



**DETEKSI *SUGARCANE MOSAIC VIRUS* (SCMV) PADA
VARIETAS TEBU (*Saccharum officinarum* L.)
MENGUNAKAN METODE *ENZYME
LINKED IMMUNOSORBENT
ASSAY* (ELISA)**

SKRIPSI

Oleh

**Narita Ayu Maharani
NIM 101810401003**

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



**DETEKSI *SUGARCANE MOSAIC VIRUS* (SCMV) PADA
VARIETAS *TEBU* (*Saccharum officinarum* L.)
MENGUNAKAN METODE *ENZYME
LINKED IMMUNOSORBENT
ASSAY* (ELISA)**

SKRIPSI

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

Oleh

**Narita Ayu Maharani
NIM 101810401003**

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

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah, dan segala kerendahan hati, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Suryani Titik Widiyati dan Ayahanda Alm. Mustofa, yang senantiasa mencurahkan kasih sayang, semangat, perhatian, pengorbanan serta dengan ikhlas mendidik dan merawatku;
2. Alyanto, Henik Ermawati dan Abu Bakar Revano atas motivasi yang tak terhingga;
3. guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater tercinta Universitas Jember yang saya cintai dan banggakan.

MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(QS. Al Mujadalah:11)*

“Dunia akan menjatuhkanku berkali-kali, tapi aku selalu punya alasan untuk bangkit berdiri atau diam terinjak dibawah”

(Narita Ayu Maharani)

* CV Diponegoro. 2000. *Al Quran dan Terjemahannya*. Bandung: Diponegoro

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Narita Ayu Maharani

NIM : 101810401003

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)* Pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum L.*) Menggunakan Metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Penelitian ini dibiayai oleh Kementerian RISTEK atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr., Sc.**

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Januari 2015

Yang menyatakan,

Narita Ayu Maharani

NIM. 101810401003

SKRIPSI

**DETEKSI SUGARCANE MOSAIC VIRUS (SCMV) PADA
VARIETAS TEBU (*Saccharum officinarum* L.)
MENGUNAKAN METODE ENZYME
LINKED IMMUNOSORBENT
ASSAY (ELISA)**

Oleh

**Narita Ayu Maharani
NIM 101810401003**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Hardian Susilo Addy, SP., MP., Ph.D

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) Pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan Metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

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

Hardian Susilo Addy SP., MP., Ph.D
NIP: 198011092005011001

Anggota

Penguji I,

Penguji II,

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP 196008161989021001

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP 196404171991032001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus (Scmv)* Pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum L.*) Menggunakan Metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*; Narita Ayu Maharani; 101810401003; 2014; Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyakit utama dalam budidaya tebu, salah satunya diakibatkan oleh serangan virus adalah penyakit mosaik. Penyakit mosaik pada tebu disebabkan oleh infeksi virus *Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)* dari genus *Potyvirus*. Tanaman tebu yang terinfeksi SCMV menunjukkan gejala timbulnya bercak-bercak memanjang berwarna hijau muda terutama pada daun yang masih muda, sedangkan batang tanaman tebu nampak adanya garis-garis putih yang tidak teratur. Infeksi SCMV pada daun tanaman tebu pada varietas yang rentan pada tingkat serangan 50 %, mengakibatkan kerusakan klorofil sehingga menurunkan produktivitas sampai dengan 42 %.

Deteksi dan identifikasi SCMV pada jaringan tanaman dapat dilakukan dengan beberapa teknik antara lain deteksi menggunakan metode RT-PCR, berdasarkan gejala dan kisaran inang tanaman, dan berdasarkan teknik serologis. Deteksi melalui gejala dan kisaran inang ini bertujuan untuk mengamati keragaman gejala infeksi yang ditimbulkan oleh infeksi virus menggunakan perbandingan antara tanaman indikator dan virus standar. Salah satu teknik serologis yang digunakan untuk deteksi virus SCMV adalah *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Divisi Biologi Molekuler dan Bioteknologi, CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) dan *Green House* Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, pada bulan April sampai Desember 2014. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ciri morfologi tanaman tebu yang terinfeksi SCMV dan hasil deteksi virus SCMV pada tebu dengan teknik ELISA. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu eksplorasi tanaman tebu dengan gejala mosaik,

propagasi dan uji tular tanaman inang, pengamatan morfologi tanaman uji, dan uji serologi dengan DAS-ELISA.

Empat varietas tebu bergejala mosaik yang diperoleh dari observasi lapang, diuji tularkan pada tanaman Jagung dan Tebu. Uji tular dilakukan sebagai konfirmasi dari patogen penyebab penyakit pada tanaman tebu. Hasil uji tular menunjukkan bahwa gejala morfologi yang ditimbulkan baik pada tanaman propagasi maupun tanaman uji memiliki kemiripan dengan gejala morfologi pada tanaman lapang. Konfirmasi DAS-ELISA dilakukan terhadap tanaman lapang, propagasi, dan uji tular. Hasil konfirmasi menunjukkan bahwa 4 varietas Tebu yang diperoleh dari lapang menunjukkan reaksi positif terhadap anti SCMV dengan rata-rata nilai absorban tertinggi yaitu 1.583, sedangkan pada tanaman propagasi menunjukkan reaksi negatif dengan nilai absorban dibawah nilai *cut off*. Selain itu pada tanaman uji dilakukan dua uji konfirmasi DAS- ELISA yaitu *pra* infeksi dan *post* infeksi. Hasil konfirmasi *pra* infeksi menunjukkan bahwa keseluruhan tanaman yang akan diinokulasikan, tidak mengandung partikel virus SCMV sebab beraksi negatif terhadap antibodi SCMV. Sedangkan pada analisa *post* infeksi menunjukkan bahwa 5 varietas dari 6 varietas tanaman uji yang digunakan memberikan reaksi negatif, dan 1 varietas bereaksi positif terhadap antibodi SCMV dengan nilai absorban rata-rata yaitu 0.165.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayahnya. Sholawat dan salam semoga selalu tercurah pada suri tauladan kita Nabi Muhammad SAW. Dengan mengucapkan Alhamdulillahirrobbilalamin atas limpahan rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus (Scmv)* Pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum L.*) Menggunakan Metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*””. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna meraih gelar sarjana (S1) pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.**

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

1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku dosen pembimbing utama sekaligus dosen pembimbing akademik dan Hardian Susilo Addy SP., MP., Ph.D selaku dosen pembimbing anggota dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran, maupun bimbingan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini;
2. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku dosen penguji I dan Dra. Dwi Setyati M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan penelitian ini;
3. kedua orangtuaku, Ayahku Alm. Mustofa dan ibuku Suryani Titik Widiyati, paman Alyanto, tante Henik Ermawati dan adikku Abu Bakar Revano yang dengan sabar dan ketulusan hati mencurahkan cinta kasih sayangnya dan dukungan berupa materi maupun semangat dan doa selama penulis menempuh studi dan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Purnama Okviandari, S.P, M.P., Arsetyo Rahardianto, S.Si, Ken Melati dan rekan-rekan kerja; Laily, Firdha, Qoyyim, Fragaria, Kunti, Derta, Halimah, Nurul, Nana, Putri, Almansyah, Wardha, Ahmil beserta para seniorku Fadrian

Ramadhan, S.P, Novita Berliana, S.Si, Wimbuh Tri Widodo, S.Si, serta adik-adik (Wulan, Rian, Retna) yang telah memberikan masukan dan semangat kepada penulis selama menjalankan tugas akhir;

5. keluarga besar BOLU (Biologi 2010) dan Wisma Pervokma yang telah banyak memberikan motivasi dan warna hidup kepada penulis.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Jember, Januari 2015
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	2
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Virus pada Tanaman Tebu.....	4
2.1.1 Virus Mosaik (SCMV)	4
2.1.2 Virus Mosaik Bergaris (SCSMV)	7
2.2 Gejala Penyakit Mosaik	8
2.3 Identifikasi Virus	9
2.3.1 Identifikasi Berdasarkan Gejala dan Kisaran Inang	10
2.3.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	11

BAB 3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Alur Penelitian	15
3.4 Prosedur Penelitian	16
3.4.1 Eksplorasi Tanaman tebu yang Terinfeksi Penyakit Mosaik Di 3 Lokasi PG	16
3.4.2 Propagasi dan Uji Tular Kisaran Inang	16
3.4.3 Pengamatan Morfologi Tanaman Uji	17
3.4.4 Uji Serologi dengan DAS-ELISA	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Morfologi Gejala Mosaik	20
4.1.1 Gejala Mosaik pada Tebu di Tiga Lokasi Pabrik Gula	20
4.1.2 Morfologi Gejala Mosaik pada Tanaman Propagasi dan Uji	21
4.2 Analisa Coat Protein (Protein mantel) menggunakan metode DAS- ELISA	28
BAB 5. PENUTUP	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

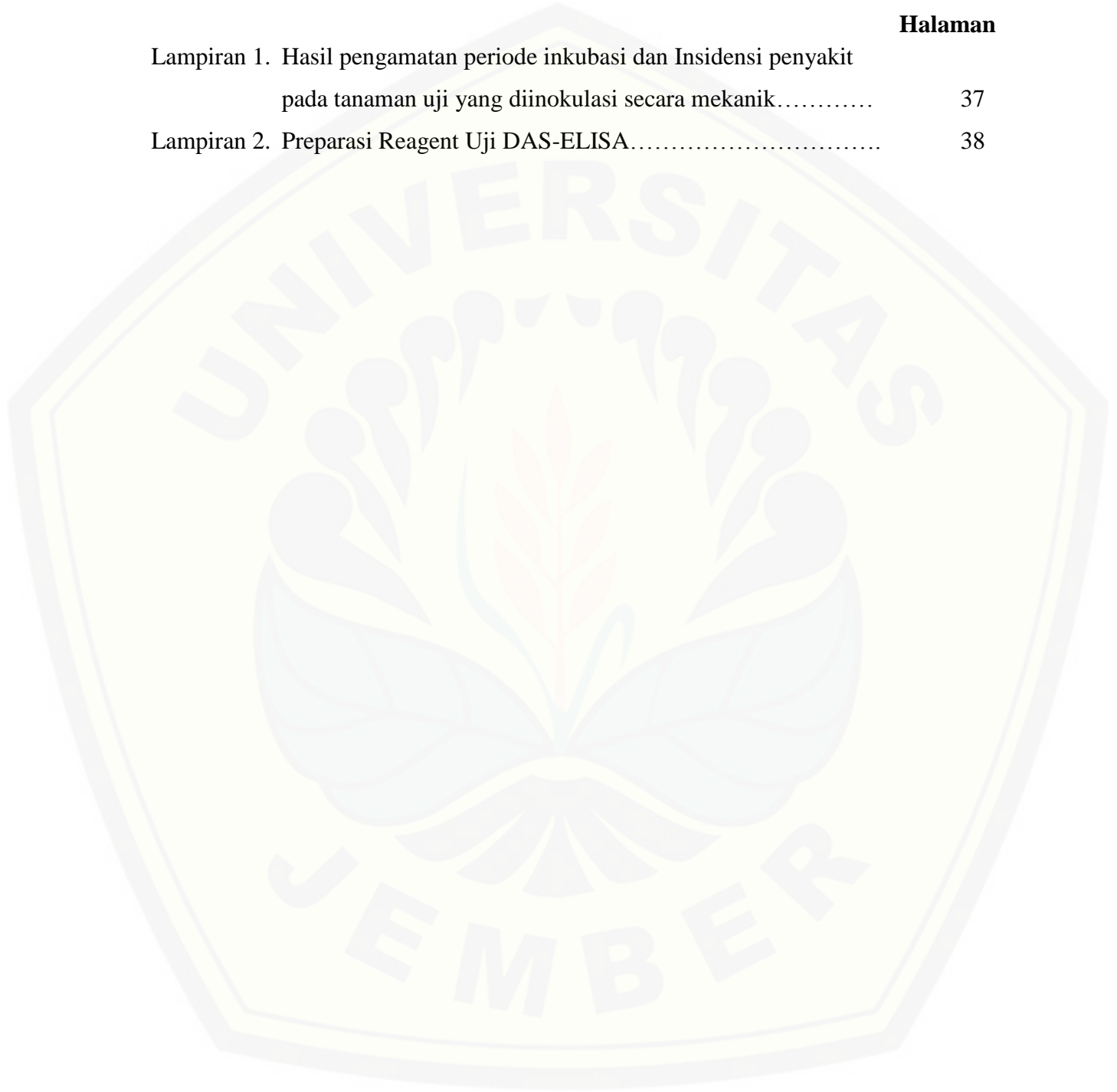
	Halaman
4.1 Perkembangan Gejala Mosaik pada Tanaman Uji.....	24
4.2 Uji DAS-ELISA pada Tanaman Lapang	28
4.3 Uji DAS-ELISA pada Tanaman Propagasi	29
4.4 Uji DAS-ELISA pada Tanaman Uji Pra infeksi.....	30
4.5 Uji DAS-ELISA pada Tanaman Uji Post Infeksi	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bentuk dan panjang Partikel virus SCMV	4
2.2 Berat Molekul Asam Nukleat Virus SCMV dengan Analisa RT-PCR .	5
2.3 Ukuran Protein Mantel Virus dengan Analisa SDS -PAGE.....	5
2.4 Tahapan Replikasi Virus.....	6
2.5 Berat Molekul Asam Nukleat Virus SCSMV dengan Analisa RT-PCR	7
2.6 Gejala Mosaik pada Daun tebu.....	9
2.7 Tahapan dalam Uji DAS-ELISA	13
4.1 Varietas Tebu Asal Lapang dengan Gejala Mosaik	20
4.2 Jagung Var. Lamuru dengan Gejala Mosaik	22
4.3 Daun Muda yang Masih Menggulung 3 varietas jagung.....	25
4.3 Insidensi Penyakit pada Tanaman Uji	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil pengamatan periode inkubasi dan Insidensi penyakit pada tanaman uji yang diinokulasi secara mekanik.....	37
Lampiran 2. Preparasi Reagent Uji DAS-ELISA.....	38



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit utama dalam budidaya tanaman tebu adalah penyakit yang menginfeksi daun tanaman tebu disebabkan oleh infeksi virus. Infeksi dari virus ini mampu menurunkan produktivitas tanaman tebu dengan cara mempengaruhi laju fotosintesis (Akin, 2006). Salah satu penyakit yang menginfeksi tanaman tebu akibat serangan virus adalah penyakit mosaik. Penyakit mosaik pada tebu merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) dari genus *Potyvirus* (Hull, 2009). Penyakit akibat infeksi virus ini menular secara luas di lahan pertanaman tebu melalui tiga mekanisme utama penularan. Termasuk melalui vektor serangga dari golongan aphid (Ricaud *et al.*, 1989)

Tanaman tebu yang terinfeksi SCMV menunjukkan gejala timbulnya bercak-bercak memanjang berwarna hijau muda terutama pada daun yang masih muda, sedangkan batang tanaman tebu nampak adanya garis-garis putih yang tidak teratur (Semangun, 1988). Infeksi SCMV pada daun tanaman tebu, mengakibatkan kerusakan klorofil sehingga menyebabkan penurunan produktivitas sampai dengan 42 %, pada varietas yang rentan pada tingkat serangan 50 % (Goodman *et al.*, 1998; Handojo, 1982).

Identifikasi virus berdasarkan gejala morfologi yang tampak belum cukup untuk menentukan virus penyebab penyakit. Hal ini disebabkan infeksi virus yang berbeda dapat menimbulkan gejala yang hampir sama ketika ada di lahan, sehingga pengujian lanjutan perlu dilakukan (Akin, 2006). Deteksi dan identifikasi SCMV dapat dilakukan dengan beberapa teknik antara lain identifikasi menggunakan metode RT-PCR, berdasarkan gejala dan kisaran inang tanaman, dan berdasarkan teknik serologis (Wahyuni, 2005).

Identifikasi melalui gejala dan kisaran inang ini bertujuan untuk mengamati keragaman gejala infeksi yang ditimbulkan oleh infeksi virus melalui perbandingan antara tanaman indikator dan virus standar (Wahyuni, 2005). Hal ini disebabkan setiap virus mempunyai kisaran inang berbeda sehingga menimbulkan gejala morfologi yang khas pada tanaman inangnya. Salah satu teknik serologis yang digunakan untuk deteksi virus SCMV adalah *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), yaitu teknik deteksi serologis berdasarkan reaksi spesifik antara antigen dan antibodi. Kelebihan dari teknik ELISA adalah mampu mendeteksi virus pada konsentrasi rendah dalam hal ini DAS ELISA dapat mendeteksi virus dengan konsentrasi 1-10 ng/ml (Crook dan Christopher, 1980), dapat diaplikasikan pada sampel pengujian dalam jumlah besar dan efisien, serta penggunaan antibodi dalam jumlah sedikit (Departemen Pertanian, 2009).

1.2 Rumusan Masalah

Upaya deteksi dan identifikasi virus yang menginfeksi tanaman tebu sangat penting dilakukan. Hal ini disebabkan infeksi virus dapat menyebabkan penurunan rendemen sukrosa. Bagaimanakah ciri morfologi tanaman tebu yang terinfeksi SCMV? Bagaimana hasil deteksi virus SCMV pada tebu dengan teknik ELISA?

1.3 Batasan Masalah

Teknik deteksi dan identifikasi yang dilakukan untuk mendeteksi virus SCMV dengan deteksi serologis menggunakan *Double Antibody Sandwich ELISA*. Uji tular dilakukan berdasarkan gejala dan kisaran inang infeksi virus SCMV menggunakan tanaman jagung dan tebu sebagai tanaman uji.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui ciri morfologi tanaman tebu yang terinfeksi SCMV dan hasil deteksi virus SCMV pada tebu dengan teknik ELISA.

1.5 Manfaat

Data yang diperoleh diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi masyarakat secara luas, khususnya petani tebu berkaitan dengan varietas-varietas tebu rentan dan toleran terhadap serangan SCMV sehingga petani dapat mencegah penyebaran dan penularan Infeksi SCMV, serta dapat dijadikan acuan untuk penelitian berikutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Virus Pada Tanaman Tebu

2.1.1 Virus Mosaik (SCMV)

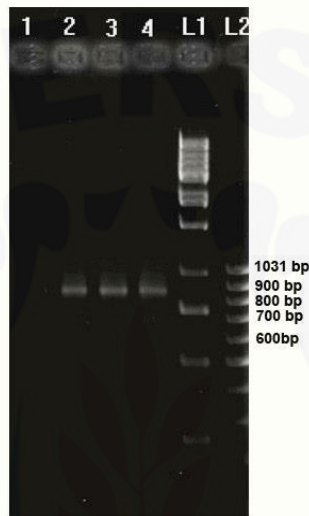
Partikel virus Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) berbentuk batang dengan panjang bervariasi, rata-rata 630 nm x 15 nm (Semangun, 1996). Berdasarkan penelitian Chaves-Bedoya *et. al* (2011) yang melakukan uji tular SCMV pada tanaman jagung diketahui bahwa virus SCMV berbentuk batang lentur (*flexuous rod*). SCMV terdiri dari satu untai RNA *positive sense* yang ujung 3' nya mengalami poliadenilasi, memiliki selubung protein (*coat protein*) berukuran 40 kDa dan berat molekul asam nukleat berdasarkan analisa RT-PCR (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) sebesar 900 bp (Mohammadi dan Behzad, 2009). Secara garis besar penularan infeksi virus SCMV di lahan perkebunan terdiri dari tiga mekanisme penularan yaitu penularan dengan menggunakan vektor berupa serangga, melalui penularan mekanik dan melalui biji (Ricaud *et al.*, 1989).



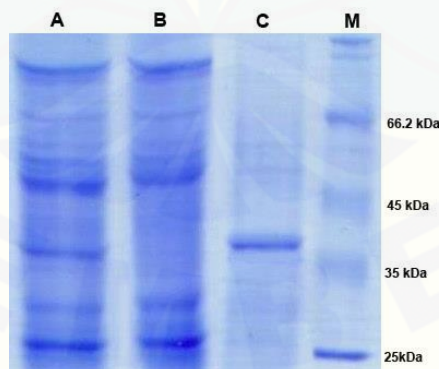
Gambar 2.1. Partikel virus SCMV berbentuk batang lentur (*flexuous rod*) dengan panjang 750 nm (University of Illinois, 1993).

Virus SCMV tergolong dalam kelompok virus yang paling banyak menyerang tanaman yaitu *Potyvirus*. Panjang partikel *Potyvirus* mencapai 700 – 900 nm dengan diameter 11nm, berupa rantai linier dengan bobot molekul 3×10^6 dan panjang genom 9,6-9,8 kb (Wahyuni, 2005), memiliki genom ⁺ssRNA yang dibungkus oleh 2000

monomer protein selubung (*kapsid*) (Akin, 2006). Virus SCMV mempunyai ORF (*open reading frame*) dengan panjang 9,0-9,4 kb untuk menyandi protein berukuran 340-355 kDa, serta virus dari golongan *Potyvirus* menghasilkan badan inklusi yang khas yaitu berbentuk cakram atau beberapa bentuk lainnya (*Pinwheels*) (Wahyuni, 2005).



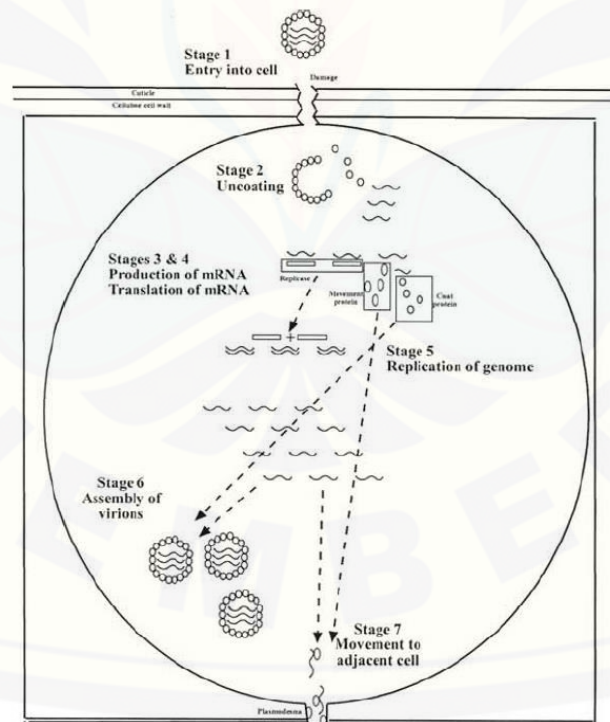
Gambar 2.2. Berat molekul asam nukleat SCMV berdasarkan analisa RT-PCR yang diuji tularikan pada tanaman jagung dan sorgum. Lajur 1, daun sehat tanaman sorgum ; lajur 2, daun sorgum yang terinfeksi SCMV; Lajur 3, daun sorgum cv. Kimia yang terinfeksi SCMV dan lajur 4, daun jagung yang terinfeksi SCMV (Mohammadi dan Behzad, 2009).



Gambar 2.3. Ukuran selubung protein virus SCMV berdasarkan analisa SDS-PAGE. Lajur A, daun sorgum yang terinfeksi SCMV; lajur B, daun sorgum tanaman sehat; Lajur C, *coat protein* virus SCMV dan lajur M, adalah marker atau penanda (Mohammadi dan Behzad, 2009).

Replikasi virus yang mempunyai genom $^{+}$ ssRNA terjadi melalui beberapa tahap, yaitu 1) virus masuk ke dalam sitoplasma tanaman inang, 2) komponen virus akan terpisah antara selubung protein (*coat protein*) dan asam nukleat, 3) RNA virus bergabung dengan ribosom tanaman inang dan sintesis polimerase untuk replikasi RNA, sehingga dihasilkan untai negatif RNA, 4) sintesis untai RNA positif dan mRNA protein selubung menggunakan untai RNA negatif sebagai cetaknya, 5) pembentukan subunit protein selubung dalam jumlah besar, dan 6) virion terbentuk melalui penggabungan antara untai positif RNA dengan protein selubung (Akin, 2006).

Pergerakan virus ini dalam tubuh inang terjadi melalui pergerakan dari satu sel ke sel yang lain dan dalam pergerakan tersebut virus melakukan multiplikasi atau replikasi dalam sel-sel inang. Pergerakan virus dari sel ke sel melalui plasmodesmata yaitu penghubung antar sel. Sedangkan pergerakan secara sistemik ini melibatkan jaringan pengangkut yaitu floem (Nurhayati, 2012).

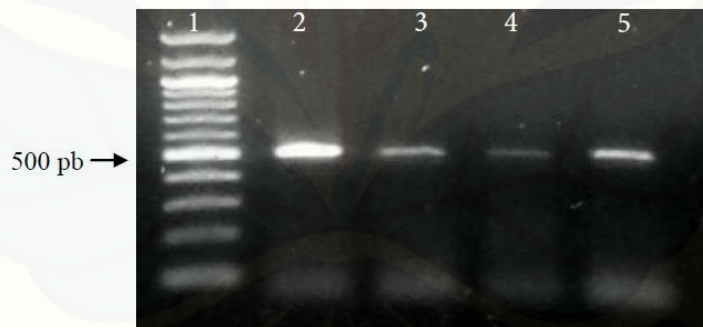


Gambar 2.4. Tahapan-tahapan replikasi virus dalam tubuh inangnya (Hull, 2009).

Virus ini mempunyai suhu inaktivasi 53-55°C dan jika cairan hasil penggerusan (sap) tanaman sakit disimpan dalam suhu kamar, virus akan inaktif dalam waktu kurang dari satu hari, tetapi jika disimpan dalam suhu 6°C virus dapat bertahan 27 hari (Semangun, 1988). Virus mosaik tebu mempunyai sejumlah *strain* yang berbeda-beda virulensinya. Menurut Handojo (1982) di Indonesia sudah dikenal 10 strain virus.

2.1.2 Virus Mosaik Bergaris (SCSMV)

Virus *Sugarcane Streak Mosaic Virus* (SCSMV) merupakan virus penyebab penyakit mosaik bergaris pada tanaman tebu di Indonesia. Virus ini berbentuk batang lentur (*Flexuous rod*) dengan ukuran panjang 890nm, memiliki selubung protein (*coat protein*) berukuran 40 kDa. Berdasarkan deteksi asam nukleat menggunakan analisa RT-PCR diketahui bahwa SCSMV memiliki berat molekul asam nukleat sebesar 500 bp (Damayanti *et al.*, 2007). SCSMV tergolong dalam suku Potyviridae yang banyak menginfeksi tanaman (Li *et al.*, 2011).



Gambar 2.5. Berat molekul asam nukleat virus SCSMV berdasarkan analisa RT-PCR (Damayanti dan Putra, 2012).

Kebanyakan penyakit yang diakibatkan infeksi virus SCSMV menyerang varietas-varietas tebu komersial dan unggulan, yang dominan menginfeksi tanaman tebu varietas PS 864. Virus SCSMV telah menyebar di 59 kebun tebu milik 5 pabrik gula di Jawa Timur dan Jawa Tengah dengan intensitas serangan berkisar 0-62%. Intensitas serangan penyakit ditemukan lebih tinggi pada tebu yang ditanam di lahan

sawah dari pada tegalan. Penyakit mosaik bergaris ini, diduga masuk lewat introduksi bibit tebu (*sett*) dari luar negeri dan penyebarannya secara cepat melalui penggunaan bibit yang tidak sehat (Damayanti *et al.*, 2007).

Penyebaran SCSMV sangat cepat karena penularannya difasilitasi melalui pisau potong yang digunakan saat penyiapan bagal sebelum tanam atau saat panen dan bersifat tular bagal. Beberapa upaya pengendalian SCSMV telah dilakukan secara fisik dengan perlakuan panas dan penggunaan bakteri rizosfer, dekom-poser, dan endofit (Damayanti *et al.*, 2010; Damayanti dan Putra, 2011), namun upaya ini masih belum mampu mengeliminasi SCSMV secara total. Upaya pengendalian bagi virus tular bahan perbanyakan (bagal) seperti SCSMV yang telah dilakukan adalah menggunakan bagal bebas virus (Damayanti dan Putra, 2012).

2.2 Gejala Penyakit Mosaik

Reaksi tanaman inang terhadap infeksi virus terlihat dengan timbulnya gejala makroskopis dan mikroskopis. Pada reaksi kompatibel tidak semua jenis virus dapat menghasilkan gejala yang jelas karena sama sekali tidak menunjukkan gejala dan ada pula yang memberikan gejala setempat dan tidak merata (Wahyuni, 2005). Infeksi virus penyebab penyakit mosaik ditunjukkan dengan adanya bagian daun yang mempunyai warna berbeda secara tidak teratur, seperti warna hijau tua yang diselingi dengan hijau muda.

Perubahan histologi pada bagian tanaman yang terinfeksi virus khususnya daun, daun lembaga dan cabang tanaman dapat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu nekrosis atau kematian sel, hiperplasia atau pertumbuhan sel yang berlebihan, hipoplasia atau penurunan pertumbuhan sel (Akin, 2006). Gejala hipoplasia dapat diamati pada daun yang mengalami mosaik. Sebagian besar kloroplas rusak sehingga jumlahnya tinggal sedikit dan mesofilnya kurang mengalami diferensiasi (Wahyuni, 2005).

Respon histologi tanaman yang diinfeksi virus adalah pembentukan badan inklusi dalam sel (*intraceluller inclusions*). Keberadaan badan inklusi dengan bentuk

kristal yang tidak beraturan terdapat pada tanaman yang terinfeksi virus. Selain itu dalam sitoplasma terdapat struktur berbentuk cakram (*pinwheels*), yang hanya ditemukan pada infeksi virus dari genus *potyvirus*. Struktur cakram itu tidak mengandung virus sehingga tidak dapat menimbulkan infeksi pada tanaman (Akin, 2006).

Pada tanaman tebu, gejala mosaik biasanya terjadi pada organ daun ditandai dengan warna hijau dan terang membentuk setrip, sebagai akibat terjadi klorosis. Gejala klorosis terjadi pada daun akibat terjadinya pengurangan klorofil, tidak normalnya bentuk kloroplas, dan kerusakan histologi sel daun seperti kerusakan sel palisade dan vakuola sel. Gejala mosaik akibat klorosis biasanya dimulai dari sepanjang tulang daun ke seluruh bagian daun (Akin, 2006). Gejala mosaik akan tampak jelas pada daun yang masih muda. Pada organ batang infeksi SCMV menimbulkan gejala ruas-ruas batang yang agak tua terdapat garis-garis putih yang tidak teratur, dan nantinya ruas ini akan lekah-lekah atau mengering dan keriput (Semangun, 1996). Secara umum kisaran inang penyakit mosaik yang disebabkan oleh infeksi SCMV cukup luas meliputi kelompok Gramineae, sorgum, jagung dan beberapa rumput liar (Teakle *et al.*, 1989). serangan penyakit mosaik pada tebu dapat menyebabkan penurunan produktivitas sampai dengan 42% pada varietas yang rentan pada tingkat serangan > 50 % (Goodman *et al.*, 1998; Handojo, 1982).



Gambar 2.6. Gejala penyakit mosaik pada organ daun tanaman tebu ditunjukkan dengan adanya pola garis putus-putus (Damayanti *et al.*, 2010).

2.3 Identifikasi Virus

Identifikasi virus sebagai penyebab penyakit merupakan faktor kunci yang menentukan keberhasilan pengendalian serangan virus di lapangan. Identifikasi berdasarkan gejala kasat mata tidak cukup untuk menentukan virus penyebab penyakit. Gejala dapat disebabkan oleh infeksi campuran dari beberapa virus, atau virus yang berbeda dapat menimbulkan gejala yang sama (Akin, 2006). Gejala hanya dapat memberikan diagnosis sebagian saja karena: 1). gejala serupa mungkin dapat ditunjukkan oleh beberapa virus yang berbeda, 2). gejala mungkin sangat bervariasi, karena virus yang sama dapat menghasilkan berbagai gejala tergantung lingkungan dan genotype inangnya, 3). tidak adanya gejala tidak berarti bahwa tidak ada virus hadir. Hal ini hanya mungkin berarti bahwa hanya terjadi infeksi laten atau terselubung, dan 4). infeksi campur dari beberapa virus mungkin memiliki efek aditif pada tanaman inang, yang mengakibatkan gejala yang lebih parah (Nurhayati, 2012).

Pada awal perkembangan diagnosis penyakit virus, gejala penyakit memegang peranan penting untuk menentukan apakah suatu gejala disebabkan oleh satu jenis virus atau lebih. Pengamatan gejala yang diikuti oleh pengamatan mikroskop elektron dilakukan untuk mengetahui bentuk virion yang menginfeksi tanaman (Akin, 2006).

2.3.1 Identifikasi Berdasarkan Gejala dan Kisaran Inang

Gejala penyakit yang ditimbulkan pada suatu seri tanaman indikator merupakan informasi yang diperlukan untuk identifikasi virus tanaman. Tanaman indikator yang digunakan untuk uji tular virus biasanya memiliki kekerabatan yang dekat, misalnya jagung, sorgum, tebu dan rumput-rumputan (Wahyuni, 2005). Selain itu kisaran inang virus yang belum diketahui dan gejala infeksi juga merupakan data yang penting untuk identifikasi. Identifikasi berdasarkan gejala penyakit sering membingungkan karena gejala penyakit yang timbul dipengaruhi strain virus dan jenis varietas tanaman (Akin, 2006).

Beberapa virus dapat menimbulkan gejala yang sama pada satu jenis tanaman inang atau satu jenis virus dapat menimbulkan gejala yang berbeda pada satu jenis inang (Wahyuni, 2005). Tipe gejala infeksi virus pada tanaman indikator yang khas (tanaman inang diferensial) dapat menjadi petunjuk awal untuk identifikasi virus (Akin, 2006). Sehingga untuk mempermudah identifikasi virus diperlukan pemahaman tentang keragaman gejala penyakit yang ditimbulkan oleh berbagai strain virus pada beberapa tanaman indikator.

Identifikasi berdasarkan gejala dan kisaran inang, menggunakan tanaman indikator dengan kekerabatan yang dekat sebagai kisaran inang. Tanaman indikator sehat ditulari dengan tanaman yang diduga terinfeksi virus secara mekanik, penularan secara mekanik ini dilakukan dengan cara menularkan sap virus pada permukaan daun tanaman sehat yang telah ditaburi serbuk karborundum (Wahyuni, 2005). Periode inkubasi virus dalam tanaman indikator berbeda dipengaruhi oleh jenis, ketahanan tanaman indikator dan umur tanaman indikator ketika diinokulasikan virus. Menurut Muis (2002) perbedaan periode inkubasi tanaman indikator berdasarkan umur tanaman ketika diinokulasi virus sebab jaringan tanaman yang berusia muda lebih rentan terhadap serangan patogen dan virus.

2.3.2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

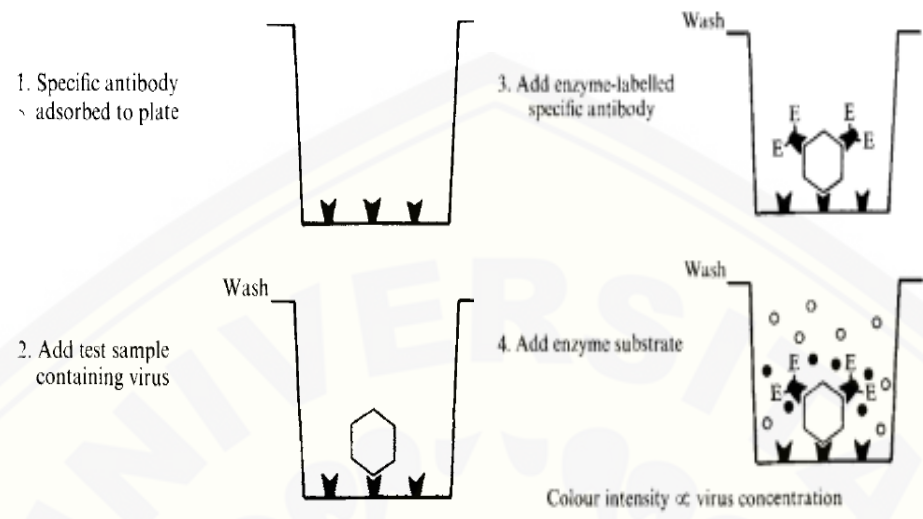
ELISA adalah suatu teknik deteksi dengan metode serologis yang berdasarkan atas reaksi spesifik antara antigen dan antibodi, mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Prinsip dasar ELISA adalah analisis interaksi antara antigen dan antibodi yang terabsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabel enzim. Enzim ini akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi pada ELISA *plate reader* (Crowther, 2001).

Teknik ini mempunyai kelebihan, yaitu dapat mendeteksi virus pada konsentrasi rendah (1-10 ng/ml), penggunaan antibodi dalam jumlah sedikit, hasil pengujian pada sap tanaman sama baiknya dengan pengujian pada suspensi virus yang dimurnikan, serta dapat diaplikasikan pada sampel dalam jumlah besar sehingga efisien (Departemen Pertanian, 2009).

Prinsip pengujian virus dengan metode ELISA adalah antibodi (protein) virus yang spesifik teradsorpsi pada permukaan lubang *polystyrene microtiter plate*. Antibodi tersebut akan menangkap antigen (virus yang terdapat pada sampel). Selanjutnya virus tersebut akan bereaksi dengan spesifik antibodi yang telah dilabel dengan alkaline fosfatase (Clark dan Adam, 1977). Reaksi positif antara antigen dan antibodi ditandai dengan perubahan warna cairan kompleks antigen dan antibodi yang terkonjugasi menjadi kuning atau biru toska, tergantung pada macam enzim yang digunakan (Wahyuni, 2005). Pewarnaan ini dapat diukur dalam spektrofotometer absorben pada panjang gelombang 405 nm (Bos, 1982).

Teknik ELISA ada dua macam, yaitu ELISA langsung (*Direct ELISA* misalnya *Double Antibody Sandwich ELISA*) dan tidak langsung (*Indirect ELISA*). Pada Elisa langsung, antigen diapit oleh satu jenis antibodi, sedangkan pada Elisa tidak langsung, antigen secara tidak langsung dikenali oleh antibodi kedua melalui kompleks konjugasi antibodi kedua dan pertama yang sudah mengikat antigen secara spesifik (Wahyuni, 2005).

DAS ELISA merupakan teknik identifikasi virus tumbuhan yang memiliki tingkat sensitivitas dan spesifikasi tinggi. Kelebihan dari DAS ELISA ini bila dibandingkan dengan teknik serologi lain adalah sensitivitas tinggi dalam mendeteksi virus yang menginfeksi tanaman dalam konsentrasi rendah yaitu berkisar antara 1-10 ng/ml. Tingkat spesifikasi teknik ini tinggi karena mampu mendeteksi virus dengan pengurangan nilai absorbansi (Crook and Christopher, 1980).



Gambar 2.7. Tahapan-tahapan dalam DAS ELISA (*Double Antibody Sandwich ELISA*) (Clark dan Adam, 1977).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

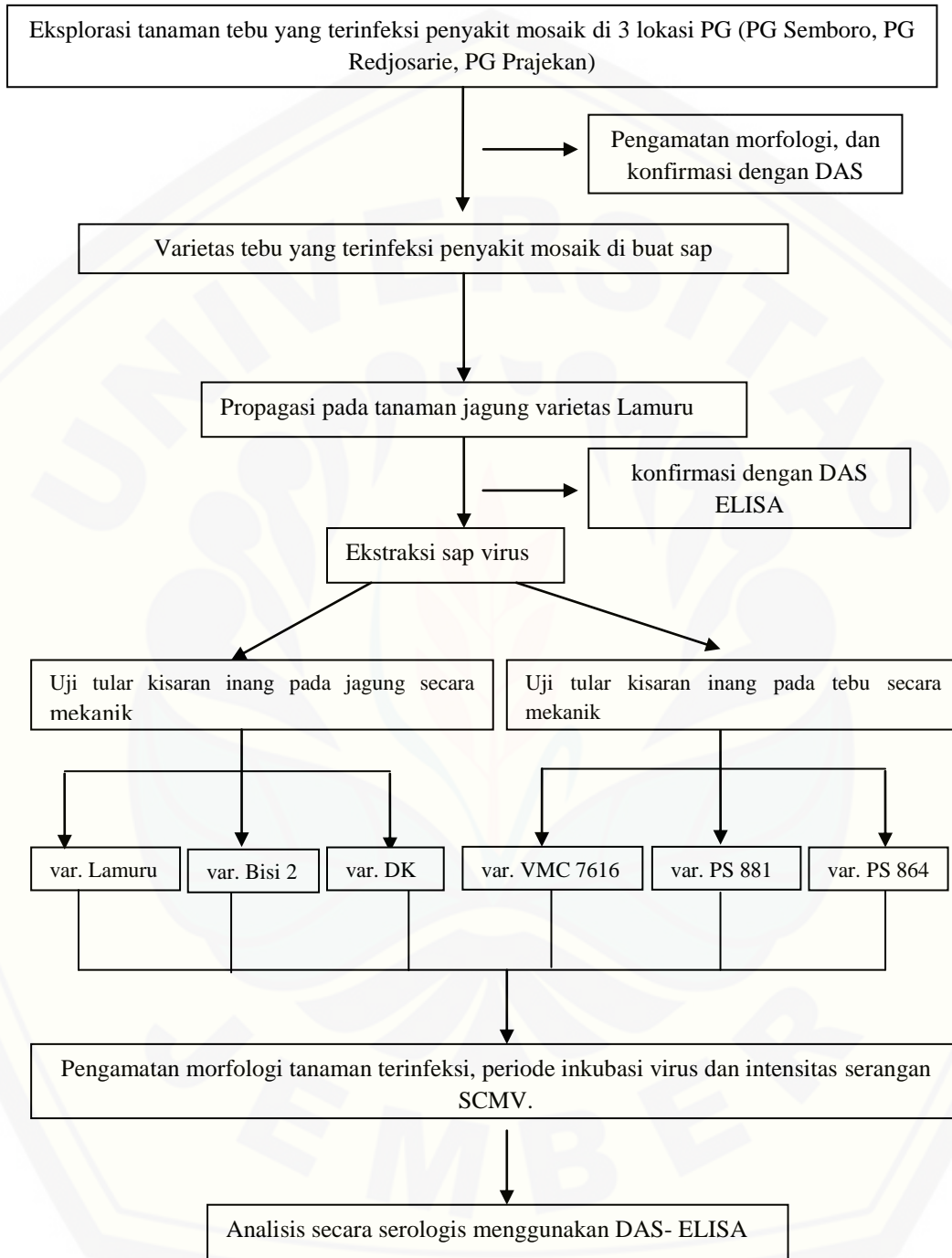
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Divisi Biologi Molekuler dan Bioteknologi, CDAST (*Center for Development of Advanced Science and Technology*) dan *Green House* Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, pada bulan April sampai dengan Desember 2014.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi sampel tanaman tebu dengan gejala mosaik, jagung varietas Lamuru, DK, Bisi 2, tebu varietas PS 864, VMC 7616, dan PS 881, media tanam (tanah : pasir : pupuk organik = 4:2:3), karborundum 600 mesh, pupuk urea 0,5-1 g. Bahan kimia yang digunakan antara lain akuades, alkohol 70%, PVP (*Polyvinylpyrrolidone*) 2%, *Buffer phosphate* 0,1 M pH 8.0, nitrogen cair, ELISA Kit dari AC Diagnostic Inc, USA meliputi (antibodi SCMV, *coating buffer*, PBST (*phosphate buffer saline tween*), SB1 (*sample buffer 1*), ECB1 (*Enzyme conjugate buffer 1*), enzim konjugat, tween-20, *buffer* PNP, PNP (*P-nitro fenilfosfat*) tablet) dan *sea sand*.

3.3 Alur Penelitian



3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Eksplorasi tanaman tebu yang terinfeksi penyakit mosaik di 3 lokasi PG (PG Semboro, PG Redjosarie, PG Pradjekan).

Sampel berupa varietas tebu yang diduga terinfeksi penyakit mosaik diperoleh dari tiga lokasi kebun pabrik gula di Jawa timur, yaitu pabrik gula Semboro, pabrik gula Redjosarie, dan pabrik gula Pradjekan. Bagian tanaman tebu yang digunakan sebagai sampel adalah bagian daun. Pengambilan sampel daun tanaman tebu terinfeksi dilakukan secara acak, yaitu kurang lebih 10 % dari populasi tanaman dalam 1 petak tanam. Masing-masing tanaman diambil dua daun yaitu daun ketiga dan keempat dihitung dari pucuk. Setelah itu sampel daun dari masing-masing varietas tanaman tebu yang diduga terinfeksi segera dimasukkan kedalam kantong plastik berlabel dan disimpan dalam kotak pendingin untuk dibawa ke laboratorium.

Eksplorasi ini didahului dengan pengamatan gejala morfologi dari masing-masing varietas tanaman tebu yang ditanam di kebun tanam tiga lokasi pabrik gula. Adapun gejala morfologi tanaman tebu terinfeksi penyakit mosaik akibat SCMV ditunjukkan dengan daun yang mengalami klorosis, biasanya dimulai dari sepanjang tulang daun ke seluruh bagian daun (Akin, 2006). Gejala akan nampak jelas pada daun yang masih muda. Pada organ batang infeksi SCMV menimbulkan gejala terdapat garis-garis putih yang tidak teratur di ruas-ruas batang yang agak tua (Semangun, 1996).

3.4.2 Propagasi dan Uji Tular kisaran Inang

Sebanyak 1g daun tanaman tebu PS 881 yang terinfeksi oleh SCMV digerus menggunakan mortar dan stamper steril dalam keadaan dingin. Untuk memudahkan penggerusan, terlebih dahulu ditambahkan 2 ml larutan buffer fosfat dan *sea sand*. Kemudian sampel yang telah digerus dimasukkan dalam *falcon tube* yang berisi campuran larutan buffer fosfat 0,1 M pH 8,0 perbandingan 1:10 (b/v) dan PVP 2 %. Selanjutnya cairan hasil penggerusan dari tanaman sakit (sap) segera diinokulasikan

dengan cara mengoleskan ke permukaan atas daun tanaman propagasi yang terlebih dahulu dilukai dengan mengoleskan karborundum 600 mesh. Pengolesan dilakukan searah dengan pertulangan daun agar perlukaan yang ditimbulkan tidak merusak daun. Kemudian permukaan daun tanaman propagasi yang telah diolesi cairan sap, didiamkan selama 3 menit. Setelah itu dibilas menggunakan akuades steril untuk menghilangkan sisa-sisa karborundum dan cairan sap yang masih melekat.

Proses inokulasi cairan sap tanaman yang terinfeksi SCMV ini dilakukan saat tanaman telah muncul 2-3 daun. Tanaman uji yang digunakan yaitu jagung (benih diperoleh dari BALITSEREAL MAROS) dan tebu (bibit diperoleh dari PUSLIT Sukosari), kemudian ditanam dalam polibag berukuran 25 x 30 cm yang telah diisi tanah, pasir dan pupuk organik (4:2:3). Tanaman uji dipelihara dalam *Green House* selama 3 bulan dan proses penyiraman dilakukan satu hari satu kali yaitu pada sore hari. Proses inokulasi virus pada tanaman uji dilakukan secara mekanis pada sore hari dan jumlah masing-masing tanaman uji yang diinokulasi adalah 10 tanaman.

3.4.3 Pengamatan Morfologi Tanaman Uji.

Pengamatan gejala morfologi tanaman uji dilakukan untuk mengetahui keragaman gejala infeksi yang ditimbulkan pada kisaran inang yang berbeda melalui penularan secara mekanik. Gejala yang akan diamati antara lain gejala awal pada daun muda yang masih menggulung dan pada daun yang telah membuka sempurna. Selain itu diamati pula insidensi penyakit mosaik pada tanaman uji dan periode inkubasi virus hingga menunjukkan adanya gejala infeksi. Pengamatan gejala morfologi dilakukan sampai tanaman berumur 6 minggu setelah inokulasi. Sedangkan untuk pengamatan periode inkubasi dan insidensi penyakit dilakukan ketika tanaman pertama kali menunjukkan gejala morfologi setelah inokulasi.

Penghitungan insidensi serangan penyakit mosaik di area pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah tanaman yang menunjukkan gejala penyakit mosaik pada setiap area pengamatan. Kemudian nilai IP ditentukan sebagai

suatu proporsi jumlah tanaman dengan gejala dibandingkan jumlah seluruh tanaman yang diamati, mengikuti rumus:

$$IP = a/b \times 100\%$$

Keterangan: IP = Insidensi penyakit
a = jumlah tanaman dengan gejala
b = jumlah seluruh tanaman yang diamati

(Wulandari, 2006).

3.4.4 Uji serologi dengan DAS-ELISA

Sampel daun tanaman tebu dan jagung yang dengan gejala mosaik, diambil 0,2 g untuk uji serologi dengan DAS-ELISA. Reagen uji serologi ini diperoleh dari AC Diagnostic Inc, USA.

3.4.4.1 Preparasi Sampel

Sebanyak 0,2 g sampel daun tanaman tebu dan jagung, masing-masing dimasukkan ke dalam mortar dingin dan digerus sampai halus dengan bantuan nitrogen cair. Tiap sampel yang telah digerus ditimbang kemudian ditambahkan dengan *sample buffer* perbandingan 1:3 (b/v), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000rpm selama 30 detik. Selain itu sebelum digunakan kontrol positif dan negatif ditambahkan *sample buffer* sebanyak 1,8 ml.

3.4.4.2 Pelaksanaan uji DAS-ELISA

Microplate ELISA steril yang telah disiapkan, diisi dengan 100 µl antibodi virus target yang telah dilarutkan dalam *coating buffer* dengan perbandingan 1:200 (v/v). Kemudian *microplate* dilapisi dengan *aluminium foil*, diletakkan dalam kotak lembab dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 12-13 jam. Kelebihan *coating buffer* dibuang, kemudian *microplate* dicuci 5 kali dengan PBST sebanyak 100 µl dan dikeringkan dengan cara ditepuk-tepukkan pada kertas tisu. Selanjutnya larutan

sampel, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam *microplate* masing-masing sebanyak 100 µl pada setiap sumuran dan diinkubasi pada suhu ruang (21-24°C) selama 2,5 jam dalam kotak lembab. Kelebihan dari larutan sampel, kontrol positif dan negatif dibuang. Selanjutnya *microplate* dicuci 8 kali dengan PBST sebanyak 100 µl dan dikeringkan dengan cara ditepuk-tepukkan pada kertas tisu

Sebanyak 100 µl enzim konjugat yang telah dilarutkan dalam *buffer ECBI* perbandingan 1 : 1000 (v/v), ditambahkan pada tiap lubang *microplate* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2,5 jam dalam kotak lembab (*microplate* dilapisi dengan *aluminium foil*). Enzim conjugate yang berlebih dibuang dan *microplate* dicuci menggunakan 100 µl PBST sebanyak 7 kali dan keringkan. Selanjutnya ditambahkan larutan substrat PNP (10 mg PNP tablet dalam 10 ml *buffer* PNP) sebanyak 100 µl tiap lubang *microplate* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 15-60 menit, sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Untuk menghentikan reaksi perubahan warna tambahkan 50 µl NaOH 3M apabila diperlukan.

3.4.4.3 Interpretasi hasil DAS-ELISA

Pembacaan hasil uji DAS-ELISA dilakukan dengan cara pengamatan secara visual perubahan warna yang terjadi pada larutan sampel dalam *microplate*. Adanya reaksi positif ditunjukkan dengan larutan sampel yang berwarna kuning, semakin tinggi konsentrasi virus dalam sampel maka warna sampel dalam *microplate* semakin pekat. Selain itu dilakukan juga pengukuran secara kuantitatif melalui nilai absorbansi masing-masing sampel, pengukuran nilai absorbansi ini menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 405 nm. Pengukuran nilai absorbansi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi virus dalam tubuh inang menggunakan metode DAS ELISA.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Morfologi Gejala Mosaik

4.1.1 Gejala Mosaik pada tebu di Tiga Lokasi Pabrik Gula

Berdasarkan hasil observasi lapang yang telah dilakukan di tiga lokasi PG yaitu PG Semboro, PG Pradjekan dan PG Redjosarie diperoleh 4 varietas tebu dengan gejala mosaik yaitu PS 881, PS 864, VMC 76-16 dan Cokro. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa masing-masing varietas menunjukkan variasi gejala morfologi berbeda-beda akan tetapi membentuk pola klorosis yang hampir sama (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. Daun Tebu varietas PS 881 asal PG semboro (a); VMC asal PG Pradjekan (b); PS 864 asal PG Redjosarie (c); Cokro asal PG Pradjekan (d) yang bergejala mosaik dan daun tebu dari tanaman yang tidak bergejala mosaik(e).

Varietas VMC 7616 menunjukkan gejala lesio lokal klorotik (spot-spot klorotik) yang bertambah banyak membentuk garis-garis klorotik. Varietas Cokro

dengan gejala morfologi yaitu adanya garis-garis klorotik yang memanjang sepanjang helaian daun. Tebu varietas PS 881 menunjukkan gejala morfologi adanya garis-garis klorotik. Sedangkan varietas PS 864 menunjukkan gejala adanya lesio lokal klorotik yang bertambah banyak seiring pertambahan umur tanaman dan gejala ini nampak jelas pada daun yang masih muda. selain itu dari hasil pengamatan juga diketahui bahwa tebu varietas PS 881 merupakan tebu dengan gejala mosaik terparah, hal ini ditunjukkan warna daun yang seharusnya hijau menjadi hijau kekuningan dan tingkat serangan mencapai 50% pada tanaman tebu dilahan pertanian .

Indikasi berupa gejala mosaik yang muncul pada 4 varietas tebu ini, belum dapat dipastikan sebagai akibat infeksi dari virus. Hal ini dikarenakan morfologi gejala yang timbulkan akibat kahat unsur hara dan infeksi dari patogen berupa virus, menunjukkan gejala yang hampir sama. Pada tanaman dengan kahat unsur hara, gejala mosaik dapat muncul sebagai akibat adanya defisiensi terhadap unsur hara makro dan mikro, sedangkan pada tanaman yang terinfeksi virus gejala mosaik juga dapat muncul dan merupakan gejala yang paling sering dijumpai. Pengkajian lebih lanjut untuk memastikan penyebab munculnya gejala mosaik pada tanaman sebagai akibat kahat unsur hara atau infeksi virus perlu dilakukan uji tular. Tanaman sumber yang akan digunakan untuk uji tular pada tanaman propagasi dan tanaman uji adalah tanaman asal lapang dengan gejala morfologi terparah yaitu var. PS 881

4.1.2 Morfologi Gejala Mosaik pada Tanaman Propagasi dan Uji

Hasil uji tular menunjukkan bahwa tanaman propagasi yang digunakan mampu menunjukkan gejala mosaik, sehingga dapat diduga gejala mosaik yang muncul tidak disebabkan oleh kahat unsur hara melainkan akibat dari infeksi virus. Secara garis besar morfologi gejala berupa adanya gejala mosaik banyak ditemukan pada tanaman yang terinfeksi virus. Gejala mosaik yang diekspresikan oleh tanaman bergantung pada virus yang menginfeksi. Setiap virus memiliki gejala yang khas pada masing-masing tanaman inangnya. Gejala mosaik yang semakin luas merupakan tanda bahwa virus mampu bereplikasi dan dapat menyebar hingga menyerang titik tumbuh

tanaman (Bos, 1964). Infeksi virus pada tanaman inang berpengaruh terhadap kenampakan inang secara keseluruhan, sebab infeksi virus dapat mengakibatkan malformasi maupun kekerdilan pada tanaman.

Pada uji tular tanaman yang digunakan sebagai kisaran inang adalah tanaman yang memiliki kekerabatan dekat. Hal ini berkaitan erat dengan keberadaan protein aseptor pada membran sel tanaman inang sehingga virus mampu melekat dan memasukan materi genetiknya pada sel inang. Hasil studi Chaves-Bedoya *et al.* (2011) menyatakan bahwa pada tanaman jagung yang diinokulasi secara mekanik dengan SCMV menunjukkan reaksi positif dengan uji ELISA dan RT-PCR.

Pada penelitian ini kisaran inang yang digunakan pada uji tular adalah tanaman jagung dan tebu, menggunakan metode penularan secara mekanik. Hasil pengamatan pada tanaman propagasi menunjukkan bahwa gejala infeksi muncul 6 hari setelah inokulasi (hsi) ditandai dengan adanya garis-garis klorotik dan lesio lokal klorotik (spot-spot klorotik). Gejala ini akan tampak jelas terlihat pada daun yang masih muda dan semakin tampak jelas seiring dengan bertambahnya umur tanaman (Gambar 4.2).



Gambar 4.2. Daun jagung var. Lamuru tanpa gejala mosaik (kontrol) (a); var. Lamuru umur 7 hari setelah inokulasi (b); var. Lamuru umur 21 hari setelah inokulasi (c) dengan gejala mosaik.

Morfologi Gejala yang hampir sama diantara tanaman uji, tanaman propagasi dan tanaman lapang diduga disebabkan oleh infeksi tunggal maupun campuran dari

beberapa virus. Hal ini diperkuat dengan hasil studi Gillaspie dan Koike (1973), yang menyatakan bahwa infeksi ganda maupun tunggal oleh SCMV dan *Maize Dwarf Mosaic Virus* (MDMV) pada tebu menunjukkan gejala mosaik. Secara garis besar gejala mosaik yang muncul pada pertanaman tebu dapat disebabkan oleh infeksi dari virus SCMV dan SCSMV. Infeksi dari kedua virus ini menimbulkan morfologi gejala yang hampir sama yaitu berupa garis-garis klorotik, meskipun masing-masing virus memiliki gejala yang khas pada masing-masing inangnya. Penelitian Gemechu *et al.* (2004), infeksi tunggal SCMV secara mekanik menunjukkan gejala garis-garis klorotik atau nekrotik dan mosaik ringan, sedangkan infeksi tunggal SCSMV menunjukkan adanya gejala mosaik berupa garis klorotik (Prabowo *et al.*, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kemiripan gejala yang muncul pada tanaman asal lapang, propagasi dan tanaman uji dengan gejala yang ditimbulkan oleh infeksi SCMV. Sehingga dapat diduga bahwa tanaman asal lapang, propagasi dan tanaman uji terinfeksi SCMV.

Tanaman uji menunjukkan perkembangan gejala optimum pada umur 14-28 hsi, dan mengalami penurunan pada umur 35-40 hsi terutama pada tanaman jagung sedangkan pada tebu tidak dijumpai adanya penurunan perkembangan gejala. Penurunan perkembangan gejala pada tanaman jagung berakibat pada semakin berkurangnya gejala yang muncul dan terpusat di area pangkal daun (Tabel 4.1). Sesuai dengan hasil studi yang dilakukan oleh Gemechu *et al.* (2004), perkembangan gejala morfologi menunjukkan penurunan pada 40 hsi atau lebih pada jagung, sorghum dan tebu yang diinokulasi secara mekanik. Penurunan gejala morfologi yang terjadi pada tanaman uji diduga terjadi karena adanya peristiwa *recovery* pada tanaman inang. Menurut Hull (2002) peristiwa *recovery* umumnya dipengaruhi oleh faktor tanaman inang, varietas, dan strain virus.

Peristiwa *recovery* juga pernah diamati oleh Purba (2011), bahwa peristiwa *recovery* juga terjadi pada varietas Mentimun yang terinfeksi *Squash Mosaic Comovirus* (SqMV). Menurut Syukur *et al.* (2009), ketahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen dibagi menjadi dua, yaitu ketahanan pasif dan aktif. Salah

satu bentuk ketahanan tanaman terhadap penyakit yaitu ketahanan mekanis yang merupakan ketahanan aktif. Sifat ketahanan aktif terjadi setelah tanaman terinfeksi. Ketahanan pasif disebabkan adanya struktur tanaman yang menjadi penghalang patogen untuk melakukan penetrasi. Ketahanan metabolik juga merupakan ketahanan pasif yang disebabkan adanya senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan tanaman, baik sebelum maupun sesudah infeksi. Reaksi resistensi inang ini dipengaruhi oleh faktor genetik dari inang yaitu keberadaan RNA interference (RNAi) baik secara alami maupun insersi buatan yang digunakan oleh tanaman sebagai pertahanan. RNAi bekerja dengan cara membentuk struktur hpRNA yang mampu menonaktifkan gen dan meningkatkan resistensi tanaman sehingga proses replikasi dari virus terhambat (Gan *et al.*, 2014).

Tabel 4.1 Perkembangan morfologi gejala pada tiga varietas jagung dan tebu selama 42 hari setelah inokulasi

Perkembangan Gejala	Varietas Jagung			Varietas Tebu		
	Bisi 2	DK	Lamuru	PS 881	PS 864	VMC 7616
7 hsi	Gk	Mo	Gk	Tb	Tb	Tb
14 hsi	Mo, Ne	Mo	Gk, Ne	Tb	Tb	Tb
21 hsi	Mo, Ne	Gk, Mo	Gk, Ne	Gk	Tb	Tb
28 hsi	Gk, Mo, Ne	Sptk, Mo	Gk, Sptk, Mo, Ne	Gk, Mo	Tb	Tb
35 hsi	Sptk, Gk, Ne	Gk	Sptk, Gk, Ne	Gk, Mo	Gk	Gk
42 hsi	Gk, Ne	Ne	Gk	Gk, Mo	Gk	Gk

Keterangan: hsi = Hari setelah inokulasi, Gk = Garis-garis klorotik, Mo = Mosaic, Ne= Nekrotik, Sptk = Spot klorotik, Tb = Tidak ber gejala

Selain itu pada pengamatan ini juga ditemukan adanya variasi gejala yang muncul meliputi adanya lesio lokal klorotik yang berkembang menjadi garis-garis klorotik terutama pada tanaman jagung. Pada tanaman jagung juga terdapat variasi gejala tiap-tiap varietas, yaitu pada var. Lamuru gejala lesio lokal klorotik juga terdapat pada daun muda yang masih menggulung sedangkan pada varietas lainnya tidak dijumpai (Gambar 4.3). Adanya variasi gejala infeksi yang muncul pada tanaman inang dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Bos (1964), bahwa gejala infeksi virus ditentukan oleh spesies tanaman, kondisi fisiologi tanaman, varietas, umur tanaman, iklim dan nutrisi.



Gambar 4.3. Daun muda tanaman jagung var. Lamuru yang masih menggulung jagung dengan gejala mosaik (a); Daun muda tanaman jagung var. Bisi 2 yang masih menggulung (b); Daun muda tanaman jagung var. DK yang masih menggulung (c) tanpa gejala mosaik.

Parameter lama waktu yang diperlukan untuk tanaman inang menunjukkan gejala infeksi disebut sebagai periode inkubasi. Periode inkubasi masing-masing virus dalam tubuh inang bervariasi, hal ini berkaitan erat dengan ketahanan masing-masing varietas, kondisi lingkungan, umur tanaman ketika dilakukan inokulasi, preparasi sap virus serta kemampuan replikasi dari virus yang diinokulasikan. Selain itu berdasarkan hasil studi yang telah dilakukan Seifers *et al.* (1993) preparasi dari inokulum, kondisi pertanaman tanaman dan prosedur inokulasi berpengaruh terhadap invasi virus dalam tubuh tumbuhan. Hasil studi yang dilakukan oleh Afreen *et al.*

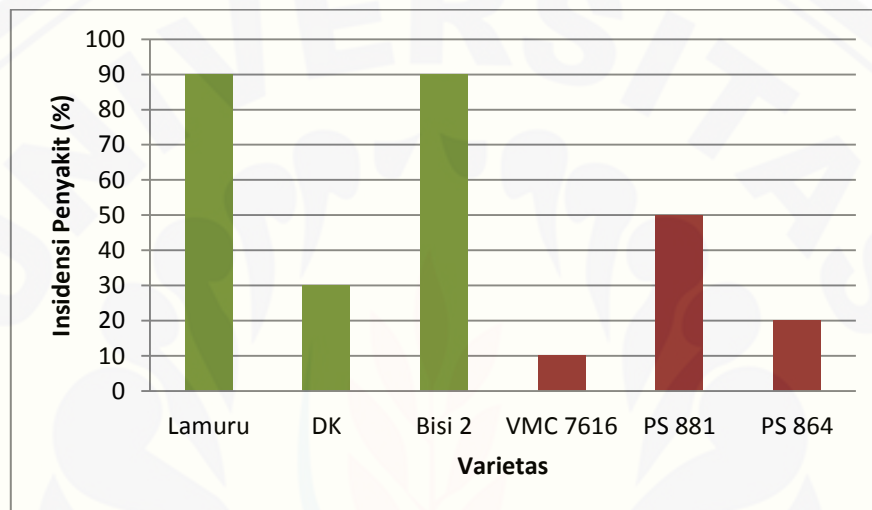
(2010), bahwa keberhasilan prosedur inokulasi mekanik *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV) pada kacang tanah berpengaruh terhadap kemunculan gejala infeksi.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 42 hsi pada tanaman propagasi dan uji menunjukkan bahwa periode inkubasi virus terpendek dimiliki oleh varietas Lamuru yaitu pada 6 hsi sudah menunjukkan gejala morfologi yaitu adanya garis-garis klorotik, sedangkan periode inkubasi virus terpanjang pada tanaman jagung dimiliki oleh varietas DK dan Bisi 2 yaitu 7 hsi. Berbeda dengan jagung tanaman tebu memiliki periode inkubasi virus lebih panjang, hal ini ditunjukkan dengan belum munculnya gejala morfologi sampai dengan hari ke-14 setelah dilakukan inokulasi menggunakan sap virus. Gejala morfologi yang muncul, tampak jelas terlihat pada umur 17-29 hsi yang ditunjukkan dengan munculnya garis-garis klorotik pada daun yang masih muda pada ketiga varietas (Lampiran 1). Hasil studi Gemechu *et al.* (2004), menyatakan bahwa periode inkubasi virus pada tanaman jagung, sorghum dan tebu menunjukkan gejala infeksi berkisar antara 4-15 hsi, sedangkan pada tebu yang ditanam melalui biji periode inkubasi mencapai 25-30 hsi.

Perbedaan periode inkubasi pada masing-masing varietas jagung dan tebu ini diduga dipengaruhi oleh kecepatan replikasi, invasi virus yang diinokulasikan secara mekanik dan metode inokulasi secara mekanik. Hasil studi yang dilakukan oleh Opriana *et al.* (2011), replikasi dan pergerakan virus didalam sel tanaman dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya virulensi dan ketahanan tanaman. Menurut Seron dan Haenni (1996), genotif tanaman dan strain virus berpengaruh terhadap periode inkubasi dan insidensi penyakit. Selain itu pertahanan dari tanaman baik secara struktural, kimia maupun genetik juga turut mempengaruhi periode inkubasi.

Parameter insidensi penyakit diamati ketika keseluruhan sampel yang telah diinokulasikan virus menunjukkan morfologi gejala selama selang waktu tertentu. Salah satu faktor yang mempengaruhi kerentanan tanaman terhadap penyakit berupa infeksi virus adalah tingkat resistensi dari tanaman inang. Inang dengan tingkat resistensi tinggi dapat bertahan dari infeksi virus dengan cara membentuk senyawa kimia tertentu berupa senyawa fenol, dan minyak ester (Syukur *et al.*, 2009). Variasi

persentase Insidensi Penyakit (IP) masing-masing varietas berkaitan erat dengan ketahanan tanaman dan periode inkubasi virus. Persentase IP tertinggi pada tanaman jagung adalah varietas Lamuru dan Bisi 2 dengan nilai 90% dan terendah yaitu varietas Dk dengan nilai IP 30%, sedangkan persentase IP tertinggi pada tanaman tebu adalah tebu PS 881 yaitu 50% dan terendah VMC 7616 dengan nilai IP 10% (Gambar 4.4).



Gambar 4.4. Insidensi Penyakit (IP) masing-masing varietas pada tanaman uji.

Insidensi Penyakit (IP) dapat digunakan sebagai acuan pengelompokan tanaman berdasarkan reaksi tanaman terhadap infeksi virus. Hasil studi yang telah dilakukan oleh Muis (2002), pengelompokan reaksi tanaman jagung terhadap infeksi virus terbagi menjadi 4 kriteria yaitu (1) Tahan, persentase serangan 0-20% ; (2) Agak tahan, persentase serangan 11-30%; (3) Agak rentan, persentase serangan 31-60%; (4) Rentan, persentase serangan 61-100%. Dari hasil pengelompokan diketahui bahwa varietas Lamuru dan Bisi 2, merupakan varietas jagung yang rentan terhadap infeksi virus bila dibandingkan dengan varietas DK. Hal ini diperkuat dengan hasil studi yang dilakukan oleh Muis (2002), bahwa varietas Bisi 2 tergolong dalam kategori agak rentan terhadap serangan SCMV yang ditunjukkan dengan nilai IP 57,2%. Pada tanaman tebu, ketiga varietas tebu yang digunakan yaitu VMC 7616 dan

PS 864 tergolong dalam kategori tahan terhadap infeksi virus ditunjukkan dengan nilai IP 0-20 % apabila dibandingkan varietas PS 881 dengan nilai IP 50%.

4.2 Analisa Coat Protein (*protein mantel*) menggunakan metode DAS-ELISA

Deteksi coat protein atau protein mantel dalam tubuh inang dengan uji DAS ELISA perlu dilakukan, untuk memastikan virus penyebab gejala mosaik. Pengujian dilakukan terhadap sampel daun tanaman asal lapang, propagasi dan tanaman uji. Reaksi positif sampel ditunjukkan dengan adanya perubahan warna sampel dalam sumuran. Perubahan warna sampel terjadi akibat hidrolisis substrat berupa P-nitro fenil fosfat oleh alkaline fosfatase menjadi P-nitro phenol sehingga sampel berubah warna menjadi kuning (Departemen Pertanian, 2009). Pengamatan secara visual tidak memberikan perbedaan warna secara signifikan, oleh karena itu pengukuran secara kuantitatif menggunakan *ELISA Reader* banyak digunakan (Prabowo *et al.*, 2014).

Keseluruhan varietas tebu yang diperoleh dari lapang diuji dengan antibodi SCMV, dari hasil uji tersebut diketahui bahwa empat sampel yang diperoleh dari 3 lokasi PG yaitu PG Semboro, PG Pradjekan dan PG Redjosarie menunjukkan reaksi positif terhadap antibodi SCMV. Ditunjukkan dengan nilai absorbansi rata-rata sampel berada diatas nilai *cut off*. Empat varietas tebu tersebut menunjukkan nilai absorbansi rata-rata diatas nilai *cut off* dengan nilai absorbansi rata-rata tertinggi adalah varietas PS 881 bila dibandingkan dengan tiga varietas lainnya yaitu 1.583 (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Uji DAS-ELISA varietas tebu bergejala mosaik asal lapang

Varietas	Pembacaan DAS Elisa (405 nm)			Cut Off	Interpretasi
Cokro	1.125	±	0.272	0.542	Positif
VMC 7616	0.999	±	0.057	0.542	Positif
PS 881	1.583	±	0.617	0.542	Positif
PS 864	0.219	±	0.008	0.202	Positif

Pada tanaman propagasi dan uji juga dilakukan konfirmasi terhadap keberadaan virus SCMV menggunakan DAS-ELISA dan pengambilan sampel daun dilakukan pada tanaman yang berumur 15 hsi. Sesuai dengan hasil studi yang dilakukan oleh Gemechu *et al.* (2004), bahwa titer atau konsentrasi virus tertinggi adalah 15 hsi dan semakin menurun seiring pertambahan umur tanaman. Bagian tanaman yang digunakan sebagai sampel adalah daun muda yang telah berkembang dengan sempurna dengan gejala mosaik. Hal ini diperkuat dengan hasil studi yang dilakukan oleh Chaves-Bedoya *et al.* (2011), bahwa akumulasi virus SCMV terjadi pada daun yang masih muda dan sedang berkembang, bukan pada daun tempat dilakukannya inokulasi mekanik.

Hasil uji DAS-ELISA pada tanaman propagasi menunjukkan bahwa keseluruhan tanaman propagasi yang bergejala mosaik bereaksi negatif terhadap antibodi SCMV, ditunjukkan dengan nilai rata-rata absorban sampel dibawah nilai *cut off* yaitu 0.107 (Tabel 4.3). Pada tanaman uji, konfirmasi terhadap keberadaan virus SCMV dilakukan pada tanaman *pra* dan *post* infeksi. Hasil konfirmasi pada tanaman *pra* infeksi menunjukkan bahwa keseluruhan tanaman yang akan digunakan untuk uji tular bereaksi negatif terhadap antibodi SCMV, ditunjukkan dengan nilai rata-rata absorban sampel dibawah nilai *cut off* yaitu 0.050, 0.093, 0.101 (Tabel 4.4). Selain itu hasil konfirmasi pada tanaman *post* infeksi juga menunjukkan bahwa 1 varietas tanaman dari 6 varietas tanaman uji yang digunakan menunjukkan reaksi positif terhadap antibodi SCMV. Varietas tanaman tersebut adalah varietas PS 881, yang menunjukkan reaksi positif pada pengujian pertama akan tetapi pada pengujian kedua menunjukkan reaksi negatif. Adapun rata-rata nilai absorban PS 881 pada pengujian pertama adalah 0.165 dan pada pengujian yang kedua yaitu 0.105 (Tabel 4.5).

Tabel 4.3. Uji DAS ELISA varietas jagung bergejala mosaik setelah diinokulasikan dengan sap tanaman sumber (tebu PS 881).

Varietas	Pembacaan DAS Elisa (at 405 nm)	Cut Off	Interpretasi
Lamuru	0.107 ± 0.004	0.129	Negatif

Tabel 4.4 Uji DAS ELISA pada tanaman uji pra infeksi dalam kondisi in vivo.

varietas	Pembacaan DAS Elisa (405nm)			Cut Off	Interpretasi
PS 864	0.050	±	0.000	0.129	Negatif
VMC 7616	0.093	±	0.000	0.129	Negatif
PS 881	0.101	±	0.000	0.118	Negatif
DK					
Bisi 2	Telah Disertifikasi				
Lamuru					

Tabel 4.5 Uji DAS ELISA pada tanaman uji post infeksi dalam kondisi in vivo.

varietas	Pembacaan DAS elisa (405 nm)			Cut off	Interpretasi
PS 881 (1)	0.165	±	0.006	0.129	Positif
Lamuru	0.117	±	0.009	0.129	Negatif
Bisi	0.113	±	0.009	0.129	Negatif
Dk	0.114	±	0.002	0.129	Negatif
VMC 76-16	0.097	±	0.004	0.118	Negatif
PS 864	0.105	±	0.004	0.118	Negatif
PS 881 (2)	0.105	±	0.003	0.118	Negatif

Pengujian dengan metode DAS-ELISA menggunakan cut off sebagai nilai batas untuk menentukan kriteria positif terinfeksi atau negatif. Sesuai dengan *protocol Bioreba*, (2014) penentuan nilai *cut off* didasarkan pada rata-rata nilai absorbansi tanaman sehat, kontrol negatif atau buffer SB1 adalah nilai ambang yang lebih akurat daripada berdasarkan tiga kali absorbansi tanaman sehat. Oleh karena itu pada penelitian ini dipergunakan perhitungan *cut off* berdasarkan nilai rerata absorbansi tanaman sehat. Penentuan kriteria tanaman terinfeksi virus SCMV berdasarkan pada nilai rata-rata absorbansi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai cut off (Nurmalasari, 2013). Rumus penentuan nilai *cut off* :

$$\text{Cut off} = (\text{Mean} + (3 * \text{stdev})) * 1.1$$

Atau

$$\text{Cut off} = (\text{Mean} + (3 * \text{stdev})) + 10 \%$$

Kecenderungan reaksi negatif yang ditunjukkan hampir keseluruhan sampel tanaman uji diduga disebabkan oleh rendahnya konsentrasi virus dalam tubuh inang, temperature atau suhu, kemungkinan ketidakcocokan antibodi yang digunakan, dan sampel yang digunakan. Hasil studi yang dilakukan oleh Jensen *et al.* (1985), temperatur rendah berpengaruh terhadap laju akumulasi dari virus tetapi menstabilkan keberadaan virus dalam tubuh inang akan tetapi pada temperatur optimum virus mencapai laju akumulasi tertinggi kemudian konsentrasi virus menurun dengan cepat. Rendahnya konsentrasi virus SCMV dalam tubuh inang berkorelasi positif dengan temperatur, diduga temperatur Green house kurang optimum sehingga berpengaruh terhadap laju akumulasi maupun replikasi karena proses metabolisme berjalan lambat. Pada tanaman jagung suhu optimum akumulasi dan replikasi virus adalah 26,5°C, hal ini didukung oleh hasil studi yang dilakukan Jensen *et al.* (1985). Ketidakcocokan antibodi dengan antigen berpengaruh terhadap hasil uji, ketidakcocokan antibodi ini dapat terjadi sebagai akibat *antigenic binding site* pada permukaan antibodi tidak mampu mengikat permukaan antigen pada area *antigenic-determinant* (epitope) dari antigen yang sesuai (Wahyuni, 2005).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pengamatan gejala mosaik yang muncul pada tanaman di lapang, propagasi maupun tanaman uji menunjukkan kesamaan gejala berupa mosaik. Hasil uji tular menunjukkan keberagaman periode inkubasi dan insidensi penyakit bergantung pada jenis dan varietas tanaman. Hasil deteksi dengan DAS-ELISA menunjukkan bahwa empat varietas tebu asal lapang yaitu var. PS 881, PS 864, Cokro dan VMC 7616 positif mengandung partikel virus SCMV sedangkan konfirmasi pada tanaman propagasi menunjukkan reaksi negatif terhadap antibodi SCMV. Reaksi negatif juga terjadi pada 5 varietas tanaman uji dan 1 varietas saja yaitu var. PS 881 yang menunjukkan reaksi positif.

5.2 Saran

Pada penelitian ini proses deteksi virus SCMV menggunakan metode DAS ELISA, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berkaitan dengan karakter dari virus SCMV yang menginfeksi tanaman tebu di lahan pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Afreen, B., G. Baghel, A. A. Khan, M. Fatma, dan Q. A. Naqvi. 2010. To develop an efficient protocol of mechanical transmission of TSWV to *Arachis hypogea* genotype. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 1(4): 798- 802.
- Akin, H. M. 2006. *Virologi Tumbuhan*. Jakarta: Penerbit Kanisius.
- Bioreba. 2014. Elisa Data Analysis. Online (<http://www.bioreba.ch/files/Tecnicl Info/ELISA Data Analysis.pdf>). [Diakses tanggal 30 Agustus 2014].
- Bos, L. 1964. *Symptoms of Virus Diseases in Plants*. Ed ke-2. Wageningen: Centre for agricultural publications and documentation.
- Bos, L. 1982. *Pengantar Virologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Chaves-Bedoya, G., F. Espejel, R. I. Alcalá-Briseño, J. Hernández-Vela, dan L. Silva-Rosales. 2011. Short distance movement of genomic negative strands in a host and nonhost for sugarcane mosaic virus (SCMV). *Virology Journal*. 8 (15): 1-8.
- Clark, M. F dan, A. N. Adams 1977. Characteristics of the microplate, method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Crook, N. E dan C. P. Christopher. 1980. Comparisson of three methods of elisa for baculoviruses. *J. Gen. Virol.* 46: 29-37.
- Crowther, J. R. 2001. *The Elisa Guidebook*. New Jersey: Humana Press.
- Damayanti, T. A., L.K. Putra, dan J. Dendi. 2007. Kajian sifat bioteknologi dan biomolekuler virus mosaik bergaris pada tebu di Indonesia. *Ringkasan Eksekutif Hasil-hasil Penelitian Tahun 2007*.

- Damayanti, T. A., L.K. Putra, dan Giyanto. 2010. Hot water treatment of cutting-cane infected with sugarcane streak mosaic virus (SCSMV). *J. ISSAAS*. 16:17-25.
- Damayanti, T. A dan L.K. Putra. 2011. Penggunaan kombinasi tiga jenis bakteri biokontrol untuk menekan infeksi sugarcane streak mosaic virus (SCSMV) pada tebu. *Majalah Penelitian Gula*. 47 (1): 40-53.
- Damayanti, T. A dan L.K. Putra. 2012. Preparasi RNA Virus Mosaik Bergaris dari Tanaman Tebu Menggunakan Metode Tabung PCR. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 1: 22-27.
- Departemen Pertanian. 2009. *Diagnosa OPTK Golongan Potyvirus*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Gan, D., F. Ding, D. Zhuang, H. Jiang, T. Jiang, S. Zhu, dan B. Cheng. 2014. Application of RNA interference methodology to investigate and develop SCMV resistance in maize. *J. genet*. 93 (2): 305-311
- Gemechu, A.L., P. Chiemsombat, S. Attathom, R. Lersrutaiyotin, dan K. Reanwarakorn. 2004. The variations among isolates of sugarcane mosaic virus in Thailand as determined by virus-host interaction. *Kasetsart J.(Nat. Sci.)*. 38: 369-379.
- Gillaspie, A.G dan H. Koike. 1973. Sugarcane mosaic virus and maize dwarf mosaic virus in mixed infections of sugarcane and other grasses. *J. Phytopathology*. 63: 1300-1307
- Goodman, B. S., D. MacDonald, dan B. J Hockett. 1998. A survey of South Africa sugarcane mosaic virus (SCMV) strains based on coat protein gene sequence analysis. *Proc. S. Afr. Sug. Tech. Ass*. 72: 146-148.
- Handojo, H. 1982. *Penyakit Tebu di Indonesia*. Pasuruan: BP3G Pasuruan.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology* Ed ke-4. California: Academic Press
- Hull, R. 2009. *Comparative Plant Virology, second edition*. London: Elsevier Academic Press.
- Jensen, S.G., M. K. Palomar, E.M. Ball, dan R. Samson, 1985. Factors influencing virus titer in maize dwarf mosaic virus-infected sorghum. *Phytopathology*. 75:1132-1136.

- Li, W., H. Zhen, S. Li, Y. Huang, Z. Zhang, D. Jiang, X. Wang, dan Z. Luo. 2011. Molecular characterization of a new strain of sugarcane streak mosaic virus (SCSMV). *Arc. Virol* 10: 1-4.
- Mohammadi, M. R dan H. Behzad. 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 di Sulawesi. *Jurnal Litbang Pertanian*. 21 (2): 64-68
- Nurhayati, 2012. *Virus Penyebab Penyakit Tanaman*. Palembang: UNSRI Press.
- Nurmalasari, 2013. Eliminasi *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) Pada Tebu (*Saccharum* spp, hybrids) dengan Perlakuan Thermoterapi dan Khemoterapi. Thesis. [Tidak diterbitkan]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Opriana, E., S.H. Hidayat, dan S. Sujiprihati 2012. Ketahanan tiga genotype cabai terhadap infeksi dua isolate chilli veinal mottle potyvirus (CVMP). *J. Agron Indonesia*. 40 (1): 42-47.
- Prabowo, D. B., T. Hadiastono, T. Himawan, dan L.K. Putra. 2014. Detection disease of *sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) via serological test on sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), weed and insect vector. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 3(1): 88-92.
- Purba, E. R. D. 2011. Pengaruh Infeksi *squash mosaic comovirus* Terhadap Perkembangan Penyakit Mosaik Pada Lima Varietas Mentimun (*Cucumis sativus* L.). Skripsi. [Tidak diterbitkan]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ricaud, C., B.T. Egan, A.G. Gillaspie, dan C.G. Hughes. 1989. *Diseases of Sugarcane Major Diseases*. Amsterdam: Elsevier science Publisher.
- Seifers, D. L., M.K. Handley, dan R.L. Bowden. 1993. Sugarcane mosaic virus strain maize dwarf mosaic virus B as a pathogen of eastern gamagrass. *Plant Dis*. 77:335-339.
- Semangun, H. 1988. *Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Seron, K., dan A. Haenni, 1996. Vascular movement of plant viruses. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 9 (6): 435-442.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yunianti. 2009. *Teknik Pemuliaan Tanaman, Bagian Genetik dan Pemuliaan Tanaman*. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Teakle, D. S., D. D. Shukla, dan R. E. Ford 1989. Sugarcane Mosaic Virus. (<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=342>). [Diakses 25 maret 2014].
- University of Illinois. 1993. Viral Diseases of Corn in Illinois. *Report on Plant Diseases*. 211. (<https://ipm.illinois.edu/diseases/rpds/211.pdf>). [Diakses 25 Maret 2014].
- Wahyuni, W. S. 2005. *Dasar-dasar Virologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wulandari, A. F. 2006. Inventarisasi dan Identifikasi Penyakit-Penyakit pada Beberapa Klon Teh (*Camellia sinensis L.*) Di PT. Rumpun Sari Kemuning. Skripsi [Tidak diterbitkan]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

Lampiran 1: Hasil pengamatan periode inkubasi dan Insidensi penyakit pada tanaman uji yang diinokulasi secara mekanik.

Varietas	Periode Inkubasi	Jumlah tanaman yang diinokulasi	Jumlah tanaman terinfeksi	IP (%)
Jagung var. Lamuru	6 Hsi	10	9	90
Jagung var. Bisi 2	7 Hsi	10	9	90
Jagung var. DK	7 Hsi	10	3	30
Tebu var. PS 881	17 Hsi	10	5	50
Tebu var. PS 864	29 Hsi	10	2	20
Tebu var. VMC 7616	29 Hsi	10	1	10

Lampiran 2: Preparasi Reagent Uji DAS-ELISA

Adapun preparasi uji serologi DAS-ELISA menggunakan kit DAS-ELISA dari AC Diagnostics, Inc, USA adalah sebagai berikut.

a. Larutan *coating plate (antibody)*

Larutan *coating plate (antibody)* dibuat sebanyak 3000 μL atau 3 mL untuk 30 sumuran *mikroplate*. Terlebih dahulu dibuat larutan *coating buffer* dengan mengambil larutan *coating buffer* sebanyak 5 μL , kemudian dilarutkan kedalam aquades steril hingga volume 5 mL. Selanjutnya, larutan *coating antibody* diambil sebanyak 15 μL dan ditambahkan dengan *coating buffer* hingga volume akhir mencapai 3000 μL atau 3 mL.

b. Larutan *phosphate buffer saline tween PBST buffer (washing buffer)*

Larutan *PBST buffer* yang dibuat sebanyak 150 mL. Terlebih dahulu *PBST powder* ditimbang sebanyak 1,435 g dan 0,075 g *Tween -20*, kemudian dilarutkan kedalam aquades hingga mencapai volume 150 mL dan diukur pH larutan hingga 7,3.

c. Larutan *SBI buffer (sample buffer1)*

Larutan *SBI buffer* dibuat sebanyak 50 mL dengan menimbang 1,16 g *SBI powder* dan 0,5 g *Tween -20*, kemudian dilarutkan dengan larutan *PBST buffer* hingga volume akhir mencapai 50 mL dan diukur pH larutan hingga 7,3.

d. Larutan *ECBI (enzim conjugate buffer1)* dan *enzim conjugate*

Larutan *ECBI buffer* dan *enzim conjugate* ini dibuat 10 menit sebelum digunakan. Larutan *ECBI buffer* dibuat dengan mengambil 400 μL . Larutan *ECBI buffer* kemudian ditambah dengan larutan *PBST buffer* hingga volume akhir mencapai 4000 μL atau 4 mL. Selanjutnya, pembuatan *enzim conjugate* dilakukan dengan mengambil 20 μL *enzim conjugate*, kemudian ditambah dengan *larutan ECBI buffer* sampai volume akhir mencapai 4000 μL atau 4 mL dan diukur pH larutan hingga 7,3.

e. Larutan substrat

Pembuatan larutan substrat maksimal 15 menit sebelum pemakaian. Pertama, dibuat larutan P-nitrofenil Phosphate (*PNP*) *buffer* dengan mengambil 1 mL *PNP buffer*, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 5mL. Selanjutnya pH disesuaikan hingga 9.8 , lalu masukan 1 butir *PNP* tablet ke dalam botol dan tambahkan *PNP buffer* hingga volume akhir mencapai 5 mL.

