

IDENTIFIKASI MOLEKULER VIRUS PENYEBAB MOSAIK PADA SEMBILAN VARIETAS TEBU

MOLECULAR IDENTIFICATION OF MOSAIC-CAUSING VIRUS IN NINE SUGARCANE VARIETIES

Dewi Rahmitasari^{1)*}, Susanto Somowiyarjo²⁾, & Sedyo Hartono²⁾

¹⁾Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan (BBPPTP) Surabaya
Jln. Raya Mojoagung No. 52, Mojoagung, Jombang, Jawa Timur 61482

²⁾Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi: Email: d.rahmitasari@gmail.com

ABSTRACT

Sugarcane (Saccharum officinarum L.) is very important commodity in Indonesia because of its economical value as a sugar producing plant. One of the disease in sugarcane cultivation which have to be treated is mosaic symptoms because of its potency in reducing sugar yield. Mosaic symptoms might be caused by some viruses, therefore virus identification is required to find the virus that has caused the sugarcane disease in all of sugarcane field which can be found in East Java as working area of Seeding and Protection Center for Estate Crops Surabaya. This laboratory had an authority to certify the shoot to be distributed. This research aimed to find out the virus that caused the mosaic symptoms from nine sugarcane varieties and to obtain information about the most suitable identification method for shoot health test in Seeding and Protection Center for Estate Crops Surabaya. The first method of this research were the sugarcane leaf with mosaic sampling from nine varieties: VMC 7616, PSJK 922, Kidang Kencana, and Tolangohula 2 (Jombang); PS 881 and PS 862 (Pasuruan); Bululawang, PS 864, dan PSBM 901 (Kediri). The next experiments were conducted in the Laboratory of Phytopathology, Faculty of Agriculture, Universitas Gadjah Mada. RNA was isolated from the sample and continued with RT-PCR technique, sequencing and bioinformatic analysis. Primers which was used in this research were MJ1-MJ2 and SCSMV cpF – SCSMV AP3. The result showed that mosaic symptoms of eight sugarcane varieties was caused by two species of virus: SCMV (Sugarcane mosaic virus) found in PS 881 and SCSMV (Sugarcane streak mosaic virus) found in seven another varieties. Sequencing analysis showed that SCMV isolate found in PS 881 was known to have a high nucleotide homology (93.6%) and related to the isolate from Kenya (KT630805.1), while the SCSMV had a high homology (96.9%–98.5%) and related to SCSMV isolate from Indonesia (AB563503.1) and Pakistan (GQ388116.1).

Keywords: Potyvirus, SCMV, SCSMV, sugarcane virus

INTISARI

Tebu (*Saccharum officinarum L.*) merupakan tanaman penting di Indonesia. Salah satu penyakit yang perlu diwaspadai pada tanaman tebu adalah penyakit mosaik karena potensinya dalam menurunkan produktivitas tebu sehingga perlu dilakukan identifikasi virus penyebab mosaik pada tanaman tebu. BBPPTP Surabaya sebagai instansi yang melaksanakan sertifikasi pada bibit tebu perlu mengetahui metode identifikasi virus penyebab mosaik sebagai dasar dalam pengujian kesehatan benih untuk mendukung tersedianya bibit tebu yang sehat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui virus penyebab mosaik pada sembilan varietas tanaman tebu dan mengetahui metode identifikasi virus pada tanaman yang cepat dan akurat untuk pengujian kesehatan benih. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitopatologi, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Penelitian dilakukan dengan mengambil sampel daun tanaman tebu pada sembilan varietas yang diambil dari tiga lokasi berbeda yaitu VMC 7616, PSJK 922, Kidang Kencana, dan Tolangohula 2 (Jombang); PS 881 dan PS 862 (Pasuruan); Bululawang, PS 864, dan PSBM 901 (Kediri). Sampel diisolasi ss-RNA dilanjutkan dengan teknik RT-PCR (*Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction*), sekuensing dan analisis bioinformatika. Primer yang digunakan dalam penelitian ada dua yaitu MJ1-MJ2 untuk target sekuen dari SCMV dan SCSMV cpF-SCSMV AP3 untuk target sekuen dari SCSMV. Hasil penelitian ditemukan bahwa gejala mosaik yang ditimbulkan pada 8 (delapan) sampel varietas tebu disebabkan oleh 2 (dua) jenis virus penyebab mosaik yaitu SCMV (*Sugarcane mosaic virus*) yang ditemukan pada varietas PS 881 dan SCSMV (*Sugarcane streak mosaic virus*) yang ditemukan pada 7 (tujuh) varietas lain. Analisis sekuensing menunjukkan bahwa SCMV yang ditemukan pada varietas PS 881 memiliki homologi nukleotida (93,6%) dan kekerabatan terdekat dengan isolat di Kenya (KT630805.1). SCSMV hasil penelitian ini dikatakan mempunyai homologi (96,9%–98,5%) dan kekerabatan tertinggi dengan isolat SCSMV asal Indonesia (AB563503.1) dan Pakistan (GQ388116.1).

Kata kunci: *Potyvirus, SCMV, SCSMV, virus tebu*

PENGANTAR

Salah satu penyakit sistemik yang tersebar luas pada tanaman tebu adalah penyakit mosaik. Handojo *et al* (1978) menyebutkan bahwa apabila persentase infeksi pada tebu POJ 3016 lebih dari 50%, virus mosaik strain Kebonagung dapat menimbulkan kerugian secara nyata yaitu terjadi penurunan produksi gula sebesar 10–22%. Identifikasi virus penyebab mosaik pada tanaman tebu perlu dilakukan sebagai sarana pendukung upaya penyediaan benih sehat yang terbebas dari virus penyebab mosaik. Damayanti dan Putra (2011) melaporkan sebanyak 59 perkebunan tebu di Jawa Tengah dan Jawa Timur - Indonesia telah terserang *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) sehingga dengan adanya pengujian kesehatan benih yang akan diedarkan BBPPTP Surabaya, diharapkan dapat mencegah persebarannya.

BBPPTP (Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan) Surabaya mempunyai andil dalam penyediaan benih tebu yang bermutu dan bebas penyakit. Melalui Pengawas Benih Tanaman (PBT) yang dimiliki, BBPPTP Surabaya melakukan pengujian mutu standar benih yang meliputi Pengujian Kadar Air, Kemurnian Fisik, dan Daya Kecambah. Menurut Peraturan Menteri PAN Nomor 09 Tahun 2012 pengujian kesehatan benih menjadi tugas dari PBT di BBPPTP Surabaya untuk memastikan bahwa benih-benih yang diedarkan oleh produsen benih terbebas dari penyakit terbawa benih.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui secara molekuler virus penyebab mosaik pada sembilan varietas tanaman tebu dan hubungan kekerabatannya dengan isolat lain di dunia serta mengetahui metode deteksi virus yang cepat dan tepat untuk pengujian kesehatan benih oleh PBT di wilayah kerja BBPPTP Surabaya.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel berupa daun tanaman tebu yang terserang virus mosaik yang diperoleh dari Pasuruan (varietas PS 881, PS 862), Jombang (varietas VMC 76-16, Tolangohula 2, Kidang Kencana, PSJK 922) dan Kediri (varietas Bululawang, PS 864, PSBM 901).

Isolasi RNA Virus Tanaman Tebu Bergejala Mosaik

Isolasi RNA dilakukan dari 0,1 g sampel daun sakit menggunakan kit komersial RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA). Prosedur isolasi mengikuti panduan dari produsen kit. RNA yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C.

Identifikasi Molekuler Potyvirus dan SCSMV dengan metode RT-PCR

Digunakan dua macam primer yang mampu mengamplifikasi gen pengkode *coat protein* *Potyvirus* dan SCSMV. Deteksi anggota genus *Potyvirus* digunakan primer umum yang didesain oleh Marie-Jeanne *et al.* (2000) yaitu MJ1 dan MJ2 dengan urutan basa 5'-ATGGTHTGGTGYATHGARAAYGG-3' (MJ1) dan 5'-TGCTGCKGCTTTCATYTG-3' (MJ2). Untuk deteksi SCSMV digunakan primer SCSMV cpF (Damayanti & Putra, 2011) dan SCSMV AP3 (Hema *et al.*, 2003) yang didesain untuk mengamplifikasi sebagian fragmen dari *coat protein* (CP) dan ujung 3' gen. Urutan basa kedua primer tersebut adalah 5'-GTGGGTTTCAGTTCTCGGTTTC-3' (SCSMV cpF) dan 5'-TTTTTTCCTCCTCACGGGGCAGGTTGATTG-3' (SCSMV AP3). RNA total selanjutnya disintesis menjadi cDNA dengan menggunakan RT-PCR kit *RevertAid First Strand cDNA Synthesis* (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) mengikuti protokol dari produsen kit tersebut. RT-PCR dilakukan pada mesin PCR dengan program inkubasi pada suhu 65° selama 5 menit dilanjutkan suhu 42°C selama 60 menit dan 70° C selama 5 menit.

Sediaan cDNA selanjutnya digunakan pada proses PCR untuk menggandakan sekuen DNA virus yang menjadi target dengan menggunakan primer (IDT, Singapore) dan kit PCR Biotaq™ Taq Polymerase (Bioline, UK) dengan komposisi reagen sesuai dengan rekomendasi pembuat enzim *Taq Polymerase* (Bioline, UK). Siklus PCR yang dilakukan adalah pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 55°C selama 30 detik, ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit dan ekstensi akhir pada suhu 72° C selama 5 menit.

DNA hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarosa 1.5% yang dilarutkan dalam 1 x Tris-boric EDTA (TBE) pada tegangan 100 Volt selama 25 menit. Gel agarosa kemudian direndam pada larutan etidium bromida (EtBr) selama 15 menit, divisualisasi dengan UV transiluminator dan didokumentasikan dengan kamera digital. Sampel dengan hasil positif dikirim ke First Base Malaysia melalui PT. Genetika Science Jakarta untuk dilakukan perunutan nukleotida. Hasil perunutan dianalisis bioinformatika menggunakan *software* BioEdit dan Mega5.2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel

Secara visual, sembilan sampel yang dikoleksi menunjukkan gejala mosaik dengan pola yang sama yaitu berupa garis memanjang pada bidang daun

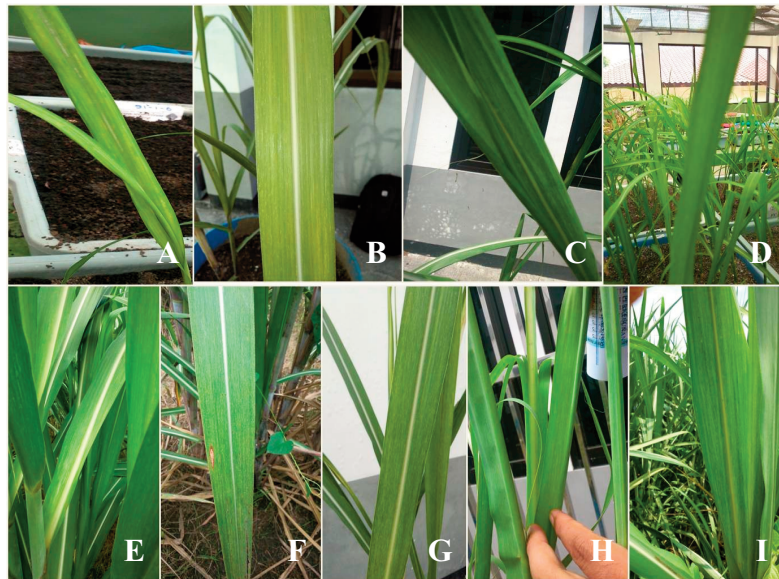
tebu yang membentuk area klorotik dan akan lebih terlihat dengan jelas apabila diterawang pada cahaya (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan penjelasan dari Kokie dan Gillaspie (1989) bahwa gejala umum dari mosaik adalah pola memanjang searah daun yang membentuk warna hijau pucat atau bahkan kuning dan kontras dengan latar belakang warna hijau daun normal. Setelah inokulasi virus akan tersebar ke seluruh bagian tanaman, akan tetapi gejala mosaik yang ditimbulkan hanya akan muncul pada daun muda dan daun yang sedang berkembang ketika terjadinya infeksi.

Pengamatan gejala dapat digunakan untuk mendeteksi terjadinya penyakit pada tanaman. Akan tetapi pengamatan melalui gejala memiliki keterbatasan ketika gejala yang sama disebabkan oleh lebih dari satu mikroorganisme sehingga kita tidak dapat mengetahui secara pasti jenis mikroorganisme

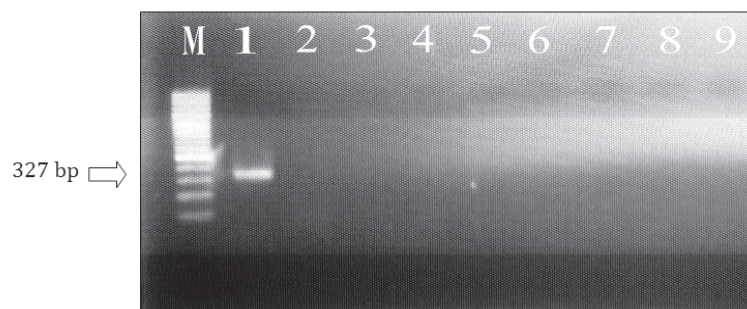
penyebab penyakit. Oleh karena itu, dibutuhkan metode lain yang lebih akurat dan cepat dalam identifikasi penyebab penyakit pada tanaman.

Identifikasi Virus Penyebab Mosaik secara Molekuler

Potyvirus. PCR dengan menggunakan primer MJ1 dan MJ2 menunjukkan hasil positif hanya pada sampel nomor 1 yaitu varietas PS 881 yang menunjukkan pita dengan ukuran 327 bp pada pengamatan dibawah UV transluminator (Gambar 2). Pasangan primer pada deteksi *Potyvirus* dipilih karena mengamplifikasi fragmen pendek DNA target sehingga akan memberikan kemungkinan amplifikasi yang tinggi pada pengujian pendahuluan (Grisoni *et al.*, 2006). Menurut Ha *et al.* (2007) penggunaan primer umum selain akan mempercepat proses deteksi juga memungkinkan untuk perunutan nukleotida sebagian genom untuk tujuan taksonomi.



Gambar 1. Gejala mosaik pada tanaman tebu: varietas PS 881 (A), varietas VMC 7616 (B), varietas PSJK 922 (C), varietas PS 862 (D), varietas PS 864 (E), varietas Bululawang (F), varietas Tolangohula 2 (G), Kidang Kencana (H), varietas PSBM 901 (I)



Gambar 2. Hasil elektroforesis yang diperoleh dari proses PCR menggunakan primer MJ1 dan MJ2, diamati melalui UV transluminator: penanda 100 bp (M), varietas PS 881 (1), varietas VMC 7616 (2), varietas PSJK 922 (3), varietas PS 862 (4), varietas PS 864 (5), varietas Bululawang (6), varietas Tolangohula 2 (7), Kidang Kencana (8), varietas PSBM 901 (9)

Dari hasil analisis homologi diketahui bahwa penyebab mosaik pada sampel daun varietas PS 881 yang berasal dari Pasuruan adalah SCMV yang selanjutnya disebut dengan isolat SCMV-Jatim. Isolat SCMV-Jatim (PS 881) memiliki persentase kesamaan basa nukleotida paling tinggi dengan isolat SCMV_100 Kenya (KT630805.1) yaitu sebesar 93,6% (Tabel 1). Selanjutnya persentase kesamaan basa nukleotida semakin menurun terhadap isolat SCMV R1 Rwanda (KT44392.1), SCMV2 Kenya (KT630806.1), SCMV_94 Kenya (KT630800.1), dan SCMV_90 Kenya (KT630806.1).

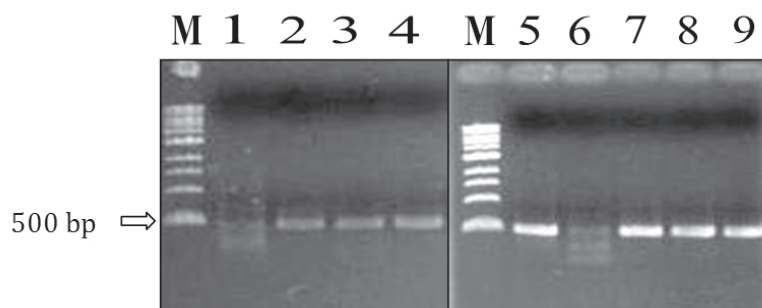
Hubungan kekerabatan SCMV-Jatim yang ditemukan pada PS 881 dengan isolat yang ada di *Gene Bank* dengan analisis filogenetik diketahui isolat SCMV pada PS 881 mempunyai kekerabatan yang paling tinggi dengan isolat SCMV 100 Kenya meskipun memiliki asal keturunan yang berbeda.

Sugarcane streak mosaic virus (SCSMV). Elektroforesis hasil PCR menggunakan primer SCSMV cpF dan SCSMV AP3 diperoleh hasil reaksi positif pada sampel nomor 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 dengan pita target sebesar 500 bp. Sementara sampel daun varietas PS 881 dari Pasuruan (nomor 1) dan sampel daun varietas Bululawang dari Kediri (nomor 6) negatif seperti ditunjukkan oleh Gambar 3.

Hal ini dapat diartikan bahwa varietas PS 881 dari Pasuruan hanya terinfeksi *Potyvirus* saja, sedangkan virus penyebab mosaik pada varietas Bululawang dari Kediri bukan merupakan virus dari genus *Potyvirus* dan bukan SCSMV.

Hasil deteksi ini membuktikan bahwa SCSMV tidak termasuk di dalam genus *Potyvirus*. Hal ini sesuai dengan informasi dari Adams dan Cartens (2012) yang menyatakan bahwa SCSMV telah dimasukkan ke dalam genus baru yaitu *Poacevirus* pada tahun 2009. Perbedaan yang dimiliki antara SCSMV dengan anggota *Potyvirus* adalah pada kurangnya reaktivitas dengan antibodi monoklonal Poty-1 yang bereaksi melawan virus dalam genus *Potyvirus* (Xu *et al.*, 2010) dan antiserum poliklonal melawan SCMV, *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) dan *Shorgum mosaic virus* (SrMV) (Jenson & Hall, 1993; Hema *et al.*, 2002). P1 protein *Potyvirus* dan *Rymovirus* menjadi salah satu perbedaan dengan protein P1 pada *Tritimovirus* dan *Poacevirus* pada kelompok filogeni (Rodamilans, Valli & Garcia, 2013 *cit.* Revers & Garcia, 2015).

Berdasarkan data pada *International Committee on Taxonomy of Viruses* (<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>) dapat diketahui bahwa *Poacevirus* menjadi anggota genus dari famili *Potyviridae* sejak



Gambar 3. Hasil elektroforesis yang diperoleh dari proses PCR menggunakan primer SCSMV CPF dan SCSMV AP3 diamati melalui UV transiluminator: penanda 1 kb (M), varietas PS 881 (1), varietas VMC 7616 (2), varietas PSJK 922 (3), varietas PS 862 (4), varietas PS 864 (5), varietas Bululawang (6), varietas Tolangohula 2 (7), Kidang Kencana (8), varietas PSBM 901 (9)

Tabel 1. Persentase kesamaan basa nukleotida pada isolat SCMV PS 881 dan beberapa isolat lain dari luar negeri melalui program BioEdit

	SCMV-Jatim (PS 881)	SCMV_100 (Kenya)	SCMV R1 (Rwanda)	SCMV2 (Kenya)	SCMV_94 (Kenya)	SCMV_90 (Kenya)
SCMV-Jatim (PS 881)	ID					
SCMV_100 (Kenya)	93,6	ID				
SCMV R1 (Rwanda)	93,3	99,6	ID			
SCMV2 (Kenya)	93,0	99,3	99,0	ID		
SCMV_94 (Kenya)	92,7	99,0	98,7	99,0	ID	
SCMV_90 (Kenya)	92,7	99,0	98,7	99,0	100,0	ID

tahun 2009 dan sejak tahun itu pula *Sugarcane streak mosaic virus* terdaftar sebagai spesies dalam genus *Poacevirus* bersama anggota spesies lain yaitu *Triticum mosaic virus* (Anonim, 2016). Genus –genus pada famili *Potyviriidae* ini telah dibedakan berdasarkan komposisi dan struktur genom, kemiripan sekuens dan organisme vektor yang bertanggung jawab atas transmisi virus dari tanaman ke tanaman (Adams *et al.*, 2011).

Analisis homologi menggunakan bioedit menunjukkan bahwa penyebab mosaik pada sampel nomor 2 (VMC 7616-Jombang), 3 (PSJK 922-Jombang), 4 (Kidang Kencana-Jombang), 5 (Tolangohula 2-Jombang), 7 (PS 862-Pasuruan), 8 (PS 864-Kediri), 9 (PSBM 901-Kediri) adalah *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) yang selanjutnya disebut dengan SCSMV-Jbg1 (VMC 7616), SCSMV-Jbg2 (PSJK 922), SCSMV-Jbg3 (Kidang Kencana), SCSMV-Jbg4 (Tolangohula2), SCSMV-Pas (PS 862), SCSMV-Ked1 (PS 864) dan SCSMV-Ked2 (PSBM 901). Semua isolat SCSMV dalam penelitian ini mempunyai kemiripan yang tinggi dengan isolat SCSMV CP- Indonesia (AB563503.1) seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Selain dengan SCSMV CP, kemiripan paling tinggi masing-masing isolat SCSMV dari ketujuh varietas tebu dapat dilihat pada Tabel 3.

Hubungan kekerabatan SCSMV yang ditemukan pada tujuh varietas dalam penelitian ini dengan isolat lain di dunia ditunjukkan pada Gambar 4. Seluruh isolat SCSMV hasil penelitian memiliki asal keturunan yang sama dengan SCSMV CP asal Indonesia, SCSMV PAK asal Pakistan, SCSMV IND671 asal India dan memiliki asal keturunan yang berbeda dengan SCSMV-THA-NP3 asal Thailand, SCSMV ID asal China dan SCSMV JP1 asal China.

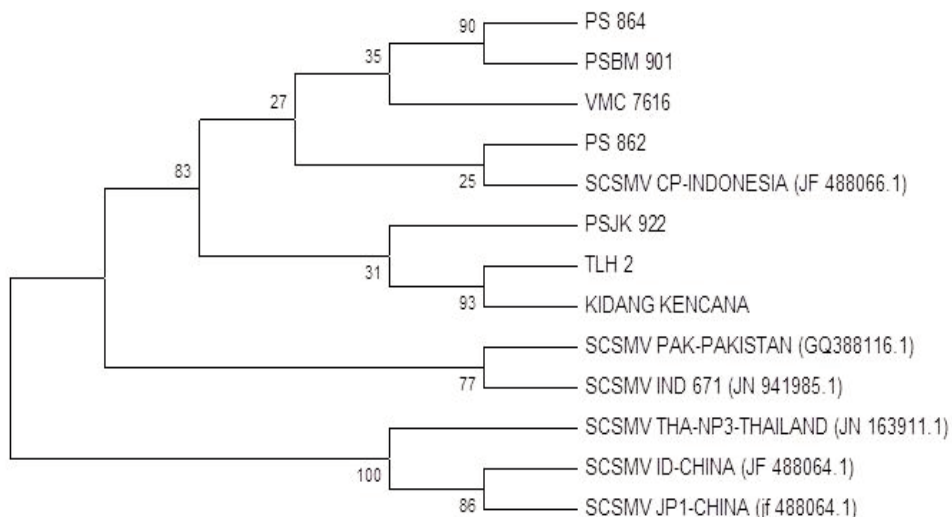
Hasil analisis filogenetik juga memberikan informasi bahwa isolat hasil penelitian yang berasal dari lokasi sama memiliki hubungan kekerabatan yang paling dekat (SCSMV Ked1 dengan SCSMV-Ked2; SCSMV-Jbg3 dengan SCSMV-Jbg4). Kedekatan kekerabatan pada isolat dengan lokasi yang sama kemungkinan disebabkan karena dalam satu lokasi yang sama, sumber bibit yang digunakan adalah sumber bibit yang sama dan membawa virus. Penularan virus secara vegetatif dari sumber bibit pembawa virus sangat mungkin terjadi baik di dalam satu lokasi atau bahkan pada lokasi yang berjarak jauh karena virus akan terbawa bibit yang diperbanyak secara vegetatif menggunakan alat pemotong. Hal ini telah dibuktikan dalam penelitian Putra dan Damayanti (2009) bahwa seperti halnya SCMV, SCSMV dapat ditularkan melalui bibit sakit dan secara mekanis melalui pisau pemotong. Penyebaran SCSMV yang sangat cepat di lapang dapat

Tabel 2. Persentase kesamaan basa nukleotida pada isolat SCSMV hasil penelitian ini dan beberapa isolat lain dari luar negeri melalui program BioEdit

	VMC 7616	PSJK 922	PS 862	PS 864	TLH 2	Kidang Kencana	PSBM 901	SCSMV-CP (INDONESIA)	SCSMV (PAKISTAN)	SCSMV-IND671(INDIA)	SCSMV-ID (CHINA)	SCSMV-THA-NP3 (THAILAND)	SCSMV JP1 (CHINA)
VMC 7616	95,9	97,1	96,9	96,9	96,7	96,7	96,9	97,5	96,7	95,9	93,3	92,3	92,7
PSJK 922	ID	96,9	ID	96,9	96,7	96,7	96,9	97,5	96,3	95,9	92,7	92,1	92,1
PS 862	97,1	96,9	ID	96,9	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
PS 864	96,9	95,9	96,9	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
TLH 2	96,7	96,5	98,1	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
Kidang Kencana	96,7	96,5	98,1	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
PSBM 901	96,9	95,9	96,5	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
SCSMV-CP (INDONESIA)	97,5	96,9	97,5	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
SCSMV (PAKISTAN)	96,7	96,3	96,9	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
SCSMV-IND671(INDIA)	95,9	95,9	96,1	ID	96,7	96,7	96,9	97,5	96,9	96,1	93,3	93,3	93,3
SCSMV-ID (CHINA)	93,3	92,7	93,5	ID	93,9	93,7	93,5	94,5	96,7	97,3	94,7	94,9	94,9
SCSMV-THA-NP3 (THAILAND)	92,3	92,1	93,3	ID	93,7	93,5	93,5	93,5	94,5	94,7	95,1	94,3	94,3
SCSMV JP1 (CHINA)	92,7	92,1	93,3	ID	93,7	93,5	93,9	93,9	94,5	94,7	95,1	94,3	94,3

Tabel 3. Hasil analisis homologi basa nukleotida

No.	Isolat SCSMV penelitian	Homologi tertinggi	
		Sampel Penelitian	Isolat NCBI
1.	SCSMV-Jbg1 (VMC 7616)	SCSMV-Pas (PS 862)	-SCSMV CP-Indonesia (AB 563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
2.	SCSMV-Jbg2 (PSJK 922)	SCSMV-Pas (PS 862)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
3.	SCSMV-Pas (PS 862)	SCSMV-Jbg3 (Kidang Kencana)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
4.	SCSMV-Ked1 (PS 864)	SCSMV-Ked2 (PSBM 901)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
5.	SCSMV-Jbg4 (TLH 2)	SCSMV-Jbg (Kidang Kencana)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
6.	SCSMV-Jbg3 (Kidang Kencana)	SCSMV-Jbg4 (TLH 2)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)
7.	SCSMV-Ked2 (PSBM 901)	SCSMV-Ked1 (PS 864)	-SCSMV CP-Indonesia (AB563503.1) -SCSMV PAK-Pakistan (GQ388116.1)

Gambar 4. Hubungan kekerabatan molekuler isolat SCSMV dari hasil penelitian dengan beberapa isolat dari luar negeri menggunakan analisis *Construct Neighbour-Joining Tree* program MEGA5.2

disebabkan oleh bibit sakit dan penggunaan pisau potong yang terkontaminasi virus pada saat persiapan tanam dan panen.

KESIMPULAN

Penyebab gejala mosaik pada delapan varietas tanaman tebu diantaranya adalah SCMV dan SCSMV. Isolat SCMV_Jatim memiliki kekerabatan sangat dekat dengan isolat SCMV asal Kenya (KT630805.1), sementara SCSMV yang ditemukan pada tujuh varietas memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan SCSMV asal Indonesia (AB563503.1) dan Pakistan (GQ388116.1). Metode deteksi berdasar-

kan asam nukleat secara cepat dan tepat pada penelitian ini dapat digunakan sebagai pilihan dalam pengujian kesehatan benih di BBPPTP Surabaya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini disusun berdasarkan sebagian data dari tesis penulis pertama dalam rangka pencapaian derajat M. Biotech pada Program Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada BBPPTP Surabaya yang telah memberikan izin untuk tugas belajar dan BPSDMP Kementerian Pertanian atas beasiswa yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.J. & E.B. Cartens. 2012. Ratification Vote on Taxonomic Proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology* 157: 1411-1422.
- Anonim. 2016. *Virus Taxonomy*. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>, diakses 20/7/16.
- Damayanti, T.A. & L.K. Putra. 2011. First Occurrence of Sugarcane Streak Mosaic Virus Infecting Sugarcane in Indonesia. *Journal of General Plant Pathology* 77: 72-74.
- Grisoni, M., M. Moles, K. Farreyrol, L. Rassaby, R. Davis, & M. Pearson. 2006. Identification of Potyviruses Infecting Vanilla by Direct Sequencing of a Short RT-PCR Amplicon. *Plant Pathology* 55: 525-529.
- Ha, C., S.P.A Coombs, P.A Revill, R.M. Harding, M. Vu, & J.L. Dale. 2007. Design and Application of Two Novel Degenerate Primer Pairs for the Detection and Complete Genomic Characterization of Potyviruses. *Archives of Virology* 153: 25-36.
- Handojo, H.W., Siswojo, & L. Legowo. 1978. Penyakit Mosaik, Kerugian dan Pengujian Resistensi. *Majalah Perusahaan Gula* 14: 23-30.
- Hema, M., P. Sreenivasulu, & H.S. Savithri. 2002. Taxonomic Position of *Sugarcane streak mosaic virus* in the family Potyviridae. *Archive of Virology* 148: 1185-1193.
- Hema, M., H.S. Savithri, & P. Sreenivasulu. 2003. Comparison of Direct Binding Polymerase Chain Reaction with Recombinant Coat Protein Antibody Based Dot-Blot Immunobinding Assay and Immunocapture-Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction for the Detection of Sugarcane Streak Mosaic Virus Causing Mosaic Disease of Sugarcane in India. *Current Science* 85: 1774-1777.
- Jenson, S.G. & J.S. Hall. 1993. Identification of New Shorgum Infecting Species of *Potyvirus* from Sugarcane. *Phytopathology* 83: 884.
- Koike, H. & J.R. Gillaspie. 1998. Mosaic, p. 310-322. In C. Ricaud, B.T. Egan, & A.G. Gillaspie (eds.), *Disease of Sugarcane-Major Disease*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam.
- Kumar, P.L., A.T. Jones, & F. Waliyar. 2004. Serological and Nucleic Acid Based Methods for the Detection of Plant Viruses, p. 86-88. In P.L. Kumar, A.T. Jones, & F. Waliyar (eds.), *Manual*. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, Andhra Pradesh.
- Marie-Jeanne, V., R. Loos, J. Peyre, B. Alliot, P. Signoret. 2000. Differentiation of *Poaceae Potyviruses* by Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction and Restriction Analysis. *Journal of Phytopathology* 148: 141-151.
- Putra, L.K & T.A. Damayanti. 2009. Penyakit *Streak mosaic* pada Tebu di Indonesia: Survei Lapang, Deteksi Virus, Uji Penularan, Kisaran Inang dan Ketahanan Varietas. *Majalah Penelitian Gula* 45: 19-35.
- Revers, F. & J.A. Garcia. 2015. *Molecular Biology of Potyviruses*. *Advances in Virus Research* 92: 101-199.
- Xu, D.L., G.H. Zhou, R. Mock, & R. Li. 2010. Complete Nucleotide Sequence and Taxonomy of Sugarcane Streak Mosaic Virus, Member of a Novel Genus in the Family Potyviridae. *Virus Genes* 40: 432-439.