

## TEMUAN PENYAKIT BARU

### **Infeksi *Ageratum yellow vein virus* pada Gulma *Crassocephalum crepidioides* di Bengkulu**

### *Infection of *Ageratum yellow vein virus* on Weed *Crassocephalum crepidioides* in Bengkulu*

**Nia Kurniati Br. Marpaung, Mimi Sutrawati\*, Dwi Wahyuni Ganefianti,  
Ridha Rizki Novanda, Tunjung Pamekas**  
Universitas Bengkulu, Bengkulu 38371

#### ABSTRAK

Beberapa jenis gulma dengan gejala infeksi virus ditemukan pada tiga sentra pertanaman pepaya (*Carica papaya*) di Provinsi Bengkulu, Indonesia. Gejala pada gulma ialah tulang daun dan lamina daun menguning, mosaik kuning, dan keriting. Gejala tersebut mirip dengan gejala infeksi Begomovirus pada beberapa jenis tanaman. Penelitian dilakukan dengan tujuan mendeteksi dan mengidentifikasi spesies Begomovirus pada spesies gulma *Crassocephalum crepidioides*. Deteksi Begomovirus dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* menggunakan sepasang primer universal Begomovirus, SPG1/SPG2. Pita DNA berukuran 912 pb berhasil diamplifikasi dari sampel gulma *C. crepidioides* dengan gejala daun keriting. Berdasarkan analisis *Blastn*, sampel Begomovirus asal gulma *C. crepidioides* memiliki kekerabatan yang paling dekat dengan *Ageratum yellow vein virus* (AYVV) isolat asal Taiwan (DQ866134.1) dengan homologi sebesar 99%. Hasil penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi AYVV pada *C. crepidioides* di Indonesia.

Kata kunci: Begomovirus, gejala, homologi, *polymerase chain reaction*, primer universal

#### ABSTRACT

Weeds with symptoms of virus infection were found on three cultivation areas of papaya (*Carica papaya*) in Bengkulu province, Indonesia. Symptoms on weeds involved yellowing of lamina and vein, yellow mosaic, and leaf curling. This study aimed to identify and detect Begomovirus on weed species, *Crassocephalum crepidioides*. Virus detection was conducted by polymerase chain reaction method using a pair of universal primers for Begomovirus (SPG1/SPG2). A DNA fragment of 912 bp in size was successfully amplified from *C. crepidioides* with leaf curl symptom. Analysis using *Blastn* showed that Begomovirus sample from *C. crepidioides* has the closest relationship with *Ageratum yellow vein virus* (AYVV) isolate from Taiwan (DQ866134.1) with nucleotide homology of 99%. This is the first report of AYVV infection in *C. crepidioides* in Indonesia.

Keywords: Begomovirus, homology, polymerase chain reaction, symptom, universal primer

---

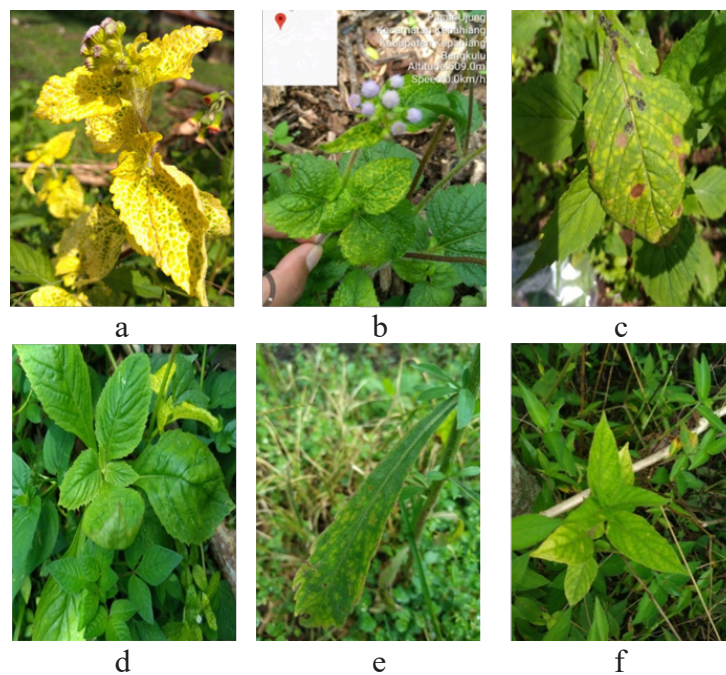
\*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu. Jalan WR. Supratman, Kandang Limun, Bengkulu 38371.  
Surel: mimi\_sutrawati@unib.ac.id

Gejala infeksi virus ditemukan pada per-tanaman pepaya (*Carica papaya*) di Kabupaten Kepahiang dan Rejang Lebong, Provinsi Bengkulu pada Februari 2021. Gejala pada gulma di lapangan terdiri atas mosaik kuning sistemik, tulang daun dan lamina daun menguning serta keriting (Gambar 1). Sebelumnya infeksi Begomovirus pada tanaman pepaya pertama kali dilaporkan di Bengkulu pada 2021 dengan insidensi penyakit 42%–100% (Sutrawati *et al.* 2021). Berbagai jenis gulma dilaporkan tumbuh di lahan budi daya pepaya di Bengkulu, di antaranya *Crassocephalum crepidioides*, *Ageratum conyzoides*, *Claytonia perfoliate*, dan *Eleusine indica* (Marpaung *et al.* 2022).

Meliansyah *et al.* (2011) melaporkan infeksi geminivirus pada gulma menunjukkan gejala keriting daun dan tulang daun menguning di pertanaman cabai di Provinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Daerah Istimewa Yogyakarta. Gejala yang ditemukan pada sampel gulma dari Kabupaten Kepahiang dan Kabupaten Rejang Lebong diduga berasosiasi dengan infeksi Begomovirus. Oleh sebab itu,

dilakukan deteksi dan identifikasi virus untuk memastikan infeksi Begomovirus.

Deteksi dilakukan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dengan tiga tahapan, yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, dan visualisasi hasil amplifikasi. Ekstraksi DNA total mengikuti metode CTAB yang dimodifikasi (Doyle dan Doyle 1990). Modifikasi dilakukan pada waktu inkubasi hasil gerusan sampel daun dari 30 menit menjadi 60 menit untuk meningkatkan efisiensi metode CTAB. Modifikasi juga dilakukan pada waktu inkubasi -20 °C selama satu malam menjadi penyiraman tabung dengan nitrogen cair untuk mempersingkat waktu pengerjaan. DNA total hasil ekstraksi kemudian digunakan untuk amplifikasi pita DNA spesifik Begomovirus dengan primer universal SPG1 (5'-CCCCCKGTGCGWRAATCCAT-3') dan SPG2 (5'ATCCVAAYWTYCAGGGAGCTAA-3') dengan target amplicon berukuran ~912 pb (Li *et al.* 2004). Komposisi pereaksi terdiri atas 1 µL cetakan DNA, 1 µL masing-masing primer SPG1/SPG2, 9.5 µL air bebas nuklease, dan 12.5 µL *Go Taq Green*



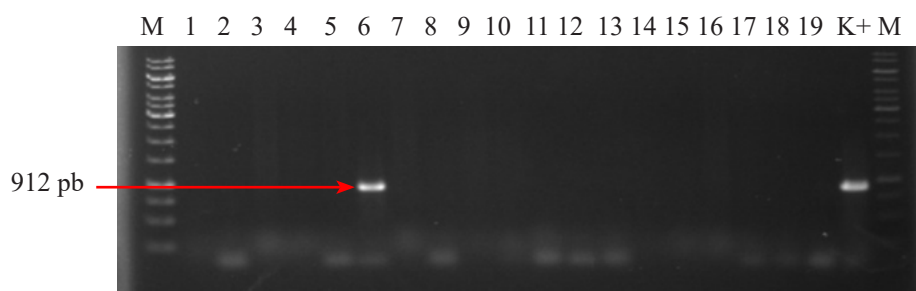
Gambar 1 Gejala infeksi virus pada gulma di lapangan. a, tulang daun dan lamina daun menguning pada *Ageratum conyzoides*; b, keriting pada *A. conyzoides*; c, mosaik kuning pada *Crassocephalum crepidioides*; d, keriting pada *C. crepidioides*; e, mosaik kuning pada *Conyza sumatrensis*; dan f, mosaik kuning pada *Asystasia gangetica*.

*master mix* (2×) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Program amplifikasi dilakukan dengan *SimpliAmp Thermal Cycles Machine* (Fisher Scientific, US) sebanyak 35 siklus dengan tahapan sebagai berikut: pradenaturasi pada suhu 94 °C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, penempelan primer pada cetakan DNA pada suhu 50 °C selama 1 menit, sintesis DNA pada suhu 72 °C selama 1 menit, pemanjangan akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit dan berakhir pada suhu 4 °C untuk penyimpanan (Li *et al.* 2004). Hasil amplifikasi DNA dielektroforesis dalam gel agarosa (1%). DNA hasil amplifikasi selanjutnya digunakan untuk sikuensing nukleotida. Urutan basa nukleotida dianalisis menggunakan program *basic local alignment search tools* (BLAST) yang diakses dari NCBI. Analisis polimorfisme nukleotida, penentuan matriks jarak genetik, dan pembuatan dendrogram menggunakan program *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) (Tamura *et al.* 2013).

Primer universal Begomovirus SPG1/SPG2 berhasil mengamplifikasi gen *transcriptional activator protein* (TrAp) dan *replication-associated protein* (Rep) Begomovirus pada sampel gulma *C. crepidioides* (Gambar 2); sedangkan hasil PCR sampel gulma lainnya menunjukkan hasil negatif (Gambar 2 dan 3).

Sampai saat ini belum ada laporan mengenai adanya infeksi Begomovirus pada gulma *C. crepidioides*. Hasil ini merupakan laporan pertama infeksi Begomovirus pada gulma *C. crepidioides* di Indonesia. Keberadaan Begomovirus pada gulma ini merupakan konfirmasi bahwa gulma dapat menjadi inang alternatif dan sumber inokulum Begomovirus di lapangan (Regniere *et al.* 2012). Gulma *Macroptilium lathyroides* di Puerto Rico dilaporkan terinfeksi *Bean golden mosaic virus* (BGMV) dengan gejala mosaik kuning terang (Idris *et al.* 1999). Salati *et al.* (2002) juga melaporkan peran gulma sebagai reservoir *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) antar-musim tanam.

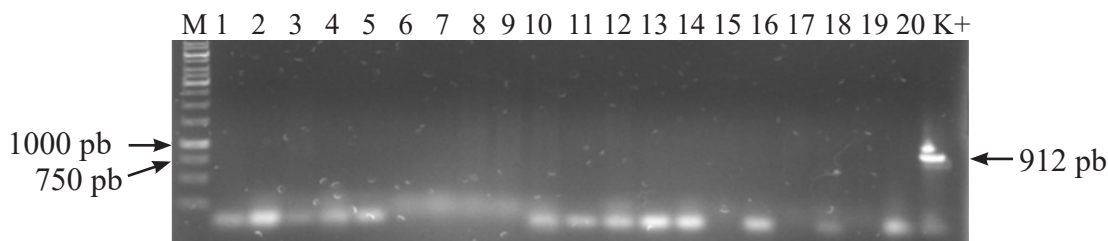
Analisis sikuensing nukleotida dengan BLAST menunjukkan bahwa Begomovirus dari *C. crepidioides* asal Rejang Lebong (Bengkulu) identik dengan AYVV dari Taiwan (DQ866134.1), Jepang (LC487406.1 dan AB306314.1), Cina (EF527823.1 dan EF544600.1) dan Nepal (KC282641.1) dengan homologi 98%–99% (Tabel 1). Suatu isolat virus dapat dinyatakan sebagai satu spesies Begomovirus apabila memiliki kesamaan nukleotida lebih dari 89% (King *et al.* 2012). Dengan demikian isolat Begomovirus dari *C. crepidioides* asal Rejang Lebong (Bengkulu) dapat disimpulkan sebagai AYVV.



Gambar 2 Pita DNA hasil amplifikasi menggunakan primer SPG1/SPG2 dari sampel gulma yang diambil di Rejang Lebong (kolom 1–13) dan Kepahiang (kolom 14–19). M, penanda DNA 1 kb; 1, *Synedrella nodiflora* tanpa gejala; 2, *Crassocephalum crepidioides* tanpa gejala; 3, *Ageratum conyzoides* keriting; 4, *A. conyzoides* tanpa gejala; 5, *Conyza sumatrensis* keriting; 6, *C. crepidioides* keriting; 7, *A. conyzoides* kuning; 8, *C. sumatrensis* tanpa gejala; 9, *C. sumatrensis* kuning; 10, *S. nodiflora* kuning; 11, *Phyllanthus niruri* tanpa gejala; 12, *Eleusine indica* tanpa gejala; 13, *C. crepidioides* tanpa gejala; 14, *A. conyzoides* keriting; 15, *A. gangetica* tanpa gejala; 16, *A. conyzoides* tanpa gejala; 17, *C. sumatrensis* kuning; 18, *C. crepidioides* kuning; 19, *A. conyzoides* kuning; dan K+, kontrol positif.

Lebih lanjut, hasil rekonstruksi pohon filogenetik Begomovirus asal gulma *C. crepidioides* dari Kabupaten Rejang Lebong dibandingkan dengan AYVV yang

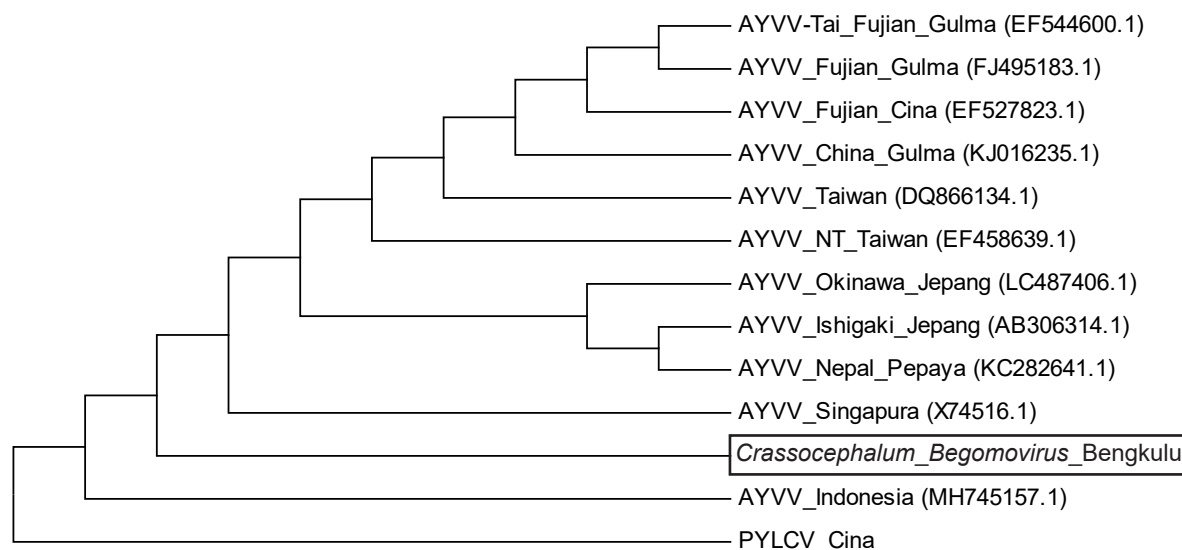
dilaporkan di berbagai negara (Gambar 4). Infeksi AYVV pada gulma *C. crepidioides* dengan gejala tulang daun menguning pernah dilaporkan sebagai *Begomovirus* isolat JH1



Gambar 3 Pita DNA hasil amplifikasi menggunakan primer SPG1/SPG2 dari sampel gulma yang diambil di Rejang Lebong (kolom 4, 8, 20) dan Kepahiang (kolom 1–3, 5–7, 9–19). M, penanda DNA 1 kb; 1, *Crassocephalum crepidioides* tanpa gejala; 2, *Asystasia gangetica* tanpa gejala; 3, *Ageratum conyzoides* kuning; 4, *Claytonia perfoliata* tanpa gejala; 5, *Eleusine indica* tanpa gejala; 6, *Euphorbia hirta* tanpa gejala; 7, *Phyllanthus niruri* tanpa gejala; 8, *A. conyzoides* tanpa gejala; 9, *A. conyzoides* tanpa gejala; 10, *Conyza sumatrensis* tanpa gejala; 11, *Commelina diffusa* tanpa gejala; 12, *Micania micrantha* tanpa gejala; 13, *Cleome rutidosperma* tanpa gejala; 14, *A. gangetica* kuning; 15, *Cyperus kyllingia* tanpa gejala; 16, *C. crepidioides* kuning; 17, *A. conyzoides* keriting; 18, *C. crepidioides* kuning; 19, *Galinsoga parviflora* tanpa gejala; 20, *Setaria viridis* tanpa gejala; K+, kontrol positif.

Tabel 1 Persentase homologi sikuen nukleotida AYVV dari sampel gulma *Crassocephalum crepidioides* dibandingkan dengan isolat AYVV dari GenBank

No.	Sikuen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	AYVV_Bengkulu	ID										
2	AYVV_Taiwan DQ866134.1	99	ID									
3	AYVV_Okinawa_ Jepang LC487406.1	99	100	ID								
4	AYVV_Ishigaki_ Jepang AB306314.1	99	100	100	ID							
5	AYVV_Fujian_Cina EF527823.1	99	99	99	99	ID						
6	AYVV-Tai_Fujian_ Gulma EF544600.1	99	99	99	99	100	ID					
7	AYVV_Nepal_ Pepaya KC282641.1	98	99	99	99	99	98	ID				
8	AYVV_Fujian_ Gulma FJ495183.1	98	98	98	98	100	100	98	ID			
9	AYVV_NT_Taiwan EF458639.1	98	99	99	99	98	99	98	98	ID		
10	AYVV_Cina_ Gulma KJ016235.1	98	98	99	99	99	99	98	99	98	ID	
11	AYVV_Singapura X74516.1	98	96	96	96	96	96	97	95	96	96	ID
12	AYVV_Indonesia MH745157.1	91	91	91	92	91	91	91	91	91	91	91



Gambar 4 Pohon filogenetik AYVV pada *C. crepidioides* asal Kabupaten Rejang Lebong dan isolat dari Genbank dengan *Pepper yellow leaf curl virus* (PYLCV) Cina sebagai *outgroup*.

di Jinghong, Provinsi Yunnan, Cina (Dong *et al.* 2007). Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Kumar *et al.* (2011) bahwa gejala tulang daun menguning ditemukan pada gulma *C. crepidioides* dan *A. conyzoides* diketahui berasosiasi dengan *Ageratum enation virus* (AEV).

Haerunisa *et al.* (2016) berhasil mengidentifikasi AYVV pada tanaman mentimun (*Cucumis sativus*) asal Gianyar, Bali dan memiliki kesamaan nukleotida tertinggi (92.1%) dengan isolat lain yang juga berasal dari Indonesia yang menginfeksi tanaman *Nicotiana benthamiana*. Di negara Nepal, AYVV dilaporkan pada tanaman pepaya (KC2826411) dengan gejala daun keriting disertai penebalan dan penggelapan tulang daun (Shahid *et al.* 2013). Dengan demikian, AYVV yang menginfeksi gulma *C. crepidioides* di lahan budi daya pepaya dapat menjadi sumber inokulum AYVV pada tanaman pepaya. Keberadaan AYVV pada *C. crepidioides* diduga ditularkan melalui *B. tabaci* yang merupakan vektor Begomovirus. Sifat vektor yang suka berpindah-pindah dan polifag memungkinkan terjadinya penyebaran virus ke tanaman baru (Lefeuvre *et al.* 2007).

Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa gejala mosaik kuning pada gulma *C. crepidioides* asal Rejang Lebong (Bengkulu)

berasosiasi dengan infeksi Begomovirus, yaitu AYVV. Laporan ini sebagai laporan pertama infeksi AYVV pada *C. crepidioides* di Indonesia.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Unggulan Universitas Bengkulu Tahun 2020 atas nama Mimi Sutrawati dengan nomor kontrak 2007/UN30.15/PG/2020. Penulis menyampaikan terima kasih kepada LPPM Universitas Bengkulu atas dana penelitian sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Dong JH, Zhang ZK, Ding M, Fang Q, Zhou H. 2007. Molecular characterization of a distinct *Begomovirus* infecting *Crassocephalum crepidioides* in China. *Journal of Phytopathology*. 156:193–195. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01337.x>.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13–15.
- Haerunisa R, Suastika G, Damayanti TA. 2016. Identifikasi *Begomovirus* yang berasosiasi dengan penyakit kuning pada mentimun di

- Jawa Barat dan Bali. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 7(1):9–20. DOI: <https://doi.org/10.29244/jhi.7.1.9-20>.
- Idris AM, Bird J, Brown JK. 1999. First report of a bean-infecting begomovirus from *Macroptilium lathyroides* in Puerto Rico that is distinct from *Bean golden mosaic virus*. *Plant Disease*. 83(11):1071–1071. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.11.1071C>.
- King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, editor. 2012. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Amsterdam (NL): Elsevier.
- Kumar Y, Hallan V, Zaidi AA. 2011. First report of *Ageratum enation virus* infecting *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore and *Ageratum conyzoides* L. in India. *Journal of General Plant Pathology*. 77:214–216. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10327-011-0308-z>.
- Lefevre P, Martin DP, Hoareau M, Naze F, Delatte H, Thierry M, Varsani A, Becker N, Reynaud B, Lett JM. 2007. *Begomovirus* ‘melting pot’ in the southwest Indian Ocean islands: molecular diversity and evolution through recombination. *Journal of General Virology*. 88(12):3458–3468. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.83252-0>.
- Li R, Salih S, Hurtt S. 2004. Detection of *Geminiviruses* in sweetpotato by polymerase chain reaction. *Plant Disease*. 88:1347–1351. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1347>.
- Marpaung NK, Sutrawati M, Novanda RR, Ganefianti DW, Pamekas T. 2022. Weeds associated with papaya plants (*Carica Papaya* L.) in Bengkulu. *Agritropica: Journal of Agricultural Science*. 5(2): 76–82. DOI: <https://doi.org/10.31186/jagritropica.5.2.76-82>.
- Meliansyah R, Hidayat SH, Mutaqin KH. 2011. *Geminiviruses* associated with the weed species *Ageratum conyzoides*, *Centipeda minima*, *Porophyllum ruderale*, and *Spilanthes iabadicensis* from Java, Indonesia. *Microbiology Indonesia*. 5(3): 120-124. DOI: <https://doi.org/10.5454/mi.5.3.4>.
- Regniere J, Powell J, Bentz B, Nealis V. 2012. Effects of temperature on development, survival and reproduction of insects: Experimental design, data analysis and modeling. *Journal of Insect Physiology*. 58(5):634–647. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.01.010>.
- Salati R, Nahkla MK, Rojas MR, Guzman P, Jaquez J, Maxwell D, Gilbertson RL. 2002. *Tomato yellow leaf curl virus* in the Dominican Republic: characterization of an infectious clone, virus monitoring in whiteflies and identification of reservoir hosts. *Phytopathology*. 92(5):487–496. DOI: <https://doi.org/10.1094/phyto.2002.92.5.487>.
- Shahid MS, Yoshida S, Khatri-Chhetri GB, Briddon RW, Natsuaki KT. 2013. Complete nucleotide sequence of a monopartite *Begomovirus* and associated satellites infecting *Carica papaya* in Nepal. *Virus Genes*. 46:581–584. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11262-013-0888-0>.
- Sutrawati M, Parwito, Priyatiningih, Zarkani A, Sipriyadi, Sariasih Y, Ganefianti DW. 2021. First report of *Begomovirus* infection on papaya in Bengkulu, Indonesia. *Jurnal Hama dan Penyakit Tropika*. 21(1): 49–55. DOI: <https://doi.org/10.23960/jhptt.12149-55>.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12):2725–2729. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.