



**DETEKSI *Sugarcane Mosaic Virus* PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.)  
MENGUNAKAN METODE *Reverse Transcription –  
Polymerase Chain Reaction***

**SKRIPSI**

**Oleh  
Ahmil Sholeh  
NIM 101810401012**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**DETEKSI *Sugarcane Mosaic Virus* PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.)  
MENGUNAKAN METODE *Reverse Transcription –  
Polymerase Chain Reaction***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh  
**Ahmil Sholeh**  
**NIM 101810401012**

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Hormaini tercinta dan Ayahanda Hosman Shaleh tercinta, terima kasih atas segala dukungan finansial, dukungan semangat, pengorbanan, dan doa yang tiada henti.;
2. Adik yang selalu memotivasi saya untuk menjadi luarbiasa dan menjadi percontaan yang baik;
3. Guru mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Jember.

**MOTO**

*“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan” (QS: Al-Mujadalah:11) \**

---

\* Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. Al-Qur'an Terjemahan Perkata. Surabaya: Departemen Agama

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ahmil Sholeh

NIM : 101810401012

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus* pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan Metode *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar

Jember, 18 Maret 2015

Yang Menyatakan,

Ahmil Sholeh

NIM 101810401012

**SKRIPSI**

**DETEKSI *Sugarcane Mosaic Virus* PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.)  
MENGUNAKAN METODE *Reverse Transcription –  
Polymerase Chain Reaction***

**Oleh**

**Ahmil Sholeh**

**101810401012**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M., Agr., Sc**

**Dosen Pembimbing Anggota : Hardian Susilo Addy, SP., MP., PhD**

**PENGESAHAN**

Karya ilmiah skripsi berjudul “Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus* PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan Metode *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*” telah diuji dan disahkan pada

hari, Tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua

Sekretaris

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M., Agr., Sc  
NIP 195510221982121001

Hardian Susilo Addy, SP., MP., PhD  
NIP198011092005011001

Anggota

Penguji I

Penguji II

Drs. Rudju Winarsa, M., Kes  
NIP 196008161989021001

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini  
NIP 19750913200032001

Mengesahkan  
Dekan,

Prof. Dr Kusno, DEA., PhD  
NIP 196101081986021001



## RINGKASAN

**DETEKSI *Sugarcane Mosaic Virus* PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) MENGGUNAKAN METODE *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction* :** Ahmil Sholeh, 101810401012; 2014, 40 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyakit mosaik adalah salah satu penyakit penting pada tanaman tebu di Indonesia yang salahsatunya disebabkan oleh *Sugarcane Mosaic Virus* (ScMV). Kehadiran penyakit ini dapat menekan tingkat produktifitas tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) 0.2% sampai 50% tergantung tingkat infeksi virus dan ketahanan varietas terhadap penyakit mosaik. Gejala mosaik pada tebu sulit untuk dibedakan dengan kelainan yang diakibatkan oleh kekurangan nutrisi seperti klorosis, selain itu penyakit mosaik juga dapat diakibatkan oleh ScSMV (*Sugarcane Streak Mosaik Virus*). Untuk itu diperlukan pengkajian awal untuk mendeteksi ScMV menggunakan metode RT-PCR.

Deteksi awal gejala mosaik, dilakukan dengan survey gejala dan pengambilan sampel daun tebu yang terdapat gejala mosaik di lapang. Uji tular dengan inokulasi mekanik pada tanaman model sorgum dan tebu untuk memastikan gejala mosaik akibat infeksi virus. Gejala mosaik yang muncul dideteksi dengan RT-PCR. Hasil survey gejala menunjukkan gejala mosaik berupa garis-garis kuling-hijau pada lembaran daun tebu. Varietas tebu yang terserang ScMV adalah PS 864, PS 88, VMC 7616 dan Cokro.

Hasil uji tular pada tanaman sorgum dan tebu menunjukkan gejala mosaik yang mirip dengan gejala mosaik lapang dengan tingkat keparahan pada 42 hari setelah inokulasi mencapai 25-72,19 % pada sorgum dan 0-26,67% pada tebu. Deteksi RT-PCR pada tebu lapang, uji tular pada sorgum dan tebu menunjukkan adanya band DNA ukuran 900 bp yang diduga gen cp ScMV setelah elektroforesis gel.

Berdasarkan hasil pembacaan urutan nukleotida pita DNA hasil RT-PCR, diperoleh sekuensi yang ukurannya bervariasi yang berkisar 804 nt dari sampel tebu



di lapang hingga 906 nt dari sampel hasil propagasi. Sebanyak 710 nukleotida dari masing-masing sampel (tanaman di lapang, tanaman propagasi, dan tanaman uji tular) berhasil dipilih berdasarkan analisa pensejajaran berganda (multiple alignment) menggunakan ClustalW. Hasil analisis sekuens melalui BLAST di NCBI menunjukkan gen tersebut adalah gen CP ScMV homolog dengan gen cp ScMV *database* dengan tingkat *identity* mencapai 91%, *query cover* 98%, dan E-Value 0,0. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode RT-PCR sangat efektif untuk mendeteksi ScMV.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ”Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus* pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan Metode *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama, Hardian Susilo Addy, SP.MP.PhD selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. Kementerian Negara Riset dan Teknologi yang memberikan pendanaan untuk penelitian ini;
3. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S selaku dosen pertanian yang bersedia meluangkan waktu membantu dalam analisis RT-PCR dan Analisis Sekuens DNA;
4. Alm. Ibu Ummiyah yang selalu menjadi tempat konsultasi dalam permasalahan akademik dan non-akademik selama menjadi mahasiswa;
5. Ibu Natalia, Bapak Yudi, dan Ibu Nurmala peneliti dari PTPN XI Surabaya Persero yang membantu dalam observasi lapang;
6. rekan-rekan Sugar Group yang selalu mendukung memberi dorongan dan semangat dan membantu dalam analisis. Kepada Narita Ayu, yang membantu dalam pengamatan lapang, analisis serta teman diskusi dalam menyelesaikan skripsi ini. Kepada Purnama Oktavianti, Melati, Aryo, Fadrian, Nia, Dwi Ratna,

Novita, Wimbu, Derta Bagus, Alamansyah dan Maisyaroh, yang juga ikut membantu dalam penelitian;

7. seluruh anggota Remaja Musholla At-Taqwa (Habib, Mas Toni, dan Hendra) yang memberikan dukungan dan semangat;
8. bapak dan ibu yang selalu memberikan semangat, dorongan dan dukungan finansial;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	2
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan dan Manfaat</b> .....	3
<b>1.4 Batasan Masalah</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 ScMV (<i>Sugarcane mosaic virus</i>)</b> .....	4
2.1.1 Klasifikasi ScMV .....	4
2.1.2 Komposisi dan Struktur ScMV .....	5
2.1.3 Kisaran Inang ScMV .....	7
2.1.4 Penularan dan Gejala ScMV .....	7
2.1.5 Deteksi ScMV ( <i>Sugarcane mosaic virus</i> ) .....	9
<b>2.2 Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</b> .....	10
<b>BAB 3. METODE</b> .....	13
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	13
<b>3.2 Bahan dan Alat Penelitian</b> .....	13
<b>3.3 Lay Out Penelitian</b> .....	14
<b>3.5 Observasi dan Pengambilan Sampel Tebu terserang ScMV</b> .....	14

<b>3.6 Uji Tular</b> .....	15
3.6.1 Inokulasi Virus .....	15
3.6.2 Pengamatan Gejala ScMV .....	16
<b>3.7 Deteksi <i>Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR)</b> .....	17
3.7.1 Isolasi RNA .....	17
3.7.2 <i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR)....	18
<b>3.8 Analisis Sekuense Gen <i>Coat Protein ScMV</i></b> .....	18
3.8.1 Sekuense Gen <i>Coat Protein ScMV</i> .....	18
3.8.3 Analisis Sekuense Gen <i>Coat Protein ScMV</i> .....	19
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	20
<b>4.1 Observasi Gejala Mosaik di Lapang</b> .....	20
<b>4.2 Penularan Penyebab Mosaik Pada Tanaman Model Sorgum dan Tebu</b> .....	21
<b>4.3 <i>Reverse Transcription-Polymeration Chain Reaction</i> (RT-PCR)</b> .....	24
<b>4.4 Analisis sekuens DNA</b> .....	27
<b>BAB 5 PENUTUP</b> .....	30
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	30
<b>5.2 Saran</b> .....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	31
<b>LAMPIRAN</b> .....	34

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Oligonukleotida yang digunakan untuk sintesis cDNA pada beberapa strain virus mosaik di Cina.....	11
3.1 Skor keparahan penyakit.....	16
4.1 Tingkat keparahan gejala mosaik sorgum dan tebu hasil re-inokulasi .....	24
4.2 Analisis bioinformatika sekuens gen CP yang diduga ScMV pada BLAST-NCBI .....	29



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Partikel virus marga Potyvirus, <i>Sugarcane Mosaic Virus</i> didalam jaringan daun jagung .....	5
2.2 Organisasi gen Potyvirus.....	6
2.3 Gejala Eksterna penyakit mosaik .....	9
4.1 Daun tebu yang tidak bergejala dan bergejala mosaik di lapang .....	20
4.2 Daun sorgum bergejala mosaik hasil propagasi.....	22
4.3 Gambar daun sorgum dan tebu bergejala setelah re-inokulasi (uji tular).....	23
4.4 Band DNA dididuga gen cp-ScMV pada tebu yang bergejala mosaik di lapang.....	25
4.5 Band DNA diduga gen cp ScMV pada sampel tanaman propagasi dan re-inokulasi	26
4.6 Sekuens nukleotida hasil Clustal W dari ketiga sekuens diduga gen cp ScMV .....	28

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Tingkat keparahan gejala mosaik hasil re-inokulasi pada sorgum dan tebu ....	31
B. Deteksi RT-PCR varietas PS 864, VMC 7616 (asal lapang), dan tebu kultur jaringan sebagai control.....	33
C. Sekuens diduga gen coat protein ScMV .....	34
D. Alignment Ketiga Sekuens.....	35

## BAB 1. PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Penyakit mosaik adalah salah satu penyakit penting pada tebu di Indonesia salah satunya disebabkan oleh *Sugarcane Mosaic Virus* (ScMV). Penyakit ini dapat mengurangi jumlah batang mencapai 20,32%, sehingga menurunkan rendemen tebu mencapai 21,4 % (Nurhayati, 2012). Kehadiran penyakit ini dapat menghambat fotosintesis karena klorosis/ berkurangnya kadar klorofil daun (Sugarcane Breeding Institute, 2007), merusak tanaman dan menekan tingkat produktifitas tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) 0.2% sampai 50% tergantung tingkat infeksi virus dan ketahanan varietas terhadap penyakit mosaik (Andriani, 2013). Infeksi ScMV pada tebu sangat merugikan, sehingga perlu dilakukan pengkajian awal untuk mendeteksi serangan ScMV.

ScMV merupakan anggota dari marga Potyvirus, suku Potyviridae (Spetz, 2003). Selain menginfeksi tebu, virus ini juga menginfeksi sorgum dan jagung (Muis, 2002). ScMV ditularkan secara mekanik melalui gigitan vektor Aphid (*Melanaphis sacchari*). Sedikit luka pada daun sudah dapat menularkan ScMV pada tanaman lain (tebu dan sorgum). Atas dasar cara penularan ScMV dan tipe virus non persisten, sehingga dapat dilakukan inokulasi buatan dengan pengusapan sap (cairan tumbuhan) yang terinfeksi ScMV pada daun tanaman inang yang telah ditaburi karborundum (Lockhart *et al.*, 1992).

Secara umum gejala mosaik akibat ScMV dapat berupa pola yang tidak teratur antara hijau muda atau kekuningan dan hijau normal pada helai daun tebu, sorgum, ataupun jagung. Umumnya gejala paling tampak pada daun yang masih muda (Nurhayati, 2012). Hal ini akibat pantulan cahaya warna hijau pada daun muda masih sangat jelas (Sugarcane Breeding Institute, 2007), serta daun yang masih tidak begitu tebal sehingga bercak kuning akibat ScMV terlihat jelas. Lebih lanjut, ruas-ruas tanaman lebih pendek dan bergaris-garis dengan pola yang tidak teratur, ruas

akan mengalami pelekahan, kering, dan keriput, terutama pada tebu yang umur tiga minggu (Nurhayati, 2012).

Berdasarkan gejala visual di lapang, penyakit mosaik yang disebabkan oleh ScMV mirip dengan gejala penyakit lain seperti kekurangan nitrogen dan fosfor (Wijayani dan Indradewa, 2004) penyakit mosaik disebabkan virus lain seperti *streak* mosaik yang disebabkan ScSMV (Maharlika, 2009). Untuk itulah dibutuhkan deteksi ScMV semi kuantitatif yang akurat dengan metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan pasangan primer untuk gen CP ScMV. Deteksi ini didasarkan pada ketepatan pasangan primer gen CP ScMV untuk mengamplifikasi gen *coat protein* (CP) dilanjutkan dengan analisis sekuens DNA gen CP ScMV. Gen CP mengkode protein CP yang berhubungan dengan transmisi Aphid, perpindahan dari sel ke sel, perpindahan dari jaringan ke jaringan, pembentukan kapsid, dan regulasi amplifikasi RNA yang spesifik masing-masing strain Potyvirus (Bedaya dan Rojas, 2012). Untuk itulah gen CP digunakan untuk mendeteksi infeksi ScMV.

Deteksi RT-PCR memiliki tingkat sensitifitas yang tinggi. Metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi RNA virus dengan konsentrasinya sangat rendah yang sulit dideteksi dengan metode serologi. Metode RT-PCR menggunakan primer spesifik untuk gen cp-ScMV. Sehingga didapatkan cDNA spesifik gen cp-ScMV yang divisualisasi pada gel hasil elektroforesis (Damayanti dan Putra, 2012).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat diangkat dari latar belakang diatas adalah sebagai berikut:

- a) Bagaimana morfologi gejala yang ditunjukkan pada tebu dan sorgum yang terinfeksi ScMV?
- b) Bagaimana hasil penularan ScMV secara mekanik pada tanaman tebu dan sorgum?

- c) Bagaimana hasil deteksi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) pada tebu dan sorgum yang terserang dengan metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)?
- d) Bagaimana hasil analisis sekuens gen *coat protein* ScMV?

### 1.3 Tujuan dan Manfaat

#### 1.3.1 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah

- a) konfirmasi gejala mosaik yang ditimbulkan ScMV melalui uji tular pada tebu dan sorgum.
- b) deteksi gen CP ScMV yang akurat dengan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dan analisis sekuens gen *coat protein*.

#### 1.3.2 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah

- a) memberikan informasi mengenai morfologi gejala yang ditimbulkan ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) pada sorgum dan tebu.
- b) memberikan informasi mengenai hasil deteksi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) dengan metode RT-PCR.
- c) memberikan informasi mengenai hasil analisis sekuens gen cp-ScMV

### 1.4 Batasan Penelitian

Penelitian ini hanya dibatasi pada pengamatan morfologi gejala mosaik, deteksi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) dengan metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan pasangan primer untuk gen *coat protein* ScMV serta analisis sekuens gen CP-ScMV.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*)

ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) termasuk kedalam suku Potyviridae, marga Potyvirus. Menurut jumlah molekul genomnya Potyvirus adalah anggota kelompok *monopartite* (satu molekul asam nukleat) berupa RNA. Penentuan klasifikasi virus pada tingkat suku didasarkan pada komposisi kimia, cara replikasi virus, struktur dan bentuk, partikel virus, dan genom virus (Akin, 2006). Sedangkan pada tingkat marga didasarkan pada cara replikasi virus, ukuran nukleotida, homologi runutan nukleotida, hubungan dengan vektor, organisasi, dan jumlah segmen virus (Akin, 2006).

ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) pertama kali diidentifikasi di California pada tanaman jagung manis pada tahun 1962 (Johnson *et al.*, 1972). Tanaman yang terinfeksi dengan virus menunjukkan pola mosaik pada daun yang terdiri dari garis-garis linier yang rusak antara pembuluh daun (Johnson *et al.*, 1972).

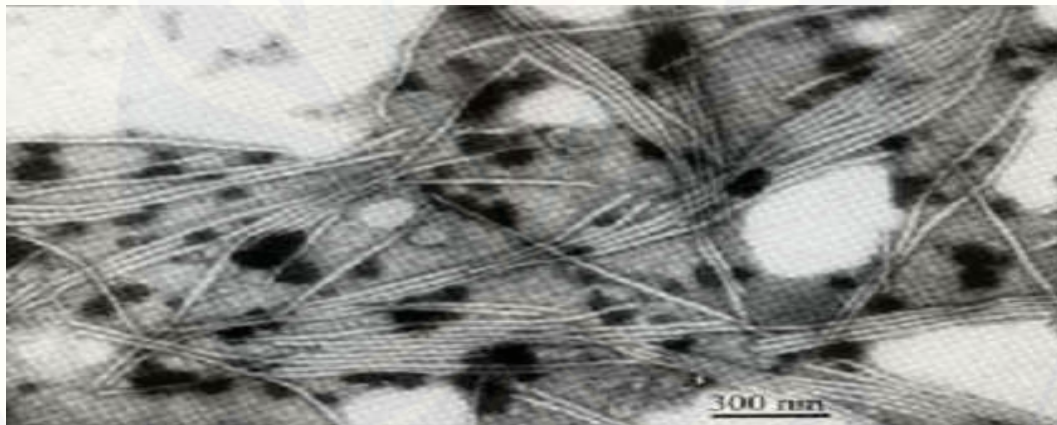
Terdapat 13 strain ScMV di Amerika yaitu: ScMV-A, ScMV-B, ScMV-C, ScMV-D, ScMV-E, ScMV-F, ScMV-G, ScMV-H, ScMV-I, ScMV-J, ScMV-K, ScMV-L dan ScMV-M. Terdapat empat strain ScMV di Australia yang telah diidentifikasi gejala pada tanaman lain, *antigenic property*, dan karakter dasarnya (Shukla *et al.*, 1989). Strain-strain tersebut adalah *Johnsongrass* (ScMV-JG), *Sugarcane* (ScMV-SC), *Queensland blue couch grass* (ScMV-BC), dan *Sabi grass* (ScMV-Sabi) (Shukla *et al.*, 1989).



### 2.1.2 Komposisi dan Struktur ScMV

Kelompok Potyvirus pada umumnya memiliki ukuran partikel 11 nm x 680-900 nm dan lebih berbentuk benang, akan tetapi di dalam beberapa tumbuhan dan dalam konsentrasi magnesium yang tinggi dapat lebih kaku. Partikel virus ScMV memiliki ukuran antara 650 dan 730 nm dan diameter 11 sampai 13 nm (Bedoya dan Rojas, 2012).

Struktur virus mosaik marga Potyvirus berbentuk seperti tongkat lentur atau *flexious rod* (Gambar 2.1). Potyvirus memiliki selubung protein yang berfungsi untuk penularan melalui kutu daun, pergerakan virus dari sel ke sel, pergerakan virus secara sistemik, pembentukan selubung virus, dan replikasi virus (Pramarta, 2014). Selubung protein juga mempunyai peranan penting dalam hal penyebaran virus, sehingga informasi mengenai tingkat keragaman selubung protein penting untuk diketahui (Pramarta, 2014).



(a)

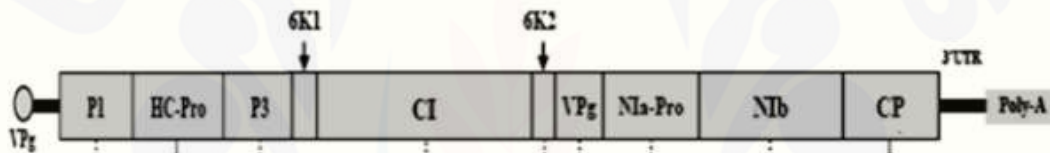


(b)

Gambar 2.1 Partikel virus marga Potyvirus a. Partikel murni *Sugarcane Mosaic Virus* didalam jaringan daun jagung (Sumber: Ye *et al.*, 2002), b. Morfologi partikel virus marga Potyvirus (Sumber: Akin, 2006)

Genom ScMV berupa *positive single-standed RNA* (+ssRNA) yang ujung 3' mengalami poliadenilasi (Shukla, 1994 dalam Haider *et al.*, 2011) panjangnya sekita 10 kb (Bedoya dan Rojas, 2012). Tipe +ssRNA merupakan tipe genom yang dapat langsung berfungsi sebagai mRNA dan di dalam sel tanaman inang akan langsung ditranslasi menjadi protein struktur dan fungsional yang diperlukan dalam replikasi dan patalogitas (Akin, 2006).

Genom Potyvirus mempunyai satu *open reading frame* (ORF) yang mengkode 340-350 KDa prekursor *polyprotein*. Translasi RNA Potyvirus dimulai dari kodon awal AUG pada posisi nukleotida 145-147 dari ujung 5' genom Potyvirus, stop kodon terletak pada nukleotida ke 9525- 9589 bp dari ujung 3' genom Potyvirus dan diikuti oleh sikuen poliadenilasi (*poly A*) (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Organisasi gen Potyvirus (Sumber: Pramarta, 2014)

Genom Potyvirus diekspresikan melalui translasi *polyprotein* dari genom virus. Selanjutnya, *polyprotein* mengalami pemotongan menjadi protein fungsional dan struktural sesuai dengan gen yang menyandikannya di dalam sitoplasma. Selama dan sesudah translasi, terjadi pemotongan *polyprotein* oleh protease yang berasal dari ekspresi dari genom Potyvirus. *Polyprotein* yang diekspresikan oleh genom virus diproses menjadi 10 protein fungsional oleh tiga jenis enzim proteinase yang dihasilkan oleh virus itu sendiri (Pramarta, 2014).

Protein-protein tersebut memiliki peran yang saling berkaitan dan berhubungan. Protein inklusi (CI) dan protein selubung (CP) berguna untuk pergerakan dari satu sel inang ke sel inang lainnya melalui plasmodesmata. CP juga digunakan untuk pergerakan virion protein dalam jaringan vaskuler melalui interaksi dengan Hc-Pro pada domain C- dan N- terminalnya. HC-Pro berfungsi untuk menekan mekanisme pertahanan tanaman. *Viral genome-linked protein* (VPg)

merupakan protein multifungsi yang berperan pada saat amplifikasi dan pergerakan virus yang berada pada ujung 5' genom virus. Protein ini merupakan bagian N-*proximal* dari protein inklusi inti (NIa) dan terpisah secara autokatalik dari domain C-*proximal* proteinase (NIa-Pro). VPg berikatan secara kovalen dengan ujung 5' RNA virus melalui ikatan fosfodiester pada residu asam amino tirosin yang terletak di bagian N-*proximal*. VPg mempunyai peranan penting untuk proses infeksi virus. VPg juga berinteraksi dengan faktor inisiasi translasi (eIF(iso)4E), dan diperlukan untuk infeksi secara sistemik. Genom Potyvirus mempunyai bagian yang tidak berubah (*conserved*) dan daerah yang bervariasi. Hc-Pro dan Nib merupakan bagian yang tidak berubah. Daerah yang bervariasi adalah P1, P3, dan CP (Pramarta, 2014).

#### 2.1.3 Kisaran Inang ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*)

Sejak akhir abad 20-an para ahli virologi menggunakan kisaran inang sebagai salah satu cara mengidentifikasi virus tanaman. Virus ditularkan secara mekanik pada beberapa tanaman yang memiliki kekerabatan dekat dengan inang dan dilihat gejalanya (Hull, 2009).

ScMV adalah tipe virus non persisten sehingga dapat ditularkan dengan sap dan memiliki kisaran inang yang luas (Nurhayati, 2012). Menurut Muis (2002) kisaran inang ScMV meliputi Graminae, sorgum, jagung dan beberapa rumput-rumputan liar termasuk juga tebu. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Brunt *et al.* (1995) dalam Muis (2007) kisaran inang ScMV adalah *Saccharum* spp., *Sorghum bicolor*, *Eleusine* spp., *Setaria* spp., *Panicum* spp., dan *Zea mays*.

#### 2.1.4 Penularan dan Gejala ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*)

Marga Potyvirus termasuk kelompok virus yang banyak menyerang tanaman. Mekanisme infeksi virus kedalam sel tumbuhan melalui luka yang terjadi secara

mekanis atau disebabkan oleh serangga vektor golongan Aphid. Hal ini disebabkan sebagian besar virus tumbuhan tidak memiliki alat untuk penetrasi materi genetik ke dalam dinding sel (Akin, 2006).

ScMV ditularkan secara mekanik oleh serangga vektor dengan cara nonpersisten (Muis, 2002). Menurut Teakle *et al.* (1998) dalam Muis (2002) serangga vektor penularan SCMV adalah *Dactynotus ambrosiae*, *Hysteroneora setariae*, *R. maidis*, *Toxoptera graminum*, dan beberapa spesies Aphid. Aphid adalah marga yang mampu menularkan lebih dari 160 virus berbeda. Virus yang ditularkan Aphid kebanyakan menyebabkan penyakit mosaik (Nurhayati, 2012). Hasil pengujian Wakman *et al.* (1998) dalam Muis (2002) menunjukkan bahwa dengan inokulasi mekanik pada varietas rentan, tingkat infeksi dapat mencapai 100%. Selain itu, menurut Muis (2002) dari 113 tanaman yang diinokulasikan dengan vektor *R. maidis* sekitar 60 (53,09%) terserang ScMV.

Infeksi ScMV juga dapat melalui pengolesan cairan tanaman tebu yang terinfeksi (sap) pada daun yang telah dilukai dengan karborundum (*silicon karbida*). Karborundum berfungsi sebagai agensia aberasi saat sap dioleskan pada permukaan daun (Akin, 2006).

Keberhasilan inokulasi mekanik bergantung pada konsentrasi virus, sumber inokulum, metode penyiapan inokulum, ketahanan virus di dalam sap (Akin, 2006). Tingkat kerentanan inang dan jumlah partikel virus yang dibutuhkan dalam inokulasi adalah  $10^5$  atau lebih dalam inokulum (Bos, 1994).

Tidak adanya secara inhibitor relatif dan inaktivator (seperti tanin pada Rosaciae) dan enzim-enzim pengoksidasi juga merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan inokulasi mekanik. Penularan dapat dipertinggi dengan memilih jenis tumbuhan yang tepat sebagai sumber inokulum. Selanjutnya pengenceran cairan ekstraksi yang mengandung virus (misalnya 1:10 dengan air atau 0,01 ml/ 1 penyangga fosfat pH 7,0) mungkin akan lebih cepat menghilangkan inhibitor di dalam inokulum virus. Aktivitas oksidasi mungkin dapat dihilangkan dengan pereduksi



(seperti sistein hidroklorida, 2-Merkapto Ethanol, dan asam trigliokolat) (Bos, 1994).

Infeksi virus akan mempengaruhi metabolisme sel yang mengakibatkan terjadinya perubahan biokimiawi dan fisiologi sel. Perubahan metabolisme akan menimbulkan perubahan tanaman yang berbeda jika dibandingkan dengan tanaman sehat. Gejala yang tampak oleh mata pada tanaman yang berbeda dengan tanaman lain disebut sebagai gejala eksternal. Sedangkan gejala yang bersifat internal di dalam jaringan tanaman hanya dapat diamati dengan mikroskop cahaya atau elektron seperti nekrosis atau kematian sel, Hiperplasia atau pertumbuhan sel yang berlebihan, serta Hipoplasia atau penurunan pertumbuhan sel (Akin, 2002).



Gambar 2.3 Gejala Eksterna penyakit mosaik (Sumber: Haider *et al.*, 2011)

Gejala yang ditimbulkan pada daun tebu yang terserang ScMV adalah terdapat garis-garis kuning diantara pembuluh daun dan terjadi penurunan kandungan sukrosa. Menurut Muis (2002) gejala mosaik berupa garis putus-putus hijau muda, hijau tua, dan kuning sepanjang tulang daun (Gambar 2.3). Gejala paling tampak pada daun yang masih muda.

#### 2.1.5 Deteksi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*)

Gejala penyakit di lapang merupakan data pertama untuk deteksi virus tanaman. Identifikasi lebih lanjut dilakukan di laboratorium untuk mendapatkan data

yang lebih akurat. Identifikasi dan deteksi ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) yang sering dilakukan dengan metode RT-PCR. Prinsip dasar deteksi dengan teknik RT-PCR dilakukan di dalam sebuah tabung reaksi RT-PCR. Deteksi dengan metode ini cocok untuk virus-virus RNA termasuk ScMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) (Akin, 2003).

## 2.2 Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

RT-PCR merupakan teknik yang sangat sensitif untuk mempelajari ekspresi gen pada tingkat RNA, dan kuantifikasi RNA virus (Gaffar, 2007). Amplifikasi RNA dengan PCR dapat dilakukan dengan menggunakan primer yang menempel ke cetakan RNA (Santos *et al.*, 2004) dan kemudian mensintesis komplementer DNA (cDNA) dengan menggunakan enzim *reverse transcriptase* dan diikuti dengan proses PCR (Gaffar, 2007). Beberapa DNA polimerase dapat digunakan pada tahap ini, seperti *Thermus thermophilus* (Tth) DNA polimerase, bila terdapat mangan (Mn) dapat melakukan transkripsi balik RNA. Karena *Tth* DNA polimerase dapat menggunakan DNA dan RNA sebagai cetakan, maka prosedur ini dapat dilakukan dalam satu tabung. Cetakan RNA virus (seperti Potyvirus) atau RNA poli A akan di kopi menggunakan heksamer acak atau primer spesifik.

RT-PCR terdiri atas dua reaksi yaitu reaksi transkripsi balik (*reverse transcription*) menggunakan RNA virus sebagai cetakan menghasilkan cDNA primer serta reaksi penggandaan PCR (Akin, 2006). RT-PCR menggandakan runutan nukleotida pada RNA virus (Akin, 2006). Primer yang digunakan harus dapat menggandakan bagian khusus dari genom virus yaitu gen CP (*coat protein*). Primer spesifik untuk SCMV yaitu ScMV F3: 5' TTT TCA CCA AGC TGG AA-3' dan ScMV R3: 5'-AGC TGT GTG TCT CTC TGT ATT CT-3' (Mohammadi dan Hajieghrari, 2009). Deteksi gen CP ScMV juga dilakukan oleh Haider *et al.* (2011) menggunakan primer spesifik gen CP yaitu ScMV F: 5'-GTT TYC ACC AAG CTG GAA CAG TC-3' dan R: 5'-AGC TGT GTG TCT CTC TGT ATT CTC T-3'. Begitu



juga, deteksi beberapa strain ScMV menggunakan RT-PCR yang dilakukan oleh Ye *et al.* (2001) dengan primer yang berbeda (Tabel 2.1) menghasilkan produk cDNA yang baik.

Tabel 2.1 Oligonukleotida yang digunakan untuk sintesis cDNA pada beberapa strain virus mosaik di Cina

Primer	Posisi dalam genom	Sekuen nukleotida (5'-3')	Tm/°C
ZHM1	—	CTC TTC CCC TCC CTC CTC	60
ZHM2	—	GAG GAG GGA GGG GAA GAG	52
PSC-5t1 (?)	1475—1491	CTC TGT TTC CCC ATA CG	42—52
PHC (+)	1433—1449	TGY GAY AAY CAZ TTX GA	52
PSC-CI (?)	3770—3754	GTA TGG TAA GCC TGT GC	54—64
PCI (+)	3738—3757	GTX GGX TCX GGX AAX TGX AC	48—60
PCI (?)	4408—4389	TTX TCX ATX ATX TTX GTX GC	52
PSC-CI (+)	4334—4351	GAA CAC CAC AGG AAT TGT	52
PSC-NIa (?)	6562—6545	CAT TGT CCG TCT ATT GTG	44—50
PNIa-dw (+)	6525—6541	TNY TGG AAM CAY TGG AT	54
pNIbup (?)	7840—7822	GCA AGA TAG CAT CGT GTA G	56—68
Sprimer	7758—7777	GGX AAY AAY AGY GGX CAZ CC	52
M4	—	GTT TTC CCA GTC ACG AC	

(Sumber: Ye *et al.*, 2001)

Untuk meningkatkan keberhasilan RT-PCR pada skala laboratorium dapat beberapa hal berikut yang perlu diperhatikan yaitu: pertama pemilihan primer RT, ada 3 pilihan primer yaitu: oligo dT, random primer dan primer spesifik gen. Primer oligo dT banyak digunakan karena bisa mendapatkan salinan cDNA lengkap dari mRNA total (Rustam, 2010). Jika panjang mRNA-nya (>4 kb) atau tidak memiliki ekor *poly A* (mRNA prokaryota), maka pilihannya adalah random primer. Random primer dapat mentraskip balik gen-gen ujung 5', tetapi cDNA yang diperoleh mungkin tidak keseluruhan gen (Rustam, 2010). Untuk mendapatkan cDNA yang lebih spesifik, maka pilihan primer yang digunakan adalah *specific gene primer*. Primer ini didisain berdasarkan sekuens gen yang dimaksud.

Struktur sekunder RNA yang perlu di hilangkan karena dapat menghambat proses polimerasi cDNA karena enzim *reverse transcriptase* dapat berhenti ketika menemui struktur sekunder pada RNA-nya. Kandungan GC yang tinggi bisa kita jadikan indikator bahwa RNA akan sulit untuk memisah dan mungkin tidak akan benar-benar menjadi utas tunggal sebelum reaksi. Untuk mengatasinya, bisa dengan

melakukan denaturasi dulu pada suhu 65°C selama 5 menit sebelum reaksi *reverse transcription* agar RNA-nya dalam keadaan rileks (Rustam, 2010).

Kontaminan gDNA (genom DNA) dihilangkan dengan pemberian DNase selama proses atau setelah isolasi RNA. Jika sample RNA diisolasi dari sel eukaryota, maka cara terbaik menghindari kontaminasi gDNA ketika PCR adalah dengan mendesain primer yang menyeberangi intron atau batas intron-ekson. Seperti kita tahu bahwa mRNA pada eukaryota merupakan hasil transkripsi dari ekson pada gDNA tanpa diseling-selingi lagi oleh intron-intron. Dengan cara ini tidak akan terjadi amplifikasi terhadap gDNA (atau setidaknya akan memiliki produk PCR yang berbeda ukurannya) (Rustam, 2010).

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Divisi Bioteknologi dan Biomolekular CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) dan *green house* Laboratorium Botani Universitas Jember mulai bulan Juli sampai Desember 2014.

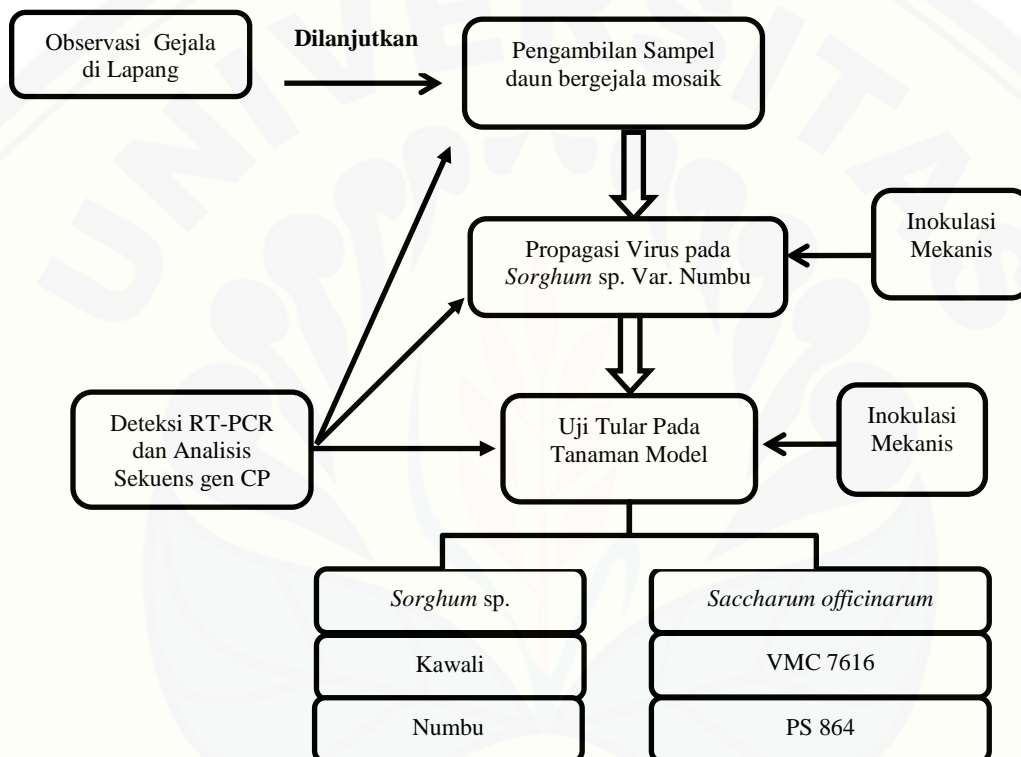
#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Sampel tebu bebas virus varietas VMC 7616 dan PS 864 serta Sorgum (*Sorghum bicolor* L.) varietas Numbu dan Kawali sebagai tanaman model. Sampel daun tanaman tebu bergejala mosaik sebagai bahan uji tular. Terdapat tiga varietas tanaman tebu yang bergejala mosaik diambil dari tiga lokasi yang berbeda yaitu kebun PG Semboro Jombang-Kencong Kabupaten Jember, kebun PG Prajekan Bondowoso, dan PS 864 dari PG wilayah barat (Redjosari). Media tanam (tanah : kompos : pasir = 3 : 2 : 1) dan polybag ukuran 35 x 35 cm. Buffer posfat pH 7,0 : sampel (daun tebu bergejala mosaik (1:10), PVP (*Polyvinil Pyrrolidon*) 2% (Gambley *et al.*, 2004) dari larutan total, *sea sand* (pasir laut). Karborundum (silicon karbida) 600 mesh, *RNAprep Pure Plant* Kit produk TianGen untuk pemurnian RNA total, DEPC water dan alkohol. *Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit*, kit PCR Roche, *SCMV-specific primer* (ScMV F3; 5'-GTT TTC ACC AAG CTG GAA CAG TC-3' dan ScMV R3; 5'-AGC TGT GTG TCT CTC TGT ATT CTC-3') (Mohammadi dan Hajieghrari, 2009) dan elektroforesis gel Agaros 1% (Mohammadi dan Hajieghrari, 2009).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: mesin autoklaf, sentrifuse, oven, vortex, *magnetic stirrer*, pH meter, neraca digital, *thermocycler*, nanodrop, *heater block*, aparatur elektroforesis, spektrofotometer, mikropipet,

mortar, gelas ukur, *beaker glass*, botol scot, eppendorf, PCR *tube*, gunting dan mesin pengepakan plastik.

### 3.3 Lay Out Penelitian



### 3.5 Observasi dan Pengambilan Sampel Tebu Bergejala Mosaik

Pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi yaitu kebun Jombang PG Semboro Kencong, Jember, kebun Lumutan PG Prajekan Bondowoso, dan kebun PG wilayah barat (Redjosari). Sebelum dilakukan pengambilan sampel dilakukan pengamatan tebu terserang mosaik terlebih dahulu meliputi varietas tebu, umur tebu, dan ciri morfologi gejala ScMV. Observasi dan pengambilan sampel dilakukan

dengan visualisasi dan pengambilan foto gejala. Varietas tebu yang menunjukkan gejala mosaik terparah dari masing-masing daerah diambil sebagai sampel.

### 3.6 Uji Tular

#### 3.6.1 Inokulasi Virus

Inokulasi virus diawali dengan pembuatan sap (cairan tanaman) dari daun tebu dan sorgum yang bergejala mosaik (gejala paling jelas). Pembuatan sap dilakukan dengan pencampuran 0,1 M buffer posfat pH 7,0 (Yuan *et al.*, 2003): sampel daun (10:1) artinya setiap 10 ml buffer posfat dibutuhkan 1 gram sampel. Sebanyak 2% PVP (*Polyvinil Pyrrolidon*) 2% dari volume larutan ditambahkan pada saat penggerusan. Penggerusan dilakukan pada suhu 4°C. Sap dapat disimpan pada 4°C.

Perlakuan Pre-inokulasi adalah pengkondisian tanaman sorgum dan tebu yang siap untuk diinokulasi pada gelap selama 24 jam. Hal ini bertujuan untuk melemahkan tanaman dan meningkatkan kerentanan tanaman (Green, 1971). Sumber virus berasal dari tanaman sorgum atau tebu yang bergejala mosaik. Inokulasi dilakukan dengan menaburi 2-3 daun sorgum/tebu dari daun pertama dengan karborundum. Untuk daun tebu perlu di amplas untuk memluat luka. Sap diusapkan pada daun yang telah ditaburi serbuk karborundum atau diampelas dengan bantuan kapas sambil ditekan-tekan. Sisa sap dan karborundum yang masih menempel pada daun dibilas dengan akuades hingga bersih. Pengamatan gejala mosaik dilakukan setiap satu minggu sekali selama 6 minggu. Kisaran waktu pengamatan gejala ini juga dilakukan oleh Putra *et al.* (2013) untuk mengamati gejala mosaik pada tanaman tebu.



### 3.6.2 Pengamatan Gejala ScMV

Observasi lapang dilakukan dengan pengamatan morfologi gejala mosaik. Uji tular dihiung persen keparahan gejala penyakit merupakan proporsi luas permukaan inang yang terinfeksi terhadap total luas permukaan inang yang diamati. Pengamatan keparahan penyakit dilakukan insitu secara visual dengan formula mengikuti Yasa *et al.* (2012).

$$\text{Indeks Keparahan} = \frac{\sum(n \times v)}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan:

n : jumlah tanaman yang terserang dalam kategori skor (v)

v : skor pada setiap kategori serangan

N : jumlah seluruh tanaman yang diamati

V : skor untuk serangan terberat

Tabel 3.1 Skor keparahan penyakit

Skor	Skala Kerusakan
0	Luas gejala 0% (tidak ada gejala)
1	Luas gejala (1-5)%
2	Luas gejala (6-10)%
3	Luas gejala (11-25)%
4	Luas gejala (26-40)%
5	Luas gejala (41-65)%
6	Luas gejala (66-100)%

(Sumber: Maharlika, 2009)



### 3.7 Deteksi *Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*

#### 3.7.1 Isolasi RNA

Isolasi RNA dilakukan menurut panduan yang ada dalam *RNAprep Pure Plant Kit* produk TianGen. Tahap isolasi RNA adalah 100 mg sampel daun tebu/sorgum yang terinfeksi ScMV digerus dengan bantuan N<sub>2</sub> cair. Daun yang telah menjadi serbuk dimasukkan kedalam tabung eppendorf ditambahkan 700 µl buffer SL dari Kit (yang telah ditambahkan β-Merkaptoetanol) disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 2 menit. Supernatan diambil dan disaring dengan *RNase-Free filter colums CS* dengan *2 ml collection tube* dibawahnya. Supernatan dari hasil penyaringan dengan *RNase-Free filter colums CS* diambil dan dimasukkan kedalam tabung eppendorf. Supernatan dicuci untuk menghilangkan klorofil dengan etanol (volume etanol yang dibutuhkan dihitung dari 0,4 x volume supernatan). Selanjutnya ditransfer pada *RNase spin colum CR3* dengan *2ml collection tube* dibawahnya dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 15 detik, Supernatan dibuang dan penambahan 350 µl buffer RW 1 tepat ditengah-tengah membrane *RNase spin colum CR3* dan disentrifus 12.000 rpm selama 15 detik. Supernatan dibuang dan filter diletakkan kembali pada *collection tube*. 80 µl DNase (10 µl DNase 1 *stroock solution* + 70 µl buffer RDD) ditambahkan pada bagian tengah memberan, *mix inverting tube*. Penambahan DNase untuk mendegra dari DNA sehingga didapatkan RNA murni. Setelah itu, ditambahkan 350 µl buffer RW 1 pada membrane spin CR3 dan disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 detik diulang dua kali. Sentrifugasi pada 12.000 rpm selama 2 menit untuk mengeringkan membran. *Spin colum* dipindah pada *1,5 ml collection tube* dan ditambah 50 µl *RNase Free water* diamkan selama dua menit untuk menurunkan RNA pada tabung *eppendorf* dan disentrifugasi pada 12.000 rpm selama satu menit. Konsentrasi RNA dapat dilihat dengan alat nanoview. RNA disimpan pada suhu -80°C dan terbagi dalam lima *PCR tube*.

### 3.7.2 Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Tahap pertama sintesis cDNA, dilakukan menurut panduan *Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit* Roche. Sintesis cDNA dilakukan dalam dua tahap, yaitu denaturasi RNA dan *reverse transcription* (RT). Tahap pertama denaturasi RNA, semua bahan dicampurkan didalam *microtube RCR* yaitu 10 µl H<sub>2</sub>O-PCR *grade*, 1 µl *anchored-oligo(dT)*<sup>18</sup> primer (50 pmol/µl), dan cetakan RNA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit di dalam *water bath*. Tahap kedua RT, 4µl *transcriptor RT reaction buffer*, 0,5µl *protector RNase*, 2µl *deoxynucleotide mix*, dan 0,5µl *transcriptor reverse transcriptase*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 55°C di dalam *water bath* selama 45 menit. *transcriptor reverse transcriptase* harus dinonaktifkan dengan diinkubasi pada suhu 85°C selama 5 menit setelah tahap RT karena keberadaan *transcriptor reverse transcriptase* dapat mengganggu reaksi PCR.

Tahap kedua adalah PCR, cDNA diamplifikasi melalui reaksi PCR sebanyak 30 siklus dengan reaksi meliputi *initial denaturation* pada 94°C selama 7 menit, *denaturation* pada 94°C selama 10 detik *Annealing* 56°C selama 30 detik, *Extention* 68°C selama 55 detik, dan *Elongation* 68°C selama 5 menit. Produk PCR divisualisasi dengan elektroforesis pada gel agarosa 1% (Haider *et al.*, 2011).

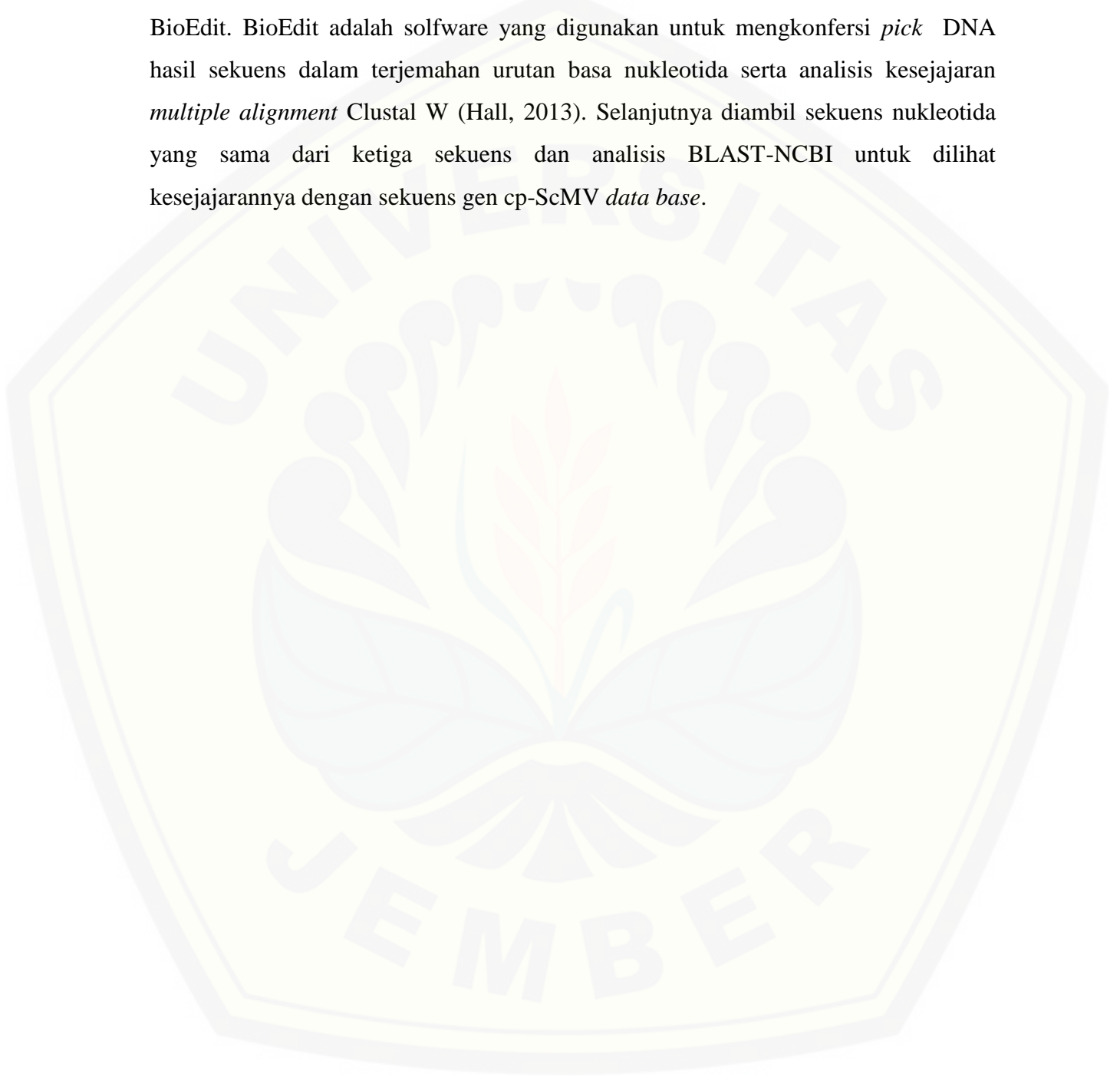
## 3.8 Analisis Sekuense Gen Coat Protein ScMV

### 3.8.1 Sekuense Gen Coat Protein ScMV

Sekuens gen cp-ScMV dilakukan oleh perusahaan penyedia jasa sekuensing DNA First Base, Malaysia. Bahan sekuens bisa langsung dari produk PCR sebanyak 40µl serta pasangan primer forward dan reverse masing-masing 40µl. Sekuensing dilakukan pada hasil RT-PCR sampel tebu bergejala mosaik di lapang, hasil propagasi (sorgum var. Numbu), dan inokulasi ulang pada tanaman uji tular.

### 3.8.3 Analisis Sekuense Gen *Coat Protein ScMV*

Analisis sekuens diawali dengan analisis kesejajaran menggunakan software BioEdit. BioEdit adalah software yang digunakan untuk mengkonferensi *pick* DNA hasil sekuens dalam terjemahan urutan basa nukleotida serta analisis kesejajaran *multiple alignment* Clustal W (Hall, 2013). Selanjutnya diambil sekuens nukleotida yang sama dari ketiga sekuens dan analisis BLAST-NCBI untuk dilihat kesejajarannya dengan sekuens gen *cp-ScMV data base*.

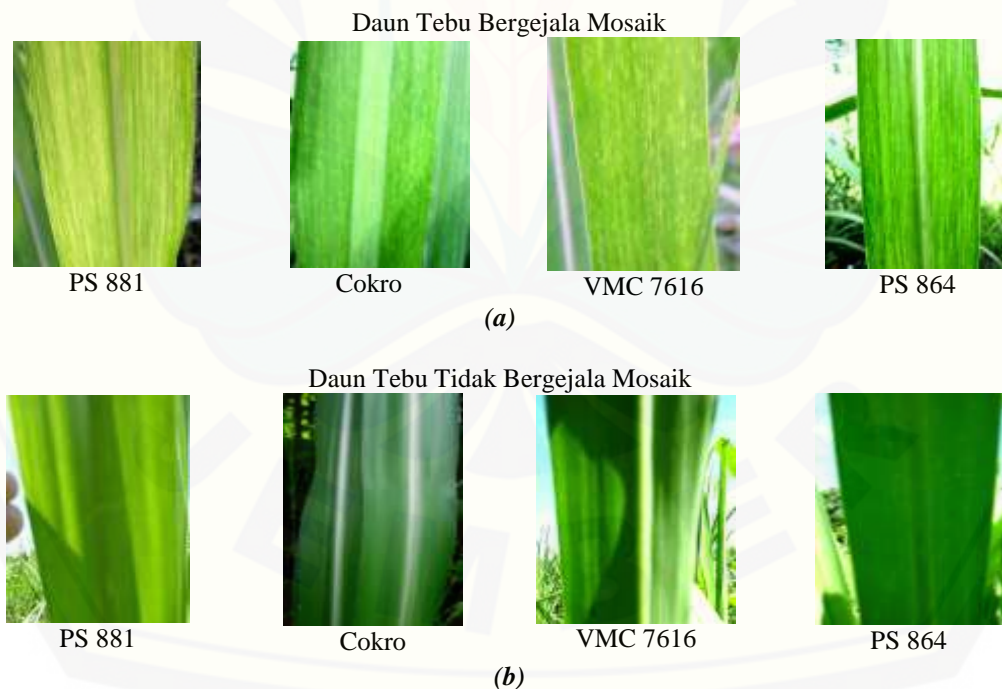


## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Observasi Gejala Mosaik di Lapang

Hasil observasi tanaman tebu yang dilakukan di tiga lokasi kebun tebu menunjukkan adanya gejala mosaik pada empat varietas tebu. Keempat varietas tersebut adalah PS 864 dari PG Redjosarie, PS 881 dari PG Semboro, serta VMC 7617 dan Cokro dari PG Pradjekan.

Gejala mosaik yang tampak pada daun berupa corak garis-garis halus pada helaian daun tebu yang bewarna hijau muda, kuning atau putih yang berselang seling dengan warna hijau yang normal pada daun tebu (Gambar 4.1a). Berbeda dengan daun tebu yang tidak terdapat corak mosaik berwarna hijau terang di seluruh lembaran tertua sampai yang termuda (Gambar 4.1 b).



Gambar 4.1 Daun tebu yang tidak bergejala (a) dan bergejala mosaik (b) di lapang



Pada pengamatan gejala diketahui bahwa tanaman tebu yang bercorak mosaik pada bagian daun yang mudah/ daun yang masih menggulung menunjukkan corak mosaik paling banyak, namun berangsur menghilang seiring usia daun tersebut. Gejala mosaik yang tampak dari hasil observasi masih belum dapat dipastikan penyebabnya. Hal ini dikarenakan corak mosaik pada tanaman dapat disebabkan oleh penyakit biotik ataupun abiotik seperti kekurangan nutrisi. Menurut Wijayani dan Indradewa (2004), bahwa corak mosaik berupa klorosis pada tanaman tebu juga dapat disebabkan oleh kondisi kekurangan unsur nitrogen atau fosfor. Nurhayati (2014), menjelaskan bahwa gejala mosaik pada tebu diakibatkan oleh virus apabila dapat berpindah atau ditularkan ke tanaman sehat. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penularan penyakit untuk memastikan penyebab gejala mosaik pada tanaman tebu di lapangan.

#### **4.2 Penularan Penyebab Mosaik Pada Tanaman Model Sorgum dan Tebu**

Berdasarkan hasil inokulasi pada tanaman propagasi yang tertular, ditunjukkan terdapat gejala mosaik dengan corak berupa pola yang tidak teratur antara hijau muda kekuningan dan hijau pada helaian daun sorgum 7 hari setelah inokulasi. Gejala mosaik ini tampak semakin jelas terutama pada daun yang masih menggulung 42 hari setelah inokulasi (hsi) (Gambar 4.2).

Kondisi yang sama juga ditunjukkan pada tanaman uji yaitu munculnya gejala mosaik. Gejala ini mirip baik dari hasil pengamatan lapang (Gambar 4.1), model propagasi penyebab mosaik (Gamabar 4.2) dengan penampakan gejala tanaman uji (Gamabr 4.3). Hal tersebut menunjukkan bahwa penyebab mosaik pada tebu dapat ditularkan ke tanaman lain baik yang sejenis (tebu) atau tanaman inang lainnya (sorgum).

Kondisi ini menguatkan dugaan bahwa gejala mosaik yang berasosiasi dengan tebu dilapang disebabkan oleh penyebab biotik termasuk virus bukan abiotik. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurhayati (2012) bahwa penyakit virus pada tebu dapat



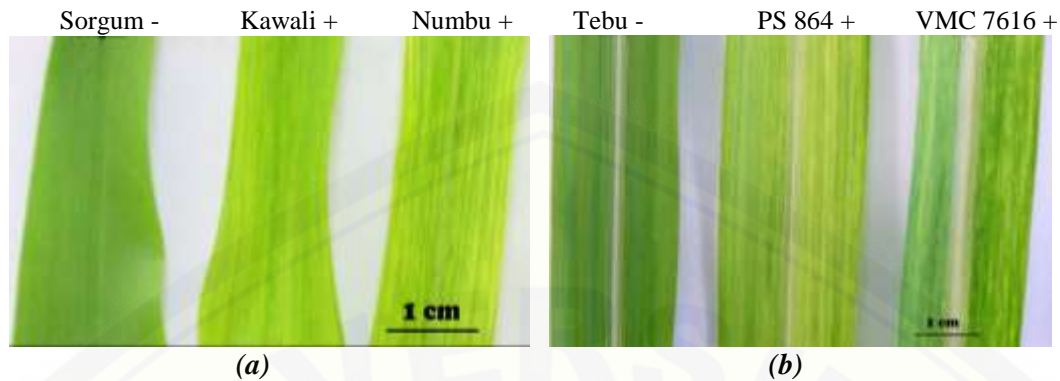
ditularkan atau bersifat *transfereble*. Penjelasan lebih rinci disampaikan oleh Geijskes (2003) menjelaskan bahwa terdapat beberapa virus yang menyerang tebu dengan gejala mirip berupa yaitu ScMV, ScSMV, dan ScBV.

Secara umum gejala mosaik akibat virus dapat berupa pola yang tidak teratur hijau muda atau kekuningan dan hijau normal pada daun tebu atau sorgum terutama pada daun muda (Sugarcane Breeding Institute, 2007). Pada daun yang masih muda masih tidak begitu tebal sehingga bercak kuning akibat ScMV terlihat jelas (Nurhayati, 2012).

(a) (b) (c) (d)



Gambar 4.2 Daun tanaman sorgum (a) daun sorgum tidak bergejala (kontrol), (b) daun tebu tidak bergejala (kontrol), (c) daun sorgum yang terinfeksi ScMV, dan (d) daun tebu dari lapang yang terinfeksi ScMV.



Gambar 4.3 Daun bergejala setelah inokulasi ulang (uji tular) (a) Sorgum, (b) Tebu. Tanda negative (-) artinya tidak diinokulasi dan tidak bergejala, tanda positif (+) diinokulasi dan bergejala

Hasil pengamatan gejala menunjukkan bahwa virus yang menginfeksi sorgum dan tebu diduga ScMV. Hal ini dilihat dari corak yang khas berupa garis kuning tidak begitu panjang berseling dengan hijau muda. Berbeda dengan corak yang diakibatkan ScSMV yang mana garis kuning panjang dari pangkal hingga ujung helai daun serta kuning hampir menutupi luas daun keseluruhan (Sugarcane Breeding Institute, 2007) atau gejala ScBV (*Sugarcane Bacilliform Virus*) berupa bercak (spot) kuning merata diseluruh permukaan daun (Geijskes 2003).

Untuk memastikan bahwa gejala mosaik pada tebu dan sorgum merupakan hasil asosiasi tebu/sorgum dengan virus, maka diamati perkembangan gejala mosaik. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa secara umum keparahan penyakit pada tebu dan sorgum berupa penularan yang bervariasi (Tabel 4.1). Namun terdapat kecendrungan tanaman sorgum lebih rentan dibandingkan Tebu. Hal ini ditandai dengan kemunculan gejala lebih awal (7 hsi) dibandingkan pada tebu (28 hsi). Selain itu tingkat keparahan pada sorgum lebih besar berkisar 25-72,19% dibandingkan tebu dengan persen gejala 0-26,67% (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Indeks keparahan (%) gejala mosaik sorgum dan tebu hasil inokulasi ulang

hari ke...setelah inokulasi (hsi)	Sorgum		Tebu	
	Numbu	Kawali	PS 864	VMC 7616
7	54,17 a	25 b	0 c	7,07 d
14	61,11 a	50 a	0 b	9,43 c
21	72,19 a	65,28 a	0 b	11,79 c
28	56,94 a	62,50 a	1,67 b	14,14 b
35	66,67 a	63,89 a	8,34 b	14,14 b
42	66,67 a	58,61 a	26,67 b	18,86 c

Keterangan: angka (indeks keparahan) yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak berbeda berdasarkan nilai standar deviasi setelah data ditransformasi menggunakan akar kuadrat (Lampiran A).

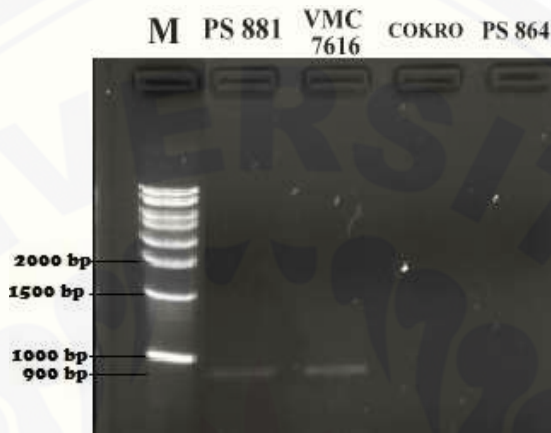
Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa gejala mosaik pada tebu dan sorgum diakibatkan oleh agen infeksius yang memiliki variasi virulensi bergantung pada varietas dan tanaman. Menurut Andriani *et al.* (2013) Sifat ketahanan suatu varietas dan jenis tanaman sangat berpengaruh terhadap laju distribusi dan infeksi virus. Semakin rentan suatu varietas terhadap serangan virus, maka semakin cepat proses translokasi dan infeksi virus.

#### 4.3 Reverse Transcription-Polymeration Chain Reaction (RT-PCR)

Untuk membuktikan bahwa virus yang menginfeksi tebu dengan karakteristik berupa gejala mosaik adalah virus ScMV, maka dilakukan deteksi virus dengan teknik RT-PCR sebagaimana yang dilakukan oleh Mohammadi dan Hajighrari (2009).

Hasil RT-PCR menunjukkan bahwa dari empat varietas tebu dari lapang yang menunjukkan gejala mosaik (PS864, Cokro, VMC 7616 dan PS881), hanya 2 varietas

tebu yang positif terdeteksi memiliki pita DNA dengan ukuran sekitar 900 *basepair* (bp) dari hasil amplifikasi RT-PCR menggunakan pasang primer cp-ScMV (Gambar 4.4).



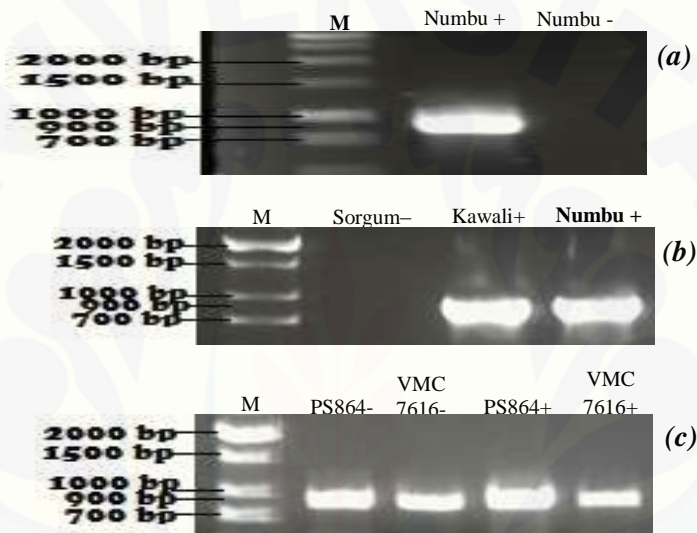
Gambar 4.4 Band DNA diduga gen cp-ScMV pada tebu yang bergejala mosaik di lapang.

Hasil serupa juga diamati oleh Antwerpen dan Rutherford (2008) yang menggunakan primer yang sama untuk mendeteksi ScMV dari daun tebu asal Afrika Utara. Ketidakhadiran pita hasil amplifikasi (amplikon) pada sampel tebu PS864 dan varietas Cokro diduga karena ketidakcocokan primer yang digunakan dengan asam nukleat virus (ScMV) pada sampel tebu yang dideteksi meskipun menunjukkan gejala yang sama. Kondisi serupa juga terjadi pada penelitian Antwerpen dan Rutherford (2008) menggunakan primer cp-ScMV yang sama untuk mendeteksi virus yang menginfeksi 9 varietas tebu di Afrika Utara dengan corak mosaik yang sama persis. Hasil deteksi RT-PCR menunjukkan hanya varietas ke-7 positif menunjukkan pita DNA kisaran ukuran 900 bp.

Pengujian lanjutan terhadap sampel tanaman propagasi virus (Sorgum var. Numbu) dan tanaman uji tular (inokulasi ulang) baik sorgum (var. Kawali dan Numbu) dan Tebu (VMC7616 dan PS881) menunjukkan hasil yang sama (Gambar 4.5) dengan hasil deteksi dari virus ScMV pada sampel tanaman yang diperoleh dari



lapang (Gambar 4.4). Meskipun demikian, pada sampel tebu dari lapang yang tidak bergejala (kontrol) menunjukkan hasil positif ketika dideteksi dengan RT-PCR (Gambar 4.5). Hal ini diduga karena beberapa faktor seperti virulensi dan ketahanan varietas tebu. Meskipun demikian, kemunculan pita DNA tersebut tidak tampak pada sampel tebu bebas virus hasil pemuliaan dengan teknik kultur jaringan (Lampiran B).



Gambar 4.5 Band DNA diduga gen cp ScMV (a) pada tanaman sorgum Numbu Hasil Propagasi serta pada tanaman sorgum (b) dan tebu (c) hasil inokulasi ulang (uji tular). Tanda negatif (-) artinya tidak diinokulasi dan tidak bergejala, tanda positif (+) diinokulasi dan bergejala

Dugaan ini diperkuat oleh Putra *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa varietas tebu VMC 7616 dan PS 881 merupakan varietas tebu yang lebih rentan dibandingkan dengan varietas lainnya. Selain itu faktor ketahanan varietas tebu juga berpengaruh terhadap munculnya gejala, sebagaimana pernyataan Balarabe *et al.* (2014), bahwa beberapa tebu di Nigeria yang terinfeksi ScMV tidak menunjukkan gejala mosaik (*asymptom*) meskipun hasil deteksi dengan teknik ELISA



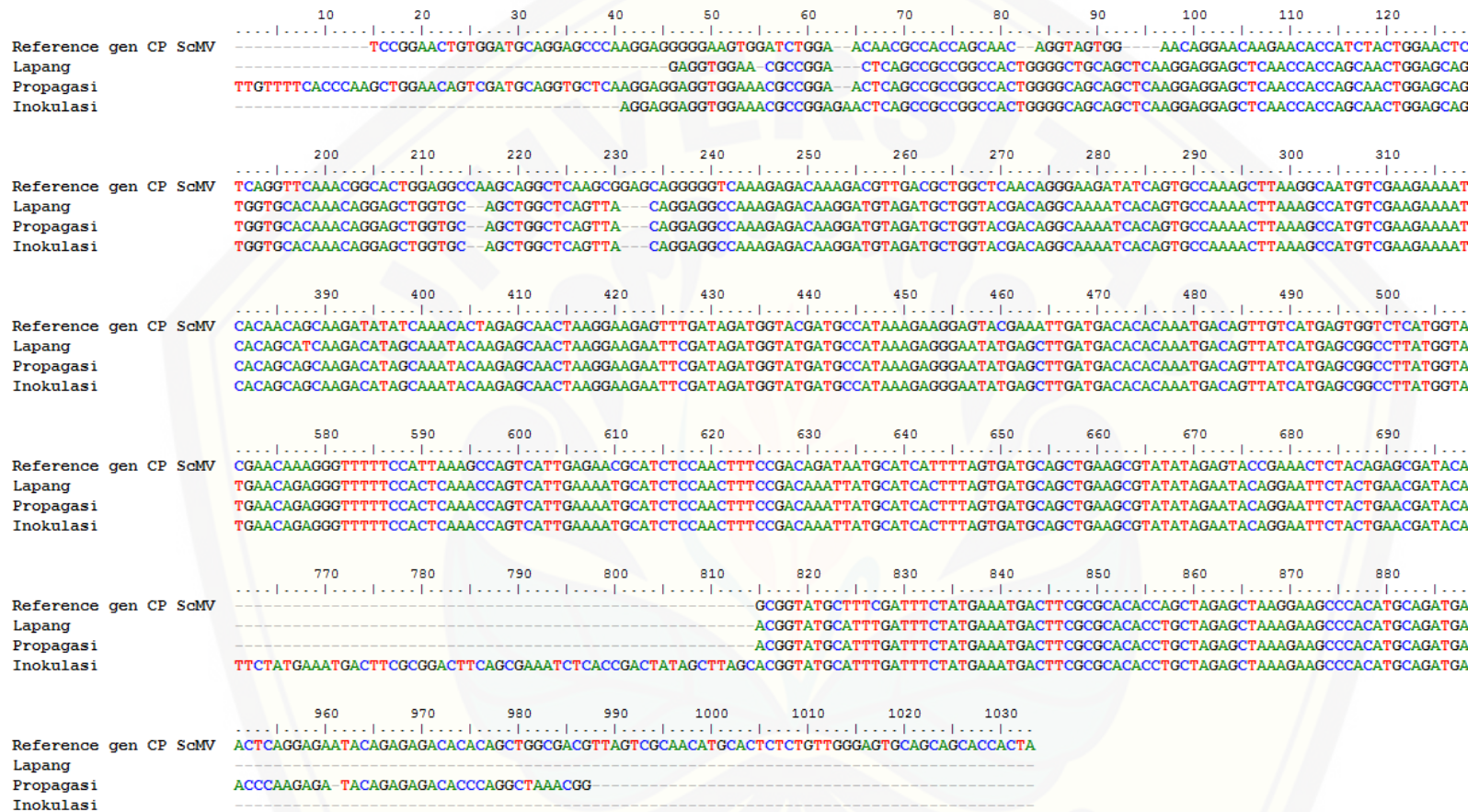
menunjukkan hasil positif. Kondisi tersebut dikenal dengan istilah infeksi laten (*latent infection*).

#### 4.4 Analisis sekuens DNA

Berdasarkan hasil pembacaan urutan nukleotida pita DNA hasil RT-PCR, diperoleh sekuensi yang ukurannya bervariasi yang berkisar 804 nt dari sampel tebu di lapang hingga 906 nt dari sampel hasil propagasi (Lampiran C). Sebanyak 710 nukleotida dari masing-masing sampel (tanaman di lapang, tanaman propagasi, dan tanaman uji tular) berhasil dipilih berdasarkan analisa pensejajaran berganda (*multiple alignment*) menggunakan Clustal W (Hall, 2013) untuk digunakan sebagai sekuensi DNA untuk analisa homologi menggunakan BLAST (Hall, 2013) (Gambar 4.6).

Hasil menunjukkan bahwa ketiga sekuensi DNA yang diamplifikasi menggunakan pasangan primer CP-ScMV memiliki kesamaan dengan virus *Sugarcane Mosaic Virus* dengan sekuensi tercover sekitar 99%, keidentikan sekuensi mencapai 91% serta nilai E-value sebesar 0,0 (Tabel 4.2). Hal ini menunjukkan bahwa sekuensi DNA dari sampel yang dianalisa merupakan sekuensi virus ScMV terutama pada bagian *coat-protein*.

Penggunaan sekuensi mantel protein (*coat protein*) virus untuk identifikasi telah banyak dilakukan untuk mengetahui taksonomi suatu virus. Hal serupa juga dilakukan pada beberapa virus seperti pada *Yellow Mosaic Virus* (YMV) pada tanaman kacang (Maheshwari *et al.*, 2014). Begitu juga penelitian yang dilakukan oleh Bedoya dan Rojas (2012) mendeteksi ScMV yang menginfeksi tebu di Meksiko berdasarkan sekuensi gen penyandi *coat protein*. Selain itu, gen yang menyandi *coat protein* digunakan sebagai pendeteksi karena spesifik disetiap anggota kelompok Potyvirus dan dijadikan pembeda antara virus lain (Mohammadi dan Hajieghrari, 2009).



Gambar 4.6 Multiple alignment clustal W dari ketiga sekuens diduga gen cp ScMV

Tabel 4.2 Analisis bioinformatika sekuens gen CP yang diduga ScMV pada BLAST-NCBI

Asal Sekuens	<i>Accession Number</i>	<i>Query Cover</i>	<i>Identity</i>	<i>E-Value</i>	Isolat Homolog
Lapang	EU196453.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7B polyprotein gene
	EU196452.1	99 %	91 %	0,0	<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7A polyprotein gene
	EU196423.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-1C polyprotein gene
Propagasi	EU196453.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7B polyprotein gene
	EU196452.1	99 %	91 %	0,0	<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7A polyprotein gene
	EU196423.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-1C polyprotein gene
Inokulasi ulang (Uji Tular)	EU196453.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7B polyprotein gene
	EU196452.1	99 %	91 %	0,0	<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-7A polyprotein gene
	EU196423.1				<i>Sugarcane Mosaic Virus</i> isolate TUC-1C polyprotein gene

**Keterangan:***Accession Number* : Nomer akses gen pada *database* di NCBI*Query Cover* : tingkat*Identity* : tingkat kemiripan sekuens*E-Value* : nilai kebetulan (*random chance*) artinya seberapa nilai kemiripan sekuens yang terjadi secara kebetulan, semakin kecil nilai *E-Value* semakin signifikan kemiripan kedua sekuens.

ARG : Argentina

TUC : Tucuman, Argentina

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penyakit mosaik pada tebu disebabkan oleh virus karena dapat ditularkan pada tanaman lain (tebu dan sorgum). Gejala pada tanaman tebu dan sorgum baik tebu lapang, hasil propagasi (sorgum var.Numbu), dan hasil uji tular/inokulasi ulang (tebu dan sorgum) berupa garis hijau muda/ kuning dan hijau tua berseling. Hasil uji tular/inokulasi ulang ditunjukkan dengan tingkat keparahan yaitu pada sorgum lebih besar berkisar 25-72,19% dibandingkan tebu dengan persen gejala 0-26,67%.

Hasil deteksi dari penyakit mosaik tersebut dengan metode RT-PCR menggunakan pasangan primer gen *coat protein* ScMV berhasil teramplifikasi pita DNA berukuran berkisar 900 bp. Hal ini dipastikan dengan analisis sekuens pada BLAST-NCBI didapatkan bahwa band DNA yang berukuran berkisar 900 bp memiliki kesamaan dengan virus *Sugarcane Mosaic Virus* dengan sekuensi tercover sekitar 99%, keidentikan sekuens mencapai 91% serta nilai E-value sebesar 0,0. Hal ini menunjukkan bahwa sekuensi DNA dari sampel yang dianalisa merupakan sekuensi virus ScMV terutama pada bagian *coat-protein*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan:

1. Penggunaan tanaman tebu bebas virus yang berasal dari kultur jaringan dan bibit sorgum yang tersertifikasi untuk dilakukan uji tular.
2. Sumber virus yang akan diinokulasi tidak hanya dari satu varietas tebu tetapi dari masing-masing lokasi yang disurvei, sehingga dapat diketahui tingkat persebaran penyakit mosaik akibat ScMV.
3. Jika telah terdeteksi adanya serangan infeksi ScMV di kebun tebu maka segera dilakukan pembongkaran karena visus ini sangat cepat penyebarannya.



## DAFTAR PUSTAKA

- Akin, M.H. 2006. *Virologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius
- Andriani, M., Ermavitalini, D., dan Nurmalasari. 2013. Eliminasi Sugarcane Mosaic Virus Melalui Kemoterapi pada Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI-2T Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(2): 2337-3520.
- Antwerpen, T. dan Rutherford, R.S. 2008. Increased risk of new virus infection in the South African sugarcane industry: Preparing For The Future. *Proc S Afr Techno Ass.*, (81): 365-380.
- Balarabe, D.D., Adama, Y., Azmat, K.U.U., and Aisha, Z.M. 2014. Identification of virus isolates inducing mosaic of sugarcane in makarfi local government area of Kaduna State, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 13(12):1351-1357.
- Bedoya, G.C. dan Rojas L.Y.O. 2012. Evidence of different phylogenetic origins of two mexican sugarcane mosaic virus (ScMV) isolates. *Acta Agronómica*, 61(1): 77-84.
- Bos, L. 1994. *Introduction To Plant Virology. Prngantar Virology Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Damayanti, T.A. dan Putra, L.K. 2012. Preparasi RNA virus mosaik bergaris dari tanaman tebu menggunakan metode tabung PCR. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 8(1): 22-27.
- Gaffar, S. 2007. *Penggunaan PCR (Polimerase Chain Reaction) untuk Deteksi Retrovirus HTLV (Human T-Cell Lymphotropic Virus)*. Yogyakarta: FMIPA Universitas Padjadjaran.
- Gambley, C.F., Thomas, J. E., Magnaye, L.V., dan Herradura, L. 2004. Abaca mosaik virus: a distinct strain of *sugarcane mosaic virus*. *Australasian Plan Pathology*, 33: 475-484.
- Geijskes, R.J. 2003. *Characterisation of An Australian Isolate of Sugarcane Bacilliform Virus*. Queensland Australia: Science Reserch Center Queensland University of Technology



- Green, S.K. 1971. *Guidelines for Diagnostic Work in Plant Virology*. Technical Bulletin No. 15. The Asian Vegetable Research and Development Center.
- Haider, M.S., Afghan, S., Riaz, H., Tahir, M., Javed, M.A., Rashid, N., dan Iqbal, J. 2011. Identification of two sugarcane mosaic virus (SCMV) variants from naturally infected sugarcane crop in Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43(2): 1157-1162.
- Hall, T. 2013. Biological Sequence Alignment Editor For Win 95/98/NT/2K/7. <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>. [diakses mulai tahun 1997-2013]
- Hull, R. 2009. *Comparative Plant Virology*. Second Edition. British: Academic Press Elsevier Inc.
- Johnson, H., Hall, D.H., Claxton, W., dan Ishisaka, W. 1972. *Sugarcane Mosaic Tolerance Virus In Sweet Corn*. California: Agriculture.
- Lockhart, B.E.L., Autrey, L.J.C., dan Comstock, J.C. 1992. Partial purification and serology sugarcane mild mosaic virus A mealybug-transmitted closterolike virus. *Phytopathology*, 82 (6): 691-695.
- Maharlika, F. 2009. *Pengaruh Perlakuan Air Panas Untuk Mengurangi Intensitas SCSMV (Sugarcane streak mosaic virus) pada Bibit Tebu (Saccharum officinarum L.) Varietas PS 864..* Malang: Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Maheshwari, R., Panigrahi, G., dan Angappan, K. 2014. Molecular characterization of distinct YMV (*Yellow Mosaic Virus*) isolates affecting pulses in India with the aid of coat protein gene as a marker for identification. *Mol. Biol. Rep.*, 41(4):2635-2644.
- Mohammadi, M.R. dan Hajieghrari, B. 2009. Sugarcane mosaic virus: the causal agent of mosaic disease on sorghum (*Sorghum bicolor* L.) In Tehran Province of Iran. *African Journal of Biotechnology*, 8 (20): 5271-5274.
- Muis, A. 2002. Sugarcane Mosaic Virus (ScMV) penyebab penyakit mosaik pada tanaman jagung Sulawesi. *Jurnal Litbang Pertanian*, 21(2): 64-68.
- Nurhayati. 2012. *Virus Penyebab Penyakit Tanaman*. Sumatra Selatan: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya
- Pramarta, I.G.R. 2014. *Identifikasi Spesies Potyvirus Penyebab Penyakit Mosaik Pada Tanaman Cabai Rawit (Capsicum frutescens L.) Melalui Sikuen Nukleotida Gen Coat Protein*. Tesis. Denpasar: Universitas Udayana.

- PutraL, K., Kristini, A., Achadian, E.M., dan Damayanti, T.A. 2013. Widespread occurrence of sugarcane streak mosaic virus in Indonesia, ITS biological characterisation, yield losses and method of control. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol* 28:1-12.
- Rustam, Y.H. 2010. *6 Faktor penting dalam Reverse Transcriptase PCR* [On line]. Biotechnology. <http://sciencebiotech.net/6-faktor-penting-dalam-reverse-transcriptase-pcr/>. Diakses 25, 2010 at 9:06 am
- Santos, C.S., Sakai, V.T., Machado, M.A., Schipper, D.N., dan Greeni, A.S.G. 2004. Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. *J Appl Oral Sci*, 12 (1): 1-11.
- Shukla, D.D., Tomic, M., Jilka, J., Ford, R.E., Toler, R.W., dan Langham, M.A.C. 1989. Taxonomy of potyviruses infecting maize, sorghum, and sugarcane in Australia and The United States as determined by reactivitise of polyclonal antybodyes directed towards virus-spesific N-terminal of coat proteins. *Phytopathology*, 79(2): 223-229.
- Spetz, C. 2003. *Molecular Studies on a Complex of Potyviruses Infecting Solanaceous Crops, and Some Specific Virus-Host Interactions*. Thesis. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Sugarcane Breeding Institute. 2007. *Major Viral Deseases Affecting Sugarcane Production In India*. Indian: Indian Council of Agricultural Research Coimbatore.
- Wijayani, A. dan Indradewa, D. 2004. Deteksi kahat hara N, P, K, Mg dan Ca pada tanaman bunga matahari dengan sistem hidroponik. *Agrosains* 6, 6(1):1-4.
- Yasa, I.N.D., Sudiarta, I.P., Wirya, I.G.N.A.S., Sumiartha, K., Utama, I.M.S., Luther, G.C., dan Maryono, J. 2012. Kajian ketahanan terhadap penyakit busuk daun (*phytophthora infestans*) pada beberapa galur tomat. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 1(2): 154-161.
- Ye, C., Jiong C. dan Jianping, C. 2002. The complete sequence of a sugarcane mosaic virus isolate causing maize dwarf mosaic disease in China. *Science In China*, 45(3): 324-330.
- Yuan, L., Duple, C.M., Melchinger, A.E., Utz, H.F., dan Lubberstedt, T. 2003. Clustering of QTL conferring ScMV resisten in Maizen. *Maidica*, (48): 55-62.

## LAMPIRAN

Lampiran A Uraian persen indeks keparahan gejala mosaik hasil inokulasi ulang pada sorgum dan tebu

A.1a Tabel persentase indeks keparahan gejala mosaik pada tanaman sorgum

Hari ke- .. Setelah Inokulasi	Sorgum var.Numbu (%)			Rata- rata	S	Sorgum var.Kawali (%)			Rata- rata	S
	I	II	III			I	II	III		
	7 hari	16,67	70,83			75	54,17	32,54		
14 hari	50	66,67	66,67	61,11	9,62	45,83	45,83	58,33	50	7,22
21 hari	50	75	91,57	72,19	20,93	50	75	70,83	65,28	13,39
28 hari	50	50	70,83	56,94	12,03	41,67	75	70,83	62,50	18,16
35 hari	50	75	75	66,67	14,43	45,83	75	70,83	63,89	15,78
42 hari	50	75	75	66,67	14,43	50	75	50,83	58,61	14,20

A.1b Tabel hasil transformasi data indeks keparahan gejala mosaik pada sorgum menggunakan akar kuadrat

Hari ke- .. Setelah Inokulasi	Sorgum var.Numbu (%)			Rata- rata	S	Sorgum var.Kawali (%)			Rata- rata	S
	I	II	III			I	II	III		
	7 hari	4,14	8,45			8,69	7,09	2,56		
14 hari	7,11	8,20	8,20	7,83	0,63	6,81	6,81	7,67	7,09	0,50
21 hari	7,11	8,69	9,60	8,46	1,26	7,11	8,69	8,45	8,08	0,85
28 hari	7,11	7,11	8,45	7,55	0,77	6,49	8,69	8,45	7,88	1,20
35 hari	7,11	8,69	8,69	8,16	0,91	6,81	8,69	8,45	7,98	1,02
42 hari	7,11	8,69	8,69	8,16	0,91	7,11	8,69	7,16	7,65	0,90

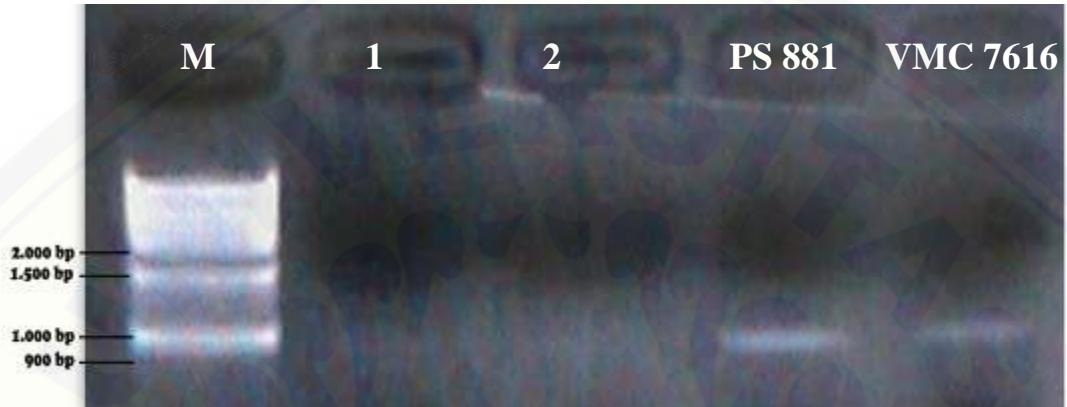
A.2a Tabel tingkat keparahan gejala mosaik tebu

Hari ke- .. Setelah Inokulasi	VMC 7616 (%)		Rata- rata	S	PS 864 (%)		Rata- rata	S
	I	II			I	II		
7 hari	0	10	5	7,07	0	0	0	7,07
14 hari	0	13,33	6,67	9,43	0	0	0	9,43
21 hari	0	16,67	8,33	11,79	0	0	0	11,79
28 hari	0	20	10	14,14	3,33	0	1,67	14,14
35 hari	0	20	10	14,14	16,67	0	8,34	14,14
42 hari	0	26,67	13,3	18,86	46,67	6,67	26,67	18,86

A.1b Tabel hasil transformasi data indeks keparahan gejala mosaik pada tebu menggunakan akar kuadrat

Hari ke- .. Setelah Inokulasi	VMC 7616 (%)		Rata- rata	S	PS 864 (%)		Rata- rata	S
	I	II			I	II		
7 hari	0,71	3,24	1,97	1,79	0,71	0,71	0,71	0,00
14 hari	0,71	3,72	2,21	2,13	0,71	0,71	0,71	0,00
21 hari	0,71	4,14	2,43	2,43	0,71	0,71	0,71	0,00
28 hari	0,71	4,53	2,62	2,70	1,96	1,47	1,72	0,34
35 hari	0,71	4,53	2,62	2,70	4,14	2,97	3,56	0,83
42 hari	0,71	5,21	2,96	3,19	6,87	5,21	6,04	1,17

Lampiran B hasil deteksi RT-PCR varietas PS 864, VMC 7616 (asal lapang), dan tebu kultur jaringan sebagai control



Keterangan: control adalah tanaman tebu bebas virus asal kultur jaringan (label 1 dan 2).



## Lampiran C Sekuens diduga gen coat protein ScMV

Asal Sekuens	Ukuran	Sekuens
Sekuens Gen CP ScMV Lapang (Lapang)	804 nukleotida	<p>GAGGTGGAACGCCGACTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCTGCAGCTCAAGGAGG  AGCTCAACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTT  CACAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAAACAGGAGCT  GGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGTAGATGCTGG  TACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCAAGAAAATGC  GCTTGCCAAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTTAACA  TACAAGCCACAGCATCAAGCATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATT  CGATAGATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAA  TGACAGTTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCA  CCAAACATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTT  TCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGACAAATTATGC  ATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAATTCTACTGAA  CGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTTCTAGCTTAGC  ACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACTGCTAGAGCTA  AAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGCAGCAGTTCGTGGTTCAAACACACGA  CTGTTCCGT</p> <p>TTGTTTTTACCCTAAGCTGGAACAGTCGATGCAGGTGCTCAAGGAGGAGGTGGA  AACGCCGGAECTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCA  ACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACA  CGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAAAACAGGAGCTGGTGCA  GCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGTAGATGCTGGTACGAC  AGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCAAGAAAATGCGCTTGC  CAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTTAACATACAAG  CCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCCGATAG  ATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAG  TTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAC  ATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACT  CAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGACAAATTATGCATCACT  TTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAATTTACTGAACGATAC  ATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTA  TGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAG  CCCACATGCAGATGAAGCCGCAGCAGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGTCGG  TCTGGACGGAAATGTGCGGAGACCCAAGAGATACAGAGAGACACCCAGGCTA  AACGG</p> <p>AGGAGGAGGTGGAACGCCGGAAGCAACTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGC  TCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAA  ATCAAGGTTCAACAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAA  ACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGT  AGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCA  AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTT  CTGTTAACATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAA  GGAAGAATTCGATAGATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATG  ACACACAAATGACAGTTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAAC  GGTTGCTCACCAACATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACA  GAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGAC  AAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAAT  TCTACTGAACGATACATGCCAAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTA  TAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGGACTTCAG  CGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAAT  GACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCG  CAGCAGTTCGTGGT TCAAACACAC GACTGT</p>
Sekuens Gen CP ScMV N1 (Propagasi)	906 nukleotida	<p>TTGTTTTTACCCTAAGCTGGAACAGTCGATGCAGGTGCTCAAGGAGGAGGTGGA  AACGCCGGAECTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCA  ACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACA  CGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAAAACAGGAGCTGGTGCA  GCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGTAGATGCTGGTACGAC  AGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCAAGAAAATGCGCTTGC  CAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTTAACATACAAG  CCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCCGATAG  ATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAG  TTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAC  ATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACT  CAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGACAAATTATGCATCACT  TTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAATTTACTGAACGATAC  ATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTA  TGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAG  CCCACATGCAGATGAAGCCGCAGCAGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGTCGG  TCTGGACGGAAATGTGCGGAGACCCAAGAGATACAGAGAGACACCCAGGCTA  AACGG</p> <p>AGGAGGAGGTGGAACGCCGGAAGCAACTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGC  TCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAA  ATCAAGGTTCAACAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAA  ACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGT  AGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCA  AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTT  CTGTTAACATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAA  GGAAGAATTCGATAGATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATG  ACACACAAATGACAGTTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAAC  GGTTGCTCACCAACATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACA  GAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGAC  AAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAAT  TCTACTGAACGATACATGCCAAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTA  TAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGGACTTCAG  CGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAAT  GACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCG  CAGCAGTTCGTGGT TCAAACACAC GACTGT</p>
Sekuens Gen CP ScMV N2 (Inokulasi)	878 nukleotida	<p>GAGGTGGAACGCCGACTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCTGCAGCTCAAGGAGG  AGCTCAACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTT  CACAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAAACAGGAGCT  GGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGTAGATGCTGG  TACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCAAGAAAATGC  GCTTGCCAAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTTAACA  TACAAGCCACAGCATCAAGCATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATT  CGATAGATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAA  TGACAGTTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCA  CCAAACATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTT  TCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGACAAATTATGC  ATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAATTCTACTGAA  CGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTTCTAGCTTAGC  ACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACTGCTAGAGCTA  AAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGCAGCAGTTCGTGGTTCAAACACACGA  CTGTTCCGT</p> <p>TTGTTTTTACCCTAAGCTGGAACAGTCGATGCAGGTGCTCAAGGAGGAGGTGGA  AACGCCGGAECTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCA  ACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACA  CGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAAAACAGGAGCTGGTGCA  GCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGTAGATGCTGGTACGAC  AGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCAAGAAAATGCGCTTGC  CAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTTAACATACAAG  CCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCCGATAG  ATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAG  TTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAC  ATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACT  CAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGACAAATTATGCATCACT  TTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAATTTACTGAACGATAC  ATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTA  TGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAG  CCCACATGCAGATGAAGCCGCAGCAGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGTCGG  TCTGGACGGAAATGTGCGGAGACCCAAGAGATACAGAGAGACACCCAGGCTA  AACGG</p> <p>AGGAGGAGGTGGAACGCCGGAAGCAACTCAGCCGCCGCGCCACTGGGGCAGCAGC  TCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAGCAGCTGCGCAACCACCCGCAA  ATCAAGGTTCAACAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTGGAGGTGGTGCACAA  ACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACAAGGATGT  AGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTGCA  AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTT  CTGTTAACATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAA  GGAAGAATTCGATAGATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATG  ACACACAAATGACAGTTATCATGAGCGGCCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAAC  GGTTGCTCACCAACATAAATGGAAATTTGGACAATGATGGATGGAGATGAACA  GAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATGCATCTCCAACCTTTCCGAC  AAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAGAATACAGGAAT  TCTACTGAACGATACATGCCAAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTA  TAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGGACTTCAG  CGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAAT  GACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCG  CAGCAGTTCGTGGT TCAAACACAC GACTGT</p>

Lampiran D Alignment ketiga sekuens

D.1 Tabel Alignment sekuens gen CP ScMV lapang dan hasil propagasi

Query Cover	Accession Number	Identity	E-Value
100 %	231213	99 %	0.0
Query 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCTGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG		60
Sbjct 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG		60
Query 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCCAAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG		120
Sbjct 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCCAAACCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG		120
Query 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA		180
Sbjct 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA		180
Query 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCAGAGTCCAAAACCTAAAGCCATGTCGA		240
Sbjct 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCAGAGTCCAAAACCTAAAGCCATGTCGA		240
Query 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA		300
Sbjct 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA		300
Query 301	CATACAAGCCACAGCATCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCGATA		360
Sbjct 301	CATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCGATA		360
Query 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA		420
Sbjct 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA		420
Query 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAACATAAATGGAAATT		480
Sbjct 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAACATAAATGGAAATT		480
Query 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG		540
Sbjct 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG		540
Query 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG		600
Sbjct 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG		600
Query 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG		660
Sbjct 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG		660
Query 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACCTGCTA		720
Sbjct 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCGCACACCTGCTA		720
Query 721	GAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGACAGTTCGTGGTTCAAACACACGAC		780
Sbjct 721	GAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATG-AAGCCGACAGTTCGTGGTTCAAACACACGAC		779
Query 781	TGT 783		
Sbjct 780	TGT 782		

D.2 Tabel Alignment sekuens gen CP ScMV lapang dan hasil uji tular (inokulasi ulang)

Query Cover	Accession Number	Identity	E-Value
100 %	175425	99 %	0.0
Query 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCTGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG		60
Sbjct 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG		60
Query 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACCCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG		120
Sbjct 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACCCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG		120
Query 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA		180
Sbjct 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA		180
Query 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTCTGA		240
Sbjct 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTCTGA		240
Query 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA		300
Sbjct 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA		300
Query 301	CATACAAGCCACAGCATCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTGATA		360
Sbjct 301	CATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTGATA		360
Query 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA		420
Sbjct 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA		420
Query 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAACATAAATGGAAATT		480
Sbjct 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAAACATAAATGGAAATT		480
Query 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG		540
Sbjct 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG		540
Query 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG		600
Sbjct 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATTATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG		600
Query 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG		660
Sbjct 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG		660
Query 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCG 709		
Sbjct 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCG 709		

Query Cover	Accession Number	Identity	E-Value
100%	175425	100%	0.0
Query 638	CGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGA		697
Sbjct 708	CGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGA		767
Query 698	AATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGACG		757
Sbjct 768	AATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGACG		827
Query 758	AGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGT 783		
Sbjct 828	AGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGT 853		

D.3 Tabel Sekuens gen CP ScMV hasil propagasi dan hasil uji tular (inokulasi ulang)

Query Cover	Accession Number	Identity	E-Value
100%	44625	100%	0.0
Query 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG	60	
Sbjct 1	CTCAGCCGCCGGCCACTGGGGCAGCAGCTCAAGGAGGAGCTCAACCACCAGCAACTGGAG	60	
Query 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACCCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG	120	
Sbjct 61	CAGCTGCGCAACCACCCGCAAATCAAGGTTCAACCCGCCACAGGAGGAGCTACTGGTG	120	
Query 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA	180	
Sbjct 121	GAGGTGGTGCACAAACAGGAGCTGGTGCAGCTGGCTCAGTTACAGGAGGCCAAAGAGACA	180	
Query 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTCTGA	240	
Sbjct 181	AGGATGTAGATGCTGGTACGACAGGCAAAATCACAGTGCCAAAACCTAAAGCCATGTCTGA	240	
Query 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA	300	
Sbjct 241	AGAAAATGCGCTTGCCAAAAGCAAAGGAAAAGATGTTTTGCATCTGGACTTTCTGTAA	300	
Query 301	CATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCGATA	360	
Sbjct 301	CATACAAGCCACAGCAGCAAGACATAGCAAATACAAGAGCAACTAAGGAAGAATTCGATA	360	
Query 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA	420	
Sbjct 361	GATGGTATGATGCCATAAAGAGGGAATATGAGCTTGATGACACACAAATGACAGTTATCA	420	
Query 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAACATAAATGGAAAT	480	
Sbjct 421	TGAGCGGCCTTATGGTATGGTGTATTGAGAACGGTTGCTCACCAACATAAATGGAAAT	480	
Query 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG	540	
Sbjct 481	GGACAATGATGGATGGAGATGAACAGAGGGTTTTTCCACTCAAACCAGTCATTGAAAATG	540	
Query 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG	600	
Sbjct 541	CATCTCCAACCTTCCGACAAATATGCATCACTTTAGTGATGCAGCTGAAGCGTATATAG	600	
Query 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG	660	
Sbjct 601	AATACAGGAATTCTACTGAACGATACATGCCAAGATACGGACTTCAGCGAAATCTCACCG	660	
Query 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCG 709	709	
Sbjct 661	ACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGAAATGACTTCGCG 709	709	

Query Cover	Accession Number	Identity	E-Value
100%	44625	100%	0.0
Query 638	CGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGA	697	
Sbjct 708	CGGACTTCAGCGAAATCTCACCGACTATAGCTTAGCACGGTATGCATTTGATTTCTATGA	767	
Query 698	AATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATG-AAGCCGCAGC	756	
Sbjct 768	AATGACTTCGCGCACACCTGCTAGAGCTAAAGAAGCCACATGCAGATGAAAGCCGCAGC	827	
Query 757	AGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGT 782	782	
Sbjct 828	AGTTCGTGGTTCAAACACACGACTGT 853	853	