



**Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman  
Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi  
Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Febrian Eka Shandy Iriyanto**

**NIM. 121510501004**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman  
Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi  
Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi dan memenuhi salah satu syarat untuk  
menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Febrian Eka Shandy Iriyanto**

**NIM. 121510501004**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas segala karunia dan limpahan rahmat dalam penyelesaian karya ilmiah ini sehingga dapat terselesaikan dengan lancar.
2. Baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat manusia dari zaman jahiliah ke dalam zaman yang terang benderang akan akhlak dan ilmu.
3. Ayahanda Agus Iriyanto, Ibunda Listiana, Nenek ananda Sianik, Kakek ananda Maryono serta seluruh keluarga dari Ibu Listiana karena kasih sayang dan motivasinya yang selalu diberikan.
4. Dosen-dosen saya di Fakultas Pertanian, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
5. Almamaterku tercinta Universitas Jember.

Ucapan terimakasih pula saya sampaikan kepada:

1. Bapak Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D serta Bapak Prof. Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.SC, yang telah bersedia menjadi Dosen Pembimbing Utama serta Dosen Pembimbing Anggota
2. KEMENRISTEK DIKTI yang telah memberikan beasiswa BIDIKMISI selama masa studi saya.
3. Kawan-kawan Ikatan Mahasiswa Agroteknologi (IMAGRO) dan Forum Mahasiswa Agroteknologi/Agroekoteknologi Indonesia (FORMATANI).

## MOTTO

“*Jer Basuki Mawa Beya*” yang artinya setiap cita-cita memiliki sebuah pengorbanan dalam menggapainya entah materi, waktu maupun tenaga.

“*Urip Iku Urup*” artinya adalah hidup harus memberikan manfaat kepada orang lain (Sunan Kalijaga).

“*Fabiyyi ala irobbikuma tukadziban*” (QS Ar-Rahman : 55:55) yang artinya "Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?"



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Febrian Eka Shandy Iriyanto

NIM : 121510501004

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Aktivitas nitrate reduktase dan peroksidase pada tanaman tebu varietas bl (*Saccharum officinarum*) terinfeksi sugarcane mosaic virus (SCMV)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

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

Jember, 07 November 2016

Yang menyatakan,

Febrian Eka Shandy Iriyanto

NIM. 121510501121

**SKRIPSI**

**Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman  
Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi  
Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)**

Oleh

Febrian Eka Shandy Iriyanto  
NIM. 121510501004

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.,Sc  
NIP : 195510221982121001

**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)” karya Febrian Eka Shandy Iriyanto telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji,

Ketua (DPU)

Anggota I

Hardian Susilo Addy, SP., MP., Ph.D

Prof. Dr.Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.,Sc

198011092005011001

195510221982121001

Anggota II

Anggota III

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D

Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D

196504261994031001

195212171980032001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Pertanian,

Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph. D.

19600506 198702 1 001

## RINGKASAN

**Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)**  
Febrian Eka Shandy Iriyanto, 121510501004; 2016: 42 halaman; Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan bahan baku dalam industri gula. Setiap tahunnya terdapat peningkatan permintaan gula di Indonesia sehingga pemerintah melakukan beberapa upaya untuk meningkatkan produksi. Namun, terdapat beberapa kendala dalam pemenuhan kebutuhan produksi gula di Indonesia salah satunya adalah serangan hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang menyerang tanaman tebu adalah virus SCMV (*sugarcane mosaic virus*). Infeksi virus SCMV pada tanaman tebu dengan tingkat serangan 50% dapat menurunkan hasil mencapai 42% (Maharani., 2015). Salah satu dugaan penyebab penurunan hasil tebu akibat virus SCMV tersebut adalah terganggunya proses metabolisme didalam tanaman. Namun, sampai saat ini tidak adanya penelitian yang melaporkan bagaimana mekanisme penurunan hasil yang diakibatkan oleh infeksi SCMV pada tanaman tebu. Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian untuk mengetahui mekanisme virus SCMV terhadap pengaruh asimilasi nitrogen pada tanaman tebu. Selain itu mengetahui hubungannya dengan proses ketahanan tanaman khususnya tanaman tebu.

Penelitian menunjukkan bahwa terjadi perubahan aktivitas enzim nitrate reduktase (NR) yakni mengalami peningkatan pada tanaman yang terinfeksi dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hal ini diduga karena aktivitas NR diinduksi oleh jumlah nitrate yang ada di dalam tanaman yang cenderung meningkat ketika adanya serangan patogen. Selain itu, NR diduga berfungsi untuk menghasilkan nitrik oksida sebagai respon adanya patogen. Serta diperkuat dengan adanya peningkatan aktivitas peroksidase dan fenol total sebagai respon cekaman biotik akibat virus SCMV. Penurunan hasil yang disebabkan oleh infeksi virus SCMV diduga karena penurunan jumlah klorofil pada tanaman. Penurunan jumlah klorofil akan menurunkan aktivitas fotosintesis sehingga menurunkan hasil fotosintat tanaman dan berkorelasi positif terhadap hasil produksi yang akan diperoleh.

**Kata kunci:** Asimilasi nitrogen, sugarcane mosaic virus (SCMV), tebu (*Saccharum officinarum*)

## SUMMARY

**The Activity of Nitrate Reductase and Peroxidase in Sugarcane of BL Variety (*Saccharum officinarum*) infected by Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)** Febrian Eka Shandy Iriyanto; 121510501004; 2016: 42 pages; Department of Agrotechnology Faculty of Agriculture University of Jember.

Sugarcane (*Saccharum officinarum*) is a raw material in sugar industry. Every year, sugar demands in Indonesia increases therefore the government launches several efforts to increase the production. But, there are some problems in national sugar demand fulfillment, one of them is pest and disease attack. One of disease attacks sugarcane is SCMV (*sugarcane mosaic virus*). SCMV infection in sugarcane by disease severity of 50% can decrease product up to 42%. One of alleged cause in sugarcane production decreasing caused by SCMV viruses is disruption of metabolism process in the plant. But, until now there is no research which have reported how a mechanism play in product decreasing caused by SCMV infection in Sugarcane. Therefore, we conducted a research to know both the mechanism of SCMV influenced during nitrogen assimilation in sugarcane and the relationship to the plant resistance process, especially in sugarcane.

The result show that nitrate reductase (NR) enzyme influenced, which increased in infected plant compared to the control. We hypothesized that the influenced was due to NR activity inducted by plant nitrate amount which likely increased when pathogenic attack. Other that, NR allegedly had a role to produce nitric oxide as a respond to the pathogen attack, also it was strengthened by the enhancement of total phenol and peroxidase activity as a respond to the biotic stress caused by SCMV viruses. Production decreasing caused by SCMV infection also allegedly caused by decreasing of chlorophyll amount in plant which would decrease the photosynthetic activity so the plant photosynthetic product also would be decreased and it positively correlated to the production result obtained.

**Keywords** : Nitrogen assimilation, sugarcane mosaic virus, Sugarcane (*Saccharum officinarum*)

## PRAKATA

Puji syukur saya haturkan pada kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, serta hidayah-Nya atas terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis yang berjudul “Aktivitas Nitrate Reduktase dan Peroksidase Pada Tanaman Tebu Varietas BL (*Saccharum officinarum*) Terinfeksi Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)” ini dengan baik. Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Hardian Susilo Addy, SP., MP., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) untuk waktu, arahan, bimbingan, dan kesabaran selama membimbing penyusunan skripsi ini
2. Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.agr., Sc selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) untuk waktu, arahan, bimbingan, solusi kreatif dan motivasinya selama penyusunan skripsi ini.
3. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D selaku Dosen Penguji Utama untuk waktu, arahan, bimbingan selama seminar hasil dan ujian sidang skripsi ini.
4. Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D selaku Dosen Penguji Anggota untuk waktu, arahan, bimbingan selama seminar maupun ujian sidang skripsi
5. Agus Iriyanto dan Listiana selaku kedua orang tua yang sudah merawat dan mendidik saya selama ini.
6. Wahyu Cipta Yuliasari, Arie Rahmawati, Erni Rosita, Mariatul Kiptiyah, *Sugar Group* dan *Phage Team* yang turut serta membantu dalam penyelesaian karya tulis ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut serta membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.

Karya Ilmiah Tertulis ini masih sangat jauh dari sempurna, oleh karena itu segala bentuk kritik dan saran untuk perbaikan karya ilmiah ini sangat penulis harapkan.

Jember, Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b>	
<b>1.3 Tujuan dan Manfaat</b> .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	3
<b>2.1 Budidaya Tanaman Tebu</b> .....	3
<b>2.2 Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)</b> .....	3
2.1.1 Klasifikasi dan Karakteristik SCMV .....	3
2.1.2 Struktur SCMV .....	4
2.1.3 Cara Penularan dan Gejala SCMV .....	5
<b>2.3 Asimilasi Nitrogen Pada Tanaman</b> .....	7
<b>2.4 Reactive Oxygen Species (ROS) Pada Tanaman</b> .....	8
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	11
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	11
<b>3.2 Penyiapan Bibit dan Perawatan Tanaman</b> .....	11
<b>3.3 Penyiapan Inokulum Virus</b> .....	11

<b>3.4 Penularan Virus SCMV</b> .....	12
3.4.1 Inokulasi Virus .....	12
3.4.2 Perhitungan Intensitas Penyakit (IP) .....	12
<b>3.5 Ekstraksi Klorofil Daun (mg/g)</b> .....	13
<b>3.6 Pengukuran Klorofil</b> .....	13
<b>3.7 Ekstraksi dan Analisis Kandungan Protein Terlarut</b> <b>(Soluble protein)</b> .....	14
<b>3.8 Analisa Aktivitas Enzim Nitrat Reduktase</b> .....	14
<b>3.9 Analisis Kandungan Fenol Total</b> .....	15
<b>3.10 Analisis Aktivitas Hidrogen Peroksidase (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b> .....	15
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	16
<b>4.1 Hasil</b> .....	16
4.1.1 Inokulasi Virus SCMV Terhadap Tanaman Tebu .....	16
4.1.2 Total Klorofil a dan b Pada Tanaman Tebu .....	18
4.1.3 Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase Pada Tanaman Tebu .....	19
4.1.4 Analisis Total Fenol Pada Tanaman.....	19
4.1.5 Analisis Aktivitas Enzim Nitrate Reduktase (NR) Pada Tanaman .....	20
<b>4.2 Pembahasan</b> .....	20
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	24
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	24
<b>5.2 Saran</b> .....	24
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	25
<b>LAMPIRAN</b> .....	29

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
1. Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim Nitrate Reduktase (NR) (Unit/mg) .....	29
2. Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim Peroksidase .....	29
3. Hasil Perhitungan Klorofil Total Pada Tanaman .....	29



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Contoh Gejala Penyakit SCMV Pada tanaman Tebu .....	5
2.2 Sitematika asimilasi nitrogen pada tanaman .....	8
2.3 Proses Terjadinya ROS sampai Menghasilkan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> dan OH .....	9
4.1. A) Posisi Daun Tanaman yang di Inokulasi SCMV .....	16
B) Daun yang Menunjukkan Gejala Mosaik Pertama Kali Pada 24 Hsi14 .....	16
4.2 Total Klorofil a dan b Pada Sampel Tanaman Sehat (Kontrol) dan Terinfeksi SCMV .....	18
4.3 Rata-rata Aktivitas Enzim Peroksidase Pada Tanaman Sehat (Kontrol) dan Terinfeksi SCMV dengan Rentang Setiap 20 Detik Selama 2 menit .....	19
4.4. Total Fenol Pada Tanaman Sehat (Kontrol) dan Terinfeksi SCMV dalam Setiap Gram sampel Tanaman .....	19
4.5. Aktivitas Enzim Reduktase Pada Tanaman Sehat (Kontrol) dan Terinfeksi SCMV dalam Rentang Waktu Inkubasi 15 Menit dan 30 Menit .....	20

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Kejadian Penyakit dan Indeks Keparahan Penyakit Pada Tanaman yang Diinokulasi SCMV Selama 39 hsi .....	16



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan bahan baku dalam industri gula. Setiap tahunnya terdapat peningkatan permintaan gula di Indonesia sehingga pemerintah melakukan beberapa upaya untuk meningkatkan produksi. Namun, terdapat beberapa kendala dalam pemenuhan kebutuhan produksi gula di Indonesia salah satunya adalah serangan hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang menyerang tanaman tebu adalah virus SCMV (*sugarcane mosaic virus*). *Sugarcane mosaic virus* merupakan virus yang berasal dari genus *Potyvirus* dan family *Potyviridae* yang dapat menyerang beberapa jenis tanaman seperti tebu, sorghum dan jagung (Bedoya *et al.*, 2011). Gejala yang ditampakan oleh serangan virus SCMV adalah berupa bercak klorotik memanjang berwarna hijau pucat sampai kekuningan pada daun tanaman yang masih muda.

Infeksi virus SCMV pada tanaman tebu dengan tingkat serangan 50% dapat menurunkan hasil mencapai 42% (Maharani., 2015). Namun, sampai saat ini tidak diketahui bagaimana mekanisme penurunan hasil pada tanaman tebu yang diakibatkan oleh virus khususnya virus SCMV. Salah satu dugaan penyebab penurunan hasil tebu akibat virus SCMV tersebut adalah terganggunya proses metabolisme didalam tanaman. Salah satu contohnya adalah menurut Raithak dan Gachande (2012) perubahan kandungan karbohidrat pada tanaman tomat yang terserang virus akan mengalami penurunan secara signifikan. Proses biokimia di dalam tanaman sendiri sangat berkaitan dengan adanya proses asimilasi nitrogen.

Nitrogen merupakan unsur nutrisi penting bagi tanaman. Nitrogen akan digunakan untuk sintesis asam amino, protein, klorofil, asam nukleat, lipid dan beberapa metabolisme yang membutuhkan unsur N (Kusano *et al.*, 2011). Nitrogen akan difiksasi oleh tanaman dalam bentuk nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dan akan diubah menjadi nitrit ( $\text{NO}_2$ ) oleh enzim Nitrat Reduktase (NR). Proses perubahan unsur nitrate menjadi nitrite oleh enzim NR merupakan langkah awal dalam asimilasi nitrogen. Namun, sampai saat ini tidak adanya penelitian yang melaporkan

bagaimana mekanisme penurunan hasil yang diakibatkan oleh infeksi SCMV pada tanaman tebu.

Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian untuk mengetahui mekanisme virus SCMV terhadap pengaruh asimilasi nitrogen pada tanaman tebu. Selain itu mengetahui hubungannya dengan proses ketahanan tanaman khususnya tanaman tebu.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Virus *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) merupakan virus yang dapat menurunkan produksi tanaman tebu sehingga merugikan para petani. Namun, belum banyak diteliti pengaruh serangan virus SCMV terhadap proses asimilasi nitrogen. Oleh sebab itu, diperlukan suatu analisis penelitian untuk mengetahui pengaruh infeksi virus SCMV terhadap proses asimilasi nitrogen serta hubungannya dengan proses ketahanan tanaman.

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian yaitu mengetahui pengaruh dari infeksi virus SCMV terhadap asimilasi nitrogen pada tanaman serta reaksi ketahanan yang terjadi pada tanaman.

## **1.4 Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi tentang pengaruh dari infeksi virus SCMV terhadap penurunan hasil tanaman serta reaksi ketahanan yang terjadi pada tanaman.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Budidaya Tanaman Tebu

Tanaman tebu memiliki batang yang berdiri lurus dan beruas-ruas yang dibatasi dengan buku-buku dimana setiap tunas terdapat di setiap bukunya. Masa fisiologis tanaman tebu berkisar antara umur 12-14 bulan setelah tanam (Supriyadi, 1992). Tanaman tebu tumbuh di daerah tropis dan sub tropis yakni antara 19° LU - 35° LS. Kondisi tanah yang cocok untuk digunakan sebagai tempat tumbuh tanaman tebu adalah tanah dengan kapasitas lapang dan drainase yang baik. Drainase yang baik akan sangat membantu pada saat musim hujan sehingga tidak terjadi genangan pada lahan yang dapat menyebabkan kekurangan oksigen. Suhu yang ideal bagi tanaman tebu adalah berkisar antara 24° C – 34° C. Budidaya tanaman tebu sendiri berawal dari pembibitan dan penanaman. Pembibitan tanaman tebu dapat menggunakan metode bud chip yakni metode pembibitan tebu secara vegetatif dengan menggunakan satu mata tunas (Ningrum dkk., 2014). Bibit yang digunakan untuk *bud chip* adalah bibit yang berumur antara 5-6 bulan, diketahui dengan jelas varietasnya, bebas dari hama penyakit dan tidak mengalami kerusakan pada mata tunas (Ningrum dkk., 2014). Media tanam yang baik digunakan dalam proses pembibitan adalah menggunakan tanah, kompos dan pasir. Tanah berfungsi sebagai penyimpan air, kompos berfungsi sebagai memperbaiki sifat fisik media, sedangkan pasir berfungsi sebagai meningkatkan aerasi dan drainase media (Putri dan Islami, 2013). Pemeliharaan selama proses budidaya setelah pembibitan adalah pemupukan dan pengendalian hama dan penyakit. Pemupukan dilakukan untuk memenuhi suplai nutrisi tanaman sedangkan pada proses pengendalian hama dan penyakit untuk menekan kerugian yang diakibatkan.

### 2.2 *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV)

#### 2.2.1 Klasifikasi dan Karakteristik SCMV

*Sugarcane mosaic virus* (SCMV) merupakan virus yang berasal dari Potyvirus dengan family Potyridae, virus ini dapat menyerang jenis tanaman lain

seperti sorgum dan jagung (Bedoya *et al.*, 2011). SCMV sendiri diidentifikasi pada tanaman jagung manis pada tahun 1962 (Johnson *et al.*, 1972). Klasifikasi virus pada tingkat suku berdasarkan komposisi kimia yang dimiliki, cara replikasi, struktur dan bentuk, partikel virus serta genom virus (Akin, 2006). Sedangkan pada tingkat marga pengelompokan virus berdasarkan replikasi, ukuran nukleotida, homologi runtutan nekleotida, jumlah segmen virus, serta hubungan dengan vektor (Akin, 2006).

SCMV memiliki 13 strain SCMV di Amerika yakni 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, sedangkan di Australia terdapat 4 strain yakni *Sugarcane* (SCMV-SC), *johnsongrass* (SCMV-JG), *Queensland blue couch grass* (SCMV-BC) dan *Sabi grass* (SCMV-Sabi) (Shukla *et al.*, 1989).

### 2.2.2 Struktur SCMV

Struktur virus mosaik *potyvirus* memiliki bentuk seperti tongkat atau flexious rod. Potyvirus memiliki selubung protein yang memiliki beberapa fungsi seperti replikasi virus, pergerakan virus dari sel satu ke sel lain, pergerakan virus secara sistemik, pembentukan selubung virus, serta sebagai penularan melalui kutu daun (Pramarta, 2014). Kelompok potyvirus sendiri memiliki ukuran partikel 11 nm x 680-900 nm, sedangkan partikel virus SCMV sendiri memiliki ukuran antara 650 dan 730 nm dan diameter 11 sampai 13 nm (Bedoya dan Rojas, 2012). Genom SCMV berupa positive single-standed RNA (+ssRNA) yang ujung 3' mengalami poliadenilasi dengan panjang berkisar 10 kBp (Bedoya dan Rojas, 2012). Tipe +ssRNA merupakan tipe genom yang dapat berfungsi sebagai mRNA dimana akan langsung ditranslasi menjadi protein struktur dan fungsional yang diperlukan dalam replikasi dan patologitas (Akin, 2006). Genom potyvirus memiliki 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. Stop kodon terletak pada 9525-9589 kb dari ujung 3' genom dari potyvirus.

Genom potyvirus akan diekspresikan melalui translasi, selanjutnya akan dipotong menjadi protein fungsional dan struktural. *Polyprotein* yang telah diekspresikan akan diproses untuk menjadi 10 protein fungsional oleh tiga jenis enzim proteinase (Pratama, 2014). Protein tersebut memiliki fungsi yang saling berkaitan. Protein inklusi (CI) dan protein selubung (CP) berfungsi sebagai pergerakan dari satu sel ke sel lain melalui plasmodesmata. CP juga digunakan sebagai pergerakan virion dalam jaringan vaskuler melalui inreksi HC-Pro pada domain C dan N-terminal. HC-Pro berfungsi sebagai penekan dari mekanisme pertahanan dari tanaman.

### 2.2.3 Cara Penularan dan Gejala SCMV

#### 2.2.3a Cara Penularan

Penularan virus SCMV pada tanaman dapat melalui beberapa cara. Menurut Wahyuni (2005) menyebutkan bahwa infeksi virus SCMV ke dalam jaringan tanaman dapat melalui vektor atau dapat pula melalui mekanik.

##### a. Penularan melalui vektor

Vektor yang dapat menularkan SCMV adalah serangga vektor yakni *Aphid*. *Aphid* akan menghisap cairan tanaman dan pada saat yang sama aphid akan menjadi vektor virus SCMV. Gejala akan tampak pada beberapa hari setelah infeksi, namun kecepatan penyebaran penyakit SCMV berkorelasi dengan jumlah aphid. SCMV ditularkan secara nonpersisten oleh serangga vektor (Muis, 2002). Virus nonpersisten adalah virus hanya akan bertahan dapat bertahan hidup di dalam tubuh serangga hanya beberapa menit saja lebih dari itu virus tidak akan infeksi lagi (Wahyuni, 2005). Serangga yang dapat menjadi vektor SCMV adalah *Dactynotus ambrosiae*, *Hysterooneora setariae*, *R maidis*, *Toxoptera graminum* dan beberapa jenis aphid yang lain. Aphid merupakan serangga vektor yang mampu menularkan 160 virus yang berbeda dimana pada umumnya merupakan virus yang menyebabkan penyakit mosaik (Nurhayati, 2012).

##### b. Penularan mekanik

Penularan secara mekanik merupakan cara yang paling banyak digunakan dalam proses penularan virus karena dinilai paling mudah. Pelukaan mekanik

dapat menggunakan benda abrasif seperti karburundum atau ampelas. Menurut Wahyuni (2005) hal yang perlu diperhatikan dalam proses keberhasilan inokulasi adalah a) konsentrasi virus di dalam sap, b) bufer yang digunakan dalam preparasi sap virus, c) bagian tumbuhan yang digunakan di dalam untuk inokulum, d) jenis tumbuhan yang akan diinokulasikan, dan e) periode kepekaan tumbuhan uji terhadap inokulasi. Inokulasi dilakukan pada saat tanaman masih muda, pada daun primer yang baru membuka. Selain itu, suhu pada saat inokulasi berkisar antara 25°-30° C karena beberapa virus sensitif pada suhu yang tinggi.

Setelah proses inokulasi virus selesai, daun harus segera dilakukan pencucian dengan cara menyemprotkan air pada permukaan yang di usap dengan larutan sap. Hal ini untuk menghindari adanya zat atau senyawa residu yang dapat menghambat inokulasi virus seperti polifenol atau nuklease. Daun yang diinokulasi tidak boleh mengalami luka atau lecet karena luka pada sel merukan barrier penetrasi virus ke sel lain (Wahyuni, 2005).

#### 2.2.3b Gejala SCMV

Infeksi virus SCMV akan menyebabkan gejala bintik pada daun dengan warna hijau muda sampai kuning (Gambar 2.1). Penyebaran penyakit ini lebih mudah berkembang pada daun muda dan gejala serangan ini akan cenderung menghilang pada daun yang sudah tua (Grisham, 2000). Penampakan warna daun tanaman tidak terlepas dengan adanya pigmen berwarna hijau yang disebut dengan klorofil. Klorofil merupakan fotoreseptor pada tanaman yang berfungsi sebagai mengabsorpsi energi cahaya dan menghasilkan elektron (Fromme *et al*, 2003). Pada tanaman terdapat klorofil a dan b yang merupakan pigmen fotosintesis yang memiliki fungsi sebagai penyerap cahaya violet, biru, merah dan memantulkan cahaya (Salaki, 2000). Klorofil pada tanaman yang terinfeksi virus *mosaic dwarf mosaic* (MDM) juga akan menurunkan ukuran mencapai 19-29 % daripada tanaman yang sehat (Gates dan Gudauskus, 1969). Kerusakan klorofil pada tanaman akan dapat menurunkan hasil metabolisme pada tanaman. Tanaman yang terinfeksi oleh virus *maize dwarf mosaic* (MDM) yang dapat menurunkan laju fotosintesis dengan cara menurunkan kadar klorofil, dan peningkatan laju respirasi untuk replikasi virus (Gates dan Gudauskus, 2012).

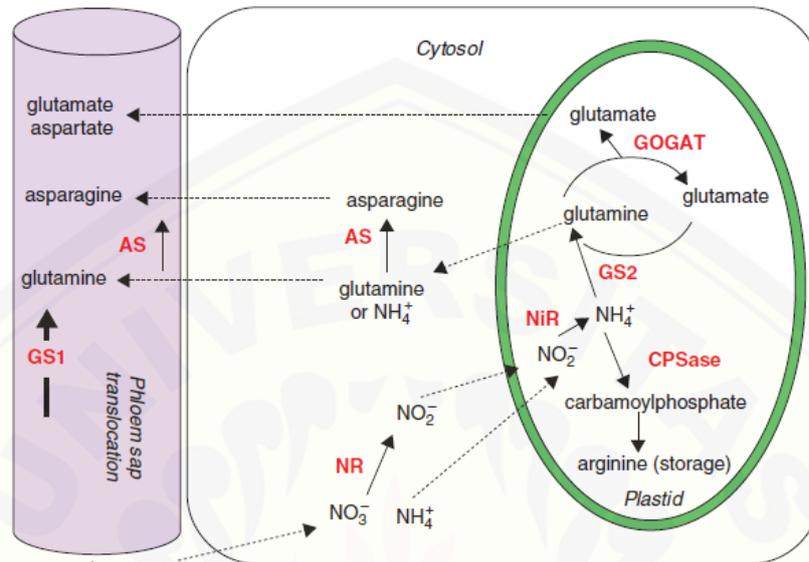


Gambar 2.1 Contoh Gejala Penyakit SCMV Pada tanaman Tebu (Graham, 2000)

### 2.3 Asimilasi Nitrogen Pada Tanaman

Nitrogen merupakan senyawa yang paling penting dalam proses pertumbuhan tanaman. Sekitar 85-90 juta ton pupuk yang digunakan dalam bidang pertanian untuk menunjang pertumbuhan tanaman (Good et al, 2004). Nitrogen akan diserap oleh tanaman dalam bentuk nitrate atau amonium sebagai sumber nitrogen anorganik. Asimilasi nitrogen akan menghasilkan asam amino melalui reduksi nitrat menjadi amonium (Dausbrese *et al*, 2010). Awal reaksi pada asimilasi nitrogen dimulai dengan direduksinya nitrate menjadi nitrit oleh enzim nitrat reduktase (NR). Enzim NR adalah termasuk kedalam homodimer dimana setiap monomernya berasosiasi dengan 3 grup prostetik yakni flavin adenin dinukleotida (FAD), tungkai dan molibdenum kofaktor (MoCo). Sejak tahun 1993 telah banyak dilakukan penelitian tentang enzim nitrate reduktase pada berbagai spesies (Meyer dan Stitt, 2001). Enzim NR terletak di sitosol, namun juga ditemukan berasosiasi dengan membran plasma (PM-NR) yang ditemukan di tanaman jagung dan barley (Ward *et al*, 1989). Setelah nitrate direduksi, nitrat akan ditranslokasikan ke dalam kloroplas, dan akan dirubah menjadi amonium oleh enzim nitrit reduktase (NiR). Amonium akan akan diikat oleh glutamine sintase (GS) pada molekul glutamat menjadi glutamin dan asparagin (Salisbury, 1992). Kedua senyawa ini akan diangkut melalui pembuluh angkut floem ke daun yang lebih muda serta ke bagian lain tanaman. Selanjutnya, di seluruh sel tanaman glutamin dan asparagin ini akan ditambahkan ke dalam

protein yang berfungsi sebagai salah satu dari 20 asam amino penyusun protein. Glutamin ini akan bereaksi dengan 2-oxoglutarat menjadi 2 molekul glutamat. Proses ini dikatalisis oleh glutamine 2-oxoglutarat amino transfer (GOGAT).



Gambar 2.2 Sitematika asimilasi nitrogen pada tanaman (Dausbrese et al, 2010)

Aktivitas nitrat reduktase yang merupakan enzim yang berperan penting dalam serangkaian reaksi kimia pembentukan asam amino dan aktivitas dari enzim NR banyak digunakan sebagai kriteria seleksi tanaman berdaya hasil tinggi pada program pemuliaan tanaman (Alnopri 2004). Nitrat reduktase merupakan salah satu enzim tanaman yang sangat sering dilakukan penelitian. Ini dikarenakan aktivitas enzim NR merupakan faktor pembatas proses asimilasi nitrat yang berperan penting terhadap pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Alnopri 2004).

#### 2.4 Reactive Oxygen Species (ROS) Pada Tanaman

Tanaman memiliki sistem pertahanan yang kompleks guna mencegah serangan patogen dengan cara menghasilkan senyawa kimia untuk mencegah infeksi patogen (Vellosilo *et al.*, 2010). Salah satu contohnya adalah hormon pertahanan seperti asam salisilat, jasmonate dan etilen yang berfungsi sebagai sinyal untuk meningkatkan ketahanan terhadap patogen. Tanaman memiliki 2 cara untuk mempertahankan dirinya sehingga tahan terhadap patogen tertentu. Pertama

adalah ketahanan basal (*Molecular pattern-triggered immunity* atau MTI) yakni ketahanan yang dipicu apabila molekul mikroba telah masuk ke dalam tanaman (Boller dan Felix dalam Vellosilo *et al.*, 2010). Ketahanan basal terjadi pada reseptor ekstraseluler tanaman. Kedua adalah ketahanan yang dipicu oleh suatu efektor *effectortriggered immunity* (ETI) dan dikendalikan oleh Gen Tahan (R-Gene) dengan cara mematikan sel tanaman yang diserang patogen dan menampilkan gejala reaksi hipersensitif (HR) sehingga infeksi hanya terjadi pada satu tempat Jones dan Dangl, 2006 dalam Vellosilo *et al.*, 2010.



Gambar 2.3 Proses Terjadinya ROS sampai Menghasilkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan OH<sup>-</sup> (Vellosilo *et al.*, 2010)

*Reactive oxygen species* (ROS) sebagai kunci dalam merespon ketahanan tanaman terhadap patogen dan juga merupakan sinyal untuk mengaktifkan MTI dan ETI. ROS aktif seperti pertahanan pertama dalam mencegah infeksi patogen menyebar ke arah yang lebih luas. Akan tetapi akumulasi dari ROS memungkinkan peningkatan kerentanan tanaman atau dapat juga dengan mengaktifkan pertahanan yang tidak terkendali sehingga terjadi kematian sel secara meluas dan dapat mematikan tanaman. Terdapat 2 macam reaksi yang merubah oksigen yang berasal dari tanah menjadi 2 tipe ROS yang berbeda. Oksigen (O<sup>2</sup>) dapat berubah bentuk menjadi ion superoksida dan hidrogen peroksida, tahapan selanjutnya akan menjadi gugus fenol (OH) (Gambar 2). Produksi dari ROS sendiri diproduksi dari beberapa lokasi yang berbeda untuk merespon cekaman lingkungan yang berbeda pula, selain itu ROS (O<sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan O<sup>2</sup>) juga memicu terjadinya *scavenging* dan menyebabkan tanaman akan tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik.

Menurut Bolwell dan Daudi 2009, dalam Vellosilo *et al.*, 2010 menyatakan bahwa respon ketahanan tanaman berhubungan dengan diproduksinya ROS dan membunuh patogen secara langsung mengaktifkan reaksi hipersensitif (HR) serta berkontribusi memperkuat dinding sel. Proses ROS sendiri merupakan proses yang berkaitan dengan enzim peroksidase karena akan

menghasilkan  $H_2O_2$  yang berfungsi sebagai bahan utama selama ROS (Brien *et al*, 2012). Akumulasi enzim peroksidase sendiri berkorelasi positif dengan adanya akumulasi senyawa fenolik pada tanaman. Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder sebagai respon patogen yang avirulen (Gachon *et al*, 2004).



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian mengenai Pengaruh Virus SCMV (*Sugarcane Mosaic Virus*) Terhadap Proses Asimilasi Nitrogen Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*), dilaksanakan pada bulan Februari 2016 sampai dengan Oktober 2016 di *Green House* Fakultas Pertanian, Universitas Jember dan Laboratorium Divisi Bioteknologi dan Biomolekular CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

### 3.2 Penyiapan Bibit dan Perawatan Tanaman

Bibit tanaman tebu yang digunakan merupakan varietas BL (Bulu lawang) -1 dan disemaikan dengan cara *single bud* yakni memotong satu mata tunas menggunakan gunting atau pisau. Selanjutnya akan direndam menggunakan larutan atonik selama *overnight* sebagai cara sterilisasi bibit tanaman tebu. Kemudian akan disemaikan dengan penyiraman satu kali dalam sehari. Media pembibitan yang digunakan adalah pasir.

Perawatan yang dapat dilakukan selama proses pembibitan adalah mengontrol kondisi media tanam dalam kondisi kapasistas lapang. Pemupukan dilakukan menggunakan pupuk NPK pada umur bibit 2 bulan.

### 3.3 Penyiapan Inokulum Virus

Pengambilan sampel dilakukan di PTPN XI Surabaya. Pengambilan sampel tanaman tebu dengan cara mengambil bagian daun tanaman sebanyak 100 gram setiap sampel. Sampel tanaman diamati terlebih dahulu mengenai ciri morfologi gejala mosaik pada daun tebu. Pengambilan sampel juga dilakukan visualisasi dan pengambilan foto gejala. Sampel yang diambil adalah tanaman tebu yang menunjukkan gejala yang terparah.

### 3.4 Penularan Virus SCMV

#### 3.4.1 Inokulasi Virus

Inokulasi dilakukan untuk mendapatkan tanaman yang terinfeksi virus SCMV yang selanjutnya akan digunakan sebagai bahan analisis. Inokulasi virus dilakukan pada tanaman yang berumur 1.5 bulan dengan cara melukai permukaan daun tanaman dengan menggunakan carcurundum dengan bantuan kapas. Kemudian akan diusapkan sap (cairan tanaman) pada permukaan daun yang telah dilukai. Pembuatan sap dilakukan dengan menimbang sampel daun dengan perbandingan 10:1 artinya setiap 10 mL 0,1 M buffer posfat pH 7,0 dibutuhkan 1 gram sampel. Menambahkan sebanyak 2% PVP (olyvinil pyrrolidon) 2% dari volume ditambahkan pada saat penggerusan. Inokulasi dilakukan pada 3 daun tanaman dari daun pertama dengan melukai daun menggunakan karburundum atau amplas dengan total tanaman yang diinfeksi sebanyak 22 tanaman. Sisa karburundum dan sap yang masih menempel pada permukaan daun akan dibilas menggunakan aquades. Pengamatan dilakukan selama 4 minggu dengan mengambil dokumentasi gejala pada permukaan daun.

#### 3.4.2 Perhitungan Intensitas Penyakit (IP)

Perhitungan indeks keparahan penyakit dilakukan dengan cara menghitung persen keparahan gejala penyakit pada permukaan inang yang terinfeksi terhadap luas total permukaan inang yang diamati. Pengamatan keparahan penyakit dilakukan secara visual menurut Yasa *et al.* (2012).

$$I = \sum_v^n \frac{(n \times v)}{N \times V} \times 100\%$$

Perhitungan intensitas serangan SCMV ditentukan dengan rumus :

Keterangan:

I = Intensitas serangan

n = jumlah tanaman dalam tiap katagori serangan

v = nilai skala tiap katagori serangan

V = nilai skala dari katagori serangan tertinggi

N = banyaknya tanaman yang diamati

Skala serangan berdasarkan sebagai berikut :

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) %

### 3.5 Ekstraksi Klorofil Daun (mg/g)

Ekstraksi sampe dilakukan menurut Molazem *et al.*, (2010), yakni sampel daun tanaman terlebih dahulu dicuci untuk membuang kotoran yang ada, kemudian ditimbang seberat 0.21 gram dan dipotong menjadi potongan kecil. Selanjutnya dihaluskan menggunakan *mortar* dan *pestle*, kemudian ditambahkan *seasand* secukupnya dan ditambahkan dengan 2.1 mL aseton 80 %. Selanjutnya, dipindahkan ke dalam eppendorf 1.5 mL untuk dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

### 3.6 Pengukuran Klorofil

Pengukuran kandungan klorofil dilakukan dengan mengambil ekstrak yang telah dilakukan sebelumnya. Ekstrak klorofil diambil sebanyak 1mL dan ditaruh di dalam kuvet spektrofotometer. Pengukuran kandungan klorofil dilakukan menggunakan panjang gelombang 665 nm dan 649 nm. Selanjutnya akan dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = (13.7 \times A_{665}) - (5.76 \times A_{649})$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = (25,8 \times A_{649}) - (7,60 \times A_{665})$$

$$\text{Klorofil a+b (mg/g)} = \text{Klorofil a} + \text{Klorofil b}$$

### **3.7 Ekstraksi Sampel Tanaman dan Analisis Kandungan Protein Terlarut (*Soluble protein*)**

Ekstraksi sampel tanaman dilakukan pada tanaman yang berumur 3 bulan dengan jangka 1 minggu setelah pengamatan indeks keparahan penyakit berakhir. Ekstraksi dilakukan dengan menggerus 1g daun tebu menggunakan nitrogen cair sampai menjadi bubuk kemudian di gerus kembali dengan ditambahkan buffer 2 mL (Buffer fosfat 50 mM,  $MgCl_2$  10 mM, EDTA 1 mM dan 2.5 mM DTT) dan 10% PSMF dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh akan dilewatkan pada spadek G-25 dan ditampung pada eppendorf baru. Supernatan yang tidak segera digunakan disimpan dalam -80°C.

Analisis kandungan protein terlarut menggunakan metode Bradford (1976). Sebanyak 50 µl supernatan diencerkan dengan aquades sampai volume 75µl dan ditambahkan 925 µl reagen Bradford. Warna yang terbentuk diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Pembuatan standart dilakukan dengan mengukur absorbansi BSA yang telah diperlakukan seperti sampel pada konsentrasi 5, 10, 25, 40, 60, dan 75 µg/µl lalu dibuat persamaan regresi linear hubungan antara konsentrasi BSA dan absorbansinya.

### **3.8 Analisa Aktivitas Enzim Nitrat Reduktase**

Substrat aktivitas enzim berupa 0.1 M  $KNO_3$  sebanyak 100 µl, 5 mM NADH sebanyak 50 µl. Kemudian ditambahkan buffer fosphat 0.1 M  $KH_2PO_4.K_2HPO_4$  sebanyak 100 µl. Selanjutnya, diinkubasi selama 3 menit dalam suhu 25° C. Reaksi dimulai dengan menambahkan 100 µl ekstrak daun tanaman yang telah dilewatkan kedalam spadek G-25. Kemudian inkubasi pada suhu 30° C selama rentang waktu 0, 15 dan 30 menit. Stop reaksi dengan menambahkan 200 µl sulfanilamide 1% yang dilarutkan dalam 3 N HCl dan 0,2 ml larutan naphthylethyldiamide 0,02%. Larutan dalam tabung reaksi dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer untuk diamati absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm, dan dikonversi ke dalam standard reaksi menggunakan  $NaNO_2$ .

### 3.9 Analisa Kandungan Fenol Total

Pengujian kandungan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu Menurut Samin dkk., (2012) yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm. Standar menggunakan asam galat dengan konsentrasi 0, 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , 400  $\mu\text{l}$ , 600  $\mu\text{l}$ , 800  $\mu\text{l}$  dan 1 mL dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Langkah pertama yakni sampel yang telah digerus diambil supernatan sebanyak 200  $\mu\text{l}$ , kemudian ditambahkan 100  $\mu\text{l}$  reagent Folin-Ciocalteu 50%. Selanjutnya ditambahkan 750  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O dan diinkubasi 3 menit. Selanjutnya, ditambahkan dengan 300  $\mu\text{l}$  ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2%. Selanjutnya divorteks dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 28°C. Selanjutnya dipanaskan ke dalam suhu 45°C selama 20 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 755 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

### 3.10 Analisis Aktivitas Hidrogen Peroksidase (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Sebanyak 5  $\mu\text{l}$  ekstrak daun ditambahkan dengan 150  $\mu\text{l}$  pirogalol 0,05 M dan dicampur ke dalam *well* microplate reader. Selanjutnya ditambahkan 25  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 %. Nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm setiap 20 detik sekali 2 menit, dengan menggunakan blanko campuran larutan yang sama tetapi tanpa ekstrak jaringan tanaman. Sebagai ganti ekstrak jaringan tanaman, ke dalam larutan blanko ditambahkan larutan penyangga fosfat.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Perubahan klorofil daun pada tebu berdampak pada corak mosaik daun tebu terinfeksi SCMV.
2. Infeksi SCMV meningkatkan aktivitas NR pada asimilasi nitrogen dan berdampak pada meningkatnya aktivitas ROS (aktivitas peroksidase dan total fenol) sebagai indikasi perlakuan tanaman terhadap infeksi patogen.

### 5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya lebih disarankan untuk menggunakan media hidroponik untuk meminimalisir adanya patogen yang tidak diinginkan dengan cara mensterilkan terlebih dahulu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akin, M.H. 2006. *Virologi tumbuhan*. Yogyakarta : Kanisius.
- Alnopri. 2004. Optimasi prosedur assay aktivitas nitrat reduktase daun manggis. Bengkulu. *Akta Agrosia*, 7 (2): 62-66.
- Bedoya, G., Fulgencio E., Ricardo I.A., Juan H.V., dan Laura S.R. 2011. Short distance movement of genomic negative strands in a host and nonhost for Sugarcane mosaic virus (SCMV). *Virology Journal*, 8 (15) : 1-8.
- Bedoya, G.C dan Rojas. 2012. Evidence of different phylogenetic origins of two mexican sugarcane mosaic virus (SCMV) isolates. *Acta Agronomica*, 61(1) : 77-84.
- Bos, L. 1994. *Introduction To Plant Virology. Pengantar virology tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Daubrese, M.C., Vedele D.F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gauficho, L., dan Suzuki, A. 2010. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of botany*, 105 : 1141-1157.
- Dean, J.V dan Harper, J.E. 1986. Nitric oxide and nitrous oxide production by soybean and winged bean during the in vivo nitrate reductase assay. *Plant Physiol*, 82 : 718–723.
- Delledone, M., Xia YJ., Dixon, R.A dan Lamb C. 1998 Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394 : 585–588.
- Friedman, M. 2007. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol Nutr Food Res*, 5 (1) :116–134.
- Gaffar, S. 2007. *Penggunaan PCR (Polymerase Chain Reaction) untuk deteksi retrovirus HTLV (Human T-cell Lymphotropic Virus)*. Yogyakarta : FMIPA Universitas Padjajaran.
- Gates, D.W., Gudauskas, R.T., 1969. Photosynthesis, respiration, and evidence of a metabolic inhibitor in corn infected with maize dwarf mosaic virus. *Phytopathology*, 59 : 575–580.
- Grisham MP. (2000). Mosaic. In: *A guide to sugarcane diseases* (eds Rott P, Comstock JC, Croft BJ and Saumtally AS. CIRAD/ISSCT, Montpellier.

- 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.
- Hull, R. 2009. *Comparative plant virology*. Second Edition. British : Elsevier Academic Press.
- Johnson, H., Hall, D.H., Claxton, W., dan Ishisaka, W. 1972. *Sugarcane mosaic tolerance virus in sweet corn*. California : Agriculture.
- Kusano, M., Atsushi F., Henning R., dan Kazuki S. 2011. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants, *Experimental Botany*, 62 (4) : 1439–1453.
- Lagrimini, L.M. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. 1991. *Plant Physiol*, 96 : 577 583.
- Maharani, P Narita. 2015. Deteksi *Sugarcane Mosaic Virus* (SCMV) pada varietas tebu (*Saccharum officinarum* L.) menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). *Skripsi*. Universitas Jember : Jember.
- Meyer C, Stitt M. 2001. *Nitrate reductase and signalling*. In: Lea PJ, Morot-Gaudry J-F, eds. *Plant nitrogen*. New York: Springer, 37–59.
- Millar A.H dan Day D.A. 1997. Alternative solutions to radical problems. *Trends Plant Sci*, 2 : 289–290.
- Muis, A. 2002. Sugarcane mosaic virus (SCMV) penyebab penyakit mosaic pada tanaman jagung sulawesi. *Litbang Pertanian*, 21(2) : 64-68.
- Ningrum, K Mita., Sumarni, T dan Sudiarso. 2014. Pengaruh naungan pada teknik pembibitan *bud chip* tiga varietas tebu (*Saccharum officinarum*). *Produksi Tanaman*, 2(3) : 260-267.
- Nurhayati. 2012. *Virus penyebab penyakit tanaman*. Sumatera Selatan : Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Palmieri, M.C., Sell, S., Huang, X., Scherf, M., Werner, T., Durner, J dan Lindermayr, C. 2008. Nitric oxide-responsive genes and promoters in *Arabidopsis thaliana*: a bioinformatics approach. *J. Exp. Bot.*, 59: 177-186.
- Pramarta, I.G.R. 2014. Identifikasi spesies potyvirus penyebab penyakit mozaik pada tanaman cabai rawit (*Capsium frutescens* L.) melalui sikuen nukleotida gen coat protein. *Tesis*. Denpasar : Universitas Udayana.

- Putri D, A., Sudiarmo dan Islami, T. Pengaruh komposisi media tanam pada teknik *bud chip* tiga varietas tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Produksi Tanaman*, 1(1) : 18-23.
- Raithak, P.V dan Gachande B.D. 2012. Effect of virus infection on biochemical parameter of tomato plants. *Recent Scientific Research*, 3(11) : 997-1000.
- Rustam, Y.H. 2010. *6 faktor penting dalam Reverse Transcriptase PCR* (On Line). Biothecnology. <http://sciencebiotech.net/6-faktor-penting-reverse-transcriptase-pcr/>. Diakses 30, 2015 at 11:00 pm.
- Salisbury, F.B., dan Ross C.W. 1992. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryono: 1995. Edisi Keempat. Bandung: ITB-Press.
- Samin, Ahmad., Nurhayati Bialangi., dan Yuszda. 2014. Penentuan kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan dari rambut jagung (*Zea Mays* L.) Yang Tumbuh Di Daerah Gorontalo. *Skripsi*. Gorontalo : Universitas Gorontalo.
- Sholeh, A. 2015. Deteksi sugarcane mosaic virus pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) menggunakan metode *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*. *Skripsi*. Universitas Jember : Jember.
- Shukla, D.D., Tomic, M., Jilka, J., Ford, R.W., dan Lagham, M.A.C. 1989. Taxonomy of potyviruses infecting maize, sorghum, and sugarcane in Australia dan The Unites State as determined by reactivitise of polyclonal antybodyes directed towards virus-spesofoc N-Terminal of coat proteins. *Phytopathology*, 79(2) : 223-229.
- Sugarcane Breeding Institute. 2007. *Major Viral Deseases Affecting Sugarcane Production In India*. Indian : Indian Council of Agricultural Research Coimbatore.
- Supriyadi, A. 1992. *Rendemen Tebu Liku-liku Permasalahannya*. Kanisius. Yogyakarta.
- Tecsi, L.I., Smith A.M., Maule A.J dan Leegood, R.C. 1996. A spatial analysis of physiological changes associated with infection of cotyledons of marrow plants with cucumber mosaic virus. *Plant Physiol*, 111 (4) : 975–985.
- Vellosilo, T., Jorge Vicente., Satish Kulasekaran., Mats Hamberg., dan Carmen Castresana. 2010. Emerging Complexity in Reactive Oxygen Species Production and Signaling during the Response of Plants to Pathogens. *Plant Physiology*, 154 (1) : 444–448.

- Wahyuni, S W. *Dasar-dasar virologi tumbuhan*. Universitas Jember : UGM Press.
- Ward M, Grimes H, Huffaker R. 1989. Latent nitrate reductase activity is associated with the plasma membrane of corn roots. *Planta*, 177: 470–475.
- Wu, L., Wang, S., Wu, J., Han, Z., Wang R., Wu, L., Zhang, H., Chen, Y dan Hu, X. 2014. Phosphoproteomic analysis of the resistant and susceptible genotypes of maize infected with sugarcane mosaic virus. *Amino acids*, 1(1) : 1-14.
- Yamamoto, A., Katou, S., Yoshioka, H., Doke, N dan Kawakita, K. 2003. Nitrate reductase, a nitric oxide-producing enzyme: induction by pathogen signals. *Gen Plant Pathol*, 69 : 218–229.
- Yamasaki, H dan Sakihama Y. 2000. Simultaneous production of nitric oxide and peroxynitrite by plant nitrate reductase: in vitro evidence for the NR-dependent formation of active nitrogen species. *FEBS Lett*, 468 : 89–92.

## LAMPIRAN

**1. Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim Nitrate Reduktase (NR) (Unit/mg)**

T. Sehat				T. Sakit			
Ulangan	15 menit	30 menit	Rata-rata	Ulangan	15 menit	30 menit	Rata-rata
UL 1	0,01	0,01	0,01	UL 1	0,13	0,24	0,18
UL 2	0,09	0,1	0,09	UL 2	0,26	0,49	0,37
UL 3	0,06	0,08	0,07	UL 3	0,10	0,13	0,11
Rata-rata total			0,06	Rata-rata total			0,228128
SD		0,045176		SD		0,13617	

**2. Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim Peroksidase**

Ulangan	Tanaman Sehat (Unit/mg protein)	Tanaman Sakit (Unit/mg protein)
UL 1	0,26	0,38
UL 2	0,22	0,48
UL 3	0,32	0,24
Rata-rata	0,27	0,37

**3. Hasil Perhitungan Klorofil Total Pada Tanaman**

Ulangan	Perlakuan	
	Tanaman Sehat	Tanaman Sakit
UL 1	67,18	67,33
UL 2	66,36	55,92
UL 3	67,05	53,60
Rata-Rata	66,86	58,94