

Prosiding SEMINAR NASIONAL

Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan II



Perhimpunan Fitopatologi Indonesia
Komisariat Daerah Yogyakarta, Solo dan Semarang

PROSIDING

**SEMINAR NASIONAL
PENGENDALIAN PENYAKIT PADA TANAMAN
PERTANIAN RAMAH LINGKUNGAN II
PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA
KOMISARIAT DAERAH YOGYAKARTA, SOLO DAN SEMARANG**



PROSIDING
SEMINAR NASIONAL
PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA 2016

Penyunting :

Dr. Tri Joko, S.P., M.Sc. (UGM)
Dr. Ir. Arif Wibowo, M.Agr.Sc. (UGM)
Dr. Suryanti, S.P., M.P. (UGM)
Ani Widiastuti, S.P., M.P., Ph.D. (UGM)
Dr. Ir. Sri Sulandari, S.U. (UGM)
Dr. Ir. Sedyo Hartono, M.P. (UGM)
Dr. Ir. Siwi Indarti, M.P. (UGM)
Dr. Ir. Herry Wirianata, M.S. (INSTIPER)
Dr. Ir. Rd. Soelistijono, M.P. (UTP Surakarta)
Prof. Dr. Ir. Hadiwiyono, M.Si. (UNS)
Budi Setyawan, S.P., M.Sc. (BALITGETAS)
Dr. Ir. Martanto Martosupono (UKSW)

Diterbitkan oleh :

**Perhimpunan Fitopatologi Indonesia
Komisariat Daerah Yogyakarta, Solo dan Semarang
2017**



Prosiding Seminar Nasional
Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Ramah Lingkungan II
Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar

DEWAN REDAKSI

Diterbitkan oleh:
PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA

Penanggung jawab:
Prof. Dr. Ir. Achmadi Priyatmojo, M.Sc.
Sekretaris Jendral Perhimpunan Fitopatologi Indonesia

Penyunting:
Dr. Tri Joko, S.P., M.Sc. (UGM)
Dr. Ir. Arif Wibowo, M.Agr.Sc. (UGM)
Dr. Suryanti, S.P., M.P. (UGM)
Ani Widiastuti, S.P., M.P., Ph.D. (UGM)
Dr. Ir. Sri Sulandari, S.U. (UGM)
Dr. Ir. Sedyo Hartono, M.P. (UGM)
Dr. Ir. Siwi Indarti, M.P. (UGM)
Dr. Ir. Herry Wirianata, M.S. (INSTIPER)
Dr. Ir. Rd. Soelistijono, M.P. (UTP Surakarta)
Prof. Dr. Ir. Hadiwiyono, M.Si. (UNS)
Budi Setyawan, S.P., M.Sc. (BALITGETAS)
Dr. Ir. Martanto Martosupono (UKSW)

Alamat Redaksi:
Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora-Bulaksumur
Yogyakarta, 55281



Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia
Komisariat Daerah Yogyakarta, Solo dan Semarang
Yogyakarta, 27 Agustus 2016

Prosiding Seminar Nasional
Pengendalian Penyakit Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan II
Perhimpunan Fitopatologi Indonesia

Penyunting: Tri Joko *et al.*
Perhimpunan Fitopatologi Indonesia

ISSN: 9-772548-4351B3

Cover dan Layout: Silmi Zhafarina

Diterbitkan: Februari 2017

Perhimpunan Fitopatologi Indonesia

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa ijin tertulis atau editor



Prosiding Seminar Nasional
Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Ramah Lingkungan II
Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
DEWAN REDAKSI.....	iii
ISSN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
KEYNOTE SPEAKER	
CROP PROTECTION USING INDUCED RESISTANCE - THE MECHANISM AND PRACTICAL APPLICATION	
<i>Tatsuo Sato</i>	1
PERAN FITOPATOLOGI DALAM INDUSTRI KELAPA SAWIT DI INDONESIA	
<i>Agus Susanto</i>	3
EFEKTIVITAS TRICHODERMA INDIGENOUS DALAM MENEKAN PERTUMBUHAN PENYAKIT JAMUR AKAR PUTIH PADA TANAMAN KARET	
<i>Mariana, Yusriadi, Iismaid Setya Budi</i>	4
KAJIAN RHIZOCTONIA MIKORIZA SEBAGAI INDUCER KETAHANAN PADA <i>D. macrophyllum</i> TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN	
<i>R. Soelistijono, Daryanti, D. Rahmawati</i>	10
KEEFEKTIFAN GLIocompost YANG DIPERKAYA MIKROBA PENAMBAT UNSUR HARA NITROGEN DAN PELARUT FOSFAT TERHADAP PENYAKIT KARAT PUTIH DAN PRODUKTIVITAS TANAMAN KRISAN	
<i>Wakiah Nuryani dan Djatnika</i>	17
KETAHANAN BEBERAPA KLON KAKAO TERHADAP PENYAKIT VASCULAR STREAK DIEBACK (<i>Oncobasidium theobromae</i>)	
<i>Herry Wirianata, E. Nanik K, dan Rendy Surya Ramadhani</i>	26
EFIKASI <i>Trichoderma harzianum</i> DAN KASCING SEBAGAI BIOKONTROL <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> PADA LAHAN TOMAT	
<i>Susanna, M. Abdur Ulim, dan Dedi Darmansyah</i>	33
KARAKTERISASI RHIZOCTONIA MIKORIZA PADA ANGGREK <i>A. miniatum</i> SEBAGAI INDUCER KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT BUSUK DAUN ANGGREK	
<i>R. Soelistijono, D.S. Utami, dan A. Priyatmojo</i>	43



EVALUASI VIRULENSI <i>Ganoderma</i> sp. PADA BIBIT KELAPA SAWIT YANG DITANAM PADA BEBERAPA ORDO TANAH	51
<i>Rabiatul Alfani D., Lisnawita, dan Fatimah Zahara.....</i>	
KEMAMPUAN OLIGOCHITHOSAN UNTUK MENINGKATKAN KETAHANAN TANAMAN TOMAT TERHADAP PENYAKIT REBAH KECAMBABAH (<i>Rhizoctonia solani</i> KUHN)	59
<i>Fitri Widiantini, Endah Yulia, Tarkus Suganda, dan Linati Amelia.....</i>	
ISOLASI DAN DETEKSI POTENSI ACTINOBACTERIA ENDOFIT DALAM MENGENDALIKAN PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADA TANAMAN KELAPA SAWIT (<i>Ganoderma boninense</i> Pat.)	66
<i>Ceppy Nasahi, Fitri Widianti, Endah Yulia, Rika Meliansyah, dan Primanda Rasisetyo.....</i>	
POTENSI BENIH PADI ORGANIK SEBAGAI SUMBER INOKULUM JAMUR PATOGEN	79
<i>Tarkus Suganda.....</i>	
UJI KOMPATIBILITAS JAMUR AKAR PUTIH (<i>Rigidoporus microporus</i>) PADA TANAMAN KARET	87
<i>Sulistyo Adisanyoto, Junet F. da Costa, Delfince Tjenemundan, Jerry F. Langkun, Budi Setyawan, Intan Berlian, Ferdy S. Rondonuwu, Ferry F. Karwur, dan Martanto Martosupono.....</i>	
LAJU PERTUMBUHAN DAN MORFOLOGI KOLONI JAMUR AKAR PUTIH PADA TANAMAN KARET	95
<i>Delfince Tjenemundan, Junet F. da Costa, Sulistyo Adisanyoto, Jerry F. Langkun, Budi Setyawan, Intan Berlian, Ferdy S. Rondonuwu, Ferry F. Karwur, dan Martanto Martosupono.....</i>	
EKSTRAKSI SENYAWA AKTIF PESTISIDAL DAUN PAITAN TERHADAP <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	103
<i>Hadiwiyyono, Aditya Darma, dan Salim Widono.....</i>	
EFIKASI PUPUK HAYATI TERHADAP PRODUKTIVITAS DAN SERANGAN PENYAKIT BUSUK BUAH CABAI (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. & Sacc.)	109
<i>Hanudin, Wakiah Nuryani, dan Evi Silvia Yusuf.....</i>	
IDENTIFIKASI DAN UJI KEMAMPUAN <i>Burkholderia</i> spp. UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR <i>Rigidoporus microporus</i> SECARA IN VITRO	128
<i>Budi Setyawan, Radix Suharjo, dan Siti Subandiyah.....</i>	



IDENTIFIKASI JAMUR PENYEBAB PENYAKIT PENTING PADA BUAH STROBERI (<i>Fragaria ananassa</i>) DI KABUPATEN PURBALINGGA, JAWA TENGAH	
<i>Didit Setiyawan, Ani Widiastuti, dan Sedyo Hartono.....</i>	134
EFEKTIVITAS FUNGISIDA UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT JAMUR UPAS (<i>Corticium salmonicolor</i>) PADA TANAMAN KARET BELUM MENGHASILKAN	
<i>Intan Berlian dan Budi Setyawan.....</i>	141
KETAHANAN UMBI BEBERAPA KULTIVAR UBI JALAR (<i>Ipomoea batatas</i> L.) TERHADAP PENYAKIT BUSUK LUNAK (<i>Rhizopus</i> sp.)	
<i>Ruth Regina Wakum, Frenki Arthur Paiki, dan Eko Agus Martanto.....</i>	147
EFEKTIVITAS ISOLAT Trichoderma INDEGENUS DAN METODE INOKULASI DALAM MENGENDALIKAN PENYAKIT, MENINGKATKAN PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN JAGUNG	
<i>Gusnawaty H.S., Muhammad Taufik dan La Ode Santiaji Bande.....</i>	157
IDENTIFIKASI GEJALA SERANGAN DAN TEKNIK ISOLASI JAMUR AKAR PUTIH (<i>Rigidoporus microporus</i>) PADA TANAMAN KARET	
<i>Junet F. da Costa, Jerry F. Langkun, Budi Setyawan, Intan Berlian, Ferdy Rondonuwu, Ferry F. Karwur, dan Martanto Martosupono.....</i>	166
GEJALA DAN RESPON KETAHANAN MELON (<i>Cucumis melo</i> L.) KULTIVAR TACAPA TERHADAP BEGOMOVIRUS DI DEPOKREJO, NGOMBOL, PURWOREJO	
<i>Wiko Arif Wibowo, Budi Setiadi Daryono.....</i>	178
KETAHANAN TANAMAN CABAI (<i>Capsicum annuum</i> L.) VARIETAS KOMERSIAL GENERASI KELIMA (F5) DAN TETUA (F1) TERHADAP BEGOMOVIRUS	
<i>Dwi Susanti, Budi Setiadi Daryono.....</i>	186
PENGUJIAN ISOLAT VIRUS YANG DILEMAHKAN DENGAN PEMANASAN UNTUK MENGIMBAS KEKEBALAN KACANG PANJANG TERHADAP PENYAKIT MOSAIK	
<i>Ismira Suryaningsih, Supyani, Sri Widadi.....</i>	196
PENGIMBASAN KETAHANAN KACANG PANJANG DENGAN EKSTRAK DAUN BUGENVIL TERHADAP PENYAKIT MOSAIK	
<i>Isti Rahayu, Supyani, Susilo Hambeg Poromarto.....</i>	204



EFEKTIVITAS MINYAK ATSIRI SERAI UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT MOSAIK KACANG PANJANG <i>Ulfazah, Supyani, Salim Widono.....</i>	209
VERIFIKASI BERBAGAI KOMPONEN PENGELOLAAN TANAMAN TERPADU CABAI MERAH TERHADAP PENYAKIT VIRUS KUNING KERITING DI DATARAN TINGGI <i>Neni Gunaeni, A.W.Wulandari, dan Ati Srie Duriat.....</i>	216
PENYAKIT VIRUS PADA BUDIDAYA KEDELAI HITAM DI JAWA TIMUR <i>Tri Harjaka, Sedyo Hartono, Sukirno dan Mary Astuti.....</i>	222
PERTUMBUHAN BAKTERI ENDOFIT PADA MEDIA BERBAHAN ALAMI <i>Arika Purnawati, Wiwik Sri Harijani, dan Wiwin Windriyanti.....</i>	226
EKSPLORASI POTENSI <i>PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA</i> (PGPR) ASAL TANAMAN KEDELAI DAN KACANG TANAH <i>Indah Ayu Rengganis Winasa, Irdha Safni, dan Yuswani Pangestiningsih.....</i>	233
KETAHANAN SUMBER DAYA GENETIK PADI TERHADAP PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>) <i>M. Ace Suhendar dan Sudirgo.....</i>	242
PERBANYAKAN MASSAL BACILLUS ANTAGONIS DENGAN BAHAN BAKU UBI KAYU, UBI JALAR, DAN WORTEL <i>Hadiwiyyono, S. Widono, DN Septariani, RK Sari, Samilatri, dan M Arifin.....</i>	248
PENGARUH PERLAKUAN BAKTERI ENDOFIT DAN RIZOBakteri PADA BIBIT PADI TERHADAP PERKEMBANGAN PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>) DAN PERTUMBUHAN TANAMAN PADI DI RUMAH KACA <i>Husda Marwan, Mapegau, Sosiawan Nusifera, dan Sri Mulyati.....</i>	254
UJI RAS BIOVAR ISOLAT-ISOLAT <i>Ralstonia solanacearum</i> ASAL PISANG LAYU DI KABUPATEN LUMAJANG <i>Wahyu C. Yuliasari, H.S. Addy, dan W.S. Wahyuni.....</i>	261
PENGUJIAN BAKTERI ENDOFIT DAN <i>PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERI</i> (PGPR) UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT LAYU BAKTERI (<i>Ralstonia solanacearum</i>) DAN BUSUK DAUN (<i>Phytophthora infestans</i>) PADA TANAMAN KENTANG <i>Hersanti, Lyciana Djaya, Muhammad Fuser, dan Heni Eti Krestini.....</i>	269



STUDI AWAL PENYEBAB PENYAKIT BACTERIAL GRAIN ROT PADA PADI	
<i>S.D. Nurcahyanti dan B.S. Wibowo.....</i>	277
DETEKSI PATOGEN PADA BENIH DI TEMPAT PENYIMPANAN DAN PADA TANAMAN REJUVENASI DI LAPANG	
<i>M. Ace Suhendar, Dodin Koswanudin, dan Husni Fuad.....</i>	284
GANGGUAN KESEHATAN PADA BIBIT KELAPA SAWIT	
<i>Herry Wirianata, Y.Th., Maria Astuti, dan Indra Corneles Paays.....</i>	291
MIKROBA UNTUK MENDUKUNG BUDIDAYA PADI GOGO LOKAL YANG RAMAH LINGKUNGAN	
<i>Muhammad Taufik, La Ode Santiji, Gusnawaty, Syair, dan Sarawa.....</i>	299
KETAHANAN <i>Peronosclerospora maydis</i> PENYEBAB PENYAKIT BULAI JAGUNG TERHADAP FUNGISIDA	
<i>Christanti Sumardiyono.....</i>	307
DAYA HAMBAT PESTISIDA NABATI DARI KULIT BIJI JAMBU METE TERHADAP <i>Phytophthora palmivora</i> PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO SECARA IN VITRO	
<i>La Ode Santiaji Bande, Gusnawaty, Mariadi, Nuriadi, dan Sukmawati.....</i>	314
ELIMINASI PENYAKIT SISTEMIK VIRUS PADA BAWANG PUTIH (<i>Allium sativum L.</i>) DENGAN TEKNIK PEMANASAN UMBI	
<i>A.K. Karjadi dan Neni Gunaeni.....</i>	322
ELIMINASI PENYAKIT SISTEMIK VIRUS BAWANG MERAH (<i>Allium ascolonicum L.</i>) MELALUI PENDEKATAN INKONVENTSIONAL	
<i>A.K. Karjadi dan A. Wulandari.....</i>	330
UJI KETAHANAN 19 GALUR CABAI TERHADAP VIRUS KUNING KERITING	
<i>Astri Windia Wulandari dan Neni Gunaeni.....</i>	340
DETEKSI DAN IDENTIFIKASI VIRUS PADA BAWANG PUTIH	
<i>Siti Shofiya Nasution, Sri Hendrastuti Hidayat, Diny Dinarti</i>	348
IDENTIFIKASI MOLEKULER DNA KLOROPLAS PADA ANGGREK TERINFEKSI <i>ODONTOGLOSSUM RINGSPOT VIRUS</i> (ORSV) DI MAGELANG, JAWA TENGAH	
<i>Mahfut¹, Budi Setiadi Daryono², dan Soesamto Somowiyarjo³</i>	354



PENGUJIAN BAKTERIOFAGE VIRULEN TERHADAP PATOGEN RALSTONIA SOLANACEARUM PENYEBAB PENYAKIT LAYU BAKTERI PADA TANAMAN EUKALIPTUS (<i>Eucalyptus pellita</i>) <i>Pranita Nuri¹, Bayo Alhusaeri², Surtinah¹, Seprita Lidar¹</i>.....	361
POTENSI BAKTERI ENDOFIT ASAL DAUN TOMAT DAN ALANG-ALANG UNTUK MENEKAN PENYAKIT EMBUN TEPUNG (<i>OIDIUM SP.</i>) PADA TANAMAN TOMAT <i>Noor Istifadah^{1*} dan Harri H. Gumelar²</i>	370
KEMAMPUAN BAKTERI ENDOFIT DALAM MENINGKATKAN KETAHANAN TANAMAN PADI TERHADAP PENYAKIT BLAS (<i>Pyricularia oryzae cav.</i>) <i>Endah Yulia^{1*}, Fitri Widiantini¹, Tarkus Suganda¹ dan Hafshah Mahfudhah²</i>.....	377
LAMPIRAN	385



Identifikasi Molekuler DNA Kloroplas Pada Anggrek Terinfeksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) di Magelang, Jawa Tengah

Mahfut¹, Budi Setiadi Daryono², dan Soesamto Somowiyarjo³

1. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung, 35145.
2. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281.
3. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281.

ABSTRAK

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) merupakan salah satu virus anggrek yang dilaporkan paling banyak menginfeksi dan memiliki penyebaran yang luas di dunia, termasuk sudah sampai di Indonesia. Masalah stres biotik tersebut menyebabkan penurunan laju fotosintesis yang diakibatkan oleh terganggunya sintesis enzim rubisco. Penelitian ini bertujuan mengetahui pola interaksi virus-inang melalui analisis molekuler gen DNA kloroplas *rbcL* (*ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase*). Isolat daun anggrek terinfeksi dikoleksi dari *Borobudur Orchid Center*, Magelang. Amplifikasi menggunakan primer *rbcLa-F* dan *rbcLa-R* berhasil mendapatkan amplikon berukuran \pm 599 pb. Hasil analisis sikuen menunjukkan adanya mutasi titik yaitu delesi, insersi dan transisi. Perubahan tersebut diduga merupakan adaptasi dan respon fisiologis tanaman terhadap lingkungan di Indonesia.

Kata kunci: ORSV, *rbcL*, DNA kloroplas, Indonesia

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman hias yang memiliki permintaan tertinggi di pasaran (Mahfut *et al.*, 2013). Serangan hama dan penyakit masih menjadi kendala utama dalam usaha pembudidayaan anggrek. Infeksi virus merupakan faktor pembatas terpenting karena dapat menurunkan kualitas tanaman (Pataky, 1990). Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi oleh lebih dari 30 jenis virus (Zettler *et al.*, 2010). Salah satu virus yang dilaporkan paling banyak menginfeksi dengan penyebaran yang luas di dunia termasuk di Indonesia adalah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Sherpa *et al.*, 2004).

ORSV atau disebut juga *Tobacco mosaic virus orchid strain* (TMV-O) dilaporkan pertama kali menginfeksi anggrek di Indonesia oleh Inouye *and* Gara (1996). Virus ini termasuk ke dalam Genus *Tobamovirus* dan Familia *Virgaviridae* (Jensen *and* Gold, 1951; Paul, 1975). Struktur partikel berbentuk batang kaku memanjang berukuran 300 nm x 18 nm, sama seperti TMV. Gejala berupa berupa gejala mosaik dan klorotik



dengan pola garis atau cincin (*ringspot*) pada permukaan daun, serta pecahnya warna bunga (*color breaking*) (Khentry *et al.*, 2005).

Masalah stres biotik tersebut berdampak menurunnya kemampuan fotosintesis tanaman. Hal ini disebabkan adanya kerusakan kloroplas yang diikuti oleh terganggunya sintesis enzim rubisco. Rubisco (ribulosa 1,5-bisfosfat karboksilase) merupakan enzim pemfiksasi CO₂ yang dihasilkan oleh gen *rbcL* (Juhaeti, 2000). Enzim ini berfungsi dalam reaksi karboksilasi RuBP menjadi 2 molekul 3-PGA (asam fosfoglisrat) dalam siklus Calvin (Taiz *and* Zeiger, 1991). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pola interaksi virus-inang sebagai proses adaptasi tanaman terhadap perubahan lingkungan melalui identifikasi gen *rbcL*.

METODOLOGI

Koleksi Sampel

Sampel daun anggrek positif terinfeksi ORSV dikoleksi dari *Borobudur Orchid Center*, Magelang. Sampel merupakan daun anggrek *Phalaenopsis amabilis* dengan gejala campuran mosaik dan klorotik. Sebagai pembanding digunakan daun anggrek *Phalaenopsis amabilis* hasil kultur in vitro sebagai kontrol negatif.

Deteksi Gen *rbcL* Secara Molekuler

Isolasi DNA genom dilakukan sesuai dengan protokol DNA isolation kit (Phytopure). Amplifikasi DNA dengan PCR (Polymerase Chain Reaction) dilakukan menggunakan sepasang primer, yaitu rbcLa-F (5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3') dan rbcLa-R (5'-GTAAAATCAAGTCCACCGCG-3') (Kolondam dkk., 2012). Reaksi dilakukan menggunakan menggunakan Thermocycler (Boeco) dengan PCR kit GoTaq GreenMaster Mix (Promega, USA). Amplifikasi DNA diawali dengan tahap predenaturasi pada suhu 94°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan 34 siklus, meliputi denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Setelah siklus selesai, kemudian diikuti *post-elongasi* 10 menit pada suhu 70°C dan pendinginan pada suhu 4°C. Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2%. Pita DNA yang tervisualisasi menunjukkan ukuran panjang pasangan basa gen target, yaitu gen *rbcL*.



Analisis Perunutan DNA

Perunutan sikuen nukleotida terhadap DNA hasil amplifikasi dilakukan dengan mengirimkan sampel hasil amplifikasi ke perusahaan *1st Base*, Malaysia. Data dianalisis dan digabungkan menggunakan *Software Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen dilakukan dengan program *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 5 Beta.

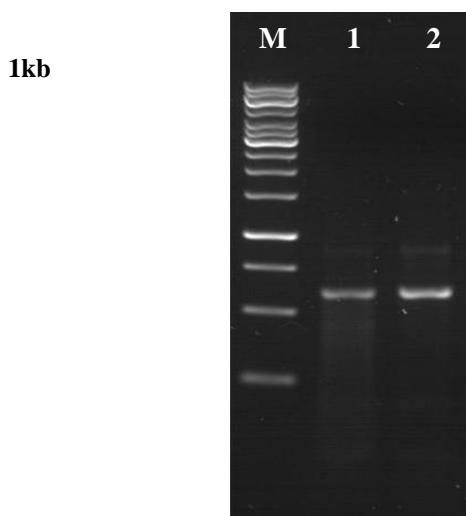
HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi Gen *rbcL* Secara Molekuler

Hasil deteksi dengan PCR terhadap kontrol dan sampel positif ORSV menunjukkan amplifikasi fragmen DNA berukuran ± 599 pb yang merupakan gen *rbcL* (Gambar 1), sesuai yang dilaporkan oleh Kolondam dkk. (2012).

Analisis Sikuen DNA

Analisis sikuen nukleotida hasil sekuensing diperoleh total nukleotida pada kontrol dan isolat sejumlah 603 dan 602 basa. Persentase homologi sikuen kedua isolat adalah 99,3%. Isolat Magelang memiliki persentase kandungan basa GC lebih rendah dari kontrol yaitu 20,25% dari rerata 20,35. Sedangkan persentase kandungan basa AT lebih tinggi yaitu 29,75% dari rerata 29,65%. Berdasarkan analisis penyejajaran sikuen diperoleh adanya



Gambar 1. Elektroforesis gel agarosa 2%; M = Marker 1 kb DNA *ladder*, 1 = Kontrol, 2 = Isolat Magelang



mutasi titik berupa delesi, insersi, dan substitusi transisi pada isolat Magelang. Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya substitusi transversi. Kejadian mutasi terbanyak adalah transisi yaitu sebanyak 4 kali, sedangkan delesi dan insersi masing-masing 1 kali.

Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino (Tabel 1). Persentase asam amino yang diterjemahkan pada kontrol dan isolat Magelang adalah sejumlah 191 dan 192 asam amino. Adanya delesi basa C pada urutan nukleotida ke 11 menyebabkan pembentukan asam amino Pro pada kontrol. Insersi basa G dan T pada urutan nukleotida ke 49 dan 54 masing-masing menyebabkan pembentukan asam amino Val dan Phe pada isolat Magelang. Sedangkan substitusi transisi G, T, C, T yang terjadi pada urutan ke 68, 134, 201, dan 202 hanya menyebabkan perubahan asam amino pada dua titik saja. Perubahan yang terjadi tersebut adalah asam amino Ser menjadi Pro dan Ser menjadi Phe. Analisis selanjutnya pada frekuensi asam amino menunjukkan isolat Magelang mengalami penurunan asam amino Ser dan Pro masing-masing 0,55% dan 0,01% serta peningkatan pada Phe dan Val sebesar 0,51% dan 0,25% (Tabel 2).

Tabel 1. Urutan mutasi titik sikuen gen *rbcL* dan asam amino yang berubah pada anggrek terinfeksi ORSV isolate Magelang

Tipe Kejadian	Nomor Urutan						
Mutasi titik sikuen	C11-	-49G	-54T	A68G	C134T	T201C	C226T
Perubahan asam amino	Prol1-	-49Val	-54Phe	-	Ser134Pro	Ser201Phe	-

Tabel 2. Frekuensi asam amino gen *rbcL* pada kontrol dan anggrek terinfeksi ORSV isolat Magelang

Isolat	Frekuensi Asama Amino(%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Tyr	Tyr	Total
Kontrol	4.71	5.76	3.66	4.19	3.14	5.79	1.05	6.81	4.19	5.24	2.09	2.09	5.79	3.14	6.81	11.52	7.85	4.71	4.19	7.33	191
Magelang	4.69	5.73	3.65	4.17	4.17	5.73	1.04	6.77	4.17	5.21	2.08	2.08	5.73	3.13	6.77	10.42	7.81	5.21	4.17	7.29	192

Gen *rbcL* (gen rubisco) merupakan gen penghasil enzim rubisco yang merupakan enzim pemfiksasi CO₂ (Juhaeti, 2000). Dilihat dari komposisi nukleotida penyusunnya, gen *rbcL* bersifat *conserved* (lestari) (Cohen, 2006) dan memiliki peran untuk penting untuk menjaga stabilitas materi genetik genom kloroplas terhadap aktivitas enzim nuklease saat virus masuk menginfeksi sel inang. Sehingga analisis gen DNA kloroplas dapat digunakan untuk studi filogenetik, pendaftaran terhadap keragaman jenis tumbuhan,



mengamati variasi intraspesifik (Kolondam dkk., 2012; Hidayat dan Pancoro, 2008), serta mengetahui respon fisiologis tanaman melalui pola interaksi virus-inang.

Beberapa mutasi nukleotida yang terjadi mampu menyebabkan perubahan asam amino yang terbentuk dalam susunan genom DNA kloroplas. Perubahan asam amino tersebut akan mengubah fungsi gen yang disusun, sehingga infektifitasnya juga berubah. Peningkatan sintesis asam amino Phe berkaitan dengan sintesis kloroplas. Reger *et al.* (1970) berhasil melaporkan adanya sintesis asam amino phenylalanyl-tRNA pada kloroplas yang diisolasi. Keberadaan asam amino tersebut terkait dengan pembentukan dan perbaikan kloroplas yang rusak sebagai akibat infeksi virus.

Sebagian besar gen nuklear, termasuk gen DNA kloroplas, memiliki kemampuan mekanisme *proofreading*. Hal ini menyebabkan organisme dapat melakukan koreksi dan memperbaiki kesalahan yang terjadi selama proses replikasi genom. Dengan ukuran genom DNA kloroplas yang relatif besar, adanya sedikit kesalahan (mutasi) tidak akan memberikan pengaruh yang signifikan. Hal ini berbeda untuk virus, mutasi merupakan hal yang umum terjadi.

Mutasi yang banyak terjadi pada virus didukung oleh kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan dan memperluas kisaran inang (Matthews, 1992). Hipotesis menyebutkan bahwa munculnya infeksi jenis virus yang parah pada suatu lokasi geografis dan mencapai *fitness* untuk menginfeksi jenis inang tertentu akan menyebabkan hilangnya kemampuan virus tersebut untuk kembali menginfeksi inangnya semula. Pada penelitian ini, adanya mutasi DNA kloroplas inang merupakan bentuk penyesuaian diri terhadap infeksi virus yang menuju *fitness* akibat seleksi.

Laju mutasi akan menghasilkan variasi genetik baik virus maupun inang. Besarnya laju mutasi dan variasi genetik yang dihasilkan tersebut meningkatkan probabilitas evolusi lebih cepat (Matthews, 1992). Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi dasar untuk mempelajari respon fisiologis tanaman terhadap infeksi virus melalui identifikasi DNA kloroplas secara molekuler.



KESIMPULAN

Identifikasi molekuler DNA kloroplas pada anggrek terinfeksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) menunjukkan amplikon berukuran \pm 599 pb. Hasil analisis sikuen terhadap isolat Magelang menunjukkan adanya mutasi titik serta peningkatan sistesis asam amino Phe dan Val sebagai proses adaptasi dan respon fisiologis tanaman terhadap infeksi virus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM), Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Tahun Anggaran 2016, melalui Surat Penugasan Penelitian Hibah Disertasi Doktor Nomor 89/UN26/8/LPPM/2016, Tanggal 13 April 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Cohen, I., Sapir, Y., and Shapira, M. 2006. A Conserved Mechanism Controls Translation of Rubisco Large Subunit in Different Photosynthetic Organisms. *Plant Physiol.* 141(3): 1089–1097.
- Hidayat, T. dan Pancoro, A. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen.* 4(1): 35-40.
- Inouye, N and Gara, I. W. 1996. Detection and Identification of Viruses of Orchid in Indonesia. *Bull, Res, Inst. Bioresour:* Okayama Univ. 4: 109-118.
- Jensen, D. D. and Gold, H. A. 1951. A Virus Ringspot of *Odontoglossum* Orchid, Symptoms, Transmission and Electron Microscopy. In Lawson & Sahfqat Ali. The Handbook on Orchid Pests and Disease. *American Orchid Soc.* 4: 62-100.
- Khentry, Y., Paradornmuwat, A., Tantiwitit, S., Phansiri, S., and Thaveechai, N. 2006. Incidence of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium* spp. In Thailand. *Crop Protection* 25: 925-932.
- Juhaeti, T. 2000. Perubahan Biokimiawi Pada Padi Gogo yang Toleran dan Peka Terhadap Naungan: Karakterisasi Enzim Rubisco. *Tesis.* Institut Pertanian Bogor. Hal: 1-14.
- Kolondam, B.J., Lengkong, E., Polii-Mandang, J. Pinaria, A., dan Runtunuwu, S. 2012. Barcode DNA Berdasarkan Gen rbcL dan matK Anggrek Payus Limondok (*Phaius tankervilleae*). *Jurnal Bioslogos* 2(2): 55-62.



- Mahfut, Daryono, B.S., and Joko, T. 2013. Detection and Molecular Characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Java and Bali Isolates. *Proceeding conference: International Conference on Biological Science. Advances in Biological Science*, Faculty Biology UGM, Yogyakarta: 54.
- Matthews, R. E. F. 1992. *Plant Fundamental of Plant Virology*. California. Academy Press Inc. p: 1
- Paul, H. L. 1975. *Odontoglossum ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, no. 155. p: 4.
- Pataky, N. R. 1990. *Common Virus Diseases of Orchids: Report on Plant disease*. Department of Sciences. University of Illinois at Urbana-Champaign. RPD No. 164. p: 1-4.
- Reger B.J., Fairfield S.A., Epler J.L., Barnett W.E. 1970. Identification and origin of some chloroplast aminoacyl-tRNA synthetases and tRNAs. *Proc Natl Acad Sci*. 67(3):1207-13.
- Sherpa, A. R., Hallan, V. and Zaidi, A. A. 2004. Cloning and sequencing of coat protein gene of an Indian *Odontoglossum ringspot* isolate: *Acta Virol*. 48: 267-269.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. The Benyamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. 559 p.
- Zettler, F. W., Ko, N. J., Wisler, G. C., Elliot, M. S. and Wong, S. M. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis*. 74 : 621-626.

