

Deteksi Serologi *Squash Mosaic Virus* (SqMV) Pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.) Dengan Metode ELISA

Heni Setianah^{1*}, Ika Afifah Nugraheni¹ dan Alfa Fitri Amalia Hilal²

¹Progam Studi S1-Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

²Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta

*Email: henisetianah997@gmail.com

Abstrak

Keywords:

Melon; Squash mosaic virus (SqMV); ELISA

Latar Belakang : Squash mosaic virus (SqMV) adalah salah satu patogen tanaman yang banyak menginfeksi tanaman family Cucurbitaceae salah satunya tanaman Melon. Di Indonesia SqMV tersebar di wilayah Pulau Jawa dan menginfeksi tanaman hingga 100%. **Tujuan :** untuk mendeteksi SqMV pada daun melon yang bergejala dengan metode DAS-ELISA. **Metode :** Pengambilan sampel daun melon yang bergejala SqMV dilakukan di tiga lokasi di Kabupaten Kulon Progo yaitu Kecamatan Pengasih, Sentolo dan Galur. Daun melon yang bergejala di deteksi menggunakan DAS-ELISA reagen set dari Agdia. **Hasil :** Berdasarkan hasil deteksi serologi dengan DAS-ELISA pada daun melon menunjukkan hasil negatif atau tidak terdeteksi adanya SqMV pada sampel daun melon yang berasal dari kecamatan Pengasih, Galur dan Sentolo yang ditandai dengan perubahan warna pada sampel serta nilai absorbansi ELISA.

1. PENDAHULUAN

Melon (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman hortikultura yang tergolong dalam family Cucurbitaceae dan memiliki nilai ekonomi cukup tinggi serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman hortikultura di Indonesia. Produksi melon di Indonesia pada tahun 2014 mencapai 150.347 ton dengan produktivitas 18,40 ton/ha. Namun, pada tahun 2015 produksi melon menurun hingga mencapai 19,207 ton, dengan produktivitas 16,63 ton/ha (1). Penurunan produksi melon disebabkan adanya serangan penyakit mosaik hijau kuning pada melon.

Penyakit mosaik hijau kuning pada melon disebabkan oleh *Squash Mosaic Virus* (SqMV). SqMV termasuk dalam genus Comovirus. SqMV bersifat tular benih dan melalui perantara vektor berupa kumbang yang berasal dari famili

Chrysomelidae dan Coccinelidae. Gejala infeksi penyakit yang disebabkan oleh SqMV pada tanaman melon berupa mosaik hijau kuning dan hijau tua disekitar tulang daun, daun menjadi kaku dan berkerut, penyempitan diameter daun dan tanaman menjadi kerdil. Gejala lanjut SqMV berupa mosaik disertai dengan malformasi bentuk daun dan buah serta penurunan produksi tanaman (9).

Berdasarkan Permentan No. 31 Tahun 2018 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina (OPTK) SqMV ditetapkan sebagai OPTK golongan A2 dan persebarannya masih terbatas di wilayah Pulau Jawa (6). Penelitian mengenai persebaran SqMV pada tanaman hortikultura sudah banyak dilakukan, Lestari dan Nurhayati (2014) menyatakan bahwa SqMV telah menginfeksi benih mentimun sebanyak 100% (3). Penelitian

lainnya juga dilakukan oleh Purba *et al.*, (2017), pada 5 varietas mentimun di Bogor telah terinfeksi SqMV sebanyak 100% (7). Beberapa faktor yang mendukung terjadinya persebaran penyakit pada suatu wilayah yaitu adanya perubahan iklim, teknik budidaya tanaman, dan lalu lintas bahan tanaman antar wilayah (2).

Upaya awal untuk mencegah masuk dan tersebarnya SqMV disuatu wilayah terutama di Yogyakarta yaitu dengan melakukan pemantauan daerah sebar OPTK. Pemantauan daerah sebar OPTK dilakukan untuk mengetahui penyebaran penyakit yang ada disuatu wilayah yang dilakukan oleh Badan Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta. Salah satu target pemantauan OPTK BKP Kelas II Yogyakarta yaitu mengenai keberadaan penyakit mosaik yang disebabkan oleh SqMV yang menyerang hampir diseluruh pertanaman melon.

Deteksi awal mengenai keberadaan SqMV pada tanaman melon sangat penting untuk mencegah masuk dan tersebarnya virus ini melalui media pembawa buah segar maupun benih. Metode yang digunakan untuk mendeteksi SqMV di BKP Kelas II Yogyakarta yaitu menggunakan ELISA. Metode ELISA sering digunakan untuk mendeteksi virus penyebab penyakit pada tanaman karena lebih sederhana dan pengujian dalam skala besar lebih efektif. Metode ELISA dapat mendeteksi patogen pada konsentrasi rendah, penggunaan antibodi dalam jumlah sedikit, dan pengujian dapat dilakukan pada sampel dalam jumlah besar (4).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan SqMV penyebab penyakit mosaik hijau kuning pada tanaman melon menggunakan DAS-ELISA.

2. METODE

2.1 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 22 April 2019 hingga 11 Mei 2019. Penelitian ini dilakukan di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain, mikroplate, ELISA reader, mikropipet washer, timbangan digital, mikropipet, mikrotip, mikrotube, humid box, vortex, mortar, paper towel, kain hitam, mashbag, erlenmeyer, petridish, refrigerator dan rak mikrotube.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, sampel tanaman melon 3C,11B dan 19B, Reagen Kit Agdia spesifik SqMV (kontrol positif, kontrol negatif, carbonate coating buffer, PBST coating buffer, ECI buffer, PNP substrat buffer, general extract buffer (GEB), capture antibody, alkaline phosphate enzim conjugate dan PNP substrat tablet).

2.3 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan oleh petugas BKP Kelas II Yogyakarta di sentra perkebunan melon yang terletak di 3 lokasi Kabupaten Kulon Progo yaitu Kecamatan Sentolo, Pengasih dan Galur. Dari setiap Kecamatan kemudian dipilih satu lokasi perkebunan melon menggunakan metode *purposive sampling* berdasarkan gejala khas penyakit (SqMV) seperti gejala pada daun melon berupa mosaik hijau kuning, keriting, penebalan daun, dan penyempitan diameter daun.

Daun yang bergejala SqMV selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Setelah sampel daun melon dikeringanginkan kemudian dimasukkan ke dalam mashbag dan diberi kode sampel yang selanjutnya dibawa ke Laboratorium Viro-serologi BKP Kelas II Yogyakarta untuk dilakukan pengujian ELISA.

2.4 Deteksi SqMV dengan ELISA

Deteksi SqMV pada daun melon yang bergejala khas SqMV menggunakan metode serologi yaitu *Double Antibody Sandwich* (DAS-ELISA) dengan menggunakan antiserum spesifik SqMV. Pengujian DAS-ELISA menggunakan kit Agdia Alkaline Phosphatase spesifik pada penyakit SqMV. Adapun langkah pengujian sampel daun melon adalah humid box disiapkan dengan menyiapkan kotak tertutup yang diisi dengan tisu towel

yang telah dilembabkan dengan aquades. Setelah *humid box* disiapkan, kemudian membuat peta pengujian ELISA untuk menentukan dimana letak sumuran untuk kontrol positif, kontrol negatif, buffer dan sampel.

Tahap-tahap dalam pengujian ELISA yaitu, *Coating antibody* : *Carbonate coating buffer* sebanyak 12,5 µl dicampurkan dengan 1.250 µl konsentrasi *capture antibody*. Mikroplate dilapisi dengan *Coating antibody* sebanyak 100 µl sesuai peta pengujian kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Setelah diinkubasi, mikroplate di cuci menggunakan PBST sebanyak 3 kali dan ditepuk-tepukkan pada *tisu towel*. Sebanyak 3 sampel daun melon digerus dengan perbandingan 1:10 untuk 1 sampel daun melon digerus dalam 10 ml *general extrac buffer* (GEB). *Coating sampel*, kontrol positif, kontrol negatif dan buffer GEB sesuai dengan peta pengujian kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah mikroplate diinkubasi, kemudian mikroplate di cuci menggunakan PBST sebanyak 8 kali dan ditepuk-tepukkan pada *tisu towel*.

Buffer ECM sebanyak 12,5 µl dicampurkan dengan 1.250 µl konsentrasi *alkaline phosphatase enzyme conjugate*. *Coating enzyme conjugate* sebanyak 100 µl sesuai peta pengujian kemudian mikroplate diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah mikroplate diinkubasi, kemudian mikroplate di cuci menggunakan PBST sebanyak 9 kali. Persiapan PNP: Tablet PNP dilarutkan dengan PNP substrat buffer 1x. Kemudian *coating* PNP dalam sumuran mikroplate

sesuai dengan peta pengujian dan diinkubasi dalam *humid box* selama 1 jam pada suhu ruang dan dalam keadaan gelap.

Pembacaan dan analisis hasil pengujian menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm. Penentuan serum positif dan negatif berdasarkan nilai OD hasil ELISA yang ditentukan dengan menghitung nilai ambang (*cut off*). Nilai *cut off* ELISA dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (5) :

$$\text{Cut off} = \text{rata-rata OD Serum Negatif} + (2 \times \text{SD})$$

Keterangan :

OD : *Optical Density* (Kerapatan optik)

SD : *Standar Density*

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Gejala Penyakit pada Daun Melon

Hasil pengamatan pada daun melon menunjukkan adanya gejala penyakit yang menyerang daun melon. Gejala infeksi pada 3 tanaman melon yang berasal dari lokasi berbeda menunjukkan adanya gejala yang bervariasi pada daun melon berupa mosaik hijau kuning dengan hijau tua lebih banyak berada di sekitar tulang daun, daun menjadi kaku dan berkerut, mengalami penyempitan ukuran daun, dan tanaman menjadi kerdil (Gambar 1). Pada sampel daun melon di Desa Pengasih (Gambar A) menunjukkan adanya gejala pada daun berupa mosaik hijau kuning dan hijau tua pada lamina daun, pelepuhan daun, ujung daun yang mengeriting, penebalan daun dan tulang daun, serta penyempitan diameter daun.



Gambar 1. Gejala pada tanaman melon di tiga kecamatan Kabupaten Kulon Progo menunjukkan adanya gejala SqMV: Pengasih-Pengasih (A), Sukoreno-Sentolo (B) dan Banaran-Galur (C).

Namun berbeda dengan gejala pada sampel daun melon di Desa Sukoreno (Gambar B) yaitu berupa mosaik hijau kuning pada lamina daun disertai penebalan daun, mengalami klorosis, pelepahan pada daun dan penyempitan diameter daun, sedangkan pada daun melon di Desa Banaran (Gambar C) memiliki kemiripan gejala dengan daun melon dari Desa Sukoreno berupa mosaik kuning hijau, klorosis, dan penebalan daun.

Variasi gejala yang ditemukan pada daun melon dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain infeksi lebih dari satu jenis virus (infeksi campuran), vektor pembawa infeksi dan faktor lingkungan seperti tingkat kesuburan tanah, umur tanaman, suhu, kelembaban dan curah hujan. Adanya infeksi campuran pada tanaman menyebabkan gejala yang lebih parah dibandingkan infeksi virus tunggal. Infeksi campuran juga di dipengaruhi oleh jenis dan umur tanaman (10). Variasi gejala pada daun melon muncul sebagai respon tanaman yang dipengaruhi oleh kerentanan setiap varietas terhadap virus maupun serangga vektornya.

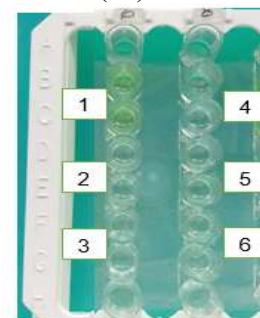
Penyebaran dan penularan SqMV dapat melalui serangga vektor secara non persisten, Transmisi SqMV oleh serangga secara nonpersisten terjadi ketika periode makan. Serangga vektor akan mengkonsumsi tanaman terinfeksi, kemudian virus akan menempel pada alat mulut serangga lalu menyebar ketika serangga makan tanaman lain yang belum terinfeksi. Beberapa vektor yang dapat mentransmisikan SqMV pada tanaman lain adalah jenis kumbang yang termasuk dalam Family Chrysomellidae yakni *Acalymma trivittata*, *A thiemei*, *Diabrotica undecimpunctata*, dan *D. bivittula* serta kumbang yang termasuk dalam Family Coccinellidae yaitu *Epilachna chrysomelina* dan *E. Paenulata* (8).

SqMV juga dapat ditransmisikan melalui benih tanaman. Keberadaan SqMV pada melon terdapat pada kulit biji, integumen, dan embrio. SqMV dapat menginfeksi benih melalui jalur infeksi

sistemik virus pada seluruh jaringan tanaman hingga ke bagian reproduksi tanaman seperti tepung sari dan ovul. Pembentukan biji pada gamet yang terinfeksi SqMV akan menghasilkan benih yang mengandung SqMV. SqMV akan bertahan pada embrio benih (8).

3.2. Deteksi SqMV dengan DAS-ELISA

Metode deteksi penyakit pada tanaman Holtikultura di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta sering menggunakan metode ELISA karena memiliki beberapa keunggulan yaitu sederhana, murah, dan tidak memerlukan peralatan yang mahal. Deteksi menggunakan ELISA juga tidak perlu melakukan proses isolasi patogen (12). Prinsip dasar ELISA yaitu adanya reaksi antara antigen (Ag) dengan antibodi (Ab) menjadi molekul Ag-Ab yang lebih besar dan mudah mengendap. Pengamatan hasil reaksi pada ELISA berdasarkan pada perubahan warna yang terjadi pada substrat pereaksi sesuai dengan label atau imunoprob (*immunoprobe*) konjugat Ab-enzim. Perubahan warna terjadi akibat hidrolisa enzimatis pada reaksi antara konjugat Ab-enzim dengan substratnya, sehingga hasil ELISA lebih peka dan dapat dikuantifikasi (11).



Gambar 2. DAS-ELISA pada sampel daun melon : (1) Kontrol positif, (2) Buffer, (3) sampel melon 3C Pengasih, (4) sampel melon 11B Sukoreno, (5) sampel melon 19B Banaran, dan (6) kontrol negatif.

Hasil uji serologi DAS-ELISA menunjukkan bahwa sampel daun melon yang berasal dari 3 lokasi di Kabupaten Kulon Progo yaitu Desa Pengasih, Desa Sukoreno dan Desa Banaran

Tabel 1. Hasil deteksi dengan DAS-ELISA dari beberapa lokasi di Kabupaten Kulon Progo DIY.

Komoditas	Lokasi	Kode	Nilai rata-rata ELISA	Hasil	Keterangan (+/-)
Melon	Pengasih	3C	0,134	0,134 < 0,471	-
	Sukoreno	11B	0,132	0,132 < 0,471	-
	Banaran	19B	0,137	0,137 < 0,471	-

Menunjukkan hasil yang negatif atau tidak terinfeksi SqMV. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada sampel uji dan buffer (Gambar 2).

Hasil pengujian serologi DAS-ELISA menunjukkan bahwa sampel daun melon yang berasal dari 3 lokasi di kabupaten Kulon Progo, yaitu Pengasih, Banaran dan Sukoreno memiliki gejala yang hampir sama dengan gejala yang disebabkan oleh SqMV pada melon. Berdasarkan deteksi keberadaan SqMV pada daun melon menggunakan DAS –ELISA menunjukkan bahwa sampel daun melon yang berasal dari 3 lokasi di Kabupaten kulon progo tidak terdeteksi adanya keberadaan SqMV pada daun melon. Sampel daun melon dari Desa Pengasih memiliki nilai absorbansi dengan rata-rata sebesar 0,134, sampel melon Sukoreno memiliki nilai absorbansi dengan rata-rata sebesar 0,132 dan sampel melon Banaran memiliki nilai absorbansi dengan rata-rata sebesar 0,137 (Tabel 1).

Hasil deteksi menggunakan DAS-ELISA pada sampel melon menunjukkan hasil negatif atau tidak terinfeksi SqMV. Hal tersebut ditunjukkan pada hasil nilai absorbansi masing-masing sampel. Berdasarkan pedoman diagnosis OPTK golongan virus tahun 2009 bahwa sampel dikatakan positif apabila nilai sampel lebih dari 2 kali rata-rata nilai kontrol negatif. Nilai 2 kali rata-rata kontrol negatif dihitung berdasarkan nilai OD hasil ELISA yang ditentukan dengan menghitung nilai ambang (*cut*

off) kontrol negatif yaitu sebesar 0,471. Hal tersebut membuktikan bahwa sampel daun melon yang berasal dari daerah Pengasih, Banaran dan Sukoreno pada pengujian ini dikatakan negatif atau tidak terinfeksi SqMV yang ditunjukkan dengan rata-rata dari nilai absorbansi pada masing-masing sampel lebih kecil dibandingkan nilai kontrol negatif.

Hasil negatif pada sampel melon menunjukkan kemungkinan adanya penyakit lain yang menginfeksi tanaman melon serta target yang digunakan untuk mendeteksi penyakit pada melon tidak tepat sehingga perlu dilakukan pengujian ELISA dengan target penyakit yang berbeda. Selain penyakit yang disebabkan SqMV, terdapat beberapa virus lain yang dapat berasosiasi dan menimbulkan gejala mosaik yang sama pada melon diantaranya *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), dan *Tobacco ringspot virus* (TRSV) (9).

4. KESIMPULAN

Deteksi SqMV menggunakan ELISA pada tanaman melon yang menunjukkan adanya variasi gejala pada daun seperti mosaik, klorosis, penyempitan diameter daun, penebalan daun dan ujung daun keriting tidak terdeteksi adanya infeksi SqMV pada tanaman melon atau negatif terinfeksi SqMV.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh personal di pusat Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta atas bimbingan dalam melakukan pengujian serta fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

1. Direktorat Jendral Hortikultura. Statistik produksi hortikultura Tahun 2014. 2015; Kementrian Pertanian RI.
2. Hanssen IM, Lapidot M, and Thomma BPHJ. Emerging viral diseases of tomato crops. *Mol. Plant-Mic. Interac.* 2010; 23(5):539-548.
3. Lestari SME dan Nurhayati. Efisiensi tular benih *Squash mosaic virus* pada *Cucurbitaceae*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia.* 2014;10(3): 81-86.
4. Madeali MI dan Nurhidayah. Kit *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* untuk deteksi WSSV pada udang. *Jurnal Riset Akuakultur.* 2011; 6(1): 131-137.
5. Mufidah T, Wibowo H, dan Subekti DT. Pengembangan metode ELISA dan teknik deteksi cepat dengan imunostik terhadap antibodi anti *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinid carpio*). *Jurnal Riset Akuakultur.* 2015;10 (4): 553-565.
6. Peraturan Menteri Pertanian. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 31/PERMENTAN/KR.010/7/2018 Tentang perubahan kedua atas peraturan menteri pertanian nomor 93/PERMENTAN/OT .140/12/2011 tentang Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina; 2018.
7. Purba ER, Susanti ML dan Yudia N. Deteksi *Squash Mosaic Virus* pada lima varietas mentimun (*Cucumis sativus* L.). *Jurnal Holtikultura Indonesia.* 2017; 8(2):104-110.
8. Purba ERD. Pengaruh infeksi *Squash Mosaic Comovirus* terhadap perkembangan penyakit mosaik pada lima varietas mentimun (*Cucumis sativus* L.). *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor; 2011.
9. Sari EP. Kisaran inang *Squash Mosaic Comovirus* isolat oyong (*Luffa Acutangula* L. Roxb). *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor; 2014.
10. Septiarini DN, Sri HH dan Endang N. Identifikasi penyebab daun keriting kuning pada tanaman mentimun. *Jurnal HPT Tropika.* 2014; 14 (1):80-86).
11. Suryadi Y, Ifa M dan Mahmud M. Potensi pemanfaatan perangkat diagnostik ELISA serta variannya untuk deteksi patogen tanaman. *Jurnal Agrobiogen.* 2009; 5(1):39-48.
12. Windari U, Joko T, Subandiyah S. Deteksi penyakit *Bacterial Fruitch Blotch* pada melon menggunakan ELISA. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia.* 2015;19(1):1-5.