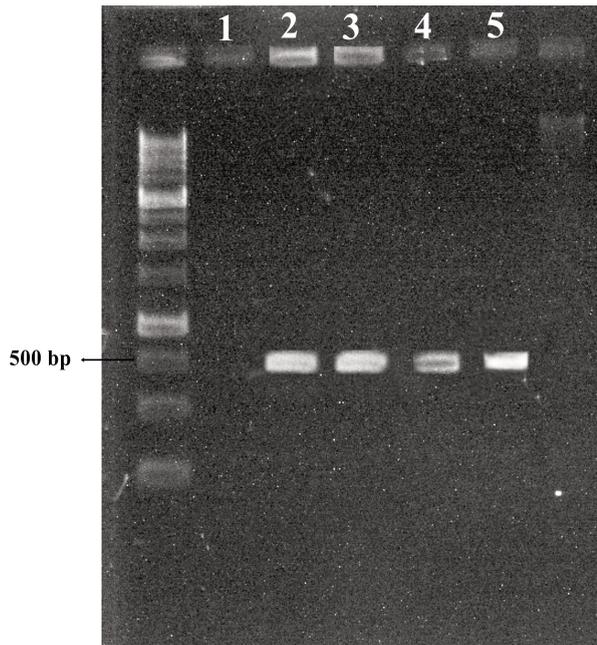
Hal ini sebagai laporan pertama yang menginformasikan bahwa PYMoV di Indonesia dapat ditularkan melalui biji, meskipun insidensi penyakitnya tergolong rendah.

Penularan PYMoV melalui biji telah dilaporkan oleh de Silva *et al.* (2002) bahwa bibit lada yang berasal dari biji terdeteksi terinfeksi PYMoV namun sangat rendah insidensi penyakitnya, dari 600 biji yang diuji hanya 3 biji yang terdeteksi terinfeksi oleh PYMoV. Hal ini diperkuat dengan laporan dari Hareesh dan Bhat (2010) bahwa PYMoV dapat ditularkan melalui biji dengan insidensi berkisar 22–30%. Deeshma dan Bhat (2014) melaporkan bahwa PYMoV merupakan virus yang dapat terbawa melalui biji, adapun bagian-bagian biji yang telah diuji dan positif mengandung PYMoV adalah *anthers*, *embryo*, *endosperm*, dan *perisperm*.

Deteksi Molekuler melalui PCR

Hasil isolasi DNA pada 3 daun yang bergejala dari 3 lokasi yang berbeda-beda yaitu Desa Kleben, Kecamatan Seyegan, Kabupaten Sleman; Desa Putat, Kecamatan Patuk, Kabupaten Gunungkidul; dan Desa Air Buluh, Kecamatan Mendo Barat, Kabupaten Bangka menunjukkan kualitas DNA total (tanaman dan virus) yang bagus.

Hasil deteksi PCR target teramplifikasi pada suhu anealing 53°C dengan Primer PYMoV-R dan PYMoV-F dengan adanya pita DNA pada panjang basa \pm 400 bp (Gambar 7). Ukuran pita DNA yang didapatkan sesuai dengan penelitian Bhat *et al.* (2009) dengan menggunakan primer spesifik PYMoV-R dan PYMoV-F PYMoV teramplifikasi pada panjang basa 400 bp. Pada penelitian ini diketahui bahwa virus



Gambar 7. Hasil amplifikasi PCR menggunakan Primer spesifik PYMoV-R dan PYMoV-F pada tanaman lada dari tiga lokasi; (M) Marker 1kb, (1) kontrol negatif, (2) kontrol positif, (3) sampel Putat, (4) sampel Kleben, (5) sampel Air Buluh

belang yang disebabkan oleh PYMoV ditemukan pada perkebunan petani lada baik di Yogyakarta maupun Bangka.

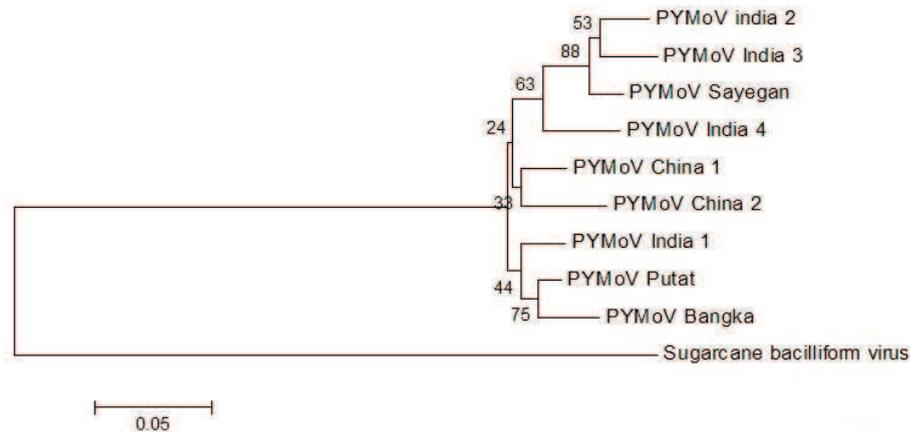
Berdasarkan hasil BLAST terhadap runutan sekuen nukleotida dari ketiga sampel, rata-rata sampel dari Indonesia memiliki kemiripan yang tinggi dengan isolat-isolat yang ada di *database GeneBank* yaitu sebesar 89–96%, selain itu kemiripan antar sampel uji juga tergolong tinggi yaitu sampel asal Putat memiliki kemiripan 96% terhadap sampel asal Air Buluh dan sebesar 92% terhadap sampel Kleben sedangkan sampel asal Putat memiliki kemiripan 91% terhadap sampel asal Air Buluh dan 96% terhadap PYMoV India 2 (Tabel 2).

Kekerabatan sekuen ketiga sampel uji dengan PYMoV isolat lain yang ada di *database Genebank* kemudian dibuat rekonstruksi pohon filogenetiknya menggunakan program *MEGA 6* dengan metode *Neighbor Joining* (NJ). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa terdapat dua grup besar. Grup pertama dikelompokkan lagi menjadi dua subgrup yaitu subgrup satu terdiri dari PYMoV India 2 (DQ836237.1), PYMoV India 3 (KJ195477.1),

Tabel 2. Persentase kesamaan basa nukleotida PYMoV isolat Putat, Kleben, dan Air Buluh dengan isolat PYMoV yang telah dipublikasikan di *database NCBI*

No.	Isolat	Kode akses	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Isolat Putat	ID									
2.	Isolat Kleben	93		ID							
3.	Isolat Air Buluh	96		92	ID						
4.	PYMoV India 1	KJ195481.1		92	95	ID					
5.	PYMoV India 2	DQ836237.1		96	90	91	ID				
6.	PYMoV China 1	KT315727.1		93	93	94		ID			
7.	PYMoV India 3	KJ195477.1		95	91	90		ID			
8.	PYMoV India 4	KJ195469.1		94	92	92		91	ID		
9.	PYMoV China 2	KT315725.1		94	92	94		89	91	ID	

isolat Kleben, dan PYMoV India 4 (KJ195469.1), sedangkan subgrup dua yaitu PYMoV China 1 (KT31527.1) dan PYMoV China 2 (KT315727.1). Adapun grup kedua yaitu isolat Putat, isolat Air Buluh dan PYMoV India 1 (KJ195481.1) (Gambar 8). Hal ini menunjukkan bahwa isolat PYMoV asal Indonesia membentuk kelompok yang berkerabat dekat dengan beberapa isolat PYMoV dari beberapa negara lain. Sekuen PYMoV asal Kleben diketahui berkerabat dekat dengan PYMoV India 2, 3, dan 4 sedangkan isolat Putat dan Air Buluh diketahui berkerabat paling dekat dengan isolat PYMoV India 1.



Gambar 8. Pohon filogenetik sampel uji dibandingkan dengan beberapa isolat PYMoV lain yang telah dipublikasi di *database Genbank NCBI*

KESIMPULAN

Penyebab penyakit belang pada perkebunan lada di Putat, Kleben, dan Bangka adalah PYMoV. Gejala khas yang ditimbulkan berupa belang parah pada daun. PYMoV memiliki ukuran 30×130 nm berbentuk batang. PYMoV dapat ditularkan melalui vektor *Ferrisia virgata*, stek dan melalui biji, serta tidak dapat ditularkan secara mekanik. DNA virus teramplifikasi pada 400 bp, isolat Putat dan Air Buluh memiliki homologi tertinggi dengan PYMoV India 2 sekitar 95%, sedangkan isolat Kleben memiliki homologi 96% dengan PYMoV India 1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini disusun berdasarkan sebagian data dari tesis penulis pertama dalam rangka pencapaian derajat M.Sc. pada Program Studi Fitopatologi, Universitas Gadjah Mada. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada tim peneliti lada kerja sama Pemerintah Provinsi Bangka Belitung dan Universitas Gadjah Mada.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (Dirjenbun). 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia Lada 2015–2017*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Jakarta. 36 hlm.
- Balfas, R., I. Lakani, Samsudin, & Sukamto. 2007. Penularan Penyakit Kerdil pada Tanaman Lada oleh Tiga Jenis Serangga Vektor. *Jurnal Littri* 13:136–141.
- Bhat, A.I., A. Sijo, M.V. Jiby, C.K. Thankamni, & P.A. Mathew. 2009. Polymerase Chain Reaction (PCR) Based Indexing of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) against *Piper yellow mottle virus*. *Journal of Spices and Aromatic Crops* 18: 28–32.
- Bhat, A.I., H. Thomas, & R. Selvarajan. 2016. Badnaviruses: The Current Global Scenario. *Viruses* 177: 1–29.
- Bhat, A.I., S. Devasahayam, Y.R. Sarma, & R.P. Pant. 2003. Association of a *Badnavirus* in Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Transmitted by Mealybug (*Ferrisia virgata*) in India. *Current Science* 84: 1547–1550.
- Bos, L. 1983. *Pengantar Virologi Tumbuhan*, (diterjemahkan oleh Triharso). Gadjah Mada Press, Yogyakarta. 389 hlm.
- Daniels, B.A. & H.D. Skipper. 1982. Methods for Recovery and Quantitative Estimation of Propagules from Soil. *American Phytopathological Society* 29: 29–35.
- Daniells, J., J. E. Thomas, & M. Smith. 1995. Seed and Transmission of *Banana streak virus* Confirmed. *Infomusa* 4: 1–7.
- Deeshma, K.P. & A.I. Bhat. 2014. Futher Evidence of True Seed Transmission of *Piper yellow mottle virus* in Black Pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Plantation Crops* 42: 289–293.
- de Silva, D.P.P., P. Jones, & M.W. Shaw. 2002. Identification and Transmission of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* Infecting Black Pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka. *Plant Pathology* 51: 537–545.
- Duarte, M.L.R., P.C. Filho, & M.S.F. Dantas. 2002. Pest and Diseases of Black Pepper in Brazil. *International Pepper News Bulletin. The Journal for the Pepper Industry*. July–December 2002: 24–34.
- Eng, L. 2002. Viral Disease and Root-Knot Nematode Problems of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) in Sarawak, Malaysia. *International Pepper News Bulletin. The Journal for the Pepper News Bulletin*. July–December 2002: 39–45.

- Haresh, P.S. & A.I. Bhat. 2010. Seed Transmission of *Piper yellow mottle virus* in Black Pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Plantation Crops* 38: 62–65.
- Lakani, I. 2006. *Deteksi dan Identifikasi Penyebab Penyakit Belang (Mottle) pada Tanaman Lada (Piper nigrum L.) di Indonesia*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 38 hlm.
- Lockhart, B.E.L., K.K. Anggul, P. Jones, L. Eng, D.P.P. de Silva, N.E. Olszewski, N. Lockhart, N. Deema, & J. Sangalang. 1997. Identification of *Piper yellow mottle virus*, a Mealybug-Transmitted Badnavirus Infecting *Piper* spp. in Southeast Asia. *European Journal of Plant Pathology* 103: 303–311.
- Oliveira, A.C.S., A.J. Boari, C.M. de Sousa, K.F.C. Pantoja, & C.D.A. Souza. 2010. Identification of *Piper yellow mottle virus* on Black Pepper (*Piper nigrum*) in the States of Minas Gerais, Espirito Santo and Amazonas, Brazil. *Horticultura Brasileira* 28: S952–S956.
- Omura T, Y. Saito, T. Usugi, & H. Hibino. 1983. Purification and Serology of *Rice tungro spherical* and *Rice tungro bacilliform virus*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 49: 73–76.
- Sarma, Y.R., G. Kiranmai, P. Sreenivasulu, M. Anandaraj, M. Hema, M. Venkatramana, A.K. Murthy, & D.V.R. Reddy. 2001. Partial Characteritaton and Identification of a Virus Associated with Stunt Disease of Black Pepper (*Piper nigrum*) in South India. *Current Science* 80: 459–462.
- Suryanti, B. Hadisutrisno, Mulyadi, & J. Widada. 2015. Identifikasi Fusarium dan Nematoda Parasitik yang Berasosiasi dengan Penyakit Kuning Lada di Kalimantan Barat. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 19: 19–26.
- Vogelstein, B. & D. Gillespie. 1979. Preparative and Analytical Purification of DNA from Agarose. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76: 615–619.