

JURNAL FITOPATOLOGI INDONESIA

- Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia
Mahfut, Budi Setiadi Daryono, Soesanto Somowiyarjo 1
- Keragaman Morfologi, Genetika, dan Patogenisitas *Colletotrichum acutatum* Penyebab Antraknosa Cabai di Jawa dan Sumatera
Roy Ibrahim, Sri Hendrastuti Hidayat, Widodo 9
- Mekanisme Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jeruk oleh Khamir, Kitosan, Cendawan Mikoriza Arbuskular, dan Bakteri Simbiotiknya
Hagia Sophia Khairani, Meity Suradji Sinaga, Kikin Hamzah Mutaqin 17
- Spesies *Meloidogyne* Penyebab Puru Akar pada Seledri di Pacet, Cianjur, Jawa Barat
Fitriani-grum Kurniawati, Supramana, Abdul Muin Adnan 26
- Penyakit Karat Bawang Daun yang Disebabkan oleh *Puccinia allii* Rud.
Widodo, Ginting Tri Pamungkas, Hendry Susetyo, Antoni Setiawan, Johanis Wowor 31



DAFTAR ISI

1. *Cover* jurnal
2. Halaman pengesahan
3. Artikel final yang sudah dipublikasi
4. Detail jurnal
5. Konfirmasi pengiriman naskah
6. Hasil Telaah Mitra Bebestari
7. Hasil Telaah Mitra Bebestari 2
8. Hasil Koreksi Dewan Penyunting
9. Hasil Koreksi Dewan Penyunting (Reminder)
10. Hasil Koreksi Dewan Penyunting ketiga
11. Perbaikan Naskah
12. Contoh Cetak Naskah
13. Proofread Naskah
14. Permohonan softfile cover jurnal, dewan redaksi, dewan editor dan naskah artikel

2.

Halaman Pengesahan

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia
Penulis : **Mahfut**, Budi Setiadi Daryono, Susanto Somowiyarjo
NIP : 198109092014041001
Instansi : Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung
Publikasi : Jurnal Fitopatologi Indonesia, Vol. 13, No. 01, hal. 1-8, 2017
Alamat Web (Link) : <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1.1>
<http://repository.lppm.unila.ac.id/id/eprint/12543>
Penerbit : Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB
ISSN : 2339-2479 (eISSN), 0215-7950 (pISSN)
Jenis Publikasi : Jurnal Nasional Terakreditasi SINTA 2

Bandar Lampung, 14 Juli 2022

Mengetahui,

Dekan Fakultas MIPA



[Signature]
Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001

Penulis

[Signature]

Dr. Mahfut, M.Sc.
NIP. 198109092014041001

Menyetujui,

Ketua LPPM Universitas Lampung



[Signature]
Dr. H. Lusmeilia Afriani, D.E.A
NIP. 196505101993032008

DOKUMENTASI LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGUBAH KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS LAMPUNG	
TGL	28/07/2022
NO. INVEN	gsi/s/a/wi/fmipa/2022
JENIS	jurnal
PARAF	<i>[Signature]</i>

3.

**Artikel Final Yang
Sudah Dipublikasi**

[Home](#) / [Archives](#) / Vol. 13 No. 1 (2017)

Vol. 13 No. 1 (2017)

Published: 2017-05-08

Articles

Deteksi Odontoglossum ringspot virus pada Angrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Mahfut Mahfut, Budi Setiadi Daryono, Susanto Somowiyarjo

1

[PDF \(Indonesian\) \(Bahasa Indonesia\)](#)

Keragaman Morfologi, Genetika, dan Patogenisitas Colletotrichum acutatum Penyebab Antraknosa Cabai di Jawa dan Sumatera

Roy Ibrahim, Sri Hendrastuti Hidayat, widodo widodo

9

[PDF \(Indonesian\) \(Bahasa Indonesia\)](#)

Mekanisme Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jeruk oleh Khamir, Kitosan, Cendawan Mikoriza Arbuskular, dan Bakteri Simbiotiknya

Hagia Sophia Khairani, Meity Suradji Sinaga, Kikin Hamzah Mutaqin

17

[PDF \(Indonesian\) \(Bahasa Indonesia\)](#)

Short Communication

Spesies Meloidogyne Penyebab Puru Akar pada Seledri di Pacet, Cianjur, Jawa Barat

Fitriani-grum Kurniawati, Supramana Supramana, Abdul Muin Adnan

26

[PDF \(Indonesian\) \(Bahasa Indonesia\)](#)

Disease Note

Penyakit Karat Bawang Daun yang Disebabkan oleh Puccinia allii Rud.

Widodo Widodo, Ginting Tri Pamungkas, Hendry Susetyo, Antoni Setiawan, Johanis Wowor

31

[PDF \(Indonesian\) \(Bahasa Indonesia\)](#)
[Make a Submission](#)

Language

[English](#)
[Bahasa Indonesia](#)

Template Manuskrip

[Article \(Download\)](#)
[Short Communication \(Download\)](#)
[Disease Note \(Download\)](#)
[Cover Letter JFI \(Download\)](#)
[Form Tanggapan Hasil Review \(Download\)](#)

Indexed by:



Citation Analysis




00288880 [View My Stats](#)

Home / Archives / Vol. 13 No. 1 (2017) / Articles

Deteksi Odontoglossum ringspot virus pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Mahfut Mahfut

Universitas Lampung

Budi Setiadi Daryono

Universitas Gadjah Mada

Susanto Somowiyarjo

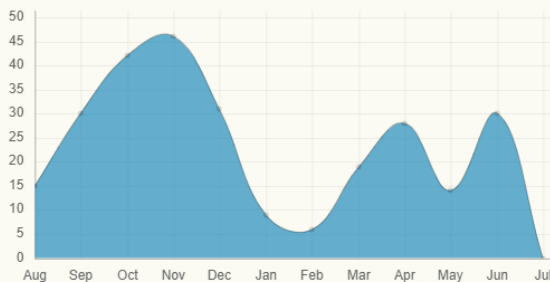
Universitas Gadjah Mada

DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1.1>

Abstract

Native orchid is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials in breeding program. Virus infection is one of the limiting factors in the cultivation of orchid. The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from native orchid. Symptomatic orchids were collected from 5 botanical gardens, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, and Enrekang Botanical Gardens. Detection and identification was conducted by serological method using ORSV specific antisera, followed by RT-PCR and DNA sequencing. The serological test showed that 5 samples gave positive reaction against ORSV antiserum, i.e. *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacense* (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. RT-PCR of the 5 samples using specific primer of ORSV coat protein gene was successfully amplified fragment DNA with size \pm 474 bp. Homology analysis of those 5 ORSV isolates showed the highest index similarity of 99.8% with corresponding sequences from 14 other ORSV isolates. Phylogenetic analysis indicated that ORSV KRB2 and KRP18 isolates was clustered in a separate group far from ORSV isolates in other countries. This is the first report of ORSV infection on native orchids collection from 5 botanical gardens in Indonesia.

Downloads



Author Biographies

Budi Setiadi Daryono, Universitas Gadjah Mada

Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah MadLaboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

PDF (Indonesian) (Bahasa Indonesia)

Published 2017-05-08

How to Cite MahfutM., DaryonoB. S., & SomowiyarjoS. (2017). Deteksi Odontoglossum ringspot virus pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, *13*(1), 1. <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1.1>

More Citation Formats

Issue Vol. 13 No. 1 (2017)

Section Articles

Authors who publish in Jurnal Fitopatologi Indonesia agree to the following terms:

1. Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a [Creative Commons Attribution License \(CC BY-SA\)](#) that allows others to share the work with an acknowledgement of the work's authorship and initial publication in this journal.

2. Authors are able to enter into separate, additional contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the journal's published version of the work (e.g., post it to an institutional repository), with an acknowledgement of its initial publication in this journal.

3. Authors are permitted and encouraged to post their work online (e.g., in institutional repositories or on their website) prior to and during the submission process, as it can lead to productive exchanges, as well as earlier and greater citation of published work.

Make a Submission

Template Manuskrip

Article (Download)

Short Communication (Download)

Disease Note (Download)

Cover Letter JFI (Download)

Form Tanggapan Hasil Review (Download)

Indexed by:



Citation Analysis

Citedness in Scopus



00292332 View My Stats

Keywords



Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* on Native Orchids Collection of Botanical Gardens in Indonesia

Mahfut¹, Budi Setiadi Daryono^{2*}, Susanto Somowiyarjo²

¹Universitas Lampung, Lampung 35145

²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek asli merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman anggrek. Infeksi virus menjadi salah satu faktor pembatas dalam budi daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek asli. Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala asal 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, dilanjutkan dengan metode *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR), dan perunutan DNA. Uji serologi menunjukkan 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV, yaitu pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) dan *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) dari Kebun Raya Bogor, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) dan *Dendrobium salacence* (KRP20) dari Kebun Raya Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) dari Kebun Raya Balikpapan. Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik gen *coat protein* ORSV menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi 5 isolat ORSV tersebut menunjukkan nilai indeks similaritas (IS) sebesar 99.8% dengan 14 isolat ORSV lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat KRB2 dan isolat KRP18 berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan isolat ORSV dari negara-negara lain. Ini adalah laporan pertama adanya infeksi ORSV pada anggrek asli koleksi 5 kebun raya di Indonesia.

Kata kunci: analisis filogenetika, homologi, serologi, RT-PCR

ABSTRACT

Native orchid is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials in breeding program. Virus infection is one of the limiting factors in the cultivation of orchid. The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from native orchid. Symptomatic orchids were collected from 5 botanical gardens, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, and Enrekang Botanical Gardens. Detection and identification was conducted by serological method using ORSV specific antisera, followed by RT-PCR and DNA sequencing. The serological test showed that 5 samples gave positive reaction against ORSV antiserum, i.e. *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence* (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. RT-PCR of the 5 samples using specific primer of ORSV coat protein gene was successfully amplified fragment DNA with size ± 474 bp. Homology analysis of those 5 ORSV isolates showed the highest index similarity of 99.8% with corresponding

*Alamat penulis korespondensi: Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Jalan Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281.
Tel: 0274-580839, Faks: 0274-580839; Surel: budi.daryono@ugm.ac.id; bs_daryono@yahoo.com

sequences from 14 other ORSV isolates. Phylogenetic analysis indicated that ORSV KRB2 and KRP18 isolates was clustered in a separate group far from ORSV isolates in other countries. This is the first report of ORSV infection on native orchids collection from 5 botanical gardens in Indonesia.

Key words: homology, phylogenetic analysis, RT-PCR, serology

PENDAHULUAN

Anggrek asli memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman yang bertujuan memperluas keragaman genetika bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, dan tahan terhadap patogen serta cekaman lingkungan. Serangan hama penyakit menjadi salah satu kendala dalam budi daya dan pengembangan potensi anggrek. Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Chang *et al.* 2005; Navalinskiene *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan menginfeksi anggrek dan memiliki penyebaran luas di Indonesia ialah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Inouye dan Gara 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati *et al.* 2011; Mahfut *et al.* 2016), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus* (Lakani 2011). ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015).

Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan kualitas bunga (Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). ORSV menyebabkan kerugian secara ekonomi akibat menurunnya kualitas bunga di Florida, Hawaii, India, Taiwan, Thailand, Singapura, dan Australia (Zettler *et al.* 1990; Hu *et al.* 1993; Wong *et al.* 1994; Barry *et al.* 1996; Chang *et al.* 1996; Sherpa *et al.* 2006; Khentry *et al.* 2006; Chang 2008; Ali *et al.* 2014).

Berdasarkan survei pada 5 kebun raya (KR) di Indonesia, yaitu; KR Bogor (Jawa Barat), KR Cibodas (Jawa Barat), KR Purwodadi (Jawa Timur), KR Balikpapan (Kalimantan Timur), dan KR Enrekang (Makasar) selama

tahun 2010-2014 banyak dijumpai anggrek asli dengan gejala terinfeksi virus yang diduga disebabkan oleh ORSV. Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi ORSV untuk pemutakhiran status kesehatan anggrek asli koleksi kebun raya di Indonesia. Penerapan hasil penelitian ini menjadi salah satu upaya potensial pendukung konsep konservasi anggrek asli di Indonesia melalui upaya perlindungan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Deteksi Protein dengan secara Serologi

Deteksi serologi untuk menentukan insidensi infeksi virus menggunakan metode DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari 27 genus) paling representatif berdasarkan pada gejala infeksi dari masing-masing lokasi. ELISA menggunakan antiserum spesifik ORSV sesuai dengan protokol yang direkomendasikan pembuat antiserum (Agdia Inc.). Pewarnaan dengan substrat PNP dibaca menggunakan ELISA-reader (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dinyatakan positif apabila nilai absorbansinya mendekati nilai kontrol positif atau paling tidak 2–3 kali nilai absorbansi bufer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

Deteksi Asam Nukleat dengan RT-PCR

Isolasi RNA dilakukan pada sampel positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan total RNA *isolation kit* dan dilakukan sesuai dengan protokol (SBS Genetech Co., Ltd., China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-GGAAGAGGTCCAA GTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006).

Tahap *reverse transcription* (RT) dilakukan dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo Scientific, USA), selanjutnya cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam tahap PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 96 °C selama 5 menit dan diakhiri pada suhu 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan tahap pre-denaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 34 siklus, meliputi denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, aneling pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit.

Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2% dalam bufer TBE 1× menggunakan voltase 50 Volt selama 40 menit. Gel agarosa direndam dalam etidium bromida (10 µL 100 mL⁻¹) selama 30 menit. Pita DNA divisualisasi pada transluminator UV (Bio-Rad Transilluminator 2000) dan didokumentasikan.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika

DNA hasil amplifikasi dirunut sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke FirstBase, Malaysia. Sikuen nukleotida dianalisis dan digabungkan dengan peranti lunak *Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen nukleotida ORSV isolat dari Indonesia dilakukan terhadap sikuen yang terdaftar di GenBank menggunakan *basic local alignment search tool* (BLAST) (www.ncbi.nlm.nih.gov). Seleksi berdasarkan distribusi daerah terpilih diperoleh 4 isolat ORSV terdaftar asal Indonesia dan 10 isolat ORSV asal dari negara lain (Singapura, Cina, India, Jerman, Korea Selatan, Argentina, dan Brazil). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*).

Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan peranti lunak *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *neighbor joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak. Nilai *bootstrap* yang digunakan ialah sebanyak 1000 kali pengulangan.

HASIL

Deteksi Virus

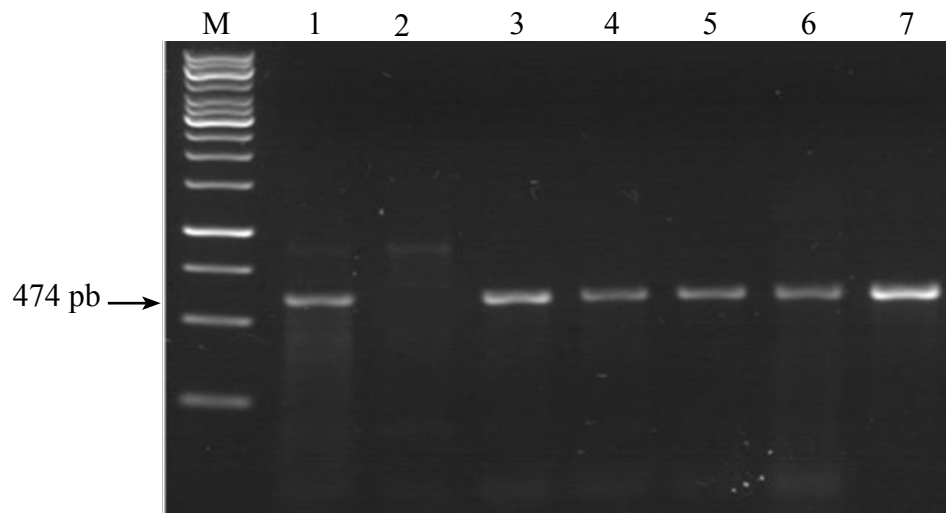
Hasil deteksi serologi menunjukkan insidensi infeksi virus sebesar 11.4%. Sebanyak 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV dengan rerata nilai absorbansi berkisar 1.125–1.152, yaitu 2 sampel berasal dari KR Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari KR Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari KR Balikpapan (KRBp5). Dari keseluruhan sampel anggrek yang positif tersebut, 4 di antaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. Sampel daun positif yang terinfeksi ORSV ialah pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12), *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *Dendrobium salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5). RT-PCR pada 5 sampel positif ORSV menunjukkan adanya fragmen DNA berukuran ± 474 pb (Gambar 1).

Analisis Sikuen Nukleotida

Total nukleotida gen CP isolat ORSV-KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5 berukuran 474–480 nukleotida. Analisis BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan bahwa 5 isolat tersebut memiliki homologi sebesar 99% dengan isolat ORSV dari negara Asia, Afrika, Amerika, dan Eropa. Hasil analisis 14 isolat ORSV lain menunjukkan homologi sampai dengan 99.8% dengan isolat ORSV asal kebun raya di Indonesia (Tabel 1).

Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

Hasil penyejajaran sikeun nukleotida menunjukkan adanya mutasi titik berupa substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat KRP18 dan KRB12 mengalami kejadian mutasi terbanyak, yaitu transisi dan insersi masing-masing 2 kali sehingga kedua isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino. Isolat KRP18 menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam amino Gly dan Val yang mengalami penurunan masing-masing 4.7% dan 3.6% serta peningkatan pada Cys dan



Gambar 1 Visualisasi hasil RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarosa 2%. M, Penanda DNA 1 kb (Rainbow invitrogen); 1, kontrol positif; 2, kontrol negatif dari tanaman sehat; 3–4, ORSV dari Kebun Raya Bogor (KRB2 dan KRB12); 5–6, ORSV dari Kebun Raya Puwodadi (KRP18 dan KRP20) dan; 7, ORSV dari Kebun Raya Balikpapan (KRBp5).

Asn sebesar 7.1% dan 11.8%. Berbeda dengan isolat KRB12 yang mengalami peningkatan pada asam amino Gly dan Ala sebesar 7.2% dan 5.9%, serta penurunan pada Pro 0.8% dan Tyr 4.7% (Tabel 2). Pada sikeun nukleotida gen CP isolat ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

Analisis filogenetika menunjukkan bahwa 5 isolat ORSV asal KR di Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil analisis pohon filogenetika membagi isolat ORSV menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok isolat Jerman yang terpisah dengan kelompok 18 isolat lainnya. Kelompok ini terbagi menjadi 3 subgrup, yaitu 4 isolat Indonesia yang telah terdaftar di Genbank, 3 isolat kebun raya (Bogor, Balikpapan, dan Purwodadi) dengan 10 isolat dari negara lain, serta 2 isolat KRB2 dan KRP18. Isolat KRB2 dan KRP18 terpisah dari isolat ORSV asal negara lain (Gambar 2). Walaupun keseluruhan isolat membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antarisolat masih sangat dekat. Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk subgrup.

PEMBAHASAN

Upaya pemeliharaan anggrek sebaiknya dilakukan secara rutin untuk pemantauan

perkembangan dan penyebaran penyakit virus serta tindakan pengendaliannya sedini mungkin. Meskipun insidensinya masih rendah, yaitu <20%, sama seperti yang dilaporkan oleh Lakani (2011), infeksi ORSV harus mendapat perhatian serius mengingat virus ini paling banyak menginfeksi (Zettler *et al.* 1990). Di Indonesia, ORSV dilaporkan telah menginfeksi 9 dari total 27 genus anggrek di dunia, yaitu *Aranda*, *Grammatophyllum*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, dan *Oncidium* (Inouye dan Gara 1996).

Beberapa mutasi nukleotida yang terjadi menyebabkan 2 isolat ORSV, yaitu KRB12 dan KRP18 terpisah dengan isolat lainnya. Proses terjadinya mutasi nukleotida pada masing-masing isolat didukung oleh kemampuan alami virus untuk beradaptasi dengan lingkungan. Mutasi nukleotida selanjutnya menyebabkan perubahan asam amino yang terbentuk dalam susunan genom virus. Perubahan asam amino tersebut akan mengubah fungsi gen yang disusun sehingga infektivitasnya juga berubah (Lakani *et al.* 2010).

Gen *coat protein* (CP) bersifat *conserved* sehingga memiliki kemampuan mekanisme *proofreading* seperti umumnya gen nuklear lainnya. Hal ini menyebabkan virus dapat melakukan koreksi dan memperbaiki

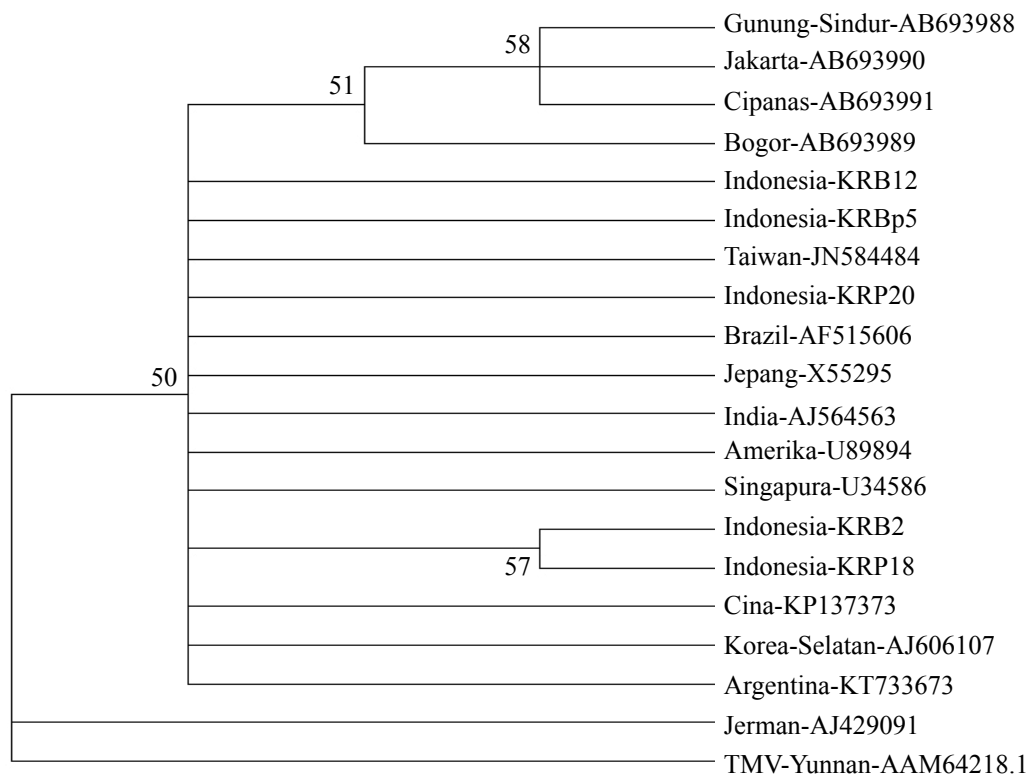
Tabel 1 Tingkat homologi nukleotida gen CP 5 isolat ORSV asal anggrek asli Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain

No	Asal Isolat	No.Akresi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Indonesia-KRB2	-	100	ID																		
2	Indonesia-KRB12	-	99.5	100	ID																	
3	Indonesia-KRP18	-	97.9	98.7	100	ID																
4	Indonesia-KRP20	-	99.4	98.9	98.3	100	ID															
5	Indonesia-KRBp5	-	99.8	98.7	98.1	99.6	100	ID														
6	Indonesia-Bogor	AB693989	96.6	96.6	96.0	96.6	96.6	100	ID													
7	Indonesia-Cipanas	AB693991	98.7	99.4	98.7	99.2	98.9	97.3	100	ID												
8	Indonesia-Gunung Sindur	AB693988	98.7	99.4	96.6	99.2	98.9	100	95.1	100	ID											
9	Indonesia-Jakarta	AB693990	96.6	97.3	98.7	97.0	96.8	97.9	97.9	96.8	100	ID										
10	Singapura	U34586	98.7	99.4	98.9	99.2	98.9	99.6	99.6	97.5	97.0	100	ID									
11	India	AJ564563	98.9	99.6	98.5	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	96.8	100	ID								
12	Jepang	X55295	98.5	99.2	98.3	98.9	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	96.6	100	ID							
13	Korea Selatan	AJ606107	98.3	98.9	98.3	98.7	99.5	99.2	99.2	97.0	99.2	99.4	98.9	96.6	100	ID						
14	Cina	KP137373	98.5	99.2	98.5	98.8	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	99.2	98.9	97.0	100	ID					
15	Taiwan	JN584484	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	97.0	100	ID				
16	Amerika	U89894	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	100	94.3	100	ID			
17	Jerman	AJ429091	96.2	96.8	96.2	96.6	96.4	97.0	97.0	94.9	97.0	97.3	98.8	99.6	99.8	97.3	97.3	96.7	100	ID		
18	Argentina	KT733673	97.4	98.0	97.7	98.0	97.7	98.4	98.4	95.1	98.4	98.7	98.4	98.4	98.4	98.7	98.7	94.8	84.3	100	ID	
19	Brazil	AF515606	86.0	86.5	85.9	86.2	86.2	86.8	86.8	84.7	86.8	87.0	86.6	86.8	86.6	87.0	87.0	84.3	98.4	96.6	100	ID
20	TMV-Yunnan	AAM64218.1	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.7	67.7	66.5	67.9	67.9	66.7	68.4	68.4	67.9	97.9	67.3	67.7	61.4	100	100

Tingkat homologi nukleotidagen CP ORSVasal anggrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25

Tabel 2 Frekuensi asam amino gen CP ORSV asal anggrek asli Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asam Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
KRB2	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91
KRB12	5.43	4.35	2.17	0.00	6.52	6.53	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	9.78	4.29	5.43	4.35	17.39	6.52	4.35	1.09	7.61	92
KRP18	5.43	6.52	2.17	0.00	6.52	4.35	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	10.87	5.43	5.43	4.35	17.39	6.52	3.26	1.09	7.61	92
KRP20	4.44	4.44	2.22	0.00	6.67	5.56	0.00	2.22	1.11	8.89	1.11	10.00	5.56	5.56	4.44	18.89	6.67	3.33	1.11	7.78	90
KRBp5	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91



Gambar 2 Pohon filogenetika isolat ORSV berdasarkan sikuen nukleotida gen CP 4 isolat dari Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain. TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding luar grup

kesalahan yang terjadi selama proses replikasi genom. Namun dengan ukuran genom virus yang relatif kecil maka adanya sedikit kesalahan akan memberikan pengaruh laju mutasi secara nyata. Laju mutasi akan menghasilkan variasi genetika virus sehingga meningkatkan probabilitas evolusi lebih cepat. Cabang yang cukup panjang pada isolat KRB2 dan KRP18 juga mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan dapat mengarah terjadinya spesiasi.

ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman. BPPP (2005) mencatat Jerman menduduki peringkat 14 sebagai negara yang mengirim benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997–2001, selain Amerika Serikat, Brazil, India, Singapura, Korea Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh laporan adanya infeksi ORSV di Jerman, Amerika Serikat, Jepang (Lawson 1990), Brazil (Freitas *et al.* 1999), India (Sherpa *et al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994), Taiwan (Chang 2008), Korea (Chang *et al.*

1991), Cina (Rao *et al.* 2015), dan Taiwan (Zheng *et al.* 2008). Berdasarkan hal tersebut, cara lain yang efektif untuk melindungi dan mempertahankan status kesehatan anggrek asli di Indonesia ialah dengan membatasi dan mengontrol impor anggrek dari negara lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh 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

Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three common viruses infecting orchids. *Arch Virol.* 159(11):3095–3099. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2161-9>.

- Barry K, Hu JS, Kuehnle AR, Sughii N. 1996. Sequence analysis and detection using immunocapture-PCR of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in Hawaiian orchids. *J Phytopathol.* 144(4):179–186. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb01511.x>.
- [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI.
- Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce clean orchid plantlets. *Orchids.* 77(9):668–671.
- Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid protein gene. *Transgenic Research.* 14:41–46. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11248-004-2373-y>.
- Chang CG, Wong SM, Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Kao MC, Chung MC, Watanabe Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum ringspot virus* and comparison with other Tobamoviruses. *Gene.* 171(2):155–161. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(96\)00046-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(96)00046-7).
- Chang MU, Chun HH, Baik DH, Chung JD. 1991. Studies on the viruses in orchids in Korea. *Dendrobium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Orchid fleck virus*, and unidentified potyvirus. *Korean J Plant Pathol.* 7:118–129.
- Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei virus yang menyerang labu-labuan di Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Perlin Tan Indones.* 15:83–89.
- Freitas AJ, Rezende JAM, Kitajima EW. 1999. Incidence of orchid viruses in the state of São Paulo, Brazil. *Fitopatol Bras.* 24(2):125–130.
- Hu JS, Ferreira S, Wang M, Xu MQ. 1993. Detection of *Cymbidium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Tomato spotted wilt virus*, and *Potyriviruses* infecting orchids in Hawaii. *Plant Dis.* 77:464–468. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-77-0464>.
- Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and identification of viruses of orchid in Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109–118.
- Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Khentry Y, Paradornuwat A, Tantiwiwat S, Phansiri S, Thaveechai N. 2006. Incidence of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Protec.* 25(9):926–932. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.12.002>.
- Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.015>.
- Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*; 2011 Sep 23–24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.
- Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati J Biosci.* 17(2):101–104. DOI: <https://doi.org/10.4308/hjb.17.2.101>.
- Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman anggrek di Pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest and diseases*, AM Pridgeon, LL Tillman, editor. Florida (US): American Orchid Society. West Palm Beach. Hlm 66–101.
- Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT-PCR detection of two orchid viruses with an internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187–196.

- Mahfut, Joko T, Daryono BS. 2016. Molecular Characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) in Java and Bali, Indonesia. *Asian J Plant Pathol*. 10(1–2):9-14. DOI: <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2016.9.14>.
- Menisa F. 2009. Deteksi dan identifikasi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Identification of viruses affecting orchids (*Cymbidium* Sw.). *Biologija*. 2:29–34.
- Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, Xiang M. 2015. Genetic diversities of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* isolates based on the coat protein genes from orchids in Guangdong Province, China. *J Phytopathol*. 163(4):324–329. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12285>.
- Sherpa AR, Bag TK, Hallan V, Zaidi AA. 2006. Detection of *Odontoglossum ringspot virus* in orchids from Sikkim, India. *Australas Plant Pathol*. 35(1):69–71. DOI: <https://doi.org/10.1071/ap05094>.
- Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) on Vanda plants. *IJSR*. 4(1):374–377.
- Syahierah P. 2010. Respon berbagai jenis anggrek (*Orchidaceae*) terhadap infeksi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wong SM, Chng, CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. 1994. Incidence of *Cymbidium mosaic* and *Odontoglossum ringspot viruses* and their significance in orchid cultivation in Singapore. *Crop Protec*. 13(3):235–239. DOI: [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90084-1).
- Zettler FW, KoNJ, WislerGC, ElliotMS, WongSM. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis*. 74:621–626. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-74-0621>.
- Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ. 2008. Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur J Plant Pathol*. 121(1):87–95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9281-6>.

4.

Detail Jurnal

JURNAL FITOPATOLOGI INDONESIA

JURNAL FITOPATOLOGI INDONESIA

PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA

P-ISSN : 02157950 <> E-ISSN : 23392479 Subject Area : Health

1.5
Impact Factor

1942
Google Citations

Sinta 2
Current Accreditation

Google Scholar Garuda Website Editor URL

History Accreditation



Garuda Google Scholar

Cover Jurnal Fitopatologi Vol. 18 No. 1, Januari 2022

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) i

2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.i Accred : Sinta 2

Resistance of Several Local Rice Varieties to Isolate Tungro Virus from Muara

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) 1-8

2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.1-8 Accred : Sinta 2

Incidence and Molecular-Based Identification of Papaya ringspot virus Infecting Papaya in Java

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) 43-51

2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.43-51 Accred : Sinta 2

Potential of Biological Agents for Controlling Basal Rot Disease and Promoting Plant Growth in Shallot

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) 9-18

2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.9-18 Accred : Sinta 2

Screening for Resistance of Tomato Lines Against Tomato chlorosis crinivirus

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) 19-29

2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.19-29 Accred : Sinta 2

Diversity of Morphology, Physiology, Biochemistry and Virulence of Xanthomonas citri sub sp. citri Causes Cancer in Citrus

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 1 (2022) 29-42

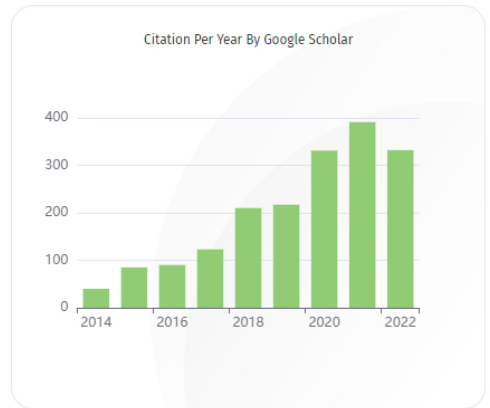
2022 DOI: 10.14692/jfi.18.1.29-42 Accred : Sinta 2

Meloidogyne species, the pimple-like knot pathogen of potato tuber in three production centers in Sumatra

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia) Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 2 (2022) 66-74


2022 DOI: 10.14692/jfi.18.2.66-74 Accred : Sinta 2

Screening of Marine Fungi as Biological Control Agent of Colletotrichum acutatum on Chili




Journal By Google Scholar

	All	Since 2017
Citation	1942	1612
h-index	19	18
i10-index	66	51

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia)  Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 2 (2022) 53-65


 2022  DOI: 10.14692/jfi.18.2.53-65  Accred : Sinta 2

Growth Inhibition of *Rhizoctonia solani* and Its Infection Inhibition on the Rice Seedling by Rice Endophytic Bacteria

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia)  Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol 18 No 2 (2022) 75-84

 2022  DOI: 10.14692/jfi.18.2.75-84  Accred : Sinta 2

Potensi Beberapa Isolat Bakteri Endofit untuk Pengendalian Biologi *Meloidogyne graminicola* pada Tanaman Padi

The Indonesian Phytopathological Society (Perhimpunan Fitopatologi Indonesia)  Jurnal Fitopatologi Indonesia Vol. 17 No. 1 (2021) 28-34

 2021  DOI: 10.14692/jfi.17.1.28-34  Accred : Sinta 2

[View more](#)

5.

**Konfirmasi
Pengiriman Naskah**

Compose

- Inbox (283)
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel
- Folders Hide
- + New Folder

Back Archive Move Delete Spam ...

Konfirmasi pengiriman naskah (Naskah No 2111)

Yahoo/Inbox

Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com> To: mahfutkariem@yahoo.com

Mon, Feb 1, 2016 at 10:48 AM

Kepada Yth.,
Bapak Mahfut, S.Si, M.Sc
di Universitas Lampung

Terima kasih atas pengiriman naskah dengan judul "Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia"

Naskah Bapak telah kami beri nomor naskah (Naskah No 211) yang berguna untuk korespondensi dengan J Fitopatol Indones.

Naskah Bapak saat ini sedang dalam proses koreksi oleh Dewan Penyunting J Fitopatol Indones sebelum ditelaah oleh mitra berbestari. Penulis masih bertanggung jawab untuk melakukan proses korespondensi hingga cetak

Demikian yang dapat kami informasikan. Apabila ada hal-hal terkait naskah yang ingin ditanyakan, silahkan untuk langsung menghubungi Redaksi Jurnal Fitopatologi Indonesia

Terima kasih
Salam
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan Penyunting



Mahfut Kariem Kepada Yth., Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat Terimakasih sebelumnya untuk konfirmasi perihal naskah Tue, Feb 2, 2016 at 5:06 PM

Reply, Reply All or Forward

Send [Rich text editor icons]

Putri Syahierah
jurnal.fitopatologi@gmail.com
Edit contact

yahoo!mail
TERATUR SPESIAL KEREN
Dapatkan App-nya



6.

**Hasil Telaah Mitra
Bebestari**

Compose

Back

Archive

Move

Delete

Spam

Print

Calendar

Settings

Hasil Telaah Mitra Bebestari (Naskah No. 211)

Yahoo/Inbox



Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com>
To: mahfutkariem@yahoo.com

Fri, Feb 26, 2016 at 12:00 PM

Kepada Yth.,
Bapak Mahfut
di Universitas Lampung

Bersama ini kami kirimkan surat perihal hasil telaah naskah oleh Mitra Bebestari J Fitopatol Indones. Naskah Bapak yang berjudul "TEMUAN PENYAKIT BARU: Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia" sudah di telaah oleh Mitra bebestari.

Mohon Bapak dapat memperbaiki naskah sesuai saran dari Mitra Bebestari. Jika terdapat saran atau koreksi dari Mitra Bebestari yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan pada form tanggapan (terlampir)

Mohon Bapak dapat mengembalikan perbaikan naskah **1 minggu** setelah email ini di terima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam,
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan Penyunting

[Download all attachments as a zip file](#)

- Surat No 10... .pdf 23.8kB
- Naskah No... .docx 1010.2kB
- Hasil Telaahpdf 18.3kB
- Hasil Telaahpdf 19kB
- Form Tangg... .doc 33kB
- Pedoman Pe... .pdf 200.8kB

Navigation icons



Budi Daryono Saya setuju untuk merubah judulnya sehingga tidak menggunakan Temuan Penyakit Baru, tetapi hanya Sat, Feb 27, 2016 at 1:32 AM

Reply, Reply All or Forward

Send [Rich text editor icons]



Putri Syahierah
jurnal.fitopatologi@gmail.com
Edit contact

ADC Architecture & Design Awards

IAD Award Trophy, Certificate of Achievement, Personalized Award Logo and more.

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Makalah ini masih perlu banyak perbaikan, dari segi penyusunan kalimat, penyusunan paragraf, pemilihan kata dan istilah khusus yang berkaitan dengan materi naskah.

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :

Menambah informasi baru, yaitu penemuan ORSV pada anggrek liar yang merupakan laporan pertama di Indonesia.

2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :

Metodologi masih banyak yang harus diperbaiki

3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :

Masih perlu rujukan pustaka supaya penafsiran lebih baik lagi

4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :

Pembahasan sudah sesuai dengan ruang lingkup penelitian, namun masih harus diperdalam lagi dengan penambahan pustaka yang sesuai.

5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:

Judul sudah sesuai, abstrak masih harus diperbaiki

6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:

Masih perlu dilengkapi gambar sesuai komentar A38. Tabel di komentar A41 dan gambar di komentar A44 masih perlu diperbaiki

7. Komentar khusus lainnya :

Makalah ini sebaiknya menjadi makalah utuh, karena datanya mencukupi untuk menjadi makalah utuh. Namun perlu diperbaiki sesuai komentar dalam makalah, pembahasan lebih mendalam dan penambahan rujukan pustaka, serta disesuaikan dengan format naskah utuh dari JFI.

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Apakah masih dikategorikan temuan penyakit baru mengingat laporan sudah ada sejak 1996?

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :

Baik untuk metode deteksi

2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :

bagus

3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :

Sudah sejalan

4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :

relevan

5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:

Sudah sesuai

6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:

Perlu dilengkapi sesuai saran yang saya cantumkan

7. Komentar khusus lainnya :

TEMUAN PENYAKIT BARU

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids
Collection of Botanical Garden in Indonesia

ABSTRAK

Anggrek alam merupakan kekayaan flora asli Indonesia dan keberadaannya sudah sangat berkurang di habitat aslinya. Salah satu upaya penyelamatan dilakukan melalui pembangunan kebun raya. Infeksi virus juga menjadi faktor pembatas terpenting dalam usaha budidaya anggrek. Saat ini, telah dilakukan survei lapangan di 5 kebun raya di Indonesia dan ditemukan banyak anggrek alam menunjukkan gejala terinfeksi virus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia. Uji serologis dengan antiserum spesifik ORSV mengindikasikan 5 dari total 87 sampel positif terinfeksi ORSV. Deteksi asam nukleat dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein* (CP) ORSV menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb pada sampel.....Analisis homologi.... Analisis filogenetika menunjukkan ORSV isolat Indonesia berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan isolat Cina dan Korea Selatan. Penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi ORSV pada anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia.

Comment [A1]: Kurang berkaitan dengan materi. Sebaiknya diganti dengan manfaat anggrek

Comment [A2]: dihilangkan

Comment [A3]: diganti Hasil

Comment [A4]: dihilangkan

Comment [A5]: ditambah 5....

Comment [A6]: serologi

Comment [A7]: menunjukkan

ABSTRACT

25
26
27 Native orchid is original floral in Indonesia and its presence has been highly
28 diminished in their natural habitat. One of conservational effort was done by
29 establishing botanical garden. Virus infection also was the most important limiting
30 factor in the cultivation of orchid. Recently, field surveys were conducted in five
31 botanical garden in Indonesia and found that most of the native orchids were showed
32 that infected by virus-like disease. The study purpose was to know the availability of
33 *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) that infect native orchid from botanical garden
34 collection in Indonesia. The serological test using against ORSV antisera indicated that
35 5 of 87 sampels are visually infected by ORSV. Detection of nucleic acid with *Reverse*
36 *Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) using specifics primer of coat
37 protein (CP) gene ORSV was successfully amplified a \pm 474 bp of DNA fragment.
38 Phylogenetic analysis showed that Indonesia isolate formed a distinct group with
39 isolates from China and South Korea. This is the first report of infection ORSV on
40 native orchids collection of botanical garden in Indonesia.

41 **Kata kunci:** ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR

- 42 1. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas
43 Lampung, Lampung, 35145. E-mail: mahfutkariem@yahoo.com
44 2. Laboratorium Genetika, Fakutas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta,
45 55281.

46
47 Keberadaan anggrek alam sebagai kekayaan flora asli Indonesia (Sarwono 2002)
48 di habitat aslinya sudah sangat berkurang bahkan terancam punah (Pant 2013). Salah

49 satu upaya penyelamatan yang dilakukan pemerintah adalah pembangunan kebun raya
50 sebagai kawasan konservasi *ex-situ* (Yudhoyono 2011). Tanaman hias ini memiliki nilai
51 estetika tinggi sehingga menjadi koleksi andalan kebun raya dalam menarik wisatawan.

Comment [A9]: Paragraf ini kurang spesifik sebagai pendahuluan (kurang terkait dengan materi). Sebaiknya diganti dengan manfaat dari tanaman anggrek alam.

52 Selain tindak pengalihan fungsi hutan, keberadaan hama penyakit menjadi
53 kendala utama dalam usaha budidaya dan pengembangannya (Aruni *et al.* 2011).

Comment [A10]: Diganti serangan

Comment [A11]: Mengacu ke apa? Disebutkan saja

54 Berdasarkan survei pada lima kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya Bogor (Jawa
55 Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan (Kalimantan
56 Timur), dan Enrengkang (Makassar) selama bulan Mei-Agustus 2010, April-Juni 2011,
57 dan Mei-Juli 2014 banyak dijumpai anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus. Gejala
58 umum yang ditemukan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik. Selain itu, dijumpai gejala
59 khas infeksi ORSV berupa bercak bercincin (*ringspot*) seperti virus ini pertama kali
60 ditemukan (Jensen dan Gold 1951).

Comment [A12]: Sebaiknya ditempatkan di paragraf terakhir sebelum tujuan penelitian

61 Infeksi ORSV di Indonesia pertama kali dilaporkan Inouye dan Gara (1996)
62 dengan lokasi pengambilan sampel pada 12 nurseri di Jawa, Ujung Pandang, dan Bali.
63 Gejala yang ditemukan klorotik dengan pola garis, mosaik, dan bercak nekrosis pada
64 *Bulbophyllum*, *Cattleya*, *Calanthe*, *Oncidium*, dan *Phalaenopsis*. ORSV juga mampu
65 menginfeksi *Dendrobium* di Gunung Sindur (Isnawati 2009; Lakani *et al.* 2010) dan
66 Kebun Raya Bogor (Lakani 2011) dengan gejala mosaik pada permukaan atas dan
67 bercak klorotik hitam pada permukaan bawah daun. Gejala khas bercak bercincin
68 (*ringspot*) sebagai respon infeksi yang parah ditemukan Syahierah (2010) dan Lakani
69 (2011) pada *Dendrobium* dan *Phalaenopsis* di Gunung Sindur dan Cianjur. Sampai saat
70 ini, keseluruhan laporan infeksi hanya terbatas pada anggrek hibrida. Berdasarkan
71 informasi deskripsi gejala dan pola sebaran infeksi, anggrek alam koleksi kebun raya di

Comment [A13]: Dihilangkan saja

Comment [A14]: Syahierah menemukan di mana? Lakani menemukan di mana?

72 Indonesia diduga terinfeksi ORSV sehingga perlu dilakukan deteksi ORSV terhadap
73 sampel anggrek alam hasil survei.

Comment [A15]: Masuk paragraf baru, setelah berdasarkan survei.....dst

74 Total sampel daun anggrek bergejala adalah 87 yang dikoleksi dari 27 genus
75 (Tabel 1). Metode deteksi awal dilakukan dengan uji serologis menggunakan antiserum
76 spesifik ORSV (Agdia Inc.). Hasil uji serologis dapat langsung digunakan untuk
77 menentukan sampel positif berdasarkan hasil pembacaan rerata nilai absorbansi 405 nm
78 pada ELISA-reader (BioTek). Hasil akhir diperoleh 5 sampel (KRB2, KRB12, KRP18,
79 KRP20, dan KRBp5) positif terinfeksi dengan rerata nilai absorbansi 1.125-1.152 atau
80 insidensi infeksi virus 5,7 %. Dari keseluruhan sampel positif tersebut, 4 diantaranya
81 merupakan *Phalaenopsis* sp. (Gambar 1) dan digunakan untuk analisis selanjutnya.

Comment [A16]: Serologi, yang lainnya juga diganti

Comment [A17]: Dikatakan positif bila nilai absorbansinya berapa kali sampel negatif?

Comment [A18]: Data sebaiknya disajikan dalam bentuk tabel, biar jelas

Comment [H19]: Dihindari pada awal kalimat

Comment [A20]: Tidak diacu di sini, karena gambar ini tentang gejala

82 Deteksi asam nukleat dengan RT-PCR dilakukan menggunakan primer spesifik
83 gen CP ORSV CP-F1/CP-R1 (Lee dan Chang 2006) pada ukuran target \pm 474 pb
84 (Lakani *et al.* 2010; Mahfut 2011). Tahap ini terlebih dahulu dilakukan isolasi RNA
85 menggunakan *Total RNA isolation kit* (SBS Genetech Co. Ltd., Cina) dari sampel
86 positif terinfeksi ORSV. Untuk analisis lanjutan, metode RT-PCR dilakukan secara
87 terpisah sesuai instruksi *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo scientific) dan PCR
88 *mix GoTaq® Green* (Promega). Reaksi RT dilakukan pada suhu 37°C selama 60 menit,
89 diikuti amplifikasi cDNA dengan predenaturasi selama 5 menit pada 95°C, dilanjutkan
90 dengan 30 siklus PCR, meliputi 30 detik pada 95°C, 45 detik pada 50°C, dan 1 menit
91 pada 70°C (Mahfut 2011). Produk PCR divisualisasi dengan elektroforesis pada gel
92 agarosa 2% DNA hasil amplifikasi selanjutnya digunakan untuk sekuensing nukleotida
93 dengan mengirimkan sampel ke perusahaan 1st Base, Singapura. Data hasil sekuensing
94 digabungkan dengan *Software Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM*
95 *Version 3.0.25*, selanjutnya digunakan untuk mencari dan membandingkan homologi

Comment [A21]: Diganti dengan

Comment [A22]: Isolasi RNA dilakukan pada sampel terinfeksi ORSV, menggunakan.....

Comment [A23]: Dihilangkan saja. Sebelum reaksi RT, perlu dicantumkan pereaksi yang digunakan

Comment [A24]: Dilakukan secara terpisah, atau satu tahapan (one step)?

Comment [A25]: Dikirimkan ke...untuk sekuensing nukleotida

Comment [A26]: menggunakan

Comment [A27]: titik

96 sekuen dengan data yang terdaftar di GenBank menggunakan *Basic Local Alignment*
 97 *Search Tool* (BLAST) pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov. Analisis filogenetika
 98 dilakukan dengan *Neighbour Joining* (NJ) pada program *Molecular Evolutionary*
 99 *Genetics Analysis* (MEGA 5 Beta). Analisis secara statistik pada cabang internal
 100 menggunakan *bootstrap* 1000 kali pengulangan (Lakani *et al.* 2010).

Comment [A28]: Analisis homologi dengan sekuen....dilakukan

101 Hasil deteksi membuktikan bahwa ORSV telah masuk dan menginfeksi anggrek
 102 alam koleksi di Kebun Raya Bogor, Purwodadi, dan Balikpapan dengan adanya
 103 fragmen DNA spesifik berukuran \pm 474 pb (Gambar 2). Lebih lanjut, analisis
 104 sekuensing nukleotida diperoleh total nukleotida isolat ORSV-Bogor (KRB12), ORSV-
 105 Bogor2 (KRB18), ORSV-Purwodadi (KRP18), dan ORSV-Balikpapan (KRBp5)
 106 sejumlah 474-480 basa. Hasil BLAST menunjukkan kemiripan 99% dengan 45 isolat
 107 gen *CP* ORSV dari negara di Asia, Amerika, dan Eropa. Seleksi berdasarkan sumber
 108 sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat terdaftar. Analisis 8 isolat lain berdasarkan
 109 distribusi daerah terpilih di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen, Zhuhai, Guangzhou,
 110 Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan kemiripan dengan indeks
 111 similiaritas (IS) sampai dengan 99.6% (Tabel 2). Hal ini menjelaskan sifat adaptif virus
 112 yang relatif stabil pada perbedaan wilayah geografis. Isolat TMV-Yunnan digunakan
 113 sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*).

Comment [A29]: dihilangkan

Comment [A30]: teramplifikasi

Comment [A31]: dihilangkan

Comment [A32]: diganti Hasil

Comment [A33]: isolat yang mana?

Comment [A34]: Isolat yang mana?

Comment [A35]: Pustaka?

Comment [A36]: Sebaiknya sebagai outgroup, masih 1 genus

114 Hasil analisis hubungan kekerabatan berupa pohon filogenetika (Gambar 3)
 115 menunjukkan ORSV isolat Indonesia berada dalam satu kelompok. Jika dibandingkan
 116 antar cabang, isolat Bogor2 memiliki kedekatan dengan isolat dari Cina dan Korea
 117 Selatan. ORSV di Indonesia diduga berasal dari kedua negara tersebut. BPPP (2005)
 118 menjelaskan Cina dan beberapa negara Asia Barat sebagai pengimpor benih dan

Comment [A37]: dihilangkan

Comment [A38]: disebutkan lebih spesifik

119 tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997-2001. Hal ini diperkuat oleh Ryu *et al.* (1995)
120 dan Lawson (1990) dengan adanya laporan infeksi ORSV di kedua negara tersebut.

121 Hasil *alignment* menunjukkan isolat Bogor2 mengalami mutasi terbanyak yaitu;
122 transisi dan transversi 4 kali serta insersi 5 kali. Efek mutasi tersebut menyebabkan
123 perubahan frekuensi asam amino Ala yang mengalami penurunan 0.6% serta
124 peningkatan Gln 0.58% dan Val 0.51%. Hal ini berpengaruh dalam proses adaptasi
125 lingkungan di Indonesia.

126 Diharapkan fakta ilmiah ini menggugah kewaspadaan negara basis anggrek
127 seperti Indonesia untuk memperketat mobilitas anggrek serta masuknya materi
128 pembawa penyakit. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi informasi mendasar
129 pembangunan dan pemeliharaan tanaman koleksi kebun raya melalui strategi
130 pengendalian penyakit.

131 DAFTAR PUSTAKA

132 [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
133 *Pengembangan Agribisnis Angrek*. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian RI.
134 Hlm 2-15.

135 Aruni DK, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
136 conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on
137 molecular analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on*
138 *Biological Science*; 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi
139 UGM. Hlm. 54.

140 Inouye N, Gara, IW. 1996. *Detection and Identification of Viruses of Orchid in*
141 *Indonesia*. Bull Res Inst. 4:109-118.

Comment [A39]: data perlu dicantumkan dan pembahasan perlu merujuk ke pustaka

Comment [A40]: kalimat diperbaiki lagi

Comment [H41]: Tahun 2005 masih Departemen Pertanian, belum Kementerian Pertanian

Comment [A42]: lihat petunjuk penulisan daftar pustaka untuk JFI

- 142 Isnawati, L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (orsv pada
143 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 144 Jensen DD, Gold HA. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid, symptoms,
145 transmission and electron microscopy. *American Orchid Soc.* 4:62-100.
- 146 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti T.A. 2010. Identification and molecular
147 characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor,
148 Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences.* 17(2):101-104.
- 149 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
150 anggrek di pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 151 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest*
152 *and diseases*, editor. *American Orchid Society.* Florida (US): West Palm
153 Beach. Hlm 66-101.
- 154 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex rt-pcr detection of two orchid viruses with an
155 internal control of plant nad5 mrna. *Plant Pathol Bull.* 15:187-196.
- 156 Mahfut. 2011. Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus*
157 (ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah
158 Mada.
- 159 Pant B. 2013. Medicinal orchids and their uses: tissue culture a potential alternative for
160 conservation. *African Journal of Plant Science.* 7(10):448-467.
- 161 Ryu KH, Choi CW, Kim SJ, Park WM. 1995. The 52 kD protein gene of
162 *Odontoglossum ringspot virus* containing RNA-dependent RNA polymerase
163 motifs and comparisons with other Tobamoviruses. *J Plant Biol.* 38(2):129-
164 136.
- 165 Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida..* Jakarta (ID): AgroMedia

- 166 Pustaka. Hlm 1-80.
- 167 Syahierah P. 2010. Response different types of orchids (*Orchidaceae*) against infection
168 *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) and *Odontoglossum ringspot virus*
169 (ORSV) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 170 Yudhoyono SB. 2011. *Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 93 Tahun 2011*
171 *Tentang Kebun Raya*. Jakarta (ID): Lembaran Negara Republik Indonesia.
172 Hlm 1-12.

Comment [H43]: Apakah nama presiden yang ditulis atau jabatannya atau Perpres? Sama halnya pustaka BPPP, lembaga yang ditulis bukan pimpinan lembaganya

173 **Tabel 1.** Koleksi sampel dari masing-masing lokasi

Lokasi	Jumlah Sampel	Gejala Infeksi Virus
Kebun Raya Bogor	35	Mosaik, klorosis, nekrosis, <i>mottling</i> , <i>vein clearing</i> , <i>wilting leaf</i> , dan deformasi daun
Kebun Raya Cibodas	17	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Purwodadi	25	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Balikpapan	6	Mosaik, klorosis, nekrosis, dan <i>curling</i> <i>leaf</i>
Kebun Raya Enrekang	4	Mosaik, klorosis, nekrosis

175 **Tabel 2.** Persentase tingkat kesamaan nukleotida ORSV

Comment [A44]: tabel kurang jelas. Silahkan melihat contoh tabel seperti ini pada pustaka

%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	100												
2	99.8	100											
3	98.7	98.5	100										
4	99.2	97.9	98.7	100									
5	99.2	98.9	99.6	98.9	100								
6	98.2	98.9	99.6	98.9	100	100							
7	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	100						
8	99.2	98.9	99.6	98.9	100	99.4	99.8	100					
9	98.7	98.5	99.2	98.5	99.6	99.6	99.4	98.6	100				
10	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	96.8	99.4	100			
11	99.2	98.9	99.6	98.9	100	100	99.8	100	99.6	99.8	100		
12	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	99.8	99.4	100	99.8	100	
13	68.2	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.5	66.9	67.3	67.9	67.7	67.9	100

176 Keterangan:

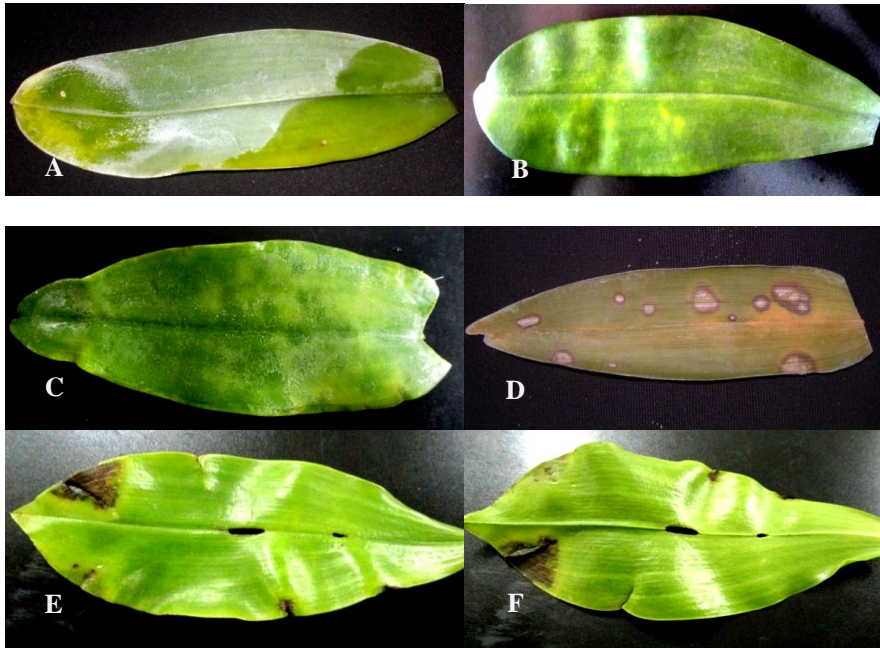
177 1 : Balikpapan 5 : Foshan 9 : Seoul 13 : TMV-Yunnan

178 2 : Bogor 6 : Guangzhou 10: Shenzhen

179 3 : Bogor 2 7 : Guizhou 11: Tianjing

180 4: Purwodadi 8 : Hangzhou 12: Zhuha

181



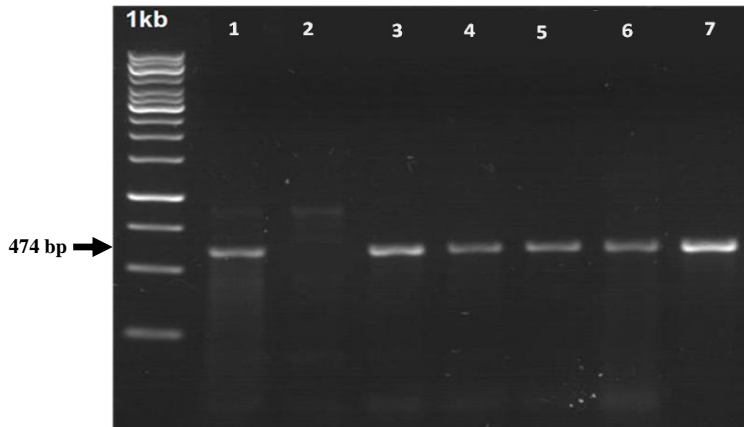
182

183

184

185 **Gambar 1.** Sampel daun positif terinfeksi ORSV. (A) *Phalaenopsis amboinensis*
 186 (KRB2), (B) *Phalaenopsis amabilis* (KRB 12), (C) *Phalaenopsis amabilis*
 187 (KRP18), (D) *D. salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm.
 188 (KRBp5) (E) permukaan atas, (F) permukaan bawah

Comment [A45]: keterangan gambar ini dijelaskan di mana? Dalam naskah tidak disebutkan

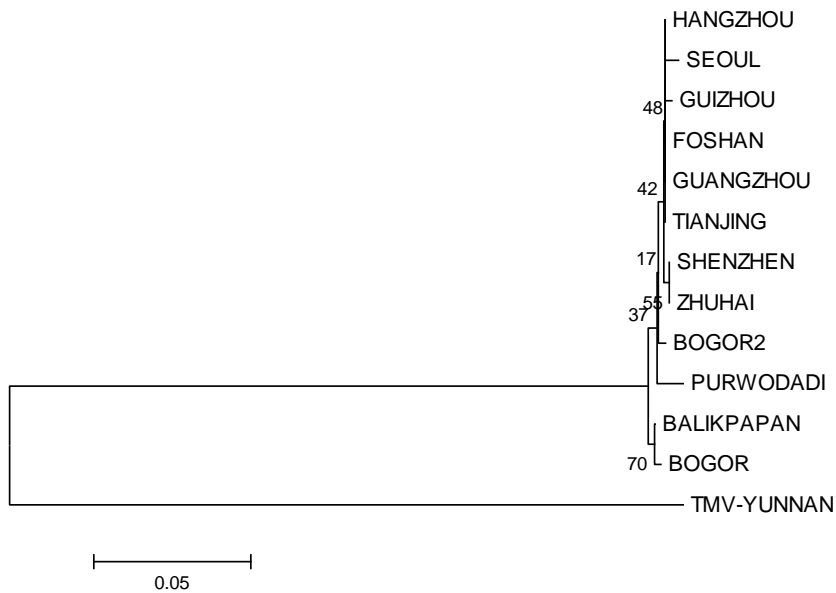


189

190 **Gambar 2.** Deteksi ORSV dengan RT-PCR. (M) Marker 1 kb, (1) kontrol positif, (2)
 191 kontrol negatif, (3) KRB2, (4) KRB12, (5) KRP18, (6) KRP20, dan (7)
 192 KRBp5

193

Comment [A46]: Hasil visualisasi RT-PCR....



194

195 **Gambar 3.** Rekonstruksi pohon filogenetik isolat ORSV dan *outgroup* berdasarkan
 196 sekuen nukleotida gen *CP*

Comment [A47]: Gambar kurang jelas. Silahkan melihat contohnya di pustaka

Comment [H48]: Sebaiknya nomor akses isolat negara lain dicantumkan di gambar. Gambar yang ada terkesan membandingkan nama kota bukan isolat

7.

**Hasil Telaah Mitra
Bebestari 2**



Compose

- Inbox 283
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less

- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel

- Folders Hide
- + New Folder

Back Forward Refresh Stop More

Hasil Telaah Mitra Bebestari 2 (Naskah No. 211) Yahoo/Inbox

Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gn> Mon, Mar 14, 2016 at 3:00 PM To: mahfutkariem@yahoo.com

Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung

Bersama ini kami kirimkan surat perihal hasil telaah naskah oleh Mitra Bebestari J Fitopatol Indones Naskah Bapak yang berjudul "Deteksi Odontoglossum ringspot virus (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia" sudah di telaah kembali oleh Mitra bebestari.

Mohon Bapak dapat memperbaiki kembali naskah sesuai saran dari Mitra Bebestari. Jika terdapat saran atau koreksi dari Mitra Bebestari yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan pada form tanggapan (terlampir)

Mohon Bapak dapat mengembalikan perbaikan naskah 1 minggu setelah email ini di terima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam, Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat Ketua Dewan Penyunting Download all attachments as a zip file

Surat No 115....pdf 23.7kB	Hasil Telaahpdf 18.7kB	Naskah Nodoc 1.3MB	Form Tangg... .doc 33kB

- Mahfut Kariem Kepada Yth., Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat Ketua Mon, Mar 21, 2016 at 8:29 AM
- Mahfut Kariem Asslmkm ww, Berikut hasil telaah mitra bestari taha Mon, Mar 21, 2016 at 8:31 AM
- Budi Daryono Wass.wrwb, terimakasih atas informasi dan selamat a Tue, Mar 22, 2016 at 2:17 PM

Reply, Reply All or Forward

Send [Attachment icons]

Surat No 115-JFI-III-2016.pdf Page 1 of 1

JURNAL FITOPATOLOGI INDONESIA PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA (THE INDOONESIAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY) Alamat Editor: Departemen Prokuisi Tanaman, Fakultas Pertanian, Jalan Kampus, Kampus IPB, Darmaga-Bogor, Telepon Faks +62 251 8621267, Surel: jurnal_fitopatologi@yahoo.com

Nomor : 115/JFI/III/2016 Bogor, 14 Maret 2016 Perihal : Hasil telaah naskah oleh mitra bebestari Lampiran : 3 (tiga)

Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung

Dengan hormat, Bersama surat ini kami sampaikan naskah yang telah direview oleh Mitra Bebestari J Fitopatol Indones, dengan judul:

Naskah No. 211: Deteksi Odontoglossum ringspot virus (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Kami mohon Bapak dapat memperbaiki naskah tersebut paling lambat 1 minggu setelah naskah ini diterima. Naskah tersebut akan segera ditelaah kembali oleh Mitra Bebestari J Fitopatol Indones. Jika terdapat saran dan koreksi dari mitra bebestari yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan terhadap komentar tersebut pada form tanggapan (terlampir) Atas perhatian dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih.

Ketua Dewan Penyunting Jurnal Fitopatologi Indonesia Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat, MSc.

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Naskah sudah diperbaiki menjadi *full paper*. Namun naskah masih perlu perbaikan, terutama terkait pembahasan. Perlu tambahan pustaka terbaru dan relevan untuk memperkaya pembahasan. Hindari pengulangan penulisan hasil dan metode pada bab pembahasan.

Selain itu, Abstrak Baha Inggris perlu diperbaiki. Alangkan lebih baik jika meminta saran dari ahli bahasa Inggris.

Gambar 1 perlu ditambahkan gambar gejala bercak cicin.

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :
2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :
3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :
4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :
5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:
6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:

1 **Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi**
2 **Kebun Raya di Indonesia**

3 Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids
4 Collection of Botanical Garden in Indonesia

5
6
7 **ABSTRAK**

8 Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang
9 memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus juga menjadi faktor
10 pembatas dalam usaha budidaya anggrek. Hasil survei lapangan di 5 kebun raya di
11 Indonesia ditemukan banyak **tanaman** anggrek alam menunjukkan gejala terinfeksi
12 virus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *Odontoglossum ringspot*
13 *virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam koleksi 5 kebun raya di Indonesia. Uji
14 serologi dengan antiserum spesifik ORSV menunjukkan 5 dari total 87 sampel positif
15 terinfeksi ORSV. Deteksi asam nukleat dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase*
16 *Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein* (CP) ORSV
17 menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi isolat Bogor
18 menunjukkan nilai indeks similiaritas (IS) 99.6% dengan isolat Cina dan Korea Selatan.
19 Analisis filogenetika menunjukkan ORSV isolat Indonesia berada dalam satu kelompok
20 dan terpisah dengan isolat dari negara lainnya. Penelitian ini merupakan laporan
21 pertama infeksi ORSV pada anggrek alam koleksi 5 kebun raya di Indonesia.

22 Key word: ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR
23
24

Comment [A1]: Isolat lain bagaimana?

ABSTRACT

Comment [A2]: Abstract tolong diperbaiki sesuaikan kaidah penulisan bahasa Inggris. Pemilihan kosakata (vocabulary) dan tenses-nya

Native orchid is one of original floral in Indonesia which have an important role as a parent of crossing. Virus infection was the most important limiting factor in the cultivation of orchid. The result of field surveys ~~were conducted~~ in five botanical gardens in Indonesia ~~and found that most of the native orchids were showed that~~ ~~infected by virus like disease~~. The study purpose was to know the availability of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) that infect native orchid from botanical garden collection in Indonesia. The serological test using against ORSV antisera indicated that 5 of 87 samples are visually infected by ORSV. Detection of nucleic acid with *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) using specific primer of coat protein (CP) gene ORSV was successfully amplified a \pm 474 bp of DNA fragment. Homology analysis of the Bogor isolate show the value of the index similarity (IS) 99.6% with China and South Korea isolates. Phylogenetic analysis showed that Indonesia isolate formed a distinct group and separated with isolates from other country. This is the first report of infection ORSV on native orchids collection of botanical garden in Indonesia.

Key word: ORSV, Botanical garden, Angrek alam, RT-PCR

PENDAHULUAN

~~Angrek alam sebagai salah satu flora asli Indonesia harus dijaga kelestariannya (Sarwono 2002). Keberadaannya memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman (Rukmana 2000; Sarwono 2002). Tujuan pemuliaan ini adalah~~ untuk memperluas keragaman genetik pada bentuk dan warna bunga

Comment [A3]: Tidak perlu dicantumkan

Comment [A4]: Angrek alam

Comment [A5]: ,

Comment [A6]: Yang bertujuan

49 yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, dan tahan terhadap patogen penyebab
50 penyakit serta cekaman lingkungan (Soedjono, 1997).

51 ~~Selain tindak pengalihan fungsi hutan sebagai habitat aslinya,~~ Serangan hama
52 penyakit menjadi kendala utama dalam usaha budidaya dan pengembangan potensi
53 tanaman ini (Kumalawati *et al.* 2011). Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis
54 virus (Zettler *et al.* 1990; Navalinskiene *et al.* 2005; Chang *et al.* 2005). Beberapa virus
55 yang dilaporkan paling banyak menginfeksi dan memiliki penyebaran luas di dunia,
56 termasuk sudah sampai ke di Indonesia adalah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
57 (Inouye dan Gara, 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010;
58 Kumalawati *et al.* 2011; Lakani, 2011), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan
59 Gara 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic*
60 *virus* (CMV), dan *Potyvirus* (Lakani 2011).

Comment [A7]: Salah satu kendala

61 Serangan virus pada tanaman anggrek menyebabkan....

Comment [A8]: Masuk paragraf ke-1

Comment [A9]: Disertai pustaka

62 Berdasarkan survei pada lima kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya
63 Bogor (Jawa Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan
64 (Kalimantan Timur), dan Enrengkang (Makasar) selama 2010-2014 banyak dijumpai
65 anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus yang diduga ORSV. Penelitian Deteksi
66 ORSV pada yang menginfeksi anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia belum
67 pernah dilaporkan. Penelitian ini dapat menjadi salah satu upaya potensial yang
68 mendukung penerapan konsep konservasi anggrek di Indonesia melalui upaya
69 perlindungan tanaman. Penerapan konsep konservasi dapat dilakukan dengan cara
70 mengenali gejala infeksi dan diharapkan sedapat mungkin mencegah penyebaran
71 penyakit anggrek yang disebabkan oleh virus sehingga keberadaan anggrek alam yang
72 sangat berharga dapat terjaga kelestariannya. Penelitian ini bertujuan untuk....

73

74

BAHAN DAN METODE

Survei dan Koleksi Sampel.

76 Penelitian ini dilaksanakan secara berkala pada bulan Mei-Agustus 2010, April-
77 Juni 2011, dan Mei-Juli 2014 di kebun raya..... Hasil survei dan koleksi sampel berupa
78 daun anggrek yang menunjukkan gejala terinfeksi ORSV dimasukkan dalam plastik
79 berperekat yang telah diberi *silica gel* didalamnya. Untuk menjaga kesegaran sampel
80 dan daya tahan hidup virus, sampel kemudian disimpan dalam refrigerator pada suhu -
81 20°C sampai saat akan dianalisis.

Deteksi ORSV

83 **Uji Serologi dengan DAS-ELISA.** ~~Prinsip dasar teknik DAS-ELISA adalah~~
84 ~~antigen yang diapit oleh dua lapisan antibodi (Clark dan Adams 1976). Pada penelitian~~
85 ~~ini, Uji serologis DAS-ELISA dilakukan sesuai dengan protokol reagent set (Agdia~~
86 ~~Inc.). Setelah masa inkubasi, microtiter plate yang berisi sampel daun diuji selanjutnya~~
87 dibaca menggunakan ELISA-reader (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm.

88

89 **Uji Molekuler dengan RT-PCR.** Isolasi RNA dilakukan pada sampel positif
90 terinfeksi ORSV menggunakan *Total RNA isolation kit* (SBS Genetech Co., Ltd.,
91 China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah
92 menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-
93 ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-
94 GGAAGAGGTCCAAGTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006). Proses RT dilakukan
95 dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo scientific, USA), selanjutnya molekul
96 cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR menggunakan

Comment [A10]: Sampel berapa?

Comment [A11]: Hasil ELISA

97 *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu 37°C
98 selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi 96°C selama 5 menit dan diakhiri pada
99 suhu 4°C. Amplifikasi cDNA diawali dengan predenaturasi pada 95°C selama 5 menit,
100 dilanjutkan dengan durasi 34 siklus, meliputi 95°C selama 30 detik, 50°C selama 45
101 detik, dan 70°C selama 1 menit (Mahfut 2011). Produk PCR divisualisasi dengan
102 elektroforesis pada gel agarosa 2%, **dilihat dengan...didokumentasi...** ~~Pita DNA yang~~
103 ~~tervisualisasi menunjukkan ukuran panjang pasangan basa gen target, yaitu gen CP~~
104 ~~ORSV.~~

105 **Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika.** Perunutan DNA dilakukan dengan
106 mengirimkan sampel hasil amplifikasi ke perusahaan *1st Base*, Singapura. Data
107 dianalisis dan digabungkan dengan *Software Suite for Sequence Analysis DNASTAR*
108 *Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis homologi sekuen dengan data yang terdaftar di
109 *GenBank* dilakukan menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada
110 situs www.ncbi.nlm.nih.gov., selanjutnya untuk mencari dan membandingkan homologi
111 sekuens dengan data yang terdaftar di *GenBank* digunakan *Basic Local Alignment*
112 *Search Tool* (BLAST) pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov. Analisis filogenetika
113 dilakukan dengan *Neighbour Joining* (NJ) pada program *Molecular Evolutionary*
114 *Genetics Analysis* (MEGA 5 Beta). Analisis secara statistik pada cabang internal
115 menggunakan *bootstrap* 1000 kali pengulangan (Lakani *et al.* 2010).

116

117

HASIL

118 Survei dan Koleksi Sampel

119 Total sampel koleksi berupa daun anggrek yang menunjukkan gejala terinfeksi
120 virus yang diduga ORSV adalah 87 **sampel** yang dikoleksi dari 27 genus anggrek (Tabel

121 1). Gejala umum yang ditemukan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1).

122 [Gambar gejala bercak bercincin?](#)

123 **Deteksi Virus**

124 **Uji Serologi dengan DAS-ELISA.** Hasil uji serologi diperoleh bahwa 5 dari 87
125 total sampel (KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5) yang menunjukkan positif
126 terinfeksi ORSV dengan rerata nilai absorbansi 1.125-1.152 atau insidensi infeksi virus
127 sebesar 5,7 %.

Comment [A12]: Dijelaskan asal dan varietas

Comment [A13]: Yang dicantumkan bukan rerata, tapi kisaran nilai absorbansinya

128 **Uji Molekuler dengan RT-PCR.** Hasil deteksi dengan RT-PCR terhadap
129 sampel positif ORSV berdasarkan uji serologi menunjukkan amplifikasi fragmen DNA
130 berukuran ± 474 pb yang merupakan gen CP ORSV (Gambar 2) pada sampel.... Dari
131 keseluruhan sampel positif tersebut, 4 sampel diantaranya merupakan *Phalaenopsis* sp.
132 dan digunakan untuk analisis selanjutnya.

133 **Analisis Sekuen DNA.** Hasil sekuensing nukleotida diperoleh total nukleotida
134 gen CP isolat ORSV-Bogor (KRB12), ORSV-Bogor2 (KRB18), ORSV-Purwodadi
135 (KRP18), dan ORSV-Balikpapan (KRBp5) sejumlah 474-480 basa. Hasil analisis
136 BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan kemiripan 99% dengan isolat gen
137 CP ORSV dari negara-negara lain di Asia, Amerika, dan Eropa. Seleksi berdasarkan
138 sumber sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat terdaftar. Analisis 8 isolat lain
139 berdasarkan distribusi daerah terpilih di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen, Zhuhai,
140 Guangzhou, Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan kemiripan
141 dengan indeks similiaritas (IS) sampai dengan 99.6% dengan isolat ORSV-Bogor
142 (Tabel 2). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*).

Comment [A14]: Homologi Runutan Nukleotid Gen CP ORSV

143 **Analisis Sekuen DNA.** Hasil analisis filogenetika (Gambar 3) menunjukkan
144 bahwa isolat-isolat ORSV Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat

Comment [A15]: Masuk ke bahan dan metode

Comment [A16]: Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

145 dan berada dalam satu kelompok terpisah. Walaupun keseluruhan isolat membentuk
 146 beberapa kelompok, namun kekerabatan antar isolat masih sangat dekat. Hal ini terlihat
 147 pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk sub grup.

Comment [A17]: Membentuk berapa kelompok? Yang Indonesia ada di kelompok mana? Lebih diperjelas

148

149

PEMBAHASAN

150 Pembahasan dimulai dari hasil survey.....

151 Sampel positif terinfeksi ORSV terbanyak merupakan anggrek *Phalaenopsis*.
 152 Diduga anggrek ini merupakan tanaman inang yang cocok dan paling rentan terhadap
 153 infeksi ORSV. Hal ini berkaitan dengan tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* yang tebal
 154 sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Keberadaan hasil metabolisme berupa
 155 cadangan makanan yang melimpah diketahui sangat efektif untuk replikasi genom dan
 156 sintesis virus baru. Selain itu, kandungan polipeptida khas yang disandi oleh gen virus
 157 yang mengandung nitrogen seperti zat pengatur tumbuh dan senyawa fenol juga sangat
 158 berperan sebagai penyebab munculnya gejala infeksi sistemik (Akin 2006).

Comment [A18]: Ada pustaka pendukung? Sepertinya ini tidak ada dalam akin, 2006

Comment [A19]: Ada pustaka pendukung? Sepertinya ini tidak ada dalam akin, 2006

159 Berdasarkan hasil survei dan koleksi sampel, jumlah sampel daun yang dikoleksi
 160 pada tiap lokasi berbeda-beda tergantung banyaknya daun yang menunjukkan gejala
 161 infeksi virus pada lokasi tersebut. ~~Gejala infeksi virus pada suatu populasi tanaman~~
 162 ~~inang muncul sebagai hasil interaksi antara virus, tanaman inang dan lingkungan~~
 163 ~~(Burnet 1974)~~. Gejala infeksi ORSV yang paling umum ditemukan di lapangan adalah
 164 mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1). Selain itu, dijumpai juga gejala khas infeksi
 165 berupa bercak bercincin (*ring spot*) seperti awal mula virus ini ditemukan oleh Jensen
 166 and Gold (1951). Pada penelitian sebelumnya juga ditemukan gejala bergaris (*streak*)
 167 (Mahfut 2011) yang merupakan kondisi infeksi yang parah (Syahierah, 2010). Gejala

Comment [A20]: Paragraf ini sebaiknya diletakkan paling terakhir

Comment [A21]: Sampel diambil dari tanaman yang sama atau beda? Kalau 1 sampel diambil dari tanaman, gunakan kata tanaman

168 yang ditemukan Lakani bagaimana? Hal ini menunjukkan bahwa infeksi ORSV di
169 Indonesia memerlukan penanganan yang sangat serius.

170 Metode deteksi dilakukan dengan dua cara yaitu uji serologi DAS-ELISA dan
171 uji molekular dengan RT-PCR. Hasil akhir dari uji serologi dapat langsung digunakan
172 untuk menentukan sampel yang positif terinfeksi ORSV berdasarkan hasil pembacaan
173 rerata absorbansi menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.
174 Sampel dikatakan positif apabila nilai absorbasinya mendekati nilai kontrol positif, atau
175 paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi buffer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009). Hasil
176 deteksi RT-PCR membuktikan ORSV telah menginfeksi angrek alam koleksi di Kebun
177 Raya Bogor, Purwodadi, dan Balikpapan dengan teramplifikasinya gen CP ORSV
178 sesuai dengan ukuran yang dilaporkan oleh Lakani *et al.* (2010) dan Mahfut (2011). Hal
179 ini membuktikan bahawa kedua uji tersebut merupakan tahapan metode yang tepat
180 untuk deteksi virus.

181 Persentase tingkat kesamaan nukleotida antar isolat ORSV berdasarkan Indeks
182 similiaritas (IS) nukleotida antar isolat ORSV menunjukkan hampir tidak ditemukan
183 keragaman gen CP ORSV meskipun persentase yang tinggi, meskipun masing-masing
184 isolat dipilih berdasarkan perbedaan wilayah geografi. Hal ini disebabkan sifat adaptif
185 virus yang relatif stabil dalam berbagai kondisi lingkungan (Lakani *et al.* 2010). Dari
186 hasil alignment menunjukkan adanya mutasi titik berupa substitusi dan insersi pada
187 isolat Indonesia. Isolat Bogor mengalami kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan
188 transversi masing-masing 4 kali serta insersi 5 kali, sehingga isolat ini terpisah dengan
189 isolat Indonesia lainnya. Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi. Efek mutasi
190 yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino
191 (Tabel 3). Secara signifikan isolat Balikpapan dan Bogor menunjukkan perbedaan pada

Comment [A22]: Pembahasan tentang hasil elisanya saja, kalau ada disertai pustaka terkait. Sampel bergejala yang tidak positif ORSV, kira2 terinfeksi virus lain atau bagaimana? Cantumkan pustakanya.

Comment [A23]: Masukkan ke bahan dan metode

Comment [A24]: Uji signifikansi dengan apa? Kalau tidak dilakukan uji signifikansi, cukup sajikan datanya saja, disertai hasil penelitian peneliti lain

192 frekuensi asam amino Ala yang mengalami penurunan 0,6% serta peningkatan pada Gln
 193 sebesar 0,58%. Berbeda dengan isolat Purwodadi yang mengalami peningkatan pada
 194 asam amino Cys sebesar 1,15% dan penurunan pada Gly 0,8%. Keseluruhan isolat
 195 Indonesia mengalami peningkatan pada Val 0,45-0,51%. Perubahan asam amino yang
 196 dihasilkan memiliki pengaruh yang sangat besar dalam proses adaptasi terhadap
 197 lingkungan di Indonesia (Lakani *et al.* 2010).

198 ~~Hasil analisis filogenetika menunjukkan isolat Indonesia berada pada cabang~~
 199 ~~yang terpisah dengan isolat dari negara lain. Jika dibandingkan antar cabang, hanya~~
 200 ~~sedikit perbedaan yaitu isolat Bogor2 (Kebun Raya Bogor) memiliki kedekatan dengan~~
 201 ~~isolat dari Cina dan Korea Selatan.~~ Berdasarkan pohon filogeni, ORSV di Indonesia
 202 diduga berasal dari kedua negaratersebut. BPPP (2005) menjelaskan Cina dan
 203 beberapa negara Asia Barat sebagai pengimpor benih dan tanaman anggrek ke
 204 Indonesia sejak 1997-2001. Hal ini diperkuat oleh Ryu *et al.* (1995) dan Lawson (1990)
 205 dengan adanya laporan yang melaporkan adanya infeksi ORSV di kedua negara
 206 tersebut.

207 Diharapkan fakta ilmiah ini dapat menggugah kewaspadan negara basis anggrek
 208 seperti Indonesia untuk lebih memperketat mobilitas anggrek serta masuknya materi-
 209 materi pembawa penyakit dari luar ke dalam Indonesia. Hasil penelitian ini diharapkan
 210 menjadi informasi dasar yang mendukung konsep konservasi dalam pembangunan
 211 kebun raya dan pemeliharaan tanaman koleksi kebun raya melalui strategi pengendalian
 212 penyakit.

213

214

DAFTAR PUSTAKA

215 Akin HM. 2006. Virologi Tumbuhan. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-108.

Comment [A25]: Ini masuk ke hasil, diperjelas maksudnya.

Comment [A26]: Sebaiknya ditambahkan daftar pustaka 3 tahun terakhir, dan pustaka primer sebaiknya 90% dari keseluruhan pustaka, sesuai ketentuan JFI

- 216 [BPPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
217 *Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI. Hlm
218 2-15.
- 219 Burnett HC.1974. Bulletin of Orchid Diseasea. Florida (ID): Departement of
220 Agriculture and Consumer Service. Hlm 1066.
- 221 Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic
222 Resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* Expressing The Viral
223 Capsid Protein Gene. *Transgenic Res.* 14:41-46.
- 224 Clark F, Adams AN. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked
225 Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General*
226 *Virology.* 34: 475-483.
- 227 Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei Virus yang Menyerang Labu-Labuan di
228 Yogyakarta dan Jawa Tengah. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia.* 15: 83 –
229 89.
- 230 Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and Identification of Viruses of Orchid in
231 Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109-118.
- 232 Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada
233 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 234 Jensen DD, Gold HA. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid, symptoms,
235 transmission and electron microscopy. *American Orchid Soc.* 4:62-100.
- 236 Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
237 conervation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular
238 analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science;*
239 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.

- 240 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular
241 characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia.
242 Hayati Journal of Biosciences.17(2):101-104.
- 243 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
244 anggrek di pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 245 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: Handbook on orchid pest
246 and diseases, editor. *American Orchid Society*. Florida (US): West Palm Beach.
247 Hlm 66-101.
- 248 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex rt-pcr detection of two orchid viruses with an
249 internal control of plant nad5 mrna. *Plant Pathol Bull*. 15:187-196.
- 250 Mahfut. 2011. Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus*
251 (ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.
- 252 Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Viral Disease of Flower Plants 16
253 Identification of Viruses Affecting Orchids (*Cymbidium* Sw.). *Biologija*. 2:29-34.
- 254 Rukmana R. 2000. Anggrek Bulan. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-66.
- 255 Ryu KH, Choi CW, Kim SJ, Park WM. 1995. The 52 kD protein gene of
256 *Odontoglossum ringspot virus* containing RNA-dependent RNA polymerase
257 motifs and comparisons with other Tobamoviruses. *J Plant Biol*. 38(2):129-136.
- 258 Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida..* Jakarta (ID): AgroMedia
259 Pustaka. Hlm 1-80.
- 260 Soedjono S. 1997. Pemuliaan Tanaman anggrek. Di dalam: Buku Komoditas No. 3
261 Balai Penelitian Tanaman Hias; Puslit Holtikultura. Jakarta (ID): Badan Litbang
262 Pertanian. Hlm 71.

- 263 Syahierah P. 2010. Response different types of orchids (*Orchidaceae*) against infection
264 *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) and *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
265 [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 266 Zettler FW, Ko NJ, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. 1990. Viruses of orchids and
267 their control. *Plant Dis.* 74:621-626.

268 Tabel 1. Koleksi sampel dari masing-masing lokasi

Lokasi	Jumlah Sampel	Gejala Infeksi Virus
Kebun Raya Bogor	35	Mosaik, klorosis, nekrosis, <i>mottling</i> , <i>vein clearing</i> , <i>wilting leaf</i> , dan deformasi daun
Kebun Raya Cibodas	17	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Purwodadi	25	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Balikpapan	6	Mosaik, klorosis, nekrosis, dan <i>curling</i> <i>leaf</i>
Kebun Raya Enrekang	4	Mosaik, klorosis, nekrosis

269 Tabel 2. **Persentase tingkat kesamaan nukleotida ORSV asal Anggek alam Indonesia**

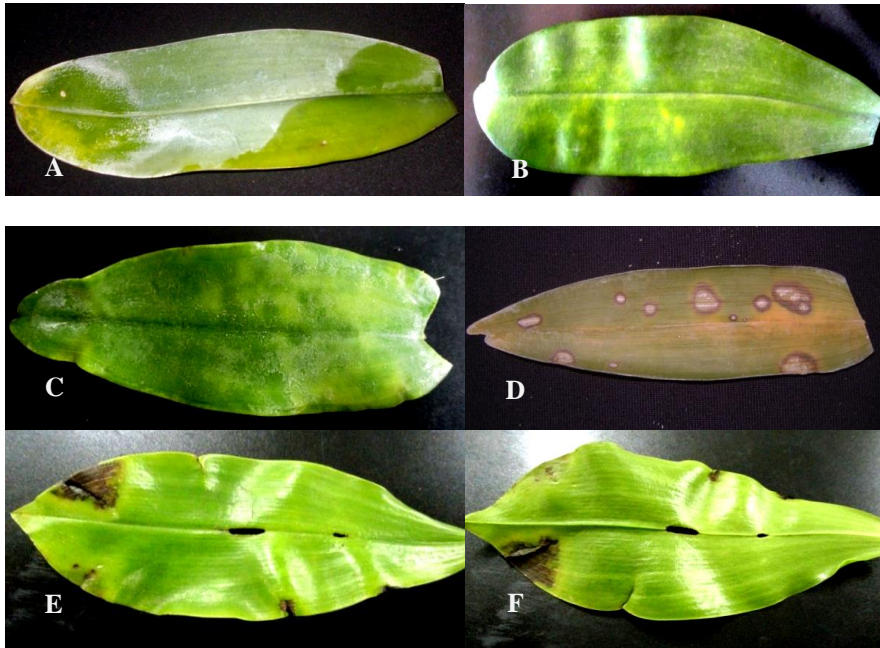
No	Asal Isolat	Homologi (%)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	Bogor (KRB 2)	100	ID											
2	Bogor 2 (KRB 12)	99.8	100	ID										
3	Purwodadi (KRP18)	98.7	98.5	100	ID									
4	Balikpapan (KRBp5)	99.2	97.9	98.7	100	ID								
5	Foshan Cina (KF836075.1)	99.2	98.9	99.6	98.9	100	ID							
6	Guangzhou Cina (KF836084.1)	98.2	98.9	99.6	98.9	100	100	ID						
7	Guizhou Cina (KF225471.1)	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	100	ID					
8	Hangzhou Cina (AM398154.1)	99.2	98.9	99.6	98.9	100	99.4	99.8	100	ID				
9	Seoul Korea Selatan (AJ606107.1)	98.7	98.5	99.2	98.5	99.6	99.6	99.4	98.6	100	ID			
10	Shenzhen Cina (KF836090.1)	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	96.8	99.4	100	ID		
11	Tianjing Cina (EU653020.1)	99.2	98.9	99.6	98.9	100	100	99.8	100	99.6	99.8	100	ID	
12	Zhuha Cina (KF836086.1)	98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	99.8	99.4	100	99.8	100	ID
13	TMV-Yunnan (AAM64218.1)	68.2	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.5	66.9	67.3	67.9	67.7	67.9	100

Comment [A27]: Istilah yang dipakai disamakan : mau homologi atau indeks similitas? Disamakan baik di nama tabel, maupun di bagian lain

270 Tingkat kemiripan basa nukleotida gen CP ORSV asal anggrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program *DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*

271 Tabel 3. **Persentase Frekuensi asam amino gen CP ORSV isolat asal angrek alam Indonesia**

Asal Isolat	Frekuensi Asama Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
Bogor (KRB 2)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140
Bogor 2 (KRB 12)	4.29	7.14	2.86	0.71	4.29	6.43	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	3.57	5.00	16.43	5.00	4.29	0.71	5.71	140
Purwodadi (KRP18)	4.23	8.45	2.82	0.70	4.23	4.93	0.00	4.23	3.52	8.45	0.70	11.97	4.23	3.52	4.93	16.90	5.63	4.23	0.70	5.63	142
Balikpapan (KRBp5)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140



272

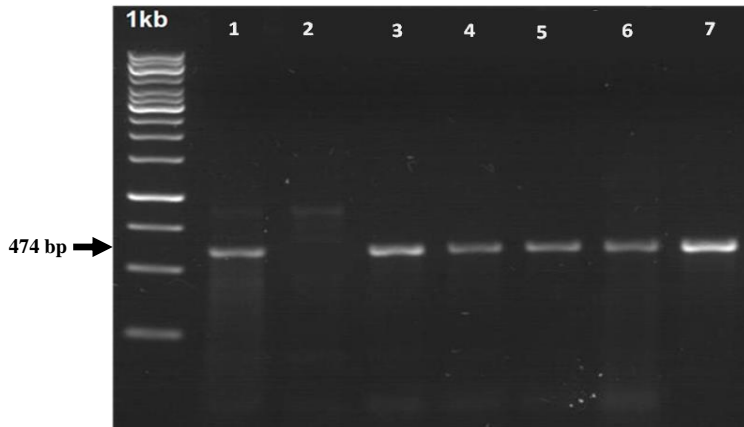
273

274

275 Gambar 1. Sampel daun positif terinfeksi ORSV. (A) *Phalaenopsis amboinensis*
 276 (*KRB2*), (B) *Phalaenopsis amabilis* (*KRB 12*), (C) *Phalaenopsis amabilis*
 277 (*KRP18*), (D) *D. salacence* (*KRP20*), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm.
 278 (*KRBp5*) (E) permukaan atas, (F) permukaan bawah

Comment [A28]: Spasi

Comment [A29]: Nama gejala, misalnya : nekrotik. Semua gejala yang disebutkan di hasil dan pembahasan sebaiknya ada semua, termasuk yang bercak bercincin. Gambar E dan F tidak perlu karena tidak berbeda..

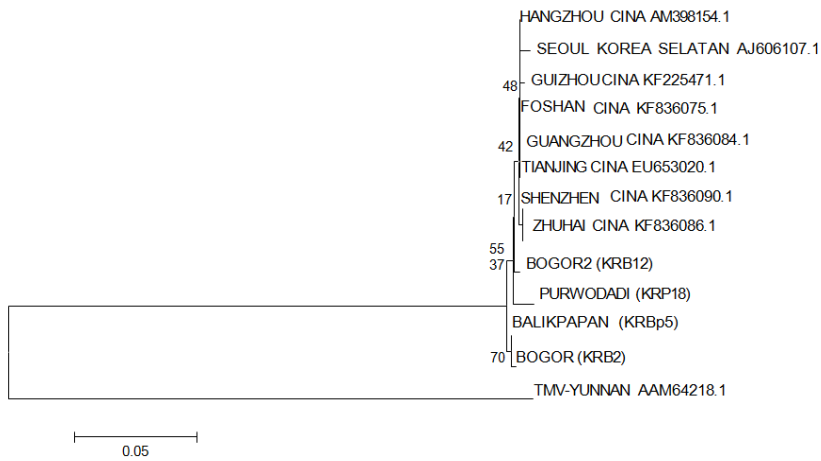


279

280 Gambar 2. Hasil visualisasi RT-PCR (M) Marker 1 kb, (1) kontrol positif, (2) kontrol

281 negatif, (3) KRB2, (4) KRB12, (5) KRP18, (6)KRP20, dan (7) KRBp5

282



283

284 Gambar 3. Rekonstruksi pohon filogenetik isolat ORSV dan *outgroup* berdasarkan

285 sekuen nukleotida gen CP

Comment [A30]: Yang dirubah bukan penamaannya, tapi reksonstruksi pohonnya, supaya jelas, membentuk berapa kelompok?

8.

**Hasil Koreksi Dewan
Penyunting**

Compose

Back, Forward, Reply, Reply All, Delete, Print, Share, More, Print, Forward, Reply, Reply All, Delete, Print, Share, More

Hasil Koreksi Dewan Penyunting (Naskah No. 211) 3 Yahoo/Inbox



Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmr> Mon, Apr 4, 2016 at 12:14 PM To: mahfutkariem@yahoo.com

Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung

Bersama ini kami naskah Bapak yang berjudul "Deteksi Odontoglossum ringspot virus (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia" sudah di telaah kembali oleh Mitra bebestari dan dikoreksi oleh Dewan Penyunting JFI.

Mohon Bapak dapat memperbaiki kembali naskah sesuai saran dan koreksi pada naskah. Jika terdapat saran atau koreksi yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan pada form tanggapan (terlampir)

Mohon Bapak dapat mengembalikan perbaikan naskah 1 minggu setelah email ini di terima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam, Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat Ketua Dewan Penyunting Download all attachments as a zip file

- Hasil Koreks... .pdf 33.1kB, Hasil Telaahpdf 95kB, Naskah No....docx 1.2MB, Form Tangg... .doc 33kB, Pedoman Pe... .pdf 200.8kB

Jurnal Fitopatologi Indonesia Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universit Fri, Apr 15, 2016 at 4:31 PM

Jurnal Fitopatologi Indonesia ----- Forwarded message - Fri, Apr 29, 2016 at 12:18 PM

Reply, Reply All or Forward

Send, Attachments, Emojis, More, Delete

Hasil Koreksi Naskah No 211-DP... Page 1 of 1



Sekretariat: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Jalan Kampus Kampus JPS, Darmaga Bogor 16680 Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, surel: jurnal.fitopatologi@gmail.com

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi Odontoglossum ringspot virus (ORSV) pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM : Naskah masih perlu diperbaiki oleh penulis karena masih banyak yang harus ditambahkan dianalisis ulang, seperti abstrak, gambar filogenetik, bagian pembahasan dan daftar pustaka belum sesuai format JFI (lihat komentar DP pada bagian kanan).

KOMENTAR KHUSUS :

- 1. Dampak terhadap sains dan teknologi :
2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :
3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :
4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :
5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:
6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:
7. Komentar khusus lainnya :

- > Penulis perlu merevisi naskah dengan melihat pedoman penulisan JFI
-> Pohon filogenetik perlu dianalisis ulang

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Naskah masih perlu diperbaiki oleh penulis karena masih banyak yang harus ditambahkan/dianalisis ulang, seperti abstrak, gambar filogenetik, bagian pembahasan dan daftar pustaka belum sesuai format JFI (lihat komentar DP pada bagian kanan).

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :
2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :
3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :
4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :
5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:
6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:
7. Komentar khusus lainnya :
 - Penulis perlu merevisi naskah dengan melihat pedoman penulisan JFI.
 - Pohon filogenetik perlu dianalisis ulang
 - Referensi perlu diganti dengan yang terupdate dan untuk buku gunakan sumber teksbook aslinya

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

SARAN UNTUK EDITOR:

Perlu dicek keabsahan dari pustaka – pustaka yang diacu dalam makalah ini, karena ada indikasi tidak menelusuri ke pustaka primernya.

KOMENTAR UMUM :

Makalah ini masih perlu banyak perbaikan, dari segi penyusunan kalimat, penyusunan paragraf, pemilihan kata dan istilah khusus yang berkaitan dengan materi naskah. Istilah yang dipakai harus sama dari awal sampai akhir makalah, termasuk sebagai nama tabel.

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :

Menambah informasi baru, yaitu penemuan ORSV pada anggrek liar yang merupakan laporan pertama di Indonesia.

2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :

Metodologi masih ada yang harus diperbaiki

3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :

Masih perlu rujukan beberapa pustaka supaya penafsiran lebih baik lagi

4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :

Pembahasan sudah sesuai dengan ruang lingkup penelitian, hanya di bagian analisis filogenetika lebih diperdalam.

5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:

Judul sudah sesuai, abstrak masih harus diperbaiki

6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:

Tabel 1 dan gambar 1 sebaiknya dihapus karena hasil survey berupa gejala tidak dapat ditampilkan. Gambar pohon filogeni harus dirubah lagi, sesuai komentar di naskah.

7. Komentar khusus lainnya :

- Perbaikan selanjutnya harus lebih teliti lagi, karena hasil perbaikan kedua, tidak seluruhnya mengikuti hasil telaah sebelumnya.
- Analisis homologi dan filogenetika, sebaiknya ditambahkan isolat – isolat ORSV dari negara – negara lain (paling tidak 10 negara), supaya penarikan kesimpulan lebih akurat.
- Mohon hati – hati untuk pencantuman pustaka. Pencantuman pustaka yang tidak relevan, seperti misalnya di comment A8 dapat menyebabkan ditolaknya naskah di suatu jurnal.

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi

Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids

Collection of Botanical Garden in Indonesia

Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², dan Susanto Somowiyarjo²

¹Universitas Lampung, Lampung 35145

²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus juga menjadi salah satu faktor pembatas dalam usaha budidaya anggrek. Hasil survei pada lapangan di 5 kebun raya di Indonesia ditemukan banyak tanaman anggrek alam yang menunjukkan gejala terinfeksi virus. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi untuk mengetahui keberadaan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam. Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala dari koleksi 5 kebun raya di Indonesia, yaitu a, b, c, d, dan e. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, RT-PCR dan peruntan DNA. Uji serologi dengan antiserum spesifik ORSV menunjukkan 5 dari total 87 sampel menunjukkan

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625 – Fax: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

Formatted: Centered

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Indent: First line: 0"

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Comment [A1]: Coba disusun ulang kalimatnya supaya nyambung ke tujuan

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [A2]: Dicoret saja karena tidak dapat ditampilkan datanya

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA3]: Deskripsikan gejala yang ditemukan secara singkat sebelum uji serologi.

reaksi positif terinfeksi ORSV, yaitu....terhadap antiserum infeksi ORSV yaitu sampel
dari xxxx (sebutkan yang positif dari mana saja dan pada jenis anggrek apa yang positif
ORSV?). Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan *Reverse Transcriptase-*
Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein*
 (CP) ORSV menghasilkan berhasil teramplifikasi menghasilkan fragmen DNA
 berukuran ± 474 pb. Analisis parsial sikuen gen CP homologi 4 ORSV isolat ORSV
Indonesia asal Phalaenopsis Bogor, menunjukkan nilai indeks similiaritas (IS) 99.6%
 dengan isolat Cina dan Korea Selatan. Analisis filogenetika menunjukkan 4 ORSV
 isolat Indonesia asal Phalaenopsis berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan
 isolat ORSV dari negaranegara lainnya. Penelitian inilah laporan ilmiah pertama yang
melaporkan Penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi infeksi ORSV pada
 anggrek alam koleksi 5 kebun raya di indonesia Indonesia.

Formatted: Highlight

Formatted: Font color: Red

Formatted: Font: Italic

Comment [TA4]: Bogor atau Indonesia??

Formatted: Strikethrough

Kata kunci Key word: ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Justified, Indent: First line: 0.5

Comment [TA5]: Perbaiki sesuai dengan abstrak Indonesia

Comment [A6]: Sepertinya istilah ini kurang tepat. Coba dicari istilah dalam bahasa Inggris yang lebih tepat

Comment [TA7]: Apakah istilah ini sudah tepat

Comment [A8]: Disesuaikan dengan abstrak

ABSTRACT

Nature Native orchid are one of original floral in Indonesia which have an
 important role as a parent of crossing parent. Virus infection is was the most important
 limiting factor in the cultivation of orchid. Field The result of field surveys were
conducted in 5 five botanical gardens garden in Indonesia and found that most of the
native orchids were showed that a great quantities of nature orchid were having viral
infection infected by virus-like disease symptoms. The study purpose aimed to detect
and identify purpose was to know The purpose of this study was to detect the

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

~~occurrence~~ the availability of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) that infects nature infecting that infect native orchid, from the botanical garden collection in Indonesia. Symptomatic samples were collected from 5 botanical garden collections. Serological such as x,y,z,... Detection and identification of virus was conducted by serological test using ORSV specific specific antisera indicated, RT-PCR and DNA sequencing. The serological test using against ORSV antisera showed indicated that 5 (.....) of 87 sampels were infected by reacted are positively visually against infected by ORSV. antiserum, yaitu sampel a, b, c, d, dan e. Detection of 5 samples of nucleic acid with ~~Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction~~ (RT-PCR) using specific primer of ORSV coat protein (CP) gene ORSV was successfully amplified a DNA with size ± 474 bp of DNA fragment. Homology analysis of 5 of nucleotide analysis of of ORSV the Indonesian isolates Bogor isolate showed that highest the value of the index similiarity (IS) was 99.6% similar with corresponding sequences of China and South Korea isolates. Phylogenetic analysis showed that 5 of ORSV Indonesian isolates ORSV formed one clustered informed a distinct group that were and separated with isolates from other country clustered in one group, separated from other countries ORSV isolates. This was is the first report of infection ORSV infection on nature botanical collection native orchids from the collection collection of 5 botanical gardens garden in Indonesia.

Keywords Key word: ORSV, Botanical garden, Nature Orchid native orchid Anggrek alam, ORSV, RT-PCR

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font color: Red

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Normal, Justified, Indent: Left:

PENDAHULUAN

Formatted: Indonesian

~~Anggrek alam~~ Anggrek alam sebagai salah satu flora asli Indonesia harus dijaga kelestariannya (Sarwono 2002). Keberadaannya memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman (Rukmana 2000; Sarwono 2002), yang bertujuan). Tujuan pemuliaan tanaman ini adalah untuk memperluas keragaman genetik pada bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi ~~berbunga~~ yang tinggi, dan tahan terhadap patogen penyebab penyakit serta cekaman lingkungan (Soedjono, 1997).

Serangan

~~Selain tindak pengalihan fungsi hutan sebagai habitat aslinya, serangan~~ hama penyakit menjadi menjadi salah satu kendala ~~utama~~ dalam ~~usaha~~ budidaya dan pengembangan potensi tanaman ini (Kumalawati *et al.* 2011). Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Navalinskiene *et al.* 2005; Chang *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan ~~paling banyak~~ menginfeksi anggrek dan memiliki penyebaran luas di dunia, termasuk sudah ~~sampai keadasampai di~~ Indonesia adalah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Inouye dan Gara, 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati *et al.* 2011; ~~Lakani, 2011~~), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; ~~Menisa~~ 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV), dan *Potyvirus* (Lakani 2011).

Comment [A9]: Jika Lakani 2010 merupakan bagian dari Lakani 2011, Lakani 2011 tidak perlu disebutkan

Comment [A10]: Belum masuk di daftar pustaka

ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan kualitas bunga (Chia *et al.* 1992; Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Laporan dari beberapa negara menunjukkan bahwa virus ini menyebabkan kerugian secara ekonomi sebagai akibat menurunnya kualitas bunga di

Comment [A11]: Masuk ke paragraf 1

Comment [A12]: Naskah ini tidak meneliti infeksi virus pada tanaman anggrek

93 beberapa negara (Zettler *et al.* 1990; Chang 2008; Ali *et al.* 2014; Koh *et al.* 2014; Kim
94 dan Choi, 2015).

Comment [A13]: Kalau ada datanya, berikan persentase kerugiannya, sebutkan negaranya

95 Berdasarkan survei pada lima kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya
96 Bogor (Jawa Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan
97 (Kalimantan Timur), dan Enrengkang (Makasar) selama 2010-2014 banyak dijumpai
98 anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus ~~yang diduga ORSV~~. Deteksi ORSV
99 padatanaman anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia belum pernah dilaporkan.

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font:

Formatted: Font:

100 Penelitian ini bertujuan bergejala yang diduga terinfeksi virus secara rutin perlu
101 dilakukan untuk mengetahui keberadaan pemutakhiran status kesehatan anggrek alam

Formatted: Font:

102 koleksi kebun raya di Indonesia. Penelitian deteksi ORSV yang menginfeksi anggrek
103 alam koleksi kebun raya di Indonesia. Penerapan hasil penelitian ini belum pernah
104 dilaporkan. Penelitian ini dapat menjadi salah satu upaya potensial yang mendukung
105 penerapan konsep konservasi anggrek alam di Indonesia melalui upaya perlindungan
106 tanaman. Penerapan konsep konservasi dapat dilakukan dengan cara mengenali gejala
107 infeksi dan diharapkan sedapat mungkin mencegah penyebaran penyakit anggrek yang
108 disebabkan oleh virus sehingga keberadaan anggrek alam yang sangat berharga dapat
109 terjaga kelestariannya.

Formatted: Font color: Red

110

111 **BAHAN DAN METODE**

112 **Survei dan Koleksi Sampel.**

113 Penelitian ini dilaksanakan secara berkala pada bulan Mei-Agustus 2010, April-
114 Juni 2011, dan Mei-Juli 2014 di Kebun Raya Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan,
115 dan Enrengkang. Hasil survei dan koleksi sampel berupa daun anggrek yang
116 menunjukkan gejala terinfeksi ~~ORSV~~virus~~ORSV~~ dimasukkan dalam plastik berperekat

117 yang telah diberi *silica gel* didalamnya. Untuk menjaga kesegaran sampel dan daya
 118 tahan hidup virus, sampel kemudian disimpan dalam refrigerator pada suhu -20°C
 119 sampai saat akan dianalisis.

120 Deteksi ORSV Secara Molekuler

121 ~~Deteksi Protein dengan Uji Serologi dengan DAS-ELISA. Uji Deteksi serologi~~
 122 ~~dilakukan untuk menentukan insidensi infeksi virus. ELISA dilakukan menggunakan~~
 123 ~~metode Prinsip dasar teknik DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari~~
 124 ~~27 genus) paling representatif dari masing-masing lokasi (double antibody Sandwich-~~
 125 ~~ELISA); adalah antigen yang diapit oleh dua lapisan antibodi (Clark dan Adams 1976).~~
 126 ~~UPada penelitian ini, uji serologi dilakukan s DAS-ELISA menggunakan antiserum~~
 127 ~~spesifik ORSV dan dilakukan sesuai dengan protokol reagent yang direkomendasikan~~
 128 ~~pembuat antiserum reagent set (Agdia Inc.). Setelah masaproses pewarnaan dengan~~
 129 ~~substrat PNP masa inkubasi, Hasil ELISA hasil deteksi pada microtiter plate~~
 130 ~~ELISA yang berisi sampel daun diuji selanjutnya dibaca menggunakan ELISA-reader~~
 131 (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai
 132 absorbansinya mendekati nilai kontrol positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi
 133 buffer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

134 ~~Deteksi Asam Nukleat Uji Molekuler dengan RT-PCR.~~ Isolasi RNA dilakukan
 135 pada sampel positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan *Total RNA isolation*
 136 *kit* (SBS Genetech Co., Ltd., China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan
 137 dengan metode terpisah menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-
 138 ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-
 139 GGAAGAGGTCCAAGTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006). Proses RT dilakukan
 140 dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo scientific, USA), selanjutnya molekul

Comment [A14]: Kalau ini tidak dapat ditampilkan datanya, tidak perlu dicantumkan dalam makalah

Comment [TA15]: Deteksi molekuler bukan hanya RT-PCR/PCR, uji serologi juga bagian dari deteksi molekuler

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font:

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Comment [A16]: 44 sampel atau 87? Di abstrak 87 sampel

Comment [A17]: Maksud paling representatif apa? Lebih diperjelas. Apakah yang paling jelas gejalanya atau bagaimana..

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font:

Formatted: Font: Font color: Red, Indonesian

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font:

141 cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR menggunakan
 142 *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu ~~37°C~~ 37 °C
 143 selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi ~~96°C~~ 96 °C selama 5 menit dan diakhiri
 144 pada suhu ~~4°C~~ 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan predenaturasi pada ~~95°C~~ 95 °C
 145 selama 5 menit, dilanjutkan dengan durasi 34 siklus, meliputi ~~95°C~~ denaturasi pada suhu
 146 95 °C selama 30 detik, ~~50°C~~ annealing pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan
 147 ~~70°C~~ ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit (Mahfut 2011). Produk PCR divisualisasi
 148 dengan elektroforesis pada gel agarosa 2%, dilihat dengan transiluminator (Bio-Rad
 149 Transilluminator 2000) dalam buffer TBE/TAE yang mengandung ethidium bromide
 150 (?) atau gelnya direndam dalam ethidium bromide? (jelaskan). Pita DNA yang
 151 divisualisasi pada UV transiluminator dan didokumentasi menggunakan dengan
 152 kamera digital. (Nikon Coolpix S3500). menunjukkan ukuran panjang pasangan basa
 153 gen target, yaitu gen CP ORSV.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika. DNA hasil amplifikasi diruntut
 154 sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke Perunutan DNA dilakukan dengan
 155 mengirimkan sampel hasil amplifikasi ke perusahaan 1st Base, Singapura. Sikuen
 156 nukleotida Data dianalisis dan digabungkan dengan Software peranti lunak Software
 157 Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25. Analisis
 158 homologi penyejajaran sikuen nukleotida ORSV isolat dari Indonesia dilakukan
 159 terhadap homologi sekuen sikuen yang dengan data yang terdaftar di GenBank dilakukan
 160 menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) pada situs
 161 (www.ncbi.nlm.nih.gov/), selanjutnya untuk mencari dan membandingkan homologi
 162 sekuen dengan data yang yang terdaftar di GenBank digunakan Basic Local Alignment
 163 Search Tool (BLAST) pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov/. Seleksi berdasarkan sumber

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font: Indonesian, Highlight

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Comment [TA18]: Jika sequencing dilakukan v
 PT Genetika Science, maka sequencing dilakukan
 Malaysia, bukan Singapura. Sudah sejak lama
 Genetika science mengirim sampelnya ke Malay
 Silahkan dicek

Formatted: Font: Indonesian, Highlight

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

165 sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat ORSV terdaftar. Analisis 8 isolat ORSV lain
 166 berdasarkan distribusi daerah terpilih : di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen, Zhuhai,
 167 Guangzhou, Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan kemiripan IS
 168 sampai dengan 99.6% dengan isolat ORSV Bogor (Tabel 2). Isolat TMV-Yunnan
 169 digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*). Analisis filogenetika dilakukan
 170 dengan menggunakan peranti lunak *Neighbour Joining* (NJ) pada program *Molecular*
 171 *Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *Neighbor*
 172 *Joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak). Nilai Analisis
 173 secara statistik pada cabang internal menggunakan *bootstrap* yang digunakan sebanyak
 174 1000 kali pengulangan (Lakani *et al.* 2010).

Comment [A20]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Comment [A21]: masuk ke hasil

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font: Italic, Highlight

Comment [TA22]: Gambar filogenetik dianalisis ulang dengan menggunakan parameter ini agar nilai bootstrap dan percabangannya lebih baik.

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font:

176 HASIL

177 Survei Gejala Infeksi Virus Survei dan Koleksi Sampel

178 Total sampel koleksi berupa daun angrek yang menunjukkan gejala terinfeksi
 179 virus yang diduga ORSV adalah 87 sampel yang dikoleksi dari 27 genus angrek (Tabel
 180 1). Gejala umum yang ditemukan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1).

Comment [TA23]: Dalam table 1 tidak ada informasi 27 genus ini.

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Comment [A24]: dihapus saja

181 Deteksi Virus

182 Uji Berdasarkan hasil deteksi serologi menunjukkan Uji Serologi dengan DAS-
 183 ELISA. Hasil uji serologi diperoleh bahwa insidensi infeksi virus sebesar 5.7% (5 dari
 184 87 total sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV. Adapun 5 sampel yang
 185 positif yaitu 2 sampel berasal dari kebun raya Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari
 186 kebun raya Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari kebun raya Balikpapan
 187 (KRBp5). yang menunjukkan positif terinfeksi ORSV atau insidensi infeksi virus
 188 sebesar 5,7 % dengan kisaran Rerata nilai absorbansi 0.709-1.594 ELISA sampel yang

Comment [TA25]: Apakah tidak ada malformasi daun?. Sebaiknya gejala dideskripsikan dengan lebih detail. Apalagi pada gambar 1 gejala ditemukan pada spesies yang berbeda.

Formatted: Font color: Auto

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Comment [A26]: di metode 44?

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

189 positif ORSV berkisar 1.125-1.152. Dari keseluruhan sampel positif tersebut, 4
 190 diantaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. dan digunakan untuk analisis selanjutnya. ~~atau~~
 191 insidensi infeksi virus sebesar 5,7 %. Sampel daun positif terinfeksi ORSV tersebut,
 192 yaitu: *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12),
 193 *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *D. salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J.
 194 Sm. (KRBp5) (Gambar 1).

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

195 Uji Molekuler dengan RT-PCR. Hasil deteksi dengan RT-PCR terhadap lima
 196 sampel positif ORSV berdasarkan uji serologi menunjukkan ~~amplifikasi~~ fragmen DNA
 197 berukuran ±474 pb ~~yang teramplifikasi dengan menggunakan primer spesifik genyang~~
 198 ~~merupakan gen~~ CP ORSV (Gambar 2). ~~Dari keseluruhan sampel positif tersebut, 4~~
 199 ~~sampel~~ diantaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. dan digunakan untuk analisis
 200 selanjutnya.

Comment [A27]: Asal kebun raya? Penyebuta selanjutnya P. amabilis, dll. D kepanjangannya?

Comment [A28]: Tidak perlu ditampilkan karena tidak mewakili gejala yang ditemukan. Nanti justru muncul pertanyaan, kenapa daun lain yang bergejala tidak positif ORSV?

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Comment [A29]: Kenapa yang *D. salacae* tidak dianalisis? Berikan alasannya di makalah.

202 Homologi Runutan Nukleotida Gen CP ORSV

203 Analisis Siku Nukleotida DNA.

204 Hasil ~~sekuensing peruntan sekuensing~~ nukleotida diperoleh total nukleotida gen
 205 CP isolat ORSV-Bogor (KRB12), ORSV-Bogor2 (KRB18), ORSV-Purwodadi
 206 (KRP18), dan ORSV-Balikpapan (KRBp5) berukuran sejumlah 474-480
 207 basa-basan nukleotida. Hasil analisis BLAST terhadap masing-masing isolat
 208 menunjukkan bahwa 4 isolat tersebut memiliki homologi kemiripan sebesar 99%
 209 dengan isolat ~~gen~~ CP ORSV dari negara-negara lain di Asia, Amerika, dan Eropa.
 210 Seleksi berdasarkan sumber sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat terdaftar. Analisis
 211 8 isolat lain berdasarkan distribusi daerah terpilih di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen,
 212 Zhuhai, Guangzhou, Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan

Formatted: Indent: First line: 0"

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Comment [TA30]: Dari KRB no 2 dan 12 atau no.2 dan 18?? Cek mana yang benar, karena kode berbeda dengan hasil ELISA

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Formatted: English (U.S.)

Comment [A31]: Kemiripan atau IS? Pilih salah satu istilahnya.

Comment [TA32]: Sebaiknya secara konsisten menggunakan istilah homologi, bukan kemiripan, terkadang homologi.

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Font color: Auto

213 kemiripan dengan indeks similiaritas (IS) sampai dengan 99.6% dengan isolat ORSV-
 214 Bogor (Tabel 2). ~~Isolat TMV Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup~~
 215 ~~(outgroup).~~

Formatted: Indonesian

216

217 Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

218 Hasil analisis Hasil penyejajaran sikuen nukleotida menunjukkan adanya mutasi
 219 titik berupa substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat Bogor
 220 mengalami kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan transversi masing-masing 4
 221 kali serta insersi 5 kali, sehingga isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya.
 222 Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi
 223 asam amino. Isolat Balikpapan dan Bogor menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam
 224 amino Ala yang mengalami penurunan 0,6% serta peningkatan pada Gln sebesar 0,58%.
 225 Berbeda dengan isolat Purwodadi yang mengalami peningkatan pada asam amino Cys
 226 sebesar 1,15% dan penurunan pada Gly 0,8%. Keseluruhan isolat Indonesia mengalami
 227 peningkatan pada Val 0,45-0,51% (Tabel 3). Pada sikuen nukleotida gen CP isolat
 228 ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

229 Analisis filogenetika (Gambar 3) menunjukkan bahwa isolat 4 isolat ORSV
 230 dari Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil rekonstruksi
 231 pohon filogenetika membagi isolat ORSV kedalam dua dan berada dalam satu
 232 kelompok berdasarkan wilayah geografi, yaitu kelompok isolat Indonesia yang berada
 233 pada cabang terpisah dengan kelompok isolat dari Cina dan Korea Selatan. Jika
 234 dibandingkan antar cabang, hanya sedikit perbedaan yaitu isolat Bogor2 (Kebun Raya
 235 Bogor) memiliki kedekatan cabang dengan isolat dari kedua negara tersebut. terpisah
 236 dari isolat ORSV asal Negara lain (Gambar 3). Walaupun keseluruhan isolat

Formatted: Font color: Auto

Comment [A33]: Tidak dapat dikatakan berdasarkan geografi kalau isolat China dan Korea Selatan berada dalam satu kelompok

237 membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antar isolat masih sangat dekat.

238 Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk sub grup.

239

240 PEMBAHASAN

241 Sampel positif terinfeksi ORSV terbanyak merupakan anggrek *Phalaenopsis*.

242 Diduga anggrek ini merupakan tanaman inang yang cocok dan

243 paling rentan terhadap infeksi ORSV. Hal ini berkaitan dengan

244 tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* yang tebal sebagai tempat

245 penyimpanan cadangan makanan.

246 PEMBAHASAN

247 Keberadaan hasil metabolisme berupa cadangan makanan yang melimpah

248 diketahui sangat efektif untuk replikasi genom dan sintesis virus baru. Selain itu,

249 kandungan polipeptida khas yang disandi oleh gen virus yang mengandung nitrogen

250 seperti zat pengatur tumbuh dan senyawa fenol juga sangat berperan sebagai penyebab

251 munculnya gejala infeksi sistemik (Akin 2006).

252 Berdasarkan hasil survei dan koleksi sampel, jumlah sampel daun yang dikoleksi

253 pada tiap lokasi berbeda beda tergantung banyaknya tanamandaun yang menunjukkan

254 gejala infeksi virus pada lokasi tersebut. Gejala infeksi virus pada suatu populasi

255 tanaman inang muncul sebagai hasil interaksi antara virus, tanaman inang dan

256 lingkungan (Burnet 1974). Gejala infeksi ORSV yang paling umum ditemukan di

257 lapangan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1). Selain itu, pada penelitian

258 sebelumnya dijumpai juga gejala khas infeksi berupa bercak bercincin (*ring spot*) seperti

259 awal mula virus ini ditemukan oleh Jensen and Gold (1951) serta). Pada penelitian

260 sebelumnya juga ditemukan gejala infeksi ORSV sebelumnya dilaporkan berupa gejala

Comment [A34]: Lebih diperjelas. Isolat Indonesia ada berapa subgrup? Tiap subgrup terd dari

Comment [TA35]: Perbaiki gambar 3 untuk menunjukkan nilai bootstrap yang lebih representative jika antar isolate berkerabat dekat

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Highlight

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Highlight

Comment [TA36]: Gunakan pustaka dari teksbook asli (primer) yang berbahasa Inggris (Agrios atau Hull atau lainnya).

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA37]: Gunakan referensi yang terkini. Harap diganti.

Formatted: Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

261 bergaris (*streak*) (Mahfut 2011) yang pada yang merupakan kondisi infeksi yang parah
 262 (Syahierah, 2010). Lakani *et al.* (2010) juga melaporkan gejala infeksi yang ditemukan
 263 berupa mosaik dan nekrotik pada daun dan bunga terinfeksi, selain itu juga dijumpai
 264 gejala infeksi laten berupa *symptomless* (tanpa; Mahfut 2011)). Hal ini menunjukkan
 265 bahwa infeksi ORSV di Indonesia memerlukan penanganan yang sangat serius. Gejala
 266 infeksi ORSV yang ditemukan bervariasi tergantung spesies anggrek (ini faktanya).
 267 Tambahkan referensi terkait variasi gejala) dengan spesies yang berbeda
 268 Hasil pembacaan nilai absorbansi pada ELISA reader diperoleh 5 sampel
 269 mengindikasikan positif terinfeksi ORSV hasil koleksi dari lokasi Kebun Raya Bogor
 270 (KRB2, KRB12), Purwodadi (KRP18, KRP20), dan Balikpapan (KRBp5). Nilai
 271 insidensi ORSV pada sampel...berdasarkan hasil uji serologi hanya rendah, di bawah
 272 10%. Lakani (2011) sebelumnya melaporkan infeksi ORSV pada anggrek? di Kebun
 273 Raya Bogor dengan nilai absorbansi 0,572 dan kejadian insidensi penyakitnya juga
 274 hanya 20% dari 10 sampel uji. Berdasarkan hasil survei, beberapa sampel Sampel –
 275 sampel lain, meskipun bergejala terinfeksi ORSV, diketahui memperlihatkan gejala
 276 infeksi ORSV tetapi tidak menunjukkan reaksi positif dengan antiserum ORSV
 277 berdasarkan uji serologi DAS-ELISA. Hal ini dimungkinkan Ssampel tersebut diduga
 278 terinfeksi oleh virus lain meskipun menunjukkan gejala infeksi serupa ORSV. Suatu
 279 Virus dapat menimbulkan menyebabkan gejala yang berlainan pada tanaman yang
 280 berbeda, sementara virus yang berbeda dapat menyebabkan gejala yang hampir sama
 281 pada tanaman inang yang sama (Badwen 1964), tergantung pada strain virus, kultivar
 282 tanaman?, dan kondisi lingkungan (Navalinskiene *et al.* 2005). Hasil deteksi RT-PCR
 283 membuktikan ORSV telah menginfeksi anggrek alam koleksi Kebun Raya Bogor,
 284 Purwodadi, dan Balikpapan sesuai hasil uji serologi dengan teramplifikasinya gen CP

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA38]: ??? Delete. dari data anda saja insidensi Cuma 5.7%, statement ini kurang sesuai dengan datanya, apalagi tidak didukung oleh referensi yang menggambarkan ORSV menginfeksi hampir semua jenis anggrek.

Formatted: Highlight

Comment [A39]: Tidak perlu dibahas jika sudah dipublikasikan pada publikasi lain

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough
Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough

Comment [A40]: Ini lebih cocok masuk ke has

Comment [A41]: Istilah yang digunakan sebaiknya selalu sama dari awal sampai akhir

Comment [A42]: Tambahkan hasil peneliti lain

285 ORSV pada sampel.....sesuai dengan ukuran yang dilaporkan oleh Lakani *et al.* (2010)
 286 dan Mahfut (2011).

287 Indeks Metode deteksi dilakukan dengan dua cara yaitu uji serologi DAS-ELISA
 288 dan uji molekular dengan RT-PCR. Hasil akhir dari uji serologi dapat langsung
 289 digunakan untuk menentukan sampel yang positif terinfeksi ORSV berdasarkan hasil
 290 pembacaan rerata absorbansi menggunakan ELISA-reader pada panjang gelombang
 291 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai absorbasinya mendekati nilai kontrol
 292 positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi buffer kontrol (Daryono dan Natsuaki
 293 2009). Hasil Uji serologi dapat dimanfaatkan untuk menentukan insidensi infeksi virus
 294 yang ditemukan dari sampel hasil survey. deteksi RT-PCR mengonfirmasi hasil deteksi
 295 serologi yang menunjukkan bahwa membuktikan ORSV telah menginfeksi anggrek
 296 alam koleksi di Kebun Raya Bogor, Purwodadi, dan Balikpapan dengan teramplifikasi
 297 gen CP ORSV sesuai dengan ukuran yang dilaporkan sebelumnya (oleh Lakani *et al.*
 298 (2010); dan Mahfut (2011). Hal ini membuktikan bahwa kombinasi kedua metode
 299 deteksi dapat dimanfaatkan untuk deteksi rutin. uji tersebut merupakan tahapan metode
 300 yang tepat untuk deteksi virus.

301 Persentase tingkat kesamaan nukleotida antar isolat ORSV berdasarkan indeks
 302 similiaritas (IS) nukleotida antar isolat ORSV menunjukkan persentase yang
 303 tinggi, hampir tidak ditemukan keragaman gen CP ORSV meskipun masing-masing
 304 isolat dipilih berdasarkan perbedaan wilayah geografi. Hal ini disebabkan sifat adaptif
 305 virus yang relatif stabil dalam berbagai kondisi lingkungan (Lakani *et al.* 2010). Dari
 306 hasil alignment penyejajaran sikuen nukleotida alignment menunjukkan adanya mutasi
 307 titik berupa substitusi dan insersi pada isolat Indonesia. Isolat Bogor mengalami
 308 kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan transversi masing-masing 4 kali serta

Comment [TA43]: Bukan 2-3 kali buffer control tetapi yang benar 2-3 kali nilai absorbansi control sehat!

Formatted: Highlight

Comment [TA44]: Delete, tidak ada yang perlu dibahas terkait metode. Yang perlu dibahas adalah dari data yang ada.

309 insersi 5 kali, sehingga isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Pada
 310 penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi. Efek mutasi yang terjadi mampu
 311 menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino (Tabel 3).
 312 ~~Isolat Secara signifikan isolat~~ Balikpapan dan Bogor menunjukkan perbedaan pada
 313 frekuensi asam amino Ala yang mengalami penurunan 0,6% serta peningkatan pada Gln
 314 sebesar 0,58%. Berbeda dengan isolat Purwodadi yang mengalami peningkatan pada
 315 asam amino Cys sebesar 1,15% dan penurunan pada Gly 0,8%. Keseluruhan isolat
 316 Indonesia mengalami peningkatan pada Val 0,45-0,51%-%. Perubahan asam amino
 317 yang dihasilkan memiliki pengaruh yang sangat besar dalam proses adaptasi terhadap
 318 lingkungan di Indonesia (Lakani *et al.* 2010).

319 Berdasarkan pohon filogenetika, ~~ORSV Indonesia diduga berasal dari negara~~
 320 ~~Cina dan Korea Selatan~~. Hasil analisis filogenetika menunjukkan isolat Indonesia berada
 321 pada cabang yang terpisah dengan isolat dari negara lain. Jika dibandingkan antar
 322 cabang, hanya sedikit perbedaan yaitu isolat Bogor² (Kebun Raya Bogor) memiliki
 323 kedekatan dengan isolat dari Cina dan Korea Selatan. ~~ORSV di Indonesia diduga~~
 324 ~~berasal dari kedua negara tersebut~~. BPPP (2005) menjelaskan Cina dan beberapa negara
 325 Asia Barat sebagai pengimpor benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997-
 326 2001. Hal ini diperkuat oleh ~~Ryu *et al.* (1995)~~ dan Lawson (1990) yang
 327 ~~melaporkan dengan adanya laporan~~ infeksi ORSV di kedua negara tersebut.

328 Hasil penelitian menunjukkan sampel Berdasarkan hasil penelitian ini ORSV
 329 terdeteksi menginfeksi anggrek koleksi beberapa kebun raya di Indonesia, walau
 330 insidensinya masih rendah. Homologi nukleotida gen CP yang tinggi terhadap ORSV
 331 dari negara lain diduga ORSV isolate Indonesia masuk dari Negara lain. Sehingga untuk
 332 melindungi anggrek alam di Indonesia, importasi anggrek dari negara lain harus dibatasi

Comment [TA45]: Tempatkan pada bagian ha
 sebelum hasil filogenetika, bukan di pembahasan.
 Dalam pembahasan yang dibahas apa yang ditulis
 dalam hasil; factor apa saja yang dapat
 menyebabkan terjadinya mutasi titik pada gen vir

Comment [A46]: Dugaan ini kurang kuat, kare
 hanya dua negara yang digunakan. Kalau mau
 menduga asal isolat ORSV Indonesia, sebaiknya
 diambil isolat ORSV dari negara – negara yang lain
 (paling tidak 10 negara) untuk analisis homologi d
 pohon filogenetika

Comment [A47]: Dalam naskah ini,
 penelitiannya bukan penemuan ORSV di Korea

Formatted: Font color: Red

333 dan terkontrol. *positif terinfeksi ORSV* terbanyak merupakan anggrek *Phalaenopsis*.
 334 Diduga anggrek ini merupakan tanaman inang yang cocok dan paling rentan terhadap
 335 infeksi ORSV. Hal ini berkaitan dengan tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* yang tebal
 336 sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Akin (2006) menjelaskan keberadaan
 337 hasil metabolisme berupa cadangan makanan yang melimpah diketahui sangat efektif
 338 untuk replikasi genom dan sintesis virus baru. Selain itu, kandungan polipeptida khas
 339 yang disandi oleh gen virus yang mengandung nitrogen seperti zat pengatur tumbuh dan
 340 senyawa fenol juga sangat berperan sebagai penyebab munculnya gejala infeksi
 341 sistemik.

342 ~~Diharapkan fakta ilmiah ini dapat menggugah kewaspadaan negara basis anggrek~~
 343 ~~seperti Indonesia untuk lebih memperketat mobilitas anggrek serta masuknya materi-~~
 344 ~~materi pembawa penyakit dari luar ke dalam Indonesia. Hasil penelitian ini diharapkan~~
 345 ~~menjadi informasi dasar yang mendukung konsep konservasi dalam pembangunan~~
 346 ~~kebun raya dan pemeliharaan tanaman koleksi kebun raya melalui deteksi rutin untuk~~
 347 ~~pemantauan perkembangan/penyebaran penyakit virus dan tindakan pengendalian sedini~~
 348 ~~mungkin strategi pengendalian penyakit.~~

349

350

351

DAFTAR PUSTAKA

352 Akin HM. 2006. Virologi Tumbuhan. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-108.
 353 Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three
 354 common viruses infecting orchids. Arch Virol. 159(11):3095-3099.
 355 Bawden FC. 1964. Plant Viruses and Virus Diseases. New York: Ronald Press. New
 356 York (US): Ronald Press Co. Hlm 361.

Comment [A48]: Kalimat ini kalau tidak ada referensinya tidak dapat dicantumkan walaupun hanya diduga

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA49]: Gunakan teks book Agrios 2005 atau Hull 2013 yang terbaru atau lainnya jika terkait virus tumbuhan

Comment [A50]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

357 | [BPPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
 358 | *Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI. Hlm
 359 | 2-15.

360 | Burnett HC.1974. Bulletin of Orchid Diseasea. Florida (ID): Departement of
 361 | Agriculture and Consumer Service. Hlm 1066.

Comment [A51]: Tidak ada dalam naskah

362 | Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce
 363 | clean orchid plantlets. *Orchids*. 77(9):668-671.

364 | Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic
 365 | Resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* Expressing The Viral
 366 | Capsid Protein Gene. *Transgenic Res.* 14:41-46. [Doi number?](#)

Formatted: English (U.S.)

367 | Chia TF, Chan YS, Chua NH. 1992. Characterization of *Cymbidium mosaic virus* coat
 368 | protein gene and its expression in transgenic tobacco. *Plant Mol Biol*. 18:
 369 | 1091–1099.

Comment [A52]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

370 | Clark F, Adams AN. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked
 371 | Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. ~~Journal of General~~
 372 | ~~Virology~~[Virology](#). 34: 475-483.

373 | Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei Virus yang Menyerang Labu-Labuan di
 374 | Yogyakarta dan Jawa Tengah. ~~Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia~~. 15: 83 –
 375 | 89.

376 | Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and Identification of Viruses of Orchid in
 377 | Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109-118.

378 | Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada
 379 | tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

380 Jensen DD, Gold HA. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid, symptoms,
381 transmission and electron microscopy. *American Orchid Soc.* 4:62-100.

382 Kim SM, Choi SH. 2015. Simultaneous detection of *Cymbidium mosaic virus* and
383 *Odontoglossum ringspot virus* in orchids using multiplex RT-PCR. *Virus*
384 *Genes.* 51(3):417-22.

385 Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26-38.

386 Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
387 conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular
388 analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*;
389 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.

390 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular
391 characterization of ~~*Odontoglossum*~~*Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) from
392 Bogor, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences.*17(2):101-104.doi number?

393 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
394 anggrek di pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

395 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest*
396 *and diseases*, editor. *American Orchid Society.* Florida (US): West Palm Beach.
397 Hlm 66-101.

398 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex ~~rt-per~~RT~~per~~ detection of two orchid viruses
399 with an internal control of plant nad5 ~~mRNA~~mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187-
400 196.doi number?

401 Mahfut. 2011. Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus*
402 (ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.

Comment [A53]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

Formatted: English (U.S.)

Comment [A54]: Nama editornya?

- 403 Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. [Viral Disease of Flower Plants 16](#)
 404 [Identification of Viruses Affecting Orchids \(*Cymbidium* Sw.\)](#). *Biologija*. 2:29-
 405 [34.doi number?](#)
- 406 Rukmana R. 2000. *Angrek Bulan*. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-66.
- 407 Ryu KH, Choi CW, Kim SJ, Park WM. 1995. The 52 kD protein gene of
 408 *Odontoglossum ringspot virus* containing RNA-dependent RNA polymerase
 409 motifs and comparisons with other Tobamoviruses. *J Plant Biol*. 38(2):129-136.
- 410 Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Angrek Hibrida..* Jakarta (ID): AgroMedia
 411 Pustaka. Hlm 1-80.
- 412 Soedjono S. 1997. Pemuliaan Tanaman angrek. Di dalam: Buku Komoditas No. 3
 413 Balai Penelitian Tanaman Hias; Puslit Holtikultura. Jakarta (ID): Badan Litbang
 414 Pertanian. Hlm 71.
- 415 [Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* \(CymMV\) on Vanda](#)
 416 [Plants. International Journal of Science and Research \(IJSR\). 4\(1\):374-377.](#)
- 417 Syahierah P. 2010. [Response different types of orchids \(*Orchidaceae*\) against infection](#)
 418 [Cymbidium mosaic virus \(CymMV\) and *Odontoglossum ringspot virus* \(ORSV\)](#)
 419 [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 420 Zettler FW, Ko NJ, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. 1990. Viruses of orchids and
 421 their control. *Plant Dis*. 74:621-626.
- 422

Comment [A55]: Apakah penulisan judulnya benar?

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA56]: Karena skripsi dalam bahasa Indonesia, gunakan judul dalam bahasa Indonesia

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

423

424

Tabel 1. Koleksi ~~sampel~~ ~~S~~sampel Anggrek Bergejala dari ~~masing~~ Beberapa Kebun Raya
(KR) di Indonesia ~~masing-masing lokasi~~

425

Lokasi	Jumlah Sampel	Gejala Infeksi Virus
Kebun K Rebun Raya Bogor	35	Mosaik, klorosis, nekrosis, <i>mottling</i> , <i>vein clearing</i> , <i>wilting leaf</i> , dan deformasi daun
Kebun Raya Cibodas	17	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Purwodadi	25	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Balikpapan	6	Mosaik, klorosis, nekrosis, dan <i>curling leaf</i>
Kebun Raya Enrekang	4	Mosaik, klorosis, nekrosis

426

Formatted: Centered

Comment [A58]: Tidak perlu ditampilkan, jika gejala sudah dipublikasikan pada publikasi lain

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA57]: Kebun Raya disingkat saja untuk efisiensi table menjadi KR Bogor, KR Cibodas dst karena nama isolate juga disingkat sesuai dengan asalnya

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

427 | Tabel 2. Tingkat kemiripan basa Homologi ~~Persentase tingkat kesamaan nukleotida~~ gen CP 4 isolat ORSV asal anggrek alam Indonesia
 428 | dibandingkan dengan isolate dari Negara lain

Comment [A59]: Mau pake kemiripan atau indeks similaritas? Istilah yang dipakai sama dari awal sampai akhir

Comment [A60]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Indent: Left: 0.2", Hanging: 0.55"

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Comment [TA61]: Asal Isolat (KRB2) dll bermakna beda dari Negara lain, dimana () menunjukkan nomor aksesori. No. aksesori dibuat pisah seperti contoh (tanpa tanda kurung). Bogor dll, bukan nama Negara. Jadi seharusnya ditulis: Indonesia-Bogor2
 -Bogor 12
 -Purwodadi
 Dst pada kolom asal isolat. Pada isolate Indonesia beri tanda asterisk, dengan keterangan pada catatan kaki: belum memiliki no. aksesori atau diberi tanda – pada kolom no. aksesori

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Left

No	Asal Isolat	No. Aksesori	Indeks Similiaritas (IS) Homologi (%)														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
1	Bogor (KRB2 , KRB-2)		100	ID													
2	Bogor 2 (KRB12 , KRB-12)		99.8	100	ID												
3	Purwodadi (KRP18)		98.7	98.5	100	ID											
4	Balikpapan (KRBp5)		99.2	97.9	98.7	100	ID										
5	Foshan Cina (KF836075.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	ID									
6	Guangzhou Cina (KF836084.1)		98.2	98.9	99.6	98.9	100	100	ID								
7	Guizhou Cina (KF225471.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	100	ID							
8	Hangzhou Cina (AM398154.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	99.4	99.8	100	ID						
9	Seoul Korea Selatan (AJ606107.1)		98.7	98.5	99.2	98.5	99.6	99.6	99.4	98.6	100	ID					
10	Shenzhen Cina (KF836090.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	96.8	99.4	100	ID				
11	Tianjing Cina (EU653020.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	100	99.8	100	99.6	99.8	100	ID			
12	Zhuha Cina (KF836086.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	99.8	99.4	100	99.8	100	ID		

13 TMV-Yunnan (AAM64218.1) 68.2 68.2 68.2 67.9 67.7 67.7 67.5 66.9 67.3 67.9 67.7 67.9 100

429 | ~~Tingkat Homologi nukleotida~~ ~~Tingkat kemiripan basa nukleotida~~ gen CP ORSV asal angrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program DNASTAR Lasergene DM

430 | Version 3.0.25

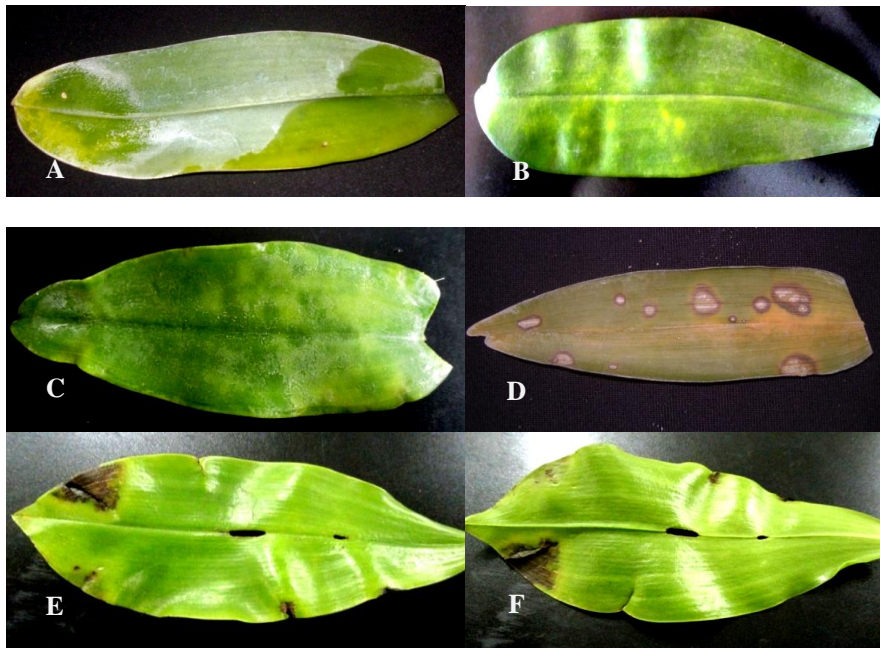
Comment [A62]: Mau pake kemiripan atau indeks similaritas? Istilah yang dipakai sama dari awal sampai akhir

431 | Tabel 3. Frekuensi ~~Persentase frekuensi~~ asam amino gen CP ORSV asal anggrek alam ~~isolat~~ Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asama Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
Bogor (KRB 2)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140
Bogor 2 (KRB 12)	4.29	7.14	2.86	0.71	4.29	6.43	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	3.57	5.00	16.43	5.00	4.29	0.71	5.71	140
Purwodadi (KRP18)	4.23	8.45	2.82	0.70	4.23	4.93	0.00	4.23	3.52	8.45	0.70	11.97	4.23	3.52	4.93	16.90	5.63	4.23	0.70	5.63	142
Balikpapan (KRBp5)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140

Formatted: Font: 12 pt

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt,
Font color: Custom Color(RGB(33,29,30))Formatted: Font: 12 pt, Font color: Custom
Color(RGB(33,29,30))



432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

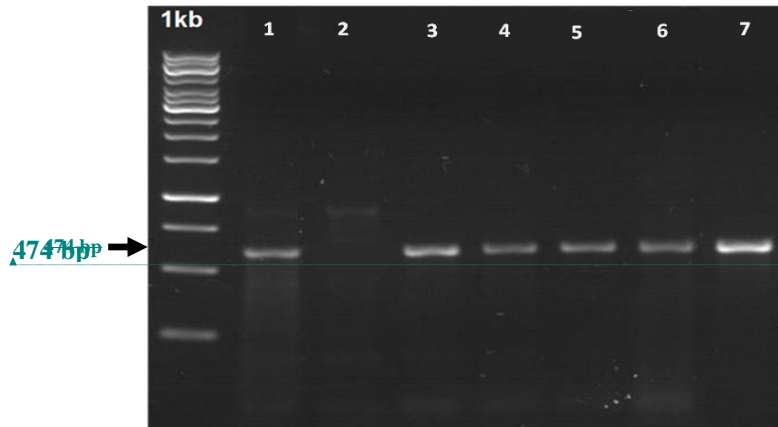
Gambar 1. Gejala sampel pada sampel daun yang positif terinfeksi ORSV. (A) Gejala klorotik sebutkan tipe gejalanya pada anggrek *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), (B) mosaik pada *Phalaenopsis amabilis* (KRB 12), (C) mosaik pada *Phalaenopsis amabilis* ~~Phalaenopsis amabilis~~ (KRP18), (D) bergaris (*streak*) dan nekrotik pada *D. salacence* (KRP20), serta nekrosis, klorotik dan *curling leaf* pada ~~dan~~ *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) (E) permukaan atas, (F) permukaan bawah

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA63]: Misal (A) mosaik-
Phalaenopsis amboinensis, (B). bercak bercincin-
Dendrobium dst

Formatted: English (U.S.)

Comment [A64]: Tidak perlu ditampilkan



Formatted: Font: 12 pt

442

443 Gambar 2. Hasil visualisasi RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarose...%., (M)

444 Marker 1 kb, (makernya? Thermoscientific?, Invitrogen? Tuliskan); (1)

445 kontrol positif, ORSV dari ???; (2) kontrol negatif, dari tanaman sehat??;

446 (3)-7)-ORSV dari KRB2_, (4) KRB12, (5) KRP18, (6)KRP20, dan (7)

447 KRBp5

448

Comment [TA65]: Pada gambar sebaiknya diberi kode M bukan 1 kb supaya sesuai dengan figure legendnya. Font dan size pada gambar gunakan Times New Roman 12.

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt

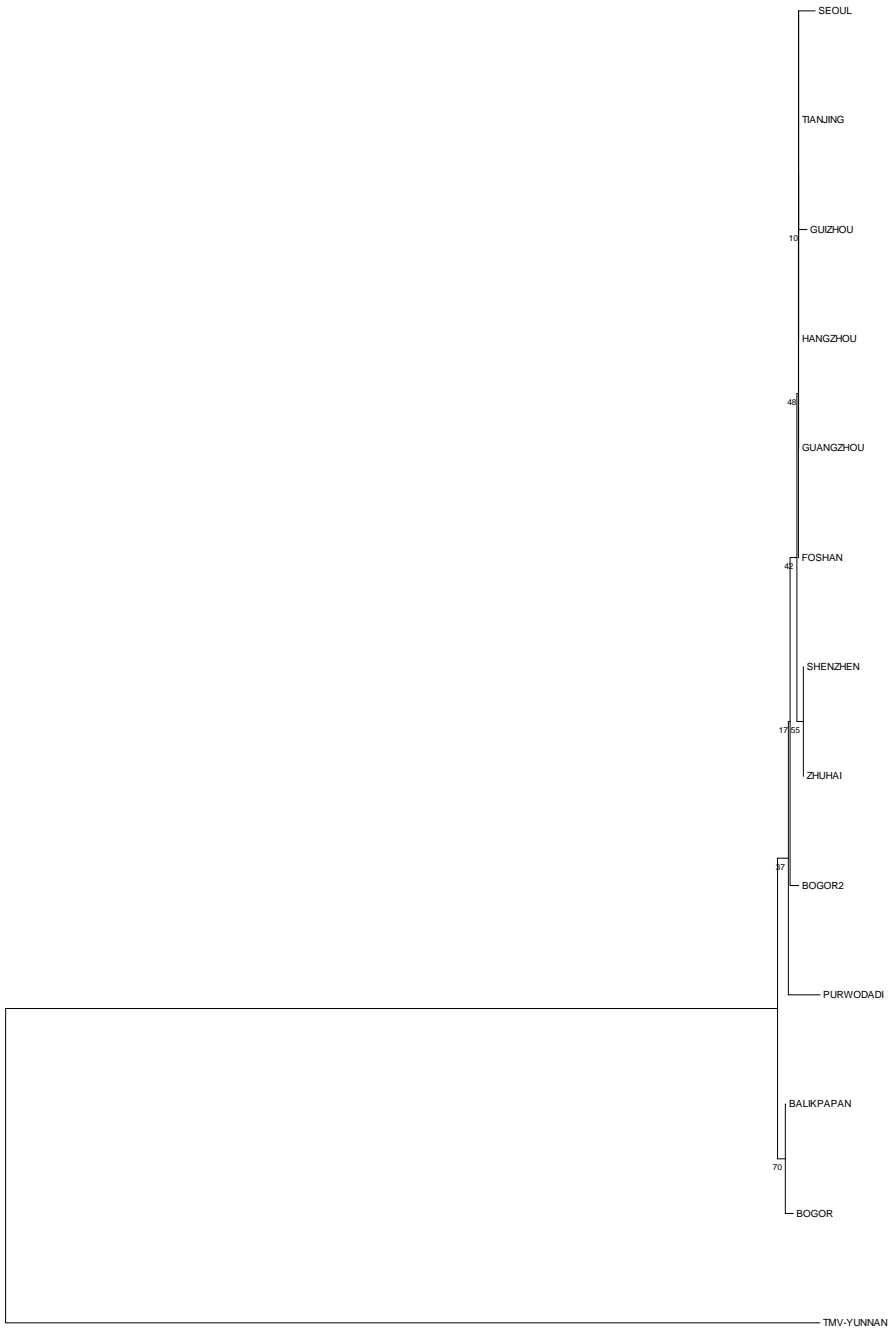
Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Font: Calibri, 11 pt, Font color: Auto, English (U.S.)

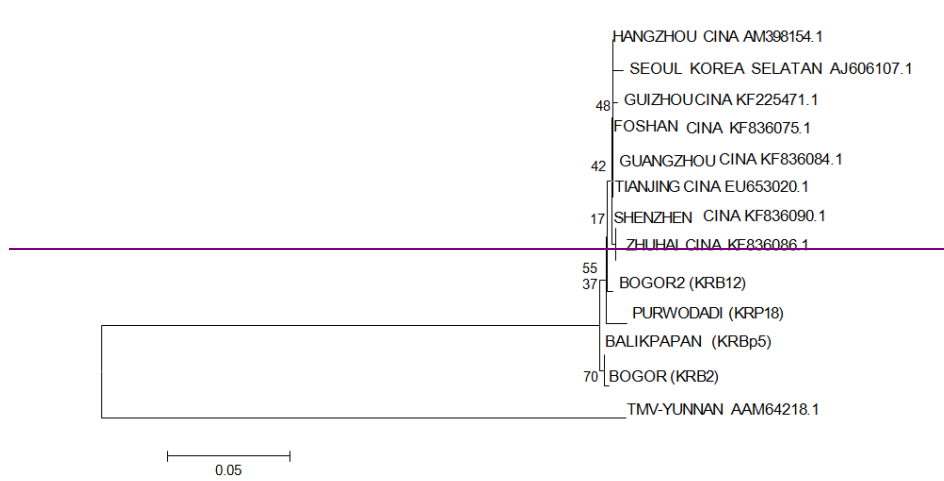
Formatted: English (U.S.)

Comment [TA66]: Jika ingin hanya menulis nama isolate dengan singkatan, sebaiknya dalam metode dituliskan. Misal; isolate dari kebun raya bogor (KRB), dst. Atau jika tidak, pada figure legend ini harus dituliskan jelas.

Formatted: Indent: Left: 0", Hanging: 0.89", Right: 0"



0.05



450

451 **Gambar 3. Rekonstruksi ~~Rekonstruksi~~ pohon filogenetik isolat ORSV berdasarkan**452 **sikuen nukleotida gen CP 4 isolat ~~isolat~~ ORSV dari Indonesia**453 **dibandingkan dengan isolate dari negara lain. TMV-Yunan digunakan**454 **sebagai pembanding luar grup. dan ~~outgroup~~ berdasarkan sekuen**455 **nukleotida gen CP**

Comment [TA67]: Pohon filogenetik ini memiliki nilai bootstrap yang kecil dibandingkan dengan bootstrap value yang digunakan (1000 kali), sehingga nilai yang tertera tidak menggambarkan hubungan kedekatan yang jelas karena kecil nilainya.

Saya sarankan menganalisis dan konstruksi ulang dengan MEGA 6 (terbaru) dengan cara:

1. Sikuen yang akan dibandingkan HARUS berukuran sama panjang nukleotidanya (mengikuti panjang ORSV Indonesia yang berhasil turun nukleotidanya). Samakan panjang nukleotida dengan realign ulang
2. Jika konstruksi menggunakan MEGA, pilihlah parameter yang ada, biasanya Kimura 2 parameter atau lainnya (pilih salah satunya sebelum merekonstruksi filogenetik)
3. Edit gambar dengan mengubah nilai bootstrap "cut off valuenya" misal 60% atau 70% setelah gambar terbentuk. Nilai cut off ini bias diubah pada menu. Sehingga gambar yang terbentuk akan lebih representative dan nilai bootstrap yang muncul hanya yang diatas 60% atau 70% saja. Percabangan jadi tidak berhimpitan. Gambar 3 ini percabangan berhimpit/pendek-pendek, namun nilai bootstrap tidak menggambarkan kedekatan/kekerabatan karena kecil. Hal ini karena penulis saat menganalisis gambar tidak menggunakan parameter yang sesuai.

Comment [A68]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Comment [A69]: Coba diotak atik di bagian cut off value of condensed tree pada software mega. Tulisan isolatnya juga tidak terbaca. Kalau gambarnya seperti ini, mohon maaf saya tidak bisa menerimanya.

9.

**Hasil Koreksi Dewan
Penyunting
(Reminder)**

Compose

Back, Forward, Refresh, Stop, Print, Delete, Undo, Redo, Zoom, etc.

Hasil Koreksi Dewan Penyunting (Naskah No. 211;Reminder)

Yahoo/Inbox



Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com>
To: mahfutkariem@yahoo.com



Thu, Jun 9, 2016 at 3:33 PM



Kepada Yth.,
Bapak Mahfut
di Universitas Lampung

Mohon izin mengingatkan, Kami menunggu hasil perbaikan naskah Bapak. Bersama ini kami kirimkan kembali naskah Bapak yang berjudul "Deteksi *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia". Naskah tersebut sudah di telaah kembali oleh Mitra bebestari dan dikoreksi oleh Dewan Penyunting JFI.

Mohon Bapak dapat memperbaiki kembali naskah sesuai saran dan koreksi pada naskah. Jika terdapat saran atau koreksi yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan pada form tanggapan (terlampir)

Mohon Bapak dapat mengembalikan perbaikan naskah **1 minggu** setelah email ini di terima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam,
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan Penyunting

[Download all attachments as a zip file](#)

- Hasil Koreks... .pdf (33.1kB)
- Hasil Telaahpdf (95kB)
- Naskah No....docx (1.2MB)
- Form Tangg... .doc (33kB)
- Pedoman Pe... .pdf (200.8kB)

Navigation icons: Back, Forward, Refresh, Stop, Print, Delete, Undo, Redo, Zoom, etc.

Reply, Reply All or Forward

Send, Attachments, Emojis, etc.

Hasil Koreksi Naskah No 211-DP... Page 1 of 1



Sekretariat: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian
Jalan Kampus Kampus IPTB, Darmaga Bogor 16680
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362,
surel: jurnal.fitopatologi@gmail.com

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :
Naskah masih perlu diperbaiki oleh penulis karena masih banyak yang harus ditambahkan dianalisis ulang, seperti abstrak, gambar filogenetik, bagian pembahasan dan daftar pustaka belum sesuai format JFI (lihat komentar DP pada bagian kanan).

KOMENTAR KHUSUS :

- Dampak terhadap sains dan teknologi :
- Kesabahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :
- Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :
- Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :
- Kesesuaian judul artikel dan abstrak :
- Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil :
- Komentar khusus lainnya :

- Penulis perlu merevisi naskah dengan melihat pedoman penulisan JFI
- Pohon filogenetik perlu dianalisis ulang

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Naskah masih perlu diperbaiki oleh penulis karena masih banyak yang harus ditambahkan/dianalisis ulang, seperti abstrak, gambar filogenetik, bagian pembahasan dan daftar pustaka belum sesuai format JFI (lihat komentar DP pada bagian kanan).

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :
2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :
3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :
4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :
5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:
6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:
7. Komentar khusus lainnya :
 - Penulis perlu merevisi naskah dengan melihat pedoman penulisan JFI.
 - Pohon filogenetik perlu dianalisis ulang
 - Referensi perlu diganti dengan yang terupdate dan untuk buku gunakan sumber teksbook aslinya

HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

SARAN UNTUK EDITOR:

Perlu dicek keabsahan dari pustaka – pustaka yang diacu dalam makalah ini, karena ada indikasi tidak menelusuri ke pustaka primernya.

KOMENTAR UMUM :

Makalah ini masih perlu banyak perbaikan, dari segi penyusunan kalimat, penyusunan paragraf, pemilihan kata dan istilah khusus yang berkaitan dengan materi naskah. Istilah yang dipakai harus sama dari awal sampai akhir makalah, termasuk sebagai nama tabel.

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi :

Menambah informasi baru, yaitu penemuan ORSV pada anggrek liar yang merupakan laporan pertama di Indonesia.

2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan :

Metodologi masih ada yang harus diperbaiki

3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan :

Masih perlu rujukan beberapa pustaka supaya penafsiran lebih baik lagi

4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian :

Pembahasan sudah sesuai dengan ruang lingkup penelitian, hanya di bagian analisis filogenetika lebih diperdalam.

5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak:

Judul sudah sesuai, abstrak masih harus diperbaiki

6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil:

Tabel 1 dan gambar 1 sebaiknya dihapus karena hasil survey berupa gejala tidak dapat ditampilkan. Gambar pohon filogeni harus dirubah lagi, sesuai komentar di naskah.

7. Komentar khusus lainnya :

- Perbaikan selanjutnya harus lebih teliti lagi, karena hasil perbaikan kedua, tidak seluruhnya mengikuti hasil telaah sebelumnya.
- Analisis homologi dan filogenetika, sebaiknya ditambahkan isolat – isolat ORSV dari negara – negara lain (paling tidak 10 negara), supaya penarikan kesimpulan lebih akurat.
- Mohon hati – hati untuk pencantuman pustaka. Pencantuman pustaka yang tidak relevan, seperti misalnya di comment A8 dapat menyebabkan ditolaknya naskah di suatu jurnal.

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi

Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids

Collection of Botanical Garden in Indonesia

Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², dan Susanto Somowiyarjo²

¹Universitas Lampung, Lampung 35145

²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus juga menjadi salah satu faktor pembatas dalam usaha budidaya anggrek. Hasil survei pada lapangan di 5 kebun raya di Indonesia ditemukan banyak tanaman anggrek alam yang menunjukkan gejala terinfeksi virus. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi untuk mengetahui keberadaan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam. Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala dari koleksi 5 kebun raya di Indonesia, yaitu a, b, c, d, dan e. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, RT-PCR dan peruntan DNA. Uji serologi dengan antiserum spesifik ORSV menunjukkan 5 dari total 87 sampel menunjukkan

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625 – Fax: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

Formatted: Centered

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Indent: First line: 0"

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Comment [A1]: Coba disusun ulang kalimatnya supaya nyambung ke tujuan

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [A2]: Dicoret saja karena tidak dapat ditampilkan datanya

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA3]: Deskripsikan gejala yang ditemukan secara singkat sebelum uji serologi.

reaksi positif terinfeksi ORSV, yaitu....terhadap antiserum infeksi ORSV yaitu sampel
dari xxxx (sebutkan yang positif dari mana saja dan pada jenis anggrek apa yang positif
ORSV?). Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan *Reverse Transcriptase-*
Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein*
 (CP) ORSV menghasilkan berhasil teramplifikasi menghasilkan fragmen DNA
 berukuran ± 474 pb. Analisis parsial sikuen gen CP homologi 4 ORSV isolat ORSV
Indonesia asal Phalaenopsis Bogor, menunjukkan nilai indeks similiaritas (IS) 99.6%
 dengan isolat Cina dan Korea Selatan. Analisis filogenetika menunjukkan 4 ORSV
 isolat Indonesia asal Phalaenopsis berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan
 isolat ORSV dari negaranegara lainnya. Penelitian inilah laporan ilmiah pertama yang
melaporkan Penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi infeksi ORSV pada
 anggrek alam koleksi 5 kebun raya di indonesia Indonesia.

Formatted: Highlight

Formatted: Font color: Red

Formatted: Font: Italic

Comment [TA4]: Bogor atau Indonesia??

Formatted: Strikethrough

Kata kunci Key word: ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Justified, Indent: First line: 0.5

Comment [TA5]: Perbaiki sesuai dengan abstrak Indonesia

Comment [A6]: Sepertinya istilah ini kurang tepat. Coba dicari istilah dalam bahasa Inggris yang lebih tepat

Comment [TA7]: Apakah istilah ini sudah tepat

Comment [A8]: Disesuaikan dengan abstrak

ABSTRACT

Nature Native orchid are one of original floral in Indonesia which have an
 important role as a parent of crossing parent. Virus infection is was the most important
 limiting factor in the cultivation of orchid. Field The result of field surveys were
conducted in 5 five botanical gardens garden in Indonesia and found that most of the
native orchids were showed that a great quantities of nature orchid were having viral
infection infected by virus-like disease symptoms. The study purpose aimed to detect
and identify purpose was to know The purpose of this study was to detect the

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

~~occurrence~~ the availability of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) that infects nature infecting that infect native orchid, from the botanical garden collection in Indonesia. Symptomatic samples were collected from 5 botanical garden collections. Serological such as x,y,z,... Detection and identification of virus was conducted by serological test using ORSV specific specific antisera indicated, RT-PCR and DNA sequencing. The serological test using against ORSV antisera showed indicated that 5 (.....) of 87 sampels were infected by reacted are positively visually against infected by ORSV. antiserum, yaitu sampel a, b, c, d, dan e. Detection of 5 samples of nucleic acid with ~~Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction~~ (RT-PCR) using specific primer of ORSV coat protein (CP) gene ORSV was successfully amplified a DNA with size ± 474 bp of DNA fragment. Homology analysis of 5 of nucleotide analysis of of ORSV the Indonesian isolates Bogor isolate showed that highest the value of the index similiarity (IS) was 99.6% similar with corresponding sequences of China and South Korea isolates. Phylogenetic analysis showed that 5 of ORSV Indonesian isolates ORSV formed one clustered informed a distinct group that were and separated with isolates from other country clustered in one group, separated from other countries ORSV isolates. This was is the first report of infection ORSV infection on nature botanical collection native orchids from the collection collection of 5 botanical gardens garden in Indonesia.

Keywords Key word: ORSV, Botanical garden, Nature Orchid native orchid Anggrek alam, ORSV, RT-PCR

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font color: Red

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Normal, Justified, Indent: Left:

PENDAHULUAN

Formatted: Indonesian

~~Anggrek alam~~ Anggrek alam sebagai salah satu flora asli Indonesia harus dijaga kelestariannya (Sarwono 2002). Keberadaannya memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman (Rukmana 2000; Sarwono 2002), yang bertujuan). Tujuan pemuliaan tanaman ini adalah untuk memperluas keragaman genetik pada bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi ~~berbunga~~ yang tinggi, dan tahan terhadap patogen penyebab penyakit serta cekaman lingkungan (Soedjono, 1997).

Serangan

~~Selain tindak pengalihan fungsi hutan sebagai habitat aslinya, serangan~~ hama penyakit menjadi menjadi salah satu kendala ~~utama~~ dalam ~~usaha~~ budidaya dan pengembangan potensi tanaman ini (Kumalawati *et al.* 2011). Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Navalinskiene *et al.* 2005; Chang *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan ~~paling banyak~~ menginfeksi anggrek dan memiliki penyebaran luas di dunia, termasuk sudah ~~sampai keadasampai di~~ Indonesia adalah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Inouye dan Gara, 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani, 2011), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV), dan *Potyvirus* (Lakani 2011).

Comment [A9]: Jika Lakani 2010 merupakan bagian dari Lakani 2011, Lakani 2011 tidak perlu disebutkan

Comment [A10]: Belum masuk di daftar pustaka

ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan kualitas bunga (Chia *et al.* 1992; Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Laporan dari beberapa negara menunjukkan bahwa virus ini menyebabkan kerugian secara ekonomi sebagai akibat menurunnya kualitas bunga di

Comment [A11]: Masuk ke paragraf 1

Comment [A12]: Naskah ini tidak meneliti infeksi virus pada tanaman anggrek

93 beberapa negara (Zettler *et al.* 1990; Chang 2008; Ali *et al.* 2014; Koh *et al.* 2014; Kim
94 dan Choi, 2015).

Comment [A13]: Kalau ada datanya, berikan persentase kerugiannya, sebutkan negaranya

95 Berdasarkan survei pada lima kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya
96 Bogor (Jawa Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan
97 (Kalimantan Timur), dan Enrengkang (Makasar) selama 2010-2014 banyak dijumpai
98 anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus ~~yang diduga ORSV~~. Deteksi ORSV
99 padatanaman anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia belum pernah dilaporkan.

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font:

Formatted: Font:

100 Penelitian ini bertujuan bergejala yang diduga terinfeksi virus secara rutin perlu
101 dilakukan untuk mengetahui keberadaan pemutakhiran status kesehatan anggrek alam

Formatted: Font:

102 koleksi kebun raya di Indonesia. Penelitian deteksi ORSV yang menginfeksi anggrek
103 alam koleksi kebun raya di Indonesia. Penerapan hasil penelitian ini belum pernah
104 dilaporkan. Penelitian ini dapat menjadi salah satu upaya potensial yang mendukung
105 penerapan konsep konservasi anggrek alam di Indonesia melalui upaya perlindungan
106 tanaman. Penerapan konsep konservasi dapat dilakukan dengan cara mengenali gejala
107 infeksi dan diharapkan sedapat mungkin mencegah penyebaran penyakit anggrek yang
108 disebabkan oleh virus sehingga keberadaan anggrek alam yang sangat berharga dapat
109 terjaga kelestariannya.

Formatted: Font color: Red

110

111 **BAHAN DAN METODE**

112 **Survei dan Koleksi Sampel.**

113 Penelitian ini dilaksanakan secara berkala pada bulan Mei-Agustus 2010, April-
114 Juni 2011, dan Mei-Juli 2014 di Kebun Raya Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan,
115 dan Enrengkang. Hasil survei dan koleksi sampel berupa daun anggrek yang
116 menunjukkan gejala terinfeksi ~~ORSV~~virus~~ORSV~~ dimasukkan dalam plastik berperekat

117 yang telah diberi *silica gel* didalamnya. Untuk menjaga kesegaran sampel dan daya
 118 tahan hidup virus, sampel kemudian disimpan dalam refrigerator pada suhu -20°C
 119 sampai saat akan dianalisis.

120 Deteksi ORSV Secara Molekuler

121 Deteksi Protein dengan Uji Serologi dengan DAS-ELISA. Uji Deteksi serologi
 122 dilakukan untuk menentukan insidensi infeksi virus. ELISA dilakukan menggunakan
 123 metode Prinsip dasar teknik DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari
 124 27 genus) paling representatif dari masing-masing lokasi (double antibody Sandwich-
 125 ELISA); adalah antigen yang diapit oleh dua lapisan antibodi (Clark dan Adams 1976).
 126 UPada penelitian ini, uji serologi dilakukan s DAS-ELISA menggunakan antiserum
 127 spesifik ORSV dan dilakukan sesuai dengan protokol reagent yang direkomendasikan
 128 pembuat antiserum reagent set (Agdia Inc.). Setelah masaproses pewarnaan dengan
 129 substrat PNP masa inkubasi, Hasil ELISA hasil deteksi pada microtiter plate
 130 ELISA yang berisi sampel daun diuji selanjutnya dibaca menggunakan ELISA-reader
 131 (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai
 132 absorbansinya mendekati nilai kontrol positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi
 133 buffer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

134 Deteksi Asam Nukleat Uji Molekuler dengan RT-PCR. Isolasi RNA dilakukan
 135 pada sampel positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan *Total RNA isolation*
 136 *kit* (SBS Genetech Co., Ltd., China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan
 137 dengan metode terpisah menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-
 138 ATGTCTTACTACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-
 139 GGAAGAGGTCCAAGTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006). Proses RT dilakukan
 140 dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo scientific, USA), selanjutnya molekul

Comment [A14]: Kalau ini tidak dapat ditampilkan datanya, tidak perlu dicantumkan dalam makalah

Comment [TA15]: Deteksi molekuler bukan hanya RT-PCR/PCR, uji serologi juga bagian dari deteksi molekuler

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font:

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Comment [A16]: 44 sampel atau 87? Di abstrak 87 sampel

Comment [A17]: Maksud paling representatif apa? Lebih diperjelas. Apakah yang paling jelas gejalanya atau bagaimana..

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font:

Formatted: Font: Font color: Red, Indonesian

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font:

141 cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR menggunakan
 142 *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu ~~37°C~~ 37 °C
 143 selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi ~~96°C~~ 96 °C selama 5 menit dan diakhiri
 144 pada suhu ~~4°C~~ 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan predenaturasi pada ~~95°C~~ 95 °C
 145 selama 5 menit, dilanjutkan dengan ~~durasi~~ 34 siklus, meliputi ~~95°C~~ denaturasi pada suhu
 146 95 °C selama 30 detik, ~~50°C~~ annealing pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan
 147 ~~70°C~~ ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit (Mahfut 2011). Produk PCR divisualisasi
 148 dengan elektroforesis pada gel agarosa 2%, dilihat dengan transiluminator (Bio-Rad
 149 Transilluminator 2000)% dalam buffer TBE?TAE?yang mengandung ethidium bromide
 150 (?) atau gelnya direndam dalam ethidium bromide? (jelaskan). Pita DNA yang
 151 ditervisualisasi pada UV transluminator dan didokumentasi menggunakan dengan
 152 kamera digital. (Nikon Coolpix S3500). menunjukkan ukuran panjang pasangan basa
 153 gen target, yaitu gen CP ORSV.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika. DNA hasil amplifikasi diruntut
 154 sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke Perunutan DNA dilakukan dengan
 155 mengirimkan sampel hasil amplifikasi ke perusahaan 1st Base, Singapura. Sikuen
 156 nukleotida Data dianalisis dan digabungkan dengan Softwareperanti lunakSoftware
 157 Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25. Analisis
 158 homologi penyejajaran sikuen nukleotida ORSV isolat dari Indonesia dilakukan
 159 terhadap homologi sekuen sikuen yang dengan data yang terdaftar di GenBank dilakukan
 160 menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) pada situs
 161 (www.ncbi.nlm.nih.gov/). selanjutnya untuk mencari dan membandingkan homologi
 162 sekuens dengan data yang yang terdaftar di GenBank digunakan Basic Local Alignment
 163 Search Tool (BLAST) pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov. Seleksi berdasarkan sumber

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font: Indonesian, Highlight

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Font: Not Bold

Comment [TA18]: Jika sequencing dilakukan v
 PT Genetika Science, maka sequencing dilakukan
 Malaysia, bukan Singapura. Sudah sejak lama
 Genetika science mengirim sampelnya ke Malay
 Silahkan dicek

Formatted: Font: Indonesian, Highlight

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Strikethrough

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

165 sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat ORSV terdaftar. Analisis 8 isolat ORSV lain
 166 berdasarkan distribusi daerah terpilih : di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen, Zhuhai,
 167 Guangzhou, Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan kemiripan IS
 168 sampai dengan 99.6% dengan isolat ORSV Bogor (Tabel 2). Isolat TMV-Yunnan
 169 digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*). Analisis filogenetika dilakukan
 170 dengan menggunakan peranti lunak *Neighbour Joining* (NJ) pada program *Molecular*
 171 *Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *Neighbor*
 172 *Joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak). Nilai Analisis
 173 secara statistik pada cabang internal menggunakan *bootstrap* yang digunakan sebanyak
 174 1000 kali pengulangan (Lakani *et al.* 2010).

Comment [A20]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Comment [A21]: masuk ke hasil

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font: Italic, Highlight

Comment [TA22]: Gambar filogenetik dianalisis ulang dengan menggunakan parameter ini agar nilai bootstrap dan percabangannya lebih baik.

Formatted: Font: Highlight

Formatted: Font:

HASIL

Survei Gejala Infeksi Virus Survei dan Koleksi Sampel

178 Total sampel koleksi berupa daun angrek yang menunjukkan gejala terinfeksi
 179 virus yang diduga ORSV adalah 87 sampel yang dikoleksi dari 27 genus angrek (Tabel
 180 1). Gejala umum yang ditemukan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1).

Comment [TA23]: Dalam table 1 tidak ada informasi 27 genus ini.

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Formatted: Font:

Comment [A24]: dihapus saja

Deteksi Virus

182 Uji Berdasarkan hasil deteksi serologi menunjukkan Uji Serologi dengan DAS-
 183 ELISA. Hasil uji serologi diperoleh bahwa insidensi infeksi virus sebesar 5.7% (5 dari
 184 87 total sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV. Adapun 5 sampel yang
 185 positif yaitu 2 sampel berasal dari kebun raya Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari
 186 kebun raya Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari kebun raya Balikpapan
 187 (KRBp5). yang menunjukkan positif terinfeksi ORSV atau insidensi infeksi virus
 188 sebesar 5,7 % dengan kisaran Rerata nilai absorbansi 0.709-1.594 ELISA sampel yang

Comment [TA25]: Apakah tidak ada malformasi daun?. Sebaiknya gejala dideskripsikan dengan lebih detail. Apalagi pada gambar 1 gejala ditemukan pada spesies yang berbeda.

Formatted: Font color: Auto

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

Comment [A26]: di metode 44?

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

189 positif ORSV berkisar 1.125-1.152. Dari keseluruhan sampel positif tersebut, 4
 190 diantaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. dan digunakan untuk analisis selanjutnya. ~~atau~~
 191 insidensi infeksi virus sebesar 5,7 %. Sampel daun positif terinfeksi ORSV tersebut,
 192 yaitu: *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12),
 193 *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *D. salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J.
 194 Sm. (KRBp5) (Gambar 1).

Formatted: Font: Indonesian, Not Strikethrough

195 Uji Molekuler dengan RT-PCR. Hasil deteksi dengan RT-PCR terhadap lima
 196 sampel positif ORSV berdasarkan uji serologi menunjukkan ~~amplifikasi~~ fragmen DNA
 197 berukuran ±474 pb ~~yang teramplifikasi dengan menggunakan primer spesifik genyang~~
 198 ~~merupakan gen~~ CP ORSV (Gambar 2). ~~Dari keseluruhan sampel positif tersebut, 4~~
 199 ~~sampel~~ diantaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. dan digunakan untuk analisis
 200 selanjutnya.

Comment [A27]: Asal kebun raya? Penyebuta selanjutnya P. amabilis, dll. D kepanjangan?

Comment [A28]: Tidak perlu ditampilkan karena tidak mewakili gejala yang ditemukan. Nanti justru muncul pertanyaan, kenapa daun lain yang bergejala tidak positif ORSV?

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Formatted: Font: Indonesian

Comment [A29]: Kenapa yang *D. salacae* tidak dianalisis? Berikan alasannya di makalah.

202 Homologi Runutan Nukleotida Gen CP ORSV

203 Analisis Sekuens Nukleotida DNA.

204 Hasil ~~sekuensing peruntan sekuensing~~ nukleotida diperoleh total nukleotida gen
 205 CP isolat ORSV-Bogor (KRB12), ORSV-Bogor2 (KRB18), ORSV-Purwodadi
 206 (KRP18), dan ORSV-Balikpapan (KRBp5) berukuran sejumlah 474-480
 207 basa-basan nukleotida. Hasil analisis BLAST terhadap masing-masing isolat
 208 menunjukkan bahwa 4 isolat tersebut memiliki homologi kemiripan sebesar 99%
 209 dengan isolat ~~gen~~ CP ORSV dari negara-negara lain di Asia, Amerika, dan Eropa.
 210 Seleksi berdasarkan sumber sampel *Phalaenopsis* diperoleh 23 isolat terdaftar. Analisis
 211 8 isolat lain berdasarkan distribusi daerah terpilih di negara Cina (Hangzhou, Shenzhen,
 212 Zhuhai, Guangzhou, Foshan, Tianjing) dan Korea Selatan (Seoul) menunjukkan

Formatted: Indent: First line: 0"

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Comment [TA30]: Dari KRB no 2 dan 12 atau no.2 dan 18?? Cek mana yang benar, karena kode berbeda dengan hasil ELISA

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Formatted: Indonesian, Check spelling and grammar

Formatted: English (U.S.)

Comment [A31]: Kemiripan atau IS? Pilih salah satu istilahnya.

Comment [TA32]: Sebaiknya secara konsisten menggunakan istilah homologi, bukan kemiripan, terkadang homologi.

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Font color: Auto

213 kemiripan dengan indeks similiaritas (IS) sampai dengan 99.6% dengan isolat ORSV-
 214 Bogor (Tabel 2). ~~Isolat TMV Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup~~
 215 ~~(outgroup).~~

Formatted: Indonesian

216

217 Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

218 Hasil analisis Hasil penyejajaran sikuen nukleotida menunjukkan adanya mutasi
 219 titik berupa substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat Bogor
 220 mengalami kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan transversi masing-masing 4
 221 kali serta insersi 5 kali, sehingga isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya.
 222 Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi
 223 asam amino. Isolat Balikpapan dan Bogor menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam
 224 amino Ala yang mengalami penurunan 0,6% serta peningkatan pada Gln sebesar 0,58%.
 225 Berbeda dengan isolat Purwodadi yang mengalami peningkatan pada asam amino Cys
 226 sebesar 1,15% dan penurunan pada Gly 0,8%. Keseluruhan isolat Indonesia mengalami
 227 peningkatan pada Val 0,45-0,51% (Tabel 3). Pada sikuen nukleotida gen CP isolat
 228 ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

229 Analisis filogenetika (Gambar 3) menunjukkan bahwa isolat 4 isolat ORSV
 230 dari Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil rekonstruksi
 231 pohon filogenetika membagi isolat ORSV kedalam dua dan berada dalam satu
 232 kelompok berdasarkan wilayah geografi, yaitu kelompok isolat Indonesia yang berada
 233 pada cabang terpisah dengan kelompok isolat dari Cina dan Korea Selatan. Jika
 234 dibandingkan antar cabang, hanya sedikit perbedaan yaitu isolat Bogor2 (Kebun Raya
 235 Bogor) memiliki kedekatan cabang dengan isolat dari kedua negara tersebut. terpisah
 236 dari isolat ORSV asal Negara lain (Gambar 3). Walaupun keseluruhan isolat

Formatted: Font color: Auto

Comment [A33]: Tidak dapat dikatakan berdasarkan geografi kalau isolat China dan Korea Selatan berada dalam satu kelompok

237 membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antar isolat masih sangat dekat.

238 Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk sub grup.

239

240 PEMBAHASAN

241 Sampel positif terinfeksi ORSV terbanyak merupakan anggrek *Phalaenopsis*.

242 Diduga anggrek ini merupakan tanaman inang yang cocok dan

243 paling rentan terhadap infeksi ORSV. Hal ini berkaitan dengan

244 tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* yang tebal sebagai tempat

245 penyimpanan cadangan makanan.

246 PEMBAHASAN

247 Keberadaan hasil metabolisme berupa cadangan makanan yang melimpah

248 diketahui sangat efektif untuk replikasi genom dan sintesis virus baru. Selain itu,

249 kandungan polipeptida khas yang disandi oleh gen virus yang mengandung nitrogen

250 seperti zat pengatur tumbuh dan senyawa fenol juga sangat berperan sebagai penyebab

251 munculnya gejala infeksi sistemik (Akin 2006).

252 Berdasarkan hasil survei dan koleksi sampel, jumlah sampel daun yang dikoleksi

253 pada tiap lokasi berbeda beda tergantung banyaknya tanamandaun yang menunjukkan

254 gejala infeksi virus pada lokasi tersebut. Gejala infeksi virus pada suatu populasi

255 tanaman inang muncul sebagai hasil interaksi antara virus, tanaman inang dan

256 lingkungan (Burnet 1974). Gejala infeksi ORSV yang paling umum ditemukan di

257 lapangan adalah mosaik, nekrotik, dan klorotik (Gambar 1). Selain itu, pada penelitian

258 sebelumnya dijumpai juga gejala khas infeksi berupa bercak bercincin (*ring spot*) seperti

259 awal mula virus ini ditemukan oleh Jensen and Gold (1951) serta). Pada penelitian

260 sebelumnya juga ditemukan gejala infeksi ORSV sebelumnya dilaporkan berupa gejala

Comment [A34]: Lebih diperjelas. Isolat Indonesia ada berapa subgrup? Tiap subgrup terd dari

Comment [TA35]: Perbaiki gambar 3 untuk menunjukkan nilai bootstrap yang lebih representative jika antar isolate berkerabat dekat

Formatted: Strikethrough

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Highlight

Formatted: Font: Not Bold

Formatted: Highlight

Comment [TA36]: Gunakan pustaka dari teksbook asli (primer) yang berbahasa Inggris (Agrios atau Hull atau lainnya).

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA37]: Gunakan referensi yang terkini. Harap diganti.

Formatted: Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough

Formatted: Not Strikethrough

261 bergaris (*streak*) (Mahfut 2011) yang pada yang merupakan kondisi infeksi yang parah
 262 (Syahierah, 2010). Lakani *et al.* (2010) juga melaporkan gejala infeksi yang ditemukan
 263 berupa mosaik dan nekrotik pada daun dan bunga terinfeksi, selain itu juga dijumpai
 264 gejala infeksi laten berupa *symptomless* (tanpa; Mahfut 2011)). Hal ini menunjukkan
 265 bahwa infeksi ORSV di Indonesia memerlukan penanganan yang sangat serius. Gejala
 266 infeksi ORSV yang ditemukan bervariasi tergantung spesies anggrek (ini faktanya).
 267 Tambahkan referensi terkait variasi gejala) dengan spesies yang berbeda
 268 Hasil pembacaan nilai absorbansi pada ELISA reader diperoleh 5 sampel
 269 mengindikasikan positif terinfeksi ORSV hasil koleksi dari lokasi Kebun Raya Bogor
 270 (KRB2, KRB12), Purwodadi (KRP18, KRP20), dan Balikpapan (KRBp5). Nilai
 271 insidensi ORSV pada sampel...berdasarkan hasil uji serologi hanya rendah, di bawah
 272 10%. Lakani (2011) sebelumnya melaporkan infeksi ORSV pada anggrek? di Kebun
 273 Raya Bogor dengan nilai absorbansi 0,572 dan kejadian insidensi penyakitnya juga
 274 hanya 20% dari 10 sampel uji. Berdasarkan hasil survei, beberapa sampel Sampel –
 275 sampel lain, meskipun bergejala terinfeksi ORSV, diketahui memperlihatkan gejala
 276 infeksi ORSV tetapi tidak menunjukkan reaksi positif dengan antiserum ORSV
 277 berdasarkan uji serologi DAS-ELISA. Hal ini dimungkinkan Ssampel tersebut diduga
 278 terinfeksi oleh virus lain meskipun menunjukkan gejala infeksi serupa ORSV. Suatu
 279 Virus dapat menimbulkan menyebabkan gejala yang berlainan pada tanaman yang
 280 berbeda, sementara virus yang berbeda dapat menyebabkan gejala yang hampir sama
 281 pada tanaman inang yang sama (Badwen 1964), tergantung pada strain virus, kultivar
 282 tanaman?, dan kondisi lingkungan (Navalinskiene *et al.* 2005). Hasil deteksi RT-PCR
 283 membuktikan ORSV telah menginfeksi anggrek alam koleksi Kebun Raya Bogor,
 284 Purwodadi, dan Balikpapan sesuai hasil uji serologi dengan teramplifikasinya gen CP

Formatted: Not Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Formatted: Strikethrough

Comment [TA38]: ??? Delete. dari data anda saja insidensi Cuma 5.7%, statement ini kurang sesuai dengan datanya, apalagi tidak didukung oleh referensi yang menggambarkan ORSV menginfeksi hampir semua jenis anggrek.

Formatted: Highlight

Comment [A39]: Tidak perlu dibahas jika sudah dipublikasikan pada publikasi lain

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough
Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.), Not Strikethrough

Comment [A40]: Ini lebih cocok masuk ke has

Comment [A41]: Istilah yang digunakan sebaiknya selalu sama dari awal sampai akhir

Comment [A42]: Tambahkan hasil peneliti lain

285 ORSV pada sampel.....sesuai dengan ukuran yang dilaporkan oleh Lakani *et al.* (2010)
 286 dan Mahfut (2011).

287 Indeks Metode deteksi dilakukan dengan dua cara yaitu uji serologi DAS-ELISA
 288 dan uji molekular dengan RT-PCR. Hasil akhir dari uji serologi dapat langsung
 289 digunakan untuk menentukan sampel yang positif terinfeksi ORSV berdasarkan hasil
 290 pembacaan rerata absorbansi menggunakan ELISA-reader pada panjang gelombang
 291 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai absorbasinya mendekati nilai kontrol
 292 positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi buffer kontrol (Daryono dan Natsuaki
 293 2009). Hasil Uji serologi dapat dimanfaatkan untuk menentukan insidensi infeksi virus
 294 yang ditemukan dari sampel hasil survey. deteksi RT-PCR mengonfirmasi hasil deteksi
 295 serologi yang menunjukkan bahwa membuktikan ORSV telah menginfeksi anggrek
 296 alam koleksi di Kebun Raya Bogor, Purwodadi, dan Balikpapan dengan teramplifikasi
 297 gen CP ORSV sesuai dengan ukuran yang dilaporkan sebelumnya (oleh Lakani *et al.*
 298 (2010); dan Mahfut (2011). Hal ini membuktikan bahwa kombinasi kedua metode
 299 deteksi dapat dimanfaatkan untuk deteksi rutin. uji tersebut merupakan tahapan metode
 300 yang tepat untuk deteksi virus.

301 Persentase tingkat kesamaan nukleotida antar isolat ORSV berdasarkan indeks
 302 similiaritas (IS) nukleotida antar isolat ORSV menunjukkan persentase yang
 303 tinggi, hampir tidak ditemukan keragaman gen CP ORSV meskipun masing-masing
 304 isolat dipilih berdasarkan perbedaan wilayah geografi. Hal ini disebabkan sifat adaptif
 305 virus yang relatif stabil dalam berbagai kondisi lingkungan (Lakani *et al.* 2010). Dari
 306 hasil alignment penyejajaran sikuen nukleotida alignment menunjukkan adanya mutasi
 307 titik berupa substitusi dan insersi pada isolat Indonesia. Isolat Bogor mengalami
 308 kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan transversi masing-masing 4 kali serta

Comment [TA43]: Bukan 2-3 kali buffer control tetapi yang benar 2-3 kali nilai absorbansi control sehat!

Formatted: Highlight

Comment [TA44]: Delete, tidak ada yang perlu dibahas terkait metode. Yang perlu dibahas adalah dari data yang ada.

309 insersi 5 kali, sehingga isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Pada
 310 penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi. Efek mutasi yang terjadi mampu
 311 menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino (Tabel 3).
 312 ~~Isolat Secara signifikan isolat~~ Balikpapan dan Bogor menunjukkan perbedaan pada
 313 frekuensi asam amino Ala yang mengalami penurunan 0,6% serta peningkatan pada Gln
 314 sebesar 0,58%. Berbeda dengan isolat Purwodadi yang mengalami peningkatan pada
 315 asam amino Cys sebesar 1,15% dan penurunan pada Gly 0,8%. Keseluruhan isolat
 316 Indonesia mengalami peningkatan pada Val 0,45-0,51%-%. Perubahan asam amino
 317 yang dihasilkan memiliki pengaruh yang sangat besar dalam proses adaptasi terhadap
 318 lingkungan di Indonesia (Lakani *et al.* 2010).

319 Berdasarkan pohon filogenetika, ~~ORSV Indonesia diduga berasal dari negara~~
 320 ~~Cina dan Korea Selatan~~. Hasil analisis filogenetika menunjukkan isolat Indonesia berada
 321 pada cabang yang terpisah dengan isolat dari negara lain. Jika dibandingkan antar
 322 cabang, hanya sedikit perbedaan yaitu isolat Bogor² (Kebun Raya Bogor) memiliki
 323 kedekatan dengan isolat dari Cina dan Korea Selatan. ~~ORSV di Indonesia diduga~~
 324 ~~berasal dari kedua negara tersebut~~. BPPP (2005) menjelaskan Cina dan beberapa negara
 325 Asia Barat sebagai pengimpor benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997-
 326 2001. Hal ini diperkuat oleh ~~Ryu *et al.* (1995)~~ dan Lawson (1990) yang
 327 ~~melaporkan dengan adanya laporan~~ infeksi ORSV di kedua negara tersebut.

328 Hasil penelitian menunjukkan sampel Berdasarkan hasil penelitian ini ORSV
 329 terdeteksi menginfeksi anggrek koleksi beberapa kebun raya di Indonesia, walau
 330 insidensinya masih rendah. Homologi nukleotida gen CP yang tinggi terhadap ORSV
 331 dari negara lain diduga ORSV isolate Indonesia masuk dari Negara lain. Sehingga untuk
 332 melindungi anggrek alam di Indonesia, importasi anggrek dari negara lain harus dibatasi

Comment [TA45]: Tempatkan pada bagian ha
 sebelum hasil filogenetika, bukan di pembahasan.
 Dalam pembahasan yang dibahas apa yang ditulis
 dalam hasil; factor apa saja yang dapat
 menyebabkan terjadinya mutasi titik pada gen vir

Comment [A46]: Dugaan ini kurang kuat, kare
 hanya dua negara yang digunakan. Kalau mau
 menduga asal isolat ORSV Indonesia, sebaiknya
 diambil isolat ORSV dari negara – negara yang lain
 (paling tidak 10 negara) untuk analisis homologi d
 pohon filogenetika

Comment [A47]: Dalam naskah ini,
 penelitiannya bukan penemuan ORSV di Korea

Formatted: Font color: Red

333 dan terkontrol. *positif terinfeksi ORSV* terbanyak merupakan anggrek *Phalaenopsis*.
 334 Diduga anggrek ini merupakan tanaman inang yang cocok dan paling rentan terhadap
 335 infeksi ORSV. Hal ini berkaitan dengan tekstur daun anggrek *Phalaenopsis* yang tebal
 336 sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Akin (2006) menjelaskan keberadaan
 337 hasil metabolisme berupa cadangan makanan yang melimpah diketahui sangat efektif
 338 untuk replikasi genom dan sintesis virus baru. Selain itu, kandungan polipeptida khas
 339 yang disandi oleh gen virus yang mengandung nitrogen seperti zat pengatur tumbuh dan
 340 senyawa fenol juga sangat berperan sebagai penyebab munculnya gejala infeksi
 341 sistemik.

342 ~~Diharapkan fakta ilmiah ini dapat menggugah kewaspadaan negara basis anggrek~~
 343 ~~seperti Indonesia untuk lebih memperketat mobilitas anggrek serta masuknya materi-~~
 344 ~~materi pembawa penyakit dari luar ke dalam Indonesia. Hasil penelitian ini diharapkan~~
 345 ~~menjadi informasi dasar yang mendukung konsep konservasi dalam pembangunan~~
 346 ~~kebun raya dan pemeliharaan tanaman koleksi kebun raya melalui deteksi rutin untuk~~
 347 ~~pemantauan perkembangan/penyebaran penyakit virus dan tindakan pengendalian sedini~~
 348 ~~mungkin strategi pengendalian penyakit.~~

349

350

351

DAFTAR PUSTAKA

352 Akin HM. 2006. Virologi Tumbuhan. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-108.
 353 Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three
 354 common viruses infecting orchids. Arch Virol. 159(11):3095-3099.
 355 Bawden FC. 1964. Plant Viruses and Virus Diseases. New York: Ronald Press. New
 356 York (US): Ronald Press Co. Hlm 361.

Comment [A48]: Kalimat ini kalau tidak ada referensinya tidak dapat dicantumkan walaupun hanya diduga

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA49]: Gunakan teks book Agrios 2005 atau Hull 2013 yang terbaru atau lainnya jika terkait virus tumbuhan

Comment [A50]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

357 | [BPPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
 358 | *Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI. Hlm
 359 | 2-15.

360 | Burnett HC.1974. Bulletin of Orchid Diseasea. Florida (ID): Departement of
 361 | Agriculture and Consumer Service. Hlm 1066.

Comment [A51]: Tidak ada dalam naskah

362 | Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce
 363 | clean orchid plantlets. Orchids. 77(9):668-671.

364 | Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic
 365 | Resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* Expressing The Viral
 366 | Capsid Protein Gene. Transgenic Res. 14:41-46. [Doi number?](#)

Formatted: English (U.S.)

367 | Chia TF, Chan YS, Chua NH. 1992. Characterization of *Cymbidium mosaic virus* coat
 368 | protein gene and its expression in transgenic tobacco. Plant Mol Biol. 18:
 369 | 1091–1099.

Comment [A52]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

370 | Clark F, Adams AN. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked
 371 | Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. ~~Journal of General~~
 372 | ~~Virology~~[Virology](#). 34: 475-483.

373 | Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei Virus yang Menyerang Labu-Labuan di
 374 | Yogyakarta dan Jawa Tengah. ~~Jurnal Perlindungan Tanaman~~ [Indonesia](#). 15: 83 –
 375 | 89.

376 | Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and Identification of Viruses of Orchid in
 377 | Indonesia. Bull Res Inst. 4:109-118.

378 | Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada
 379 | tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

380 Jensen DD, Gold HA. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid, symptoms,
381 transmission and electron microscopy. *American Orchid Soc.* 4:62-100.

382 Kim SM, Choi SH. 2015. Simultaneous detection of *Cymbidium mosaic virus* and
383 *Odontoglossum ringspot virus* in orchids using multiplex RT-PCR. *Virus*
384 *Genes.* 51(3):417-22.

385 Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26-38.

386 Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
387 conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular
388 analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*;
389 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.

390 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular
391 characterization of ~~*Odontoglossum*~~*Odontoglossum* ringspot virus (ORSV) from
392 Bogor, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences.*17(2):101-104.doi number?

393 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
394 anggrek di pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

395 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest*
396 *and diseases*, editor. *American Orchid Society.* Florida (US): West Palm Beach.
397 Hlm 66-101.

398 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex ~~rt-per~~RT~~per~~ detection of two orchid viruses
399 with an internal control of plant nad5 ~~mRNA~~mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187-
400 196.doi number?

401 Mahfut. 2011. Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus*
402 (ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.

Comment [A53]: Margin kiri disesuaikan dengan yang lain

Formatted: English (U.S.)

Comment [A54]: Nama editornya?

- 403 Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. [Viral Disease of Flower Plants 16](#)
 404 [Identification of Viruses Affecting Orchids \(*Cymbidium* Sw.\)](#). *Biologija*. 2:29-
 405 [34](#).[doi number?](#)
- 406 Rukmana R. 2000. *Angrek Bulan*. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm 1-66.
- 407 Ryu KH, Choi CW, Kim SJ, Park WM. 1995. The 52 kD protein gene of
 408 *Odontoglossum ringspot virus* containing RNA-dependent RNA polymerase
 409 motifs and comparisons with other Tobamoviruses. *J Plant Biol*. 38(2):129-136.
- 410 Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Angrek Hibrida..* Jakarta (ID): AgroMedia
 411 Pustaka. Hlm 1-80.
- 412 Soedjono S. 1997. Pemuliaan Tanaman angrek. Di dalam: Buku Komoditas No. 3
 413 Balai Penelitian Tanaman Hias; Puslit Holtikultura. Jakarta (ID): Badan Litbang
 414 Pertanian. Hlm 71.
- 415 [Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* \(CymMV\) on Vanda](#)
 416 [Plants. International Journal of Science and Research \(IJSR\). 4\(1\):374-377.](#)
- 417 Syahierah P. 2010. [Response different types of orchids \(*Orchidaceae*\) against infection](#)
 418 [Cymbidium mosaic virus \(CymMV\) and *Odontoglossum ringspot virus* \(ORSV\)](#)
 419 [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 420 Zettler FW, Ko NJ, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. 1990. Viruses of orchids and
 421 their control. *Plant Dis*. 74:621-626.
- 422

Comment [A55]: Apakah penulisan judulnya benar?

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA56]: Karena skripsi dalam bahasa Indonesia, gunakan judul dalam bahasa Indonesia

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

423

424

425

Tabel 1. Koleksi sampel ~~S~~sampel Anggrek Bergejala dari ~~masing~~Beberapa Kebun Raya
(KR) di Indonesia ~~masing-masing lokasi~~

Lokasi	Jumlah Sampel	Gejala Infeksi Virus
Kebun K Rebun Raya Bogor	35	Mosaik, klorosis, nekrosis, <i>mottling</i> , <i>vein clearing</i> , <i>wilting leaf</i> , dan deformasi daun
Kebun Raya Cibodas	17	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Purwodadi	25	Mosaik, klorosis, nekrosis
Kebun Raya Balikpapan	6	Mosaik, klorosis, nekrosis, dan <i>curling leaf</i>
Kebun Raya Enrekang	4	Mosaik, klorosis, nekrosis

426

Formatted: Centered

Comment [A58]: Tidak perlu ditampilkan, jika gejala sudah dipublikasikan pada publikasi lain

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA57]: Kebun Raya disingkat saja untuk efisiensi table menjadi KR Bogor, KR Cibodas dst karena nama isolate juga disingkat sesuai dengan asalnya

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 12 pt, English (U.S.)

Formatted: Font: 11 pt

Formatted: Font: 11 pt

427 | Tabel 2. Tingkat kemiripan basa Homologi ~~Persentase tingkat kesamaan nukleotida~~ gen CP 4 isolat ORSV asal anggrek alam Indonesia
 428 | dibandingkan dengan isolate dari Negara lain

Comment [A59]: Mau pake kemiripan atau indeks similaritas? Istilah yang dipakai sama dari awal sampai akhir

Comment [A60]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Indent: Left: 0.2", Hanging: 0.55"

Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Comment [TA61]: Asal Isolat (KRB2) dll bermakna beda dari Negara lain, dimana () menunjukkan nomor aksesori. No. aksesori dibuat pisah seperti contoh (tanpa tanda kurung). Bogor dll, bukan nama Negara. Jadi seharusnya ditulis: Indonesia-Bogor2
 -Bogor 12
 -Purwodadi
 Dst pada kolom asal isolat. Pada isolate Indonesia beri tanda asterisk, dengan keterangan pada catatan kaki: belum memiliki no. aksesori atau diberi tanda – pada kolom no. aksesori

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Left

No	Asal Isolat	No. Aksesori	Indeks Similiaritas (IS) Homologi (%)														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
1	Bogor (KRB2 , KRB-2)		100	ID													
2	Bogor 2 (KRB12 , KRB-12)		99.8	100	ID												
3	Purwodadi (KRP18)		98.7	98.5	100	ID											
4	Balikpapan (KRBp5)		99.2	97.9	98.7	100	ID										
5	Foshan Cina (KF836075.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	ID									
6	Guangzhou Cina (KF836084.1)		98.2	98.9	99.6	98.9	100	100	ID								
7	Guizhou Cina (KF225471.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	100	ID							
8	Hangzhou Cina (AM398154.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	99.4	99.8	100	ID						
9	Seoul Korea Selatan (AJ606107.1)		98.7	98.5	99.2	98.5	99.6	99.6	99.4	98.6	100	ID					
10	Shenzhen Cina (KF836090.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	96.8	99.4	100	ID				
11	Tianjing Cina (EU653020.1)		99.2	98.9	99.6	98.9	100	100	99.8	100	99.6	99.8	100	ID			
12	Zhuha Cina (KF836086.1)		98.9	98.7	99.4	98.7	99.8	99.8	99.6	99.8	99.4	100	99.8	100	ID		

13 TMV-Yunnan (AAM64218.1) 68.2 68.2 68.2 67.9 67.7 67.7 67.5 66.9 67.3 67.9 67.7 67.9 100

429 | ~~Tingkat Homologi nukleotida~~ ~~Tingkat kemiripan basa nukleotida~~ gen CP ORSV asal angrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program DNASTAR Lasergene DM

430 | Version 3.0.25

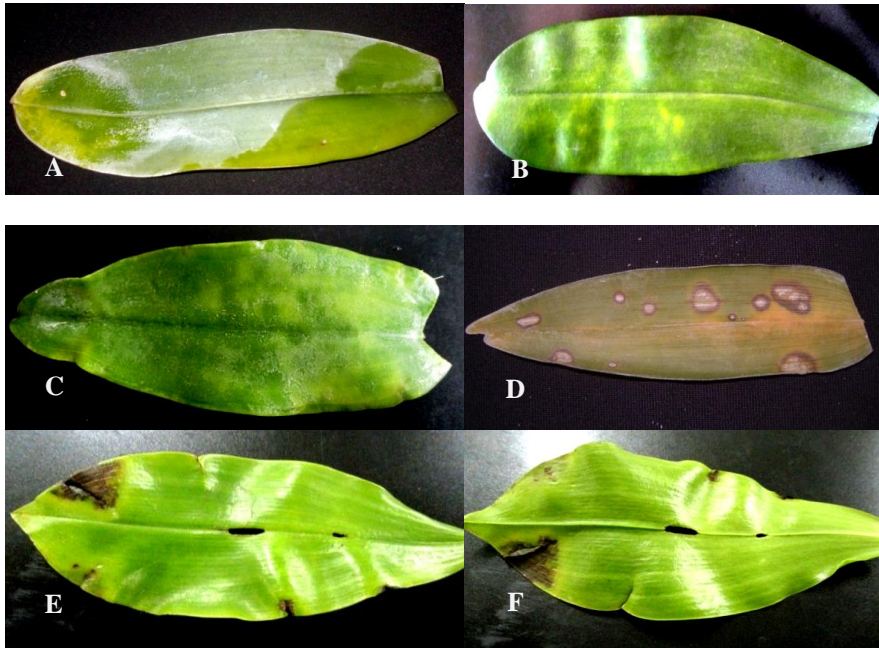
Comment [A62]: Mau pake kemiripan atau indeks similaritas? Istilah yang dipakai sama dari awal sampai akhir

431 | Tabel 3. Frekuensi ~~Persentase frekuensi~~ asam amino gen CP ORSV asal anggrek alam ~~isolat~~ Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asama Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
Bogor (KRB 2)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140
Bogor 2 (KRB 12)	4.29	7.14	2.86	0.71	4.29	6.43	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	3.57	5.00	16.43	5.00	4.29	0.71	5.71	140
Purwodadi (KRP18)	4.23	8.45	2.82	0.70	4.23	4.93	0.00	4.23	3.52	8.45	0.70	11.97	4.23	3.52	4.93	16.90	5.63	4.23	0.70	5.63	142
Balikpapan (KRBp5)	3.57	7.14	2.86	0.71	3.57	5.71	0.71	4.29	3.57	8.57	0.71	11.43	4.29	4.29	5.00	17.14	5.71	4.29	0.71	5.71	140

Formatted: Font: 12 pt

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt,
Font color: Custom Color(RGB(33,29,30))Formatted: Font: 12 pt, Font color: Custom
Color(RGB(33,29,30))



432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

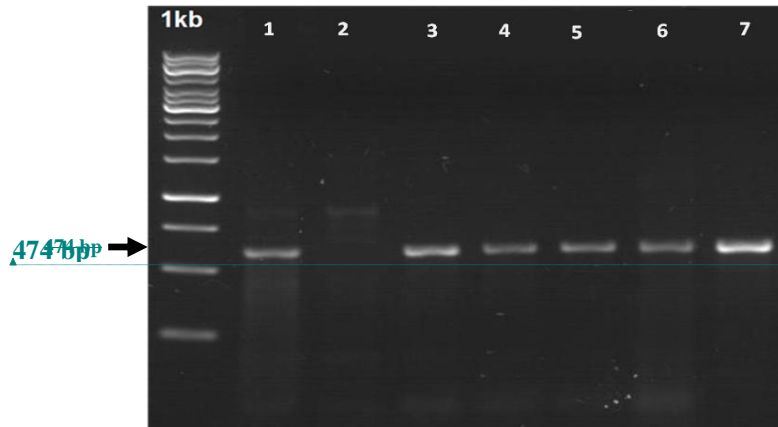
Gambar 1. Gejala sampel pada sampel daun yang positif terinfeksi ORSV. (A) Gejala klorotik sebutkan tipe gejalanya pada anggrek *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), (B) mosaik pada *Phalaenopsis amabilis* (KRB 12), (C) mosaik pada *Phalaenopsis amabilis* *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), (D) bergaris (*streak*) dan nekrotik pada *D. salacence* (KRP20), serta nekrosis, klorotik dan *curling leaf* pada ~~dan~~ *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) (E) permukaan atas, (F) permukaan bawah

Formatted: English (U.S.)

Comment [TA63]: Misal (A) mosaik-
Phalaenopsis amboinensis, (B). bercak bercincin-
Dendrobium dst

Formatted: English (U.S.)

Comment [A64]: Tidak perlu ditampilkan



Formatted: Font: 12 pt

442

443 Gambar 2. Hasil visualisasi RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarose...%., (M)

444 Marker 1 kb, (makernya? Thermoscientific?, Invitrogen? Tuliskan); (1)

445 kontrol positif, ORSV dari ???; (2) kontrol negatif, dari tanaman sehat??;

446 (3)-7)-ORSV dari KRB2, (4) KRB12, (5) KRP18, (6)KRP20, dan (7)

447 KRBP5

448

Comment [TA65]: Pada gambar sebaiknya diberi kode M bukan 1 kb supaya sesuai dengan figure legendnya. Font dan size pada gambar gunakan Times New Roman 12.

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt

Formatted: Font: Times New Roman, 12 pt

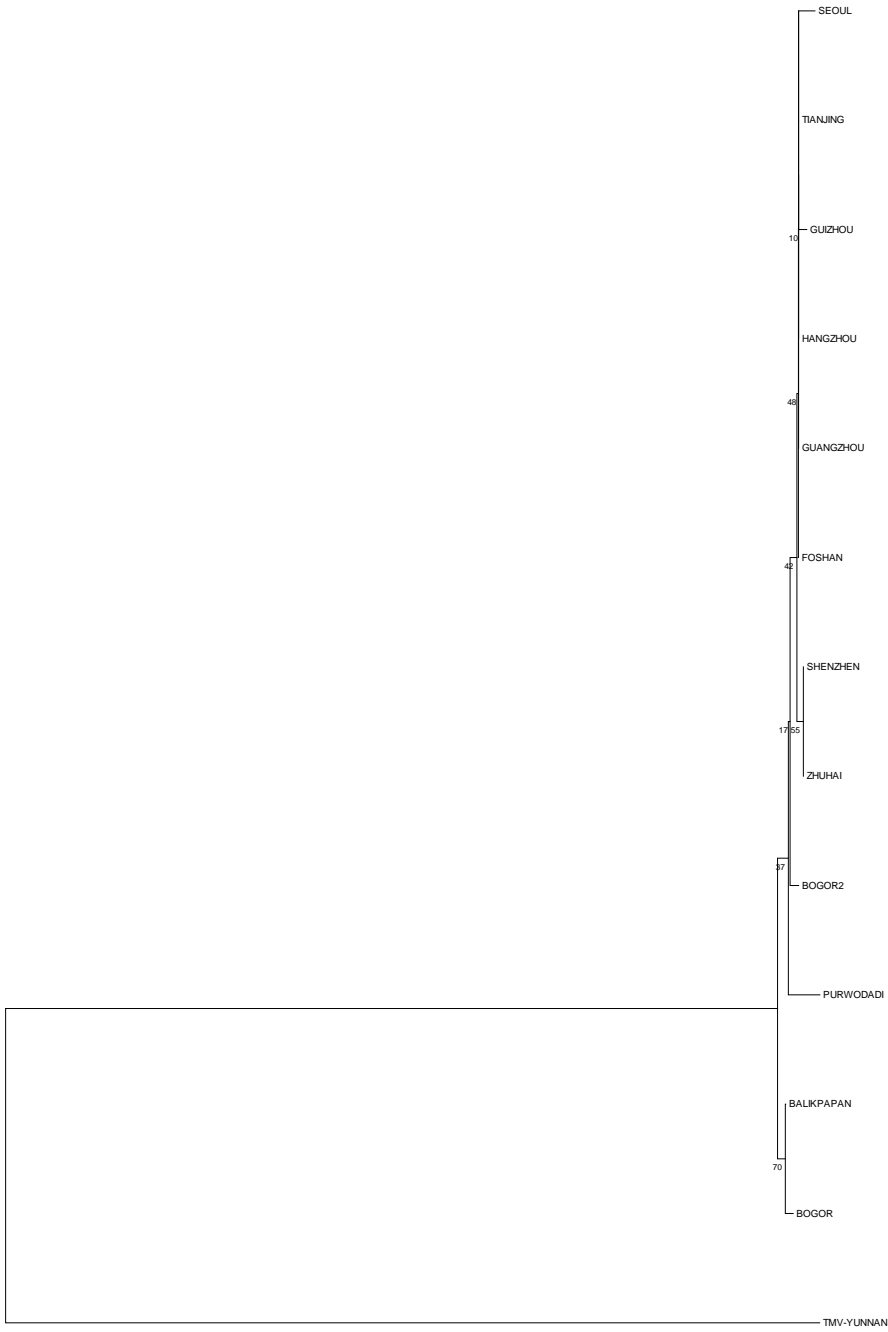
Formatted: Font color: Auto, English (U.S.)

Formatted: Font: Calibri, 11 pt, Font color: Auto, English (U.S.)

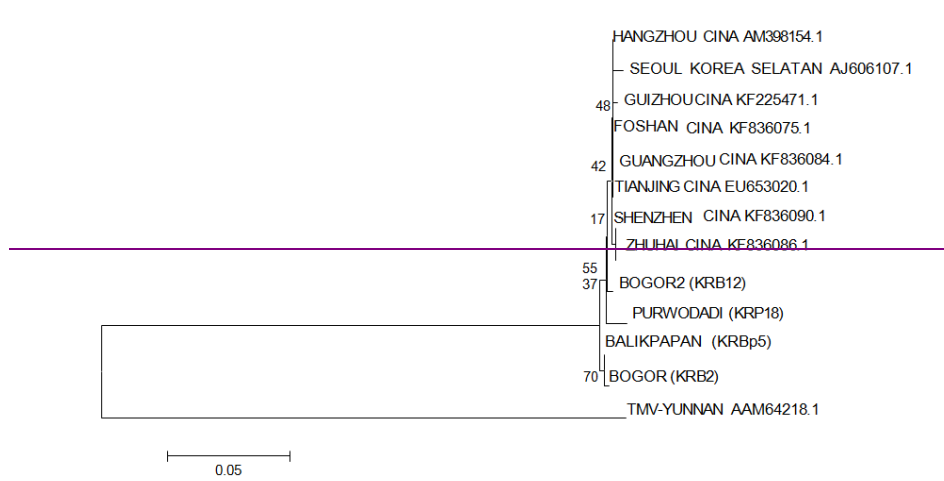
Formatted: English (U.S.)

Comment [TA66]: Jika ingin hanya menulis nama isolate dengan singkatan, sebaiknya dalam metode dituliskan. Misal; isolate dari kebun raya bogor (KRB), dst. Atau jika tidak, pada figure legend ini harus dituliskan jelas.

Formatted: Indent: Left: 0", Hanging: 0.89", Right: 0"



0.05



450

451 **Gambar 3. Rekonstruksi ~~Rekonstruksi~~ pohon filogenetik isolat ORSV berdasarkan**452 **sikuen nukleotida gen CP 4 isolat ~~isolat~~ ORSV dari Indonesia**453 **dibandingkan dengan isolate dari negara lain. TMV-Yunan digunakan**454 **sebagai pembanding luar grup. dan ~~outgroup~~ berdasarkan sekuen**455 **nukleotida gen CP**

Comment [TA67]: Pohon filogenetik ini memiliki nilai bootstrap yang kecil dibandingkan dengan bootstrap value yang digunakan (1000 kali), sehingga nilai yang tertera tidak menggambarkan hubungan kedekatan yang jelas karena kecil nilainya.

Saya sarankan menganalisis dan konstruksi ulang dengan MEGA 6 (terbaru) dengan cara:

1. Sikuen yang akan dibandingkan HARUS berukuran sama panjang nukleotidanya (mengikuti panjang ORSV Indonesia yang berhasil diturunkan nukleotidanya). Samakan panjang nukleotida dengan realign ulang
2. Jika konstruksi menggunakan MEGA, pilihlah parameter yang ada, biasanya Kimura 2 parameter atau lainnya (pilih salah satunya sebelum merekonstruksi filogenetik)
3. Edit gambar dengan mengubah nilai bootstrap "cut off valuenya" misal 60% atau 70% setelah gambar terbentuk. Nilai cut off ini bias diubah pada menu. Sehingga gambar yang terbentuk akan lebih representative dan nilai bootstrap yang muncul hanya yang diatas 60% atau 70% saja. Percabangan jadi tidak berhimpitan. Gambar 3 ini percabangan berhimpit/pendek-pendek, namun nilai bootstrap tidak menggambarkan kedekatan/kekerabatan karena kecil. Hal ini karena penulis saat menganalisis gambar tidak menggunakan parameter yang sesuai.

Comment [A68]: Sebaiknya ditambahkan isolat ORSV asal Indonesia yang lain (misalnya yang ditemukan oleh Lakani et al.)

Comment [A69]: Coba diotak atik di bagian cut off value of condensed tree pada software mega. Tulisan isolatnya juga tidak terbaca. Kalau gambarnya seperti ini, mohon maaf saya tidak bisa menerimanya.

10.

**Hasil Koreksi Dewan
Penyunting Ketiga**

Compose

- Inbox 283
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel

Back Archive Move Delete Spam

Hasil Koreksi Dewan Penyunting ketiga (Naskah No. 211)

Yahoo/Inbox



Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com>
To: mahfutkariem@yahoo.com

Tue, Aug 9, 2016 at 3:32 PM

Kepada Yth.,
Bapak Mahfut
di Universitas Lampung

Bersama ini kami kirimkan kembali naskah Bapak yang berjudul "Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia". Naskah tersebut dikoreksi kembali oleh Dewan Penyunting JFI.

Mohon Bapak dapat memperbaiki naskah sesuai saran dan koreksi pada naskah. Jika terdapat saran atau koreksi yang tidak sesuai, mohon Bapak dapat memberikan tanggapan pada form tanggapan (terlampir)

Perbaikan naskah Bapak dapat kami terima 1 minggu setelah email ini di terima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam,
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan Penyunting

Download all attachments as a zip file

Hasil Evalua... .pdf 280.8kB	Naskah No... .docx 409.1kB	Form Tangg... .doc 33kB	Pedoman Pe... .pdf 200.8kB

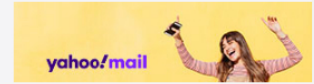
- Jurnal Fitopatologi Indonesia Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung... Fri, Oct 14, 2016 at 5:21 PM
- Jurnal Fitopatologi Indonesia Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung... Thu, Nov 17, 2016 at 11:52 AM
- Jurnal Fitopatologi Indonesia Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung... Wed, Dec 28, 2016 at 4:42 PM
- Jurnal Fitopatologi Indonesia Kepada Yth., Bapak Mahfut di Universitas Lampung... Fri, Jan 6, 2017 at 5:31 PM

Reply, Reply All or Forward

Ok Thank you. Received.

Send [Rich text editor icons]

Putri Syahierah
jurnal.fitopatologi@gmail.com
Edit contact



HASIL EVALUASI NASKAH No. 211

JUDUL ARTIKEL : Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

KOMENTAR UMUM :

Penulis sudah merevisi lebih baik, namun masih perlu banyak perbaikan terkait konsistensi penulisan kode isolat yang masih membingungkan, pembahasan, dan format penulisan daftar pustaka (komentar terlampir dalam naskah).

KOMENTAR KHUSUS :

1. Dampak terhadap sains dan teknologi : cukup
2. Keabsahan/kesesuaian metodologi dan rancangan percobaan : cukup
3. Penafsiran fakta, hasil, dan kesimpulan : perlu lebih dipertajam
4. Relevansi pembahasan dengan ruang lingkup penelitian : perlu diperbaiki dan dibahas berdasarkan data (bukan pengulangan hasil)
5. Kesesuaian judul artikel dan abstrak: sesuai
6. Kelengkapan dan akurasi gambar dan tabel untuk menjelaskan hasil: cukup
7. Komentar khusus lainnya :
Penulisan daftar pustaka masih belum mengikuti format JFI

1 **Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi**
2 **Kebun Raya di Indonesia**

3
4 Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids
5 Collection of Botanical Garden in Indonesia

6
7 **Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², dan Susanto Somowiyarjo²**

8 ¹Universitas Lampung, Lampung 35145

9 ²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

10
11 **ABSTRAK**

12 Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang
13 memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus menjadi salah satu
14 faktor pembatas dalam budi-daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan
15 identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam.
16 Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala dari 5 kebun raya di Indonesia yaitu Kebun
17 Raya Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrengkang. Deteksi dan
18 identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, RT-PCR
19 dan perunutan DNA. Uji serologi dengan antiserum spesifik ORSV menunjukkan 5 dari
20 total 44 sampel menunjukkan reaksi positif terinfeksi ORSV, yaitu *Phalaenopsis*
21 *amboinensis* (KRB2) dan *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) dari Kebun Raya Bogor,

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625 – Fax: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

22 *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence* (KRP20) dari Kebun Raya
 23 Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) dari Kebun Raya Balikpapan.
 24 Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase*
 25 *Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein* (CP) ORSV
 26 menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi isolat ORSV
 27 Indonesia menunjukkan nilai indeks similiaritas (IS) 99.8% dengan 14 isolat ORSV
 28 lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat ~~KRBBogor2 (Kebun Raya Bogor)~~ dan
 29 isolate KRP18Purwodadi (Kebun Raya Purwodadi) berada dalam satu kelompok dan
 30 terpisah dengan isolat ORSV dari negara--negara lain. Inilah laporan ilmiah pertama
 31 yang melaporkan infeksi ~~infeksi~~ ORSV pada anggrek alam koleksi 5 kebun raya di
 32 Indonesia.

Comment [Ta1]: Sebaiknya gunakan nama isolate sesuai dengan kode yang telah ditulis sebelumnya.

Yang dimaksud KRP18 atau KRP20? Atau keduanya?

34 Kata kunci: ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR

36 ABSTRACT

37 Nature orchid are one of original floral in Indonesia which have important role as
 38 crossing parent. Virus infection is one of the limiting factor in the cultivation of orchid.
 39 The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) that
 40 infects nature orchid. Symptomatic samples were collected from 5 botanical garden
 41 collections, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrengkang Botanical
 42 Gardens. Detection and identification was conducted by serological test using ORSV
 43 specific antisera, RT-PCR and DNA sequencing. The serological test using ORSV
 44 antisera showed that 5 of 44 samples reacted positively against ORSV antiserum i.e
 45 *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor

46 Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence*
 47 (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm.
 48 (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. ~~Of the 5 samples~~ RT-PCR of the 5
 49 samples using specific primer of ORSV coat protein (CP) gene amplified a DNA with
 50 size \pm 474 bp. Homology analysis of those 5 Indonesian isolates showed ~~that~~ highest
 51 index similiarity (IS) was 99.8% with corresponding sequences from 14 other ORSV
 52 isolates. Phylogenetic analysis showed that ORSV KRB12 Bogor2 (Bogor Botanical
 53 Garden) and KRP18 Purwodadi (Purwodadi Botanical Garden) isolates ~~ORSV~~ clustered
 54 in separated one group, ~~separated far~~ from ~~other countries~~ ORSV isolates in other
 55 countries. This ~~is was~~ the first report of ORSV on nature orchids collection from 5
 56 botanical gardens in Indonesia.

Formatted: Highlight

57

58 Key words: Botanical Garden, Nature Orchid, ORSV, RT-PCR

59

60

PENDAHULUAN

61

Anggrek alam memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam
 62 pemuliaan tanaman (Rukmana 2000; Sarwono 2002), yang bertujuan untuk memperluas
 63 keragaman genetik pada bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang
 64 tinggi, dan tahan terhadap patogen penyebab penyakit serta cekaman lingkungan
 65 (Soedjono, 1997). Serangan hama penyakit menjadi menjadi salah satu kendala dalam
 66 budidaya dan pengembangan potensi tanaman ini (Kumalawati *et al.* 2011). Anggrek
 67 dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Navalinskiene *et al.* 2005;
 68 Chang *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan menginfeksi anggrek dan memiliki
 69 penyebaran luas di dunia yang sudah ada di Indonesia adalah *Odontoglossum ringspot*

70 *virus* (ORSV) (Inouye dan Gara 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.*
 71 2010; Kumalawati *et al.* 2011), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara
 72 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus*
 73 (CMV), dan *Potyvirus* (Lakani 2011). ORSV merupakan virus yang dominan
 74 menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015).

75 Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman
 76 dan kualitas bunga (Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Laporan dari beberapa
 77 negara menunjukkan bahwa virus ini menyebabkan kerugian secara ekonomi sebagai
 78 akibat menurunnya kualitas bunga di Florida (Zettler *et al.* 1990), Hawai (Hu *et al.* 1993;
 79 Barry *et al.* 1996), India (Sherpa *et al.* 2006), Taiwan (Chang 2008), Thailand (Khentry *et*
 80 *al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994; Chang *et al.* 1996), dan Australia (Ali *et al.*
 81 2014).

82 Berdasarkan survei pada lima kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya
 83 Bogor (Jawa Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan
 84 (Kalimantan Timur), dan Enrengkang (Makasar) selama 2010-2014 banyak dijumpai
 85 anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus yang diduga disebabkan oleh ORSV. Oleh
 86 karena infeksi Deteksi ORSV pada tanaman anggrek alam koleksi kebun raya di
 87 Indonesia belum pernah dilaporkan, maka: pPenelitian ini bertujuan ~~menuntuk deteksi~~
 88 ~~dan mengidentifikasi ORSV mengetahui untuk keberadaan~~ pemitakhiran status
 89 kesehatan anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia. ~~Penelitian deteksi ORSV yang~~
 90 ~~menginfeksi anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia.~~ Penerapan hasil penelitian
 91 ini menjadi salah satu upaya potensial yang mendukung konsep konservasi anggrek
 92 alam di Indonesia melalui upaya perlindungan tanaman.

93

Comment [Ta2]: Sebutkan semua Negara, kemudian satukan referensi Menurunkan kualitas bunga di Florida, India, Taiwan, Thailand, singapura, dan Australia (a, 199 b et al.2008; dst....)

BAHAN DAN METODE

94

95 Deteksi ORSV Secara Molekuler

96 **Deteksi Protein dengan secara Uji-Serologi.** ~~D~~Uji deteksi serologi dilakukan
 97 untuk menentukan insidensi infeksi virus. ~~ELISA dilakukan~~ menggunakan metode
 98 DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari 27 genus) paling representatif
 99 berdasarkan gejala infeksi dari masing-masing lokasi. ~~ELISA Uji-serologi~~ menggunakan
 100 antiserum spesifik ORSV dan dilakukan sesuai dengan protokol yang direkomendasikan
 101 pembuat antiserum (Agdia *Inc.*). Setelah proses pewarnaan dengan substrat PNP. ~~Hasil~~
 102 ~~ELISA microtiter plate-ELISA~~ dibaca menggunakan ELISA-reader (BioTek) pada
 103 panjang gelombang 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai absorbansinya
 104 mendekati nilai kontrol positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi buffer kontrol
 105 (Daryono dan Natsuaki 2009).

106 **Deteksi Asam Nukleat dengan RT-PCR.** Isolasi RNA dilakukan pada sampel
 107 positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan ~~Total RNA isolation kit (SBS~~
 108 ~~Genetech Co., Ltd., China)~~ dan dilakukan sesuai dengan protokol yang disediakan
 109 ~~produsen kit (SBS Genetech Co., Ltd., China).~~

110 Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah
 111 menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-
 112 ATGTCTTACTACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-
 113 GGAAGAGGTCCAAGTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006). Proses *reverse*
 114 *transcription* (RT) dilakukan dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo
 115 *Scientific*, USA), selanjutnya ~~molekul~~-cDNA yang terbentuk digunakan sebagai
 116 cetakan dalam proses PCR menggunakan *GoTaq GreenMaster Mix* (Promega, USA).
 117 Reaksi RT dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

118 | pada suhu 96_°C selama 5 menit dan diakhiri pada suhu 4_°C. Amplifikasi cDNA
 119 | diawali dengan tahap predenaturasi pada suhu 95_°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan
 120 | 34 siklus, meliputi denaturasi pada suhu 95_°C selama 30 detik, annealing pada suhu 50
 121 | °C selama 45 detik, dan ekstensi pada suhu 70_°C selama 1 menit (Mahfut 2011).

Formatted: Font: Italic

122 | Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2%, dalam
 123 | buffer TBE 1x menggunakan voltase XX Volt selama Y menit, yang sebelumnya Ggel
 124 | agarosa direndam dalam ethidium bromide (konsentrasi?) selama z menit. Pita DNA
 125 | selanjutnya divisualisasi pada UV transluminator (Bio-Rad Transilluminator 2000) dan
 126 | didokumentasi menggunakan kamera digital.

Comment [Ta3]: Lengkapi

Formatted: Highlight

Comment [Ta4]: lengkapi

127 | **Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika.** DNA hasil amplifikasi dirunut
 128 | sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke *1st Base*, Malaysia. Sikuen
 129 | nukleotida dianalisis dan digabungkan dengan peranti lunak *Suite for Sequence Analysis*
 130 | *DNA STAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen nukleotida
 131 | ORSV isolat dari Indonesia dilakukan terhadap sikuen yang terdaftar di *GenBank*
 132 | menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (www.ncbi.nlm.nih.gov).
 133 | Seleksi berdasarkan distribusi daerah terpilih diperoleh 4 isolat ORSV terdaftar asal
 134 | Indonesia dan 10 isolat ORSV asal dari negara lain (Singapura, Cina, India, Jerman,
 135 | Korea Selatan, Argentina, dan Brazil). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai
 136 | pembanding di luar grup (*outgroup*).

137 | Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan peranti lunak *Molecular*
 138 | *Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *Neighbor*
 139 | *Joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak. Nilai *bootstrap* yang
 140 | digunakan sebanyak 1000 kali pengulangan.

141

HASIL

142

143 Deteksi Virus

144 Berdasarkan hasil deteksi serologi menunjukkan insidensi infeksi virus sebesar
 145 11,4%. Sebanyak 5 dari 44 total sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV
 146 dengan rerata nilai absorbansi berkisar 1.125-1.152. Adapun 5 sampel yang positif yaitu
 147 2 sampel berasal dari kebun raya Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari kebun raya
 148 Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari kebun raya Balikpapan (KRBp5). Dari
 149 keseluruhan sampel anggrek yang positif tersebut, 4 diantaranya merupakan
 150 *Phalaenopsis* sp. Sampel daun positif terinfeksi ORSV tersebut, yaitu: *Phalaenopsis*
 151 *amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12), *Phalaenopsis amabilis*
 152 (KRP18), *Dendrobium salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm.
 153 (KRBp5).

154 RT-PCR terhadap 5 sampel positif ORSV berdasarkan uji serologi menunjukkan
 155 fragmen DNA berukuran ± 474 pb teramplifikasi dengan menggunakan primer spesifik
 156 gen CP ORSV (Gambar 1).

157

158 ~~Homologi Runutan Nukleotida Gen CP ORSV~~

159 Analisis Sikuen Nukleotida

160 Hasil peruntan nukleotida diperoleh total nukleotida gen CP isolat ORSV-
 161 ~~Bogor~~ (KRB2), ~~ORSV Bogor2~~ (KRB12), ~~ORSV Purwodadi~~ (KRP18), ~~ORSV~~
 162 ~~Purwodadi2~~ (KRP20) dan ~~ORSV Balikpapan~~ (KRBp5) berukuran 474-480 nukleotida.
 163 Hasil ~~a~~Analisis BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan bahwa 5 isolat
 164 tersebut memiliki homologi sebesar 99% dengan isolat ORSV dari negara-negara lain di
 165 Asia, Afrika, Amerika, dan Eropa. Hasil analisis 14 isolat ORSV lain menunjukkan

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Indent: First line: 0.49"

166 homologi sampai dengan 99.8% dengan isolat ORSV-asal Kebun Raya Indonesia
167 (Tabel 1).

168 **Pohon Filogenetika Gen CP ORSV**

169 Hasil penyejajaran sikuen nukleotida menunjukkan adanya mutasi titik berupa
170 substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat KRP18Purwodadi dan
171 KRB12Bogor2 mengalami kejadian mutasi terbanyak yaitu; transisi dan insersi
172 masing-masing 2 kali, sehingga kedua isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia
173 lainnya. Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon
174 penyandi asam amino. Isolat KRP18Purwodadi menunjukkan perbedaan pada frekuensi
175 asam amino Gly dan Val yang mengalami penurunan masing-masing 4,7% dan 3,6%
176 serta peningkatan pada Cys dan Asn sebesar 7,1% dan 11,8%. Berbeda dengan isolat
177 KRB12Bogor2 yang mengalami peningkatan pada asam amino Gly dan Ala sebesar
178 7,2% dan 5,9%, serta penurunan pada Pro 0,8% dan dan Tyr 4,7% (Tabel 2). Pada
179 sikuen nukleotida gen CP isolat ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya
180 delesi.

181 Analisis filogenetika menunjukkan bahwa isolat 5 ORSV asal Kebun Raya
182 Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil analisisrekonstruksi
183 pohon filogenetika membagi isolat ORSV kedalam dua kelompok utama, yaitu
184 kelompok isolat Jerman yang terpisah dengan kelompok kedua 18 isolat lainnya.
185 Kelompok kedua ini terbagi menjadi 3 subgrup, yaitu grup pertama terdiri dari 4 isolat
186 Indonesia yang telah terdaftar di *Genbank*, subgrup kedua terdiri dari 3 isolat kebun
187 raya (Bogor, Balikpapan, dan Purwodadi) dengan 10 isolat dari negara lain, serta
188 subgrup ketiga terdiri dari 2 isolat KRB12 dan KRP18 ~~isolat kebun raya (Bogor2 dan~~
189 Purwodadi). Jika dibandingkan antar cabang, hanya sedikit perbedaan yaitu isolat

190 KRB12 Bogor2 (Kebun Raya Bogor) dan KRP18Purwodadi (Kebun Raya Purwodadi)
 191 yang terpisah dari isolat ORSV asal negara lain (Gambar 2). Walaupun keseluruhan
 192 isolat membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antar isolat masih sangat
 193 dekat. Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk sub grup.

195 PEMBAHASAN

197 Nilai insidensi ORSV pada sampel KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5
 198 berdasarkan hasil uji serologi hanya rendah, di bawah 10%. Lakani (2011) sebelumnya
 199 melaporkan infeksi ORSV pada anggrek *Cymbidium* sp. di Kebun Raya Bogor insidensi
 200 penyakitnya juga hanya 20% dari 10 sampel uji. Sampel-sampel lain, meskipun
 201 bergejala terinfeksi ORSV, tetapi tidak menunjukkan reaksi positif dengan antiserum
 202 ORSV berdasarkan uji serologi DAS-ELISA. Sampel tersebut diduga terinfeksi oleh
 203 virus lain meskipun menunjukkan gejala infeksi serupa ORSV, seperti *Cymbidium*
 204 *mosaic virus* (CymMV) atau infeksi ganda keduanya (Bottom 2016). Lebih lanjut, hasil
 205 deteksi beberapa tanaman *Cattleya* sp. dengan gejala diduga terinfeksi virus terbukti
 206 terserang penyakit lain seperti bakteri dan jamur, serta defisiensi magnesium (Bottom
 207 2016). Virus dapat menyebabkan gejala yang berlainan pada tanaman yang berbeda,
 208 sementara virus yang berbeda dapat menyebabkan gejala yang hampir sama pada
 209 tanaman inang yang sama (Badwen 1964), tergantung pada strain virus, kultivar
 210 tanaman, dan kondisi lingkungan (Navalinskiene *et al.* 2005). Hasil deteksi RT-PCR
 211 sesuai hasil uji serologi dengan teramplifikasinya gen CP_A ORSV pada sampel KRB2,
 212 KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5 sesuai dengan ukuran yang dilaporkan oleh
 213 Lakani *et al.* (2010) dan Mahfut (2011).

Comment [Ta5]: Pembahasan perlu ditulis ulang.
Tolong diPERBAIKI

Pembahasan bukan mengulang hasil. Tetapi mensintesis temuan yang ada menjadi sebuah bahasan yang kompak. Misalnya; Apa implikasi adanya ORSV pada anggrek alam di KR? Mengapa KRB12 dan KRP18 berbeda dari isolat lain? Mengapa dapat terjadi mutasi, factor apa yang mempengaruhi adanya keragaman genetic dll, dampak adanya mutasi pada karakter virus, kedepan apa yang perlu dilakukan untuk mempertahankan status kesehatan anggrek alam dan upaya yang dapat dilakukan kira-kira untuk mengatasi masalah virus dll.....bahasan terkait didukung oleh referensi

Formatted: Highlight

Comment [Ta6]: Hasil deteksi pada hasil 11.4% maksudnya apa dibawah 10%

Formatted: Font: Not Italic, Highlight

Formatted: Highlight

214 Hasil Uji serologi dapat dimanfaatkan untuk menentukan insidensi infeksi virus
215 yang ditemukan dari sampel hasil survei. RT-PCR mengonfirmasi hasil deteksi serologi
216 yang menunjukkan bahwa ORSV telah menginfeksi anggrek alam koleksi di Kebun
217 Raya Bogor, Purwodadi, dan Balikpapan dengan teramplifikasi gen CP ORSV sesuai
218 dengan ukuran yang dilaporkan sebelumnya (Lakani *et al.* 2010; Mahfut 2011). Hal ini
219 membuktikan bahwa kombinasi kedua metode deteksi dapat dimanfaatkan untuk deteksi
220 rutin.

221 Persentase tingkat homologi nukleotida antar isolat ORSV berdasarkan indeks
222 similiaritas (IS) nukleotida antar isolat ORSV menunjukkan persentase yang tinggi,
223 meskipun masing-masing isolat dipilih berdasarkan perbedaan wilayah geografi. Hal ini
224 disebabkan sifat adaptif virus yang relatif stabil dalam berbagai kondisi lingkungan
225 (Lakani *et al.* 2010). Perubahan asam amino yang dihasilkan memiliki pengaruh yang
226 sangat besar dalam proses adaptasi terhadap lingkungan di Indonesia (Lakani *et al.*
227 2010).

228 Berdasarkan pohon filogenetika, ORSV Indonesia diduga berasal dari negara
229 Jerman. BPPP (2005) mencatat negara tersebut menduduki peringkat 14 sebagai
230 pengimpor benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997-2001, selain Amerika
231 Serikat, Brazil, India, Singapura, Korea Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa
232 negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh laporan adanya infeksi ORSV di Jerman,
233 Amerika Serikat, Jepang (Lawson, 1990), Brazil (Freitas *et al.* 1999), India (Sherpa *et*
234 *al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994), Taiwan (Chang 2008), Korea (Chang *et al.*
235 1991), Cina (Rao *et al.* 2015), dan Taiwan (Zheng *et al.* 2008).

236 Berdasarkan hasil penelitian ini ORSV terdeteksi menginfeksi anggrek koleksi
237 beberapa kebun raya di Indonesia, walau insidensinya masih rendah. Homologi

238 nukleotida gen CP yang tinggi terhadap ORSV dari negara lain diduga ORSV isolat
 239 Indonesia masuk dari negara lain. Sehingga untuk melindungi anggrek alam di
 240 Indonesia, importasi anggrek dari negara lain harus dibatasi dan terkontrol. Hasil
 241 penelitian ini diharapkan menjadi informasi dasar yang mendukung konsep konservasi
 242 dalam pembangunan dan pemeliharaan tanaman koleksi kebun raya melalui deteksi
 243 rutin untuk pemantauan perkembangan/penyebaran penyakit virus dan tindakan
 244 pengendalian sedini mungkin.

245

246

247

DAFTAR PUSTAKA

248 Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three
 249 common viruses infecting orchids. *Arch Virol.* 159(11):3095-3099. DOI:
 250 10.1007/s00705-014-2161-9.

251 Barry K, Hu JS, Kuehnle AR, Sughii N. 2008. Sequence analysis and detection using
 252 Immunocapture-PCR of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot*
 253 *virus* in Hawaiian orchids. *Journal of Phytopathology.* 144(4):179–186. DOI:
 254 10.1111/j.1439-0434.1996.tb01511.x.

255 Bawden FC. 1964. *Plant viruses and virus diseases.* New York: Ronald Press. New
 256 York (US): Ronald Press Co. Hlm 361.

257 Bottom S. 2016. Virus in Cattleya Orchids CyMV and ORSV.
 258 www.staugorchidsociety.org. [diakses 29 Jun 2016].

259 [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
 260 *Pengembangan Agribisnis Anggrek.* Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI. Hlm
 261 2-15.

Comment [Ta7]: Perbaiki sesuai dengan form
 penulisan daftar pustaka JFI (lihat panduan)
 terutama pada bagian yang di highlight

Formatted: Highlight

- 262 Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce
 263 clean orchid plantlets. *Orchids*. 77(9):668-671.[doi?](#)
- 264 Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic
 265 resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid
 266 protein gene. *Transgenic Res*. 14:41-46. DOI: 10.1007/s11248-004-2373-y.
- 267 **Chng** CG, Wong SM, Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Kao MC, Chung MC, Watanabe
 268 Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum*
 269 *ringspot virus* and comparison with other Tobamoviruses. *Gene*. 171(2): 155-
 270 61.[doi?](#)
- 271 Chang MU, Chun HH, Baek DH, Chung JD. 1991. Studies on the viruses in orchids in
 272 Korea. *Dendrobium mosaic virus*, *Odontoglossum ringspot virus*, *Orchid fleck*
 273 *virus*, and unidentified potyvirus. *Korean J. Plant Pathol*. 7:118-129.
- 274 Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei virus yang menyerang labu-labuan di
 275 Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Perlin Tan Indones*. 15: 83 – 89.
- 276 Freitas AJ, Rezende J.A.M, Kitajima E.W. 1999. Incidence of orchid viruses in the state
 277 of São Paulo, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*. 24(2):125-130.
- 278 Hu, JS, Ferreira S, Wang M, Xu MQ. 1993. Detection of *Cymbidium mosaic virus*,
 279 *Odontoglossum ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus*, and *Potyvirus*
 280 infecting orchids in Hawaii. *Plant Dis*. 77: 464-468.
- 281 Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and identification of viruses of orchid in
 282 Indonesia. *Bull Res Inst*. 4:109-118.
- 283 Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada
 284 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Formatted: Font: Not Italic, English (U.S.)

Comment [Ta8]: Chang?

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Italic

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

- 285 Khentry Y, Paradornuwat A, Tantiwiwat S, Phansiri S, Thaveechai N. 2006. Incidence
286 of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium*
287 spp. in Thailand. *Crop Protection*. 25(9): 926–932. DOI:
288 10.1016/j.cropro.2005.12.002.
- 289 Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci*. 228:26-
290 38.[doi?](#)
- 291 Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
292 conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular
293 analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*;
294 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.
- 295 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular
296 characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia.
297 *Hayati Journal of Biosciences*.17(2):101-104. DOI: 10.4308/hjb.17.2.101
- 298 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
299 anggrek di pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 300 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: Handbook on orchid pest
301 and diseases, AM Pridgeon dan LL Tillman (eds.). *American Orchid Society*.
302 Florida (US): West Palm Beach. Hlm 66-101.
- 303 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT PCR detection of two orchid viruses with an
304 internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull*. 15:187-196.
- 305 Mahfut. 2011. Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus*
306 (ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.
- 307 Menisa F. 2009. Deteksi dan identifikasi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada
308 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Formatted: Highlight

Formatted: English (U.S.)

Formatted: Highlight

- 309 Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Identification of Viruses Affecting
310 Orchids (*Cymbidium* Sw.). *Biologija*. 2:29-34.
- 311 Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, Xiang M. 2015. Genetic Diversities of *Cymbidium*
312 *mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* Isolates Based on the Coat
313 Protein Genes from Orchids in Guangdong Province, China. *J. Phytol.* 163
314 (4):324–329. DOI: 10.1111/jph.12285.
- 315 Rukmana R. 2000. *Angrek Bulan*. Yogyakarta (ID): Kanisius. Hlm1-66.
- 316 Sarwono B. 2002. *Mengenal dan Membuat Angrek Hibrida..* Jakarta (ID): AgroMedia
317 Pustaka. Hlm 1-80.
- 318 Sherpa AR, Bag TK, Hallan V, Zaidi AA. 2006. Detection of *Odontoglossum ringspot*
319 *virus* in orchids from Sikkim, India. *Australasian Plant Pathology*. 35(1): 69-71.
320 DOI: 10.1071/AP05094.
- 321 Soedjono S. 1997. Pemuliaan tanaman angrek. Di dalam: Buku Komoditas No. 3 Balai
322 Penelitian Tanaman Hias; Puslit Holtikultura. Jakarta (ID): Badan Litbang
323 Pertanian. Hlm 71.
- 324 Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) on Vanda
325 Plants. *International Journal of Science and Research* (IJSR). 4(1):374-377.
- 326 Syahierah P. 2010. Respon berbagai jenis angrek (*Orchidaceae*) terhadap infeksi
327 *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
328 [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 329 Wong SM, Chng, CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. 1994. Incidence of *Cymbidium*
330 *mosaic* and *Odontoglossum ringspot viruses* and their significance in orchid
331 cultivation in Singapore. *Crop Protection*. 13(3):235-239. DOI:10.1016/0261-
332 2194(94)90084-1.

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Italic

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

333 Zettler FW, Ko NJ, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. 1990. Viruses of orchids and
334 their control. *Plant Dis.* 74:621-626. DOI: 10.1094/PD-74-0621.

335 Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ. 2008. Identification and characterization of a
336 potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur J Plant Pathol.*
337 121(1):87-95. DOI: 10.1007/s10658-008-9281-6.

338

Formatted: Highlight

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

340 Tabel 1. Tingkat homologi nukleotida gen CP 5 isolat ORSV asal angrek alam Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain

No	Asal Isolat	No.Aksesi	Indeks Similiaritas (IS) (%)																			
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Indonesia-Bogor (KRB2)	-	100	ID																		
2	Indonesia-Bogor 2 (KRB12)	-	99.5	100	ID																	
3	Indonesia-Purwodadi (KRP18)	-	97.9	98.7	100	ID																
4	Indonesia-Purwodadi2 (KRP20)	-	99.4	98.9	98.3	100	ID															
5	Indonesia-Balikpapan (KRBp5)	-	99.8	98.7	98.1	99.6	100	ID														
6	Indonesia-Bogor	AB693989	96.6	96.6	96.0	96.6	96.6	100	ID													
7	Indonesia-Cipanas	AB693991	98.7	99.4	98.7	99.2	98.9	97.3	100	ID												
8	Indonesia-Gunung Sindur	AB693988	98.7	99.4	96.6	99.2	98.9	100	95.1	100	ID											
9	Indonesia-Jakarta	AB693990	96.6	97.3	98.7	97.0	96.8	97.9	97.9	96.8	100	ID										
10	Singapura	U34586	98.7	99.4	98.9	99.2	98.9	99.6	99.6	97.5	97.0	100	ID									
11	India	AJ564563	98.9	99.6	98.5	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	96.8	100	ID								
12	Jepang	X55295	98.5	99.2	98.3	98.9	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	96.6	100	ID							
13	Korea Selatan	AJ606107	98.3	98.9	98.3	98.7	99.5	99.2	99.2	97.0	99.2	99.4	98.9	96.6	100	ID						
14	Cina	KP137373	98.5	99.2	98.5	98.8	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	99.2	98.9	97.0	100	ID					

Formatted Table

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Formatted: Highlight

Comment [Ta9]: Gunakan kode yang langsung dan konsisten: Indonesia-KRB2, KRB12 dst, jangan ada lagi Bogor 2 untuk KRB12 karena membingungkan

Formatted: Highlight

15	Taiwan	JN584484	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	97.0	100	ID				
16	Amerika	U89894	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	100	94.3	100	ID			
17	Jerman	AJ429091	96.2	96.8	96.2	96.6	96.4	97.0	97.0	94.9	97.0	97.3	98.8	99.6	99.8	97.3	97.3	96.7	100	ID		
18	Argentina	KT733673	97.4	98.0	97.7	98.0	97.7	98.4	98.4	95.1	98.4	98.7	98.4	98.4	98.4	98.7	98.7	94.8	84.3	100	ID	
19	Brazil	AF515606	86.0	86.5	85.9	86.2	86.2	86.8	86.8	84.7	86.8	87.0	86.6	86.8	86.6	87.0	87.0	84.3	98.4	96.6	100	ID
20	TMV-Yunnan	AAM64218.1	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.7	67.7	66.5	67.9	67.9	66.7	68.4	68.4	67.9	97.9	67.3	67.7	61.4	100	100

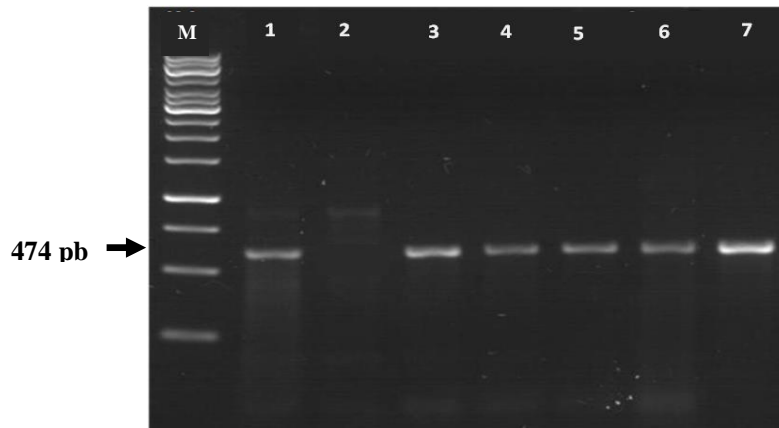
341 Tingkat homologi nukleotida gen CP ORSV asal anggrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program *DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*

342 Tabel 2. Frekuensi asam amino gen CP ORSV asal angrek alam Indonesia

Comment [U10]: Komentar yang sama seperti tabel 1. Kode asal isolat perlu diperbaiki dan disesuaikan

Asal Isolat	Frekuensi Asama Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
Bogor (KRB 2)	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91
Bogor 2 (KRB 12)	5.43	4.35	2.17	0.00	6.52	6.53	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	9.78	4.29	5.43	4.35	17.39	6.52	4.35	1.09	7.61	92
Purwodadi (KRP18)	5.43	6.52	2.17	0.00	6.52	4.35	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	10.87	5.43	5.43	4.35	17.39	6.52	3.26	1.09	7.61	92
Purwodadi2 (KRP20)	4.44	4.44	2.22	0.00	6.67	5.56	0.00	2.22	1.11	8.89	1.11	10.00	5.56	5.56	4.44	18.89	6.67	3.33	1.11	7.78	90
Balikpapan (KRBp5)	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91

343



344

345 Gambar 1. Hasil visualisasi RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarose 2%. (M)

346 Marker 1 kb, (Rainbow invitrogen), (1) kontrol positif, (2) kontrol negatif

347 dari tanaman sehat, (3-4) ORSV dari Kebun Raya Bogor (KRB20) dan

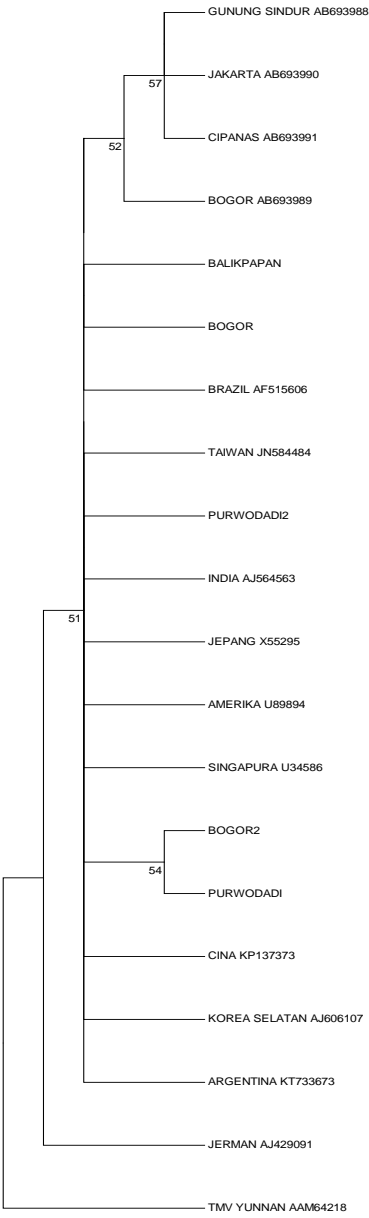
348 (KRB12), (5-6) ORSV dari Kebun Raya Puwodadi (KRP18 dan KRP20),

349 dan (7) ORSV dari Kebun Raya Balikpapan (KRBp5)

350

351

Comment [Ta11]: KRB2? ATAU KRB20? Yang mana? Dalam abstrak hanya ada KRB2, KRB12



352

353

354 | Gambar 2. ~~Rekonstruksi~~ pohon filogenetik isolat ORSV berdasarkan sikuen
355 | nukleotida gen CP 4 isolat dari Indonesia dibandingkan dengan isolate dari
356 | negara lain. TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding luar grup

Comment [Ta12]:

✓ Isolat yang dibandingkan ada Bogor 2, Bogor, Purwodadi, Purwodadi12 dan Balikpapan

✓ Kode isolate ini berbeda dengan isolate asal kebun raya yang diberi kode KRB2? atau 20?. Dimana ada Purwodadi dan Purwodadi 12? (bukankah Purwodadi hanya ada KRP18 dan KRP20?), Balikpapan (KRBp5?).

✓ Disarankan, agar penggunaan kode isolate **konsisten**. Sebab hanya ada 5 sampel yang positif ORSV (Gunakan istilah ORSV isolate KRBp5 sebagai contoh). Hal ini karena asal isolate sudah diterangkan dalam abstrak dan metode. Penyebutan isolate dengan Purwodadi (yang berapa?) dan nama isolate dengan kode yang berbeda seperti Purwodadi 12? Menjadi tidak jelas dan membingungkan (yang ada KRP18 dan KRP20).

✓ Font dalam pohon filogenetik Times New Roman

11.

Perbaiki Naskah

Compose

- Inbox 283
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel
- Folders Hide
- + New Folder

← Back ↶ ↷ →

Mohon Perbaiki Naskah (naskah No 211) Yahoo/Inbox ☆

Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gr> Thu, Jan 12, 2017 at 11:55 AM ☆
To: mahfut.mipa@fmipa.unila.ac.id, Mahfut Kariem


Kepada Yth.,
Bapak Mahfut
di Universitas Lampung

Bersama ini kami kirimkan kembali naskah Bapak yang berjudul "**Deteksi *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia**".

Mohon Bapak dapat menambahkan sumber pustaka pada naskah Bapak. Beberapa sumber acuan pada naskah belum ditulis di Daftar Pustaka. Mohon perbaikan naskah dapat kami terima **1 hari** setelah email ini diterima, karena naskah Bapak akan kami plotkan untuk terbitan selanjutnya. Perbaikan naskah dapat dilakukan pada naskah yang kami kirimkan, karena telah terdapat perubahan redaksi oleh penyunting kami.

Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.






Salam,
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan Penyunting

 Naskah No....docx
397.7kB

↶ ↷ → ...

Reply, Reply All or Forward

Thank you. Ok. Received, thank you.

Send     ... 

Naskah No 211 koreksi DP4.docx Page 1 of 19

1

2 **Deteksi *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* Pada Anggrek Alam Koleksi**

3 **Kebun Raya di Indonesia**

4 **Detection of *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* on Native Orchids**

5 **Collection of Botanical Garden in Indonesia**

6

7 **Mahfut¹, Budi Setiadi Daryono², Soesanto Somowiyarjo²**

8 ¹Universitas Lampung, Lampung 35145

9 ²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

10

11 **ABSTRAK**

12 Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang

13 memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus menjadi salah satu

14 faktor pembatas dalam budi daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan

15 identifikasi *Odontoglossum ringspot virus (ORSV)* yang menginfeksi anggrek alam.

16 Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala dari 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Kebun

17 Raya Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang. Deteksi dan identifikasi

18 dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, RT-PCR dan

19 naningnan DNA. Uji konfirmasi dengan antigen spesifik ORSV menunjukkan 5 dari

1 **Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi**
2 **Kebun Raya di Indonesia**

3
4 Detection of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) on Native Orchids
5 Collection of Botanical Garden in Indonesia

6
7 **Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², Soesanto Somowiyarjo²**

8 ¹Universitas Lampung, Lampung 35145

9 ²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

10
11 **ABSTRAK**

12 Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang
13 memiliki peran penting sebagai induk persilangan. Infeksi virus menjadi salah satu
14 faktor pembatas dalam budi daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan
15 identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam.
16 Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala dari 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Kebun
17 Raya Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang. Deteksi dan identifikasi
18 dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, RT-PCR dan
19 perunutan DNA. Uji serologi dengan antiserum spesifik ORSV menunjukkan 5 dari
20 total 44 sampel menunjukkan reaksi positif terinfeksi ORSV, yaitu *Phalaenopsis*
21 *amboinensis* (KRB2) dan *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) dari Kebun Raya Bogor,

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625 – Fax: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

22 *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) dan *Dendrobium salacence* (KRP20) dari Kebun Raya
23 Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) dari Kebun Raya Balikpapan.
24 Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase*
25 *Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik gen *coat protein* (CP) ORSV
26 menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi isolat ORSV
27 Indonesia menunjukkan nilai indeks similiaritas (IS) 99.8% dengan 14 isolat ORSV
28 lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat KRB2 dan isolat KRP18 berada dalam
29 satu kelompok dan terpisah dengan isolat ORSV dari negara-negara lain. Inilah laporan
30 ilmiah pertama yang melaporkan infeksi ORSV pada anggrek alam koleksi 5 kebun
31 raya di Indonesia.

32

33 Kata kunci: ORSV, Kebun Raya, Anggrek alam, RT-PCR

34

35

ABSTRACT

36 Nature orchid are one of original floral in Indonesia which have important role
37 as crossing parent. Virus infection is one of the limiting factor in the cultivation of
38 orchid. The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
39 that infects nature orchid. Symptomatic samples were collected from 5 botanical garden
40 collections, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang Botanical
41 Gardens. Detection and identification was conducted by serological test using ORSV
42 specific antisera, RT-PCR and DNA sequencing. The serological test using ORSV
43 antisera showed that 5 of 44 sampels reacted positively against ORSV antiserum i.e
44 *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor
45 Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence*

46 (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm.
47 (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. RT-PCR of the 5 samples using specific
48 primer of ORSV coat protein (CP) gene amplified a DNA with size \pm 474 bp.
49 Homology analysis of those 5 Indonesian isolates showed highest index similiarity (IS)
50 was 99.8% with corresponding sequences from 14 other ORSV isolates. Phylogenetic
51 analysis showed that ORSV KRB2 and KRP18 isolates clustered in separated group far
52 from ORSV isolates in other countries. This is the first report of ORSV on nature
53 orchids collection from 5 botanical gardens in Indonesia.

54

55 Key words: Botanical Garden, Nature Orchid, ORSV, RT-PCR

56

57

PENDAHULUAN

58 Anggrek alam memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam
59 pemuliaan tanaman, yang bertujuan untuk memperluas keragaman genetik pada bentuk
60 dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, dan tahan terhadap patogen
61 penyebab penyakit serta cekaman lingkungan (Soedjono 1997). Serangan hama penyakit
62 menjadi menjadi salah satu kendala dalam budi daya dan pengembangan potensi tanaman
63 ini. Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Navalinskiene
64 *et al.* 2005; Chang *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan menginfeksi anggrek dan
65 memiliki penyebaran luas di Indonesia ialah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
66 (Inouye dan Gara 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati
67 *et al.* 2011), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; Menisa 2009;
68 Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV), dan *Potyvirus*

69 (Lakani 2011). ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek
70 di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015).

71 Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan
72 kualitas bunga (Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). Laporan dari beberapa negara
73 menunjukkan bahwa virus ini menyebabkan kerugian secara ekonomi sebagai akibat
74 menurunnya kualitas bunga di Florida, Hawaii, India, Taiwan, Thailand, Singapura, dan
75 Australia (Zettler *et al.* 1990; Hu *et al.* 1993; Wong *et al.* 1994; Barry *et al.* 1996; Chang
76 *et al.* 1996; Sherpa *et al.* 2006; Khentry *et al.* 2006; Chang 2008; Ali *et al.* 2014).

77 Berdasarkan survei pada 5 kebun raya di Indonesia, yaitu; Kebun Raya Bogor
78 (Jawa Barat), Cibodas (Jawa Barat), Purwodadi (Jawa Timur), Balikpapan (Kalimantan
79 Timur), dan Enrekang (Makasar) selama 2010-2014 banyak dijumpai anggrek alam
80 dengan gejala terinfeksi virus yang diduga disebabkan oleh ORSV. Oleh karena infeksi
81 ORSV pada tanaman anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia belum pernah
82 dilaporkan, maka penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi ORSV untuk
83 pemutakhiran status kesehatan anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia.
84 Penerapan hasil penelitian ini menjadi salah satu upaya potensial yang mendukung
85 konsep konservasi anggrek alam di Indonesia melalui upaya perlindungan tanaman.

86

87

BAHAN DAN METODE

88 **Deteksi ORSV Secara Molekuler**

89 **Deteksi Protein dengan secara Serologi.** Deteksi serologi dilakukan untuk
90 menentukan insidensi infeksi virus menggunakan metode DAS-ELISA terhadap 44 total
91 sampel daun anggrek (dari 27 genus) paling representatif berdasarkan gejala infeksi dari
92 masing-masing lokasi. ELISA menggunakan antiserum spesifik ORSV dan dilakukan

93 sesuai dengan protokol yang direkomendasikan pembuat antiserum (Agdia Inc.).
94 Setelah proses pewarnaan dengan substrat PNP dibaca menggunakan ELISA-reader
95 (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dikatakan positif apabila nilai
96 absorbansinya mendekati nilai kontrol positif, atau paling tidak 2-3 kali nilai absorbansi
97 bufer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

98 **Deteksi Asam Nukleat dengan RT-PCR.** Isolasi RNA dilakukan pada sampel
99 positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan Total RNA *isolation kit* dan
100 dilakukan sesuai dengan protokol yang disediakan produsen kit (SBS Genetech Co.,
101 Ltd., China).

102 Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah
103 menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-
104 ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-
105 GGAAGAGGTCCAAGTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006). Proses *reverse*
106 *transcription* (RT) dilakukan dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo
107 Scientific, USA), selanjutnya cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam
108 proses PCR menggunakan *GoTaq GreenMaster Mix* (Promega, USA). Reaksi RT
109 dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 96
110 °C selama 5 menit dan diakhiri pada suhu 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan
111 tahap predenaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 34 siklus,
112 meliputi denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 50 °C selama
113 45 detik, dan ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit (Mahfut 2011).

114 Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2%, dalam
115 bufer TBE 1x menggunakan voltase 50 Volt selama 40 menit. Gel agarosa direndam
116 dalam ethidium bromide (10 µl per 100 ml) selama 30 menit. Pita DNA selanjutnya

Comment [JF11]: Tidak perlu sumber acuan.
Dihilangkan saja

117 divisualisasi pada UV transluminator (Bio-Rad Transilluminator 2000) dan
118 didokumentasi menggunakan kamera digital.

119 **Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika.** DNA hasil amplifikasi dirunut
120 sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke FirstBase, Malaysia. Sikuen
121 nukleotida dianalisis dan digabungkan dengan peranti lunak *Suite for Sequence Analysis*
122 *DNA STAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen nukleotida
123 ORSV isolat dari Indonesia dilakukan terhadap sikuen yang terdaftar di GenBank
124 menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (www.ncbi.nlm.nih.gov).
125 Seleksi berdasarkan distribusi daerah terpilih diperoleh 4 isolat ORSV terdaftar asal
126 Indonesia dan 10 isolat ORSV asal dari negara lain (Singapura, Cina, India, Jerman,
127 Korea Selatan, Argentina, dan Brazil). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai
128 pembanding di luar grup (*outgrup*).

129 Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan peranti lunak *Molecular*
130 *Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *Neighbor*
131 *Joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak. Nilai *bootstrap* yang
132 digunakan sebanyak 1000 kali pengulangan.

133

134 **HASIL**

135 **Deteksi Virus**

136 Berdasarkan hasil deteksi serologi menunjukkan insidensi infeksi virus sebesar
137 11.4%. Sebanyak 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV dengan rerata
138 nilai absorbansi berkisar 1.125-1.152, yaitu 2 sampel berasal dari kebun raya Bogor
139 (KRB2, KRB12), 2 sampel dari kebun raya Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel
140 dari kebun raya Balikpapan (KRBp5). Dari keseluruhan sampel anggrek yang positif

141 tersebut, 4 di antaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. Sampel daun positif terinfeksi
142 ORSV tersebut, yaitu: *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis*
143 (KRB12), *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *Dendrobium salacence* (KRP20), dan
144 *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5). RT-PCR terhadap 5 sampel positif ORSV
145 berdasarkan uji serologi menunjukkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb teramplifikasi
146 dengan menggunakan primer spesifik gen CP ORSV (Gambar 1).

147 **Analisis Sikuen Nukleotida**

148 Hasil peruntukan nukleotida diperoleh total nukleotida gen CP isolat ORSV-
149 KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5 berukuran 474-480 nukleotida. Analisis
150 BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan bahwa 5 isolat tersebut memiliki
151 homologi sebesar 99% dengan isolat ORSV dari negara-negara lain di Asia, Afrika,
152 Amerika, dan Eropa. Hasil analisis 14 isolat ORSV lain menunjukkan homologi sampai
153 dengan 99.8% dengan isolat ORSV asal Kebun Raya Indonesia (Tabel 1).

154 **Pohon Filogenetika Gen CP ORSV**

155 Hasil penyejajaran sikuen nukleotida menunjukkan adanya mutasi titik berupa
156 substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat KRP18 dan KRB12
157 mengalami kejadian mutasi terbanyak, yaitu transisi dan insersi masing-masing 2 kali,
158 sehingga kedua isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Efek mutasi yang
159 terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino. Isolat
160 KRP18 menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam amino Gly dan Val yang
161 mengalami penurunan masing-masing 4.7% dan 3.6% serta peningkatan pada Cys dan
162 Asn sebesar 7.1% dan 11.8%. Berbeda dengan isolat KRB12 yang mengalami
163 peningkatan pada asam amino Gly dan Ala sebesar 7.2% dan 5.9%, serta penurunan

164 pada Pro 0.8% dan dan Tyr 4.7% (Tabel 2). Pada sikuen nukleotida gen CP isolat
165 ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

166 Analisis filogenetika menunjukkan bahwa isolat 5 ORSV asal Kebun Raya
167 Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil analisis pohon
168 filogenetika membagi isolat ORSV kedalam dua kelompok utama, yaitu kelompok
169 isolat Jerman yang terpisah dengan kelompok kedua 18 isolat lainnya. Kelompok kedua
170 ini terbagi menjadi 3 subgrup, yaitu grup pertama terdiri dari 4 isolat Indonesia yang
171 telah terdaftar di Genbank, subgrup kedua terdiri dari 3 isolat kebun raya (Bogor,
172 Balikpapan, dan Purwodadi) dengan 10 isolat dari negara lain, serta sub grup ketiga
173 terdiri dari 2 isolat KRB2 dan KRP18. Jika dibandingkan antar cabang, hanya sedikit
174 perbedaan, yaitu isolat KRB2 dan KRP18 yang terpisah dari isolat ORSV asal negara
175 lain (Gambar 2). Walaupun keseluruhan isolat membentuk beberapa kelompok, namun
176 kekerabatan antar isolat masih sangat dekat. Hal ini terlihat pada pohon filogenetika
177 tersebut hanya membentuk sub grup.

178

179

PEMBAHASAN

180 Hasil temuan ORSV yang menginfeksi anggrek di kebun raya Indonesia
181 menunjukkan kurangnya upaya pemeliharaan tanaman koleksi oleh pihak kebun raya.
182 Mengingat perannya mendukung konsep konservasi *ex-situ* (DPBS 2011), upaya
183 pemeliharaan sebaiknya dilakukan melalui deteksi rutin untuk pemantauan
184 perkembangan dan penyebaran penyakit virus, serta tindakan pengendalian sedini
185 mungkin. Meskipun insidensinya masih rendah, yaitu dibawah 20%, sama seperti yang
186 dilaporkan Lakani (2011), infeksi ORSV harus mendapat perhatian serius mengingat
187 virus ini paling banyak menginfeksi (Zettler *et al.* 1990). Di Indonesia, ORSV

188 dilaporkan telah menginfeksi 9 dari total 27 genus anggrek terinfeksi di dunia, yaitu
189 *Aranda*, *Grammatophyllum*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Bulbophyllum*, *Calanthe*,
190 *Cattleya*, dan *Oncidium* (Inouye dan Gara 1996).

191 Beberapa mutasi nukleotida yang terjadi menyebabkan dua isolat ORSV asal
192 kebun raya di Indonesia, yaitu KRB12 dan KRP18 terpisah dengan isolat lainnya.
193 Proses terjadinya mutasi nukleotida pada masing-masing isolat didukung oleh
194 kemampuan alami virus untuk beradaptasi dengan lingkungan (Matthews 1992). Mutasi
195 nukleotida selanjutnya menyebabkan perubahan asam amino yang terbentuk dalam
196 susunan genom virus. Perubahan asam amino tersebut akan mengubah fungsi gen yang
197 disusun sehingga infektifitasnya juga berubah (Lakani *et al.* 2010).

198 Gen *Coat Protein* (CP) bersifat *conserved* sehingga memiliki kemampuan
199 mekanisme *proofreading* seperti umumnya gen nuklear lainnya. Hal ini menyebabkan
200 virus dapat melakukan koreksi dan memperbaiki kesalahan yang terjadi selama proses
201 replikasi genom. Tetapi dengan ukuran genom virus yang relatif kecil, adanya sedikit
202 kesalahan akan memberikan pengaruh laju mutasi secara signifikan. Laju mutasi akan
203 menghasilkan variasi genetik virus sehingga meningkatkan probabilitas evolusi lebih
204 cepat (Matthews 1992). Cabang yang cukup panjang pada isolat KRB2 dan KRP18 juga
205 mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan dapat mengarah terjadinya
206 spesiasi.

207 ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman. BPPP (2005) mencatat
208 Jerman menduduki peringkat 14 sebagai pengimpor benih dan tanaman anggrek ke
209 Indonesia sejak 1997-2001, selain Amerika Serikat, Brazil, India, Singapura, Korea
210 Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh
211 laporan adanya infeksi ORSV di Jerman, Amerika Serikat, Jepang (Lawson 1990),

Comment [JF12]: Tidak ada di Daftar Pustaka
Mohon ditambahkan

212 Brazil (Freitas *et al.* 1999), India (Sherpa *et al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994).
213 Taiwan (Chang 2008), Korea (Chang *et al.* 1991), Cina (Rao *et al.* 2015), dan Taiwan
214 (Zheng *et al.* 2008). Berdasarkan hal tersebut, cara lain yang efektif untuk melindungi
215 dan mempertahankan status kesehatan anggrek alam di Indonesia adalah dengan
216 membatasi dan mengontrol importasi anggrek dari negara lain.

217

218

UCAPAN TERIMAKASIH

219 Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
220 (DRPM), Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Tahun Anggaran 2016,
221 melalui Surat Penugasan Penelitian Hibah Disertasi Doktor Nomor
222 89/UN26/8/LPPM/2016, Tanggal 13 April 2016.

223

224

DAFTAR PUSTAKA

225 Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three
226 common viruses infecting orchids. *Arch Virol.* 159(11):3095-3099. DOI:
227 10.1007/s00705-014-2161-9.

228 Barry K, Hu JS, Kuehnle AR, Sughii N. 2008. Sequence analysis and detection using
229 Immunocapture-PCR of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot*
230 *virus* in Hawaiian orchids. *J Phytopathology.* 144(4):179–186. DOI:
231 10.1111/j.1439-0434.1996.tb01511.x.

232 Bawden FC. 1964. *Plant viruses and virus diseases*. New York: Ronald Press. New
233 York (US): Ronald Press Co. Hlm 361.

234 Bottom S. 2016. Virus in Cattleya Orchids CyMV and ORSV.
235 www.staugorchidsociety.org. [diakses 29 Jun 2016].

- 236 [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah*
237 *Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI. Hlm
238 2-15.
- 239 Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce
240 clean orchid plantlets. *Orchids*. 77(9):668-671.
- 241 Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic
242 resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid
243 protein gene. *Transgenic Res*. 14:41-46. DOI: 10.1007/s11248-004-2373-y.
- 244 Chang CG, Wong SM, Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Kao MC, Chung MC, Watanabe
245 Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum*
246 *ringspot virus* and comparison with other Tobamoviruses. *Gene*. 171(2):155-61.
247 DOI: 10.1016/0378-1119(96)00046-7.
- 248 Chang MU, Chun HH, Baek DH, Chung JD. 1991. Studies on the viruses in orchids in
249 Korea. *Dendrobium mosaic virus*, *Odontoglossum ringspot virus*, *Orchid fleck*
250 *virus*, and unidentified potyvirus. *Korean J Plant Pathol*. 7:118-129.
- 251 Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei virus yang menyerang labu-labuan di
252 Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Perlin Tan Indones*. 15:83-89.
- 253 [DPBS] Deputi Bidang Kesejahteraan Rakyat. 2011. *Peraturan Presiden Republik*
254 *Indonesia Nomor 93 Tahun 2011 Tentang Kebun Raya*. Jakarta (ID): Lembaran
255 Negara Republik Indonesia. Hlm 1-12.
- 256 Freitas AJ, Rezende J.A.M, Kitajima E.W. 1999. Incidence of orchid viruses in the state
257 of São Paulo, Brazil. *Fitopatol Bras*. 24(2):125-130.

- 258 Hu, JS, Ferreira S, Wang M, Xu MQ. 1993. Detection of *Cymbidium mosaic virus*,
259 *Odontoglossum ringspot virus*, *Tomato spotted wilt virus*, and *Potyvirus*
260 infecting orchids in Hawaii. *Plant Dis.* 77:464-468.
- 261 Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and identification of viruses of orchid in
262 Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109-118.
- 263 Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada
264 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 265 Khentry Y, Paradornuwat A, Tantiwiwat S, Phansiri S, Thaveechai N. 2006. Incidence
266 of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium*
267 spp. in Thailand. *Crop Pro.* 25(9):926-932. DOI: 10.1016/j.cropro.2005.12.002.
- 268 Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26-38.
269 DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.015.
- 270 Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and
271 conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular
272 analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*;
273 2011 Sep 23-24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.
- 274 Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular
275 characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia.
276 *Hayati J Biosci.* 17(2):101-104. DOI:10.4308/hjb.17.2.101
- 277 Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman
278 anggrek di pulau Jawa [disertasi].Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 279 Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest*
280 *and diseases*, AM Pridgeon dan LL Tillman (eds.). *American Orchid Society*.
281 Florida (US):West Palm Beach. Hlm 66-101.

- 282 Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RTPCR detection of two orchid viruses with an
283 internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187-196.
- 284 Mahfut. 2011. *Deteksi dan karakterisasi molekuler *Odontoglossum ringspot virus**
285 *(ORSV) isolat Jawa dan Bali [tesis]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.*
- 286 Menisa F. 2009. Deteksi dan identifikasi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada
287 tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- 288 Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Identification of Viruses Affecting
289 Orchids (*Cymbidium Sw.*). *Biologija.* 2:29-34.
- 290 Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, Xiang M. 2015. Genetic Diversities of *Cymbidium*
291 *mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* Isolates Based on the Coat
292 Protein Genes from Orchids in Guangdong Province, China. *J Phytopathology.*
293 163(4):324–329. DOI: 10.1111/jph.12285.
- 294 Sherpa AR, Bag TK, Hallan V, Zaidi AA. 2006. Detection of *Odontoglossum ringspot*
295 *virus* in orchids from Sikkim, India. *Australasian Plant Pathol.* 35(1):69-71. DOI:
296 10.1071/AP05094.
- 297 Soedjono S. 1997. Pemuliaan tanaman anggrek. Di dalam: Buku Komoditas No. 3 Balai
298 Penelitian Tanaman Hias; Puslit Holtikultura. Jakarta (ID): Badan Litbang
299 Pertanian. Hlm 71.
- 300 Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) on Vanda
301 Plants. *IJSR.* 4(1):374-377.
- 302 Syahierah P. 2010. Respon berbagai jenis anggrek (*Orchidaceae*) terhadap infeksi
303 *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)
304 [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

- 305 Wong SM, Chng, CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. 1994. Incidence of *Cymbidium*
306 *mosaic* and *Odontoglossum ringspot viruses* and their significance in orchid
307 cultivation in Singapore. *Crop Pro.* 13(3):235-239. DOI: 10.1016/0261-
308 2194(94)90084-1.
- 309 Zettler FW, Ko NJ, Wisler GC, Elliot MS, Wong SM. 1990. Viruses of orchids and
310 their control. *Plant Dis.* 74:621-626. DOI: 10.1094/PD-74-0621.
- 311 Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ. 2008. Identification and characterization of a
312 potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur J Plant Pathology.*
313 121(1):87-95. DOI: 10.1007/s10658-008-9281-6.
- 314
- 315

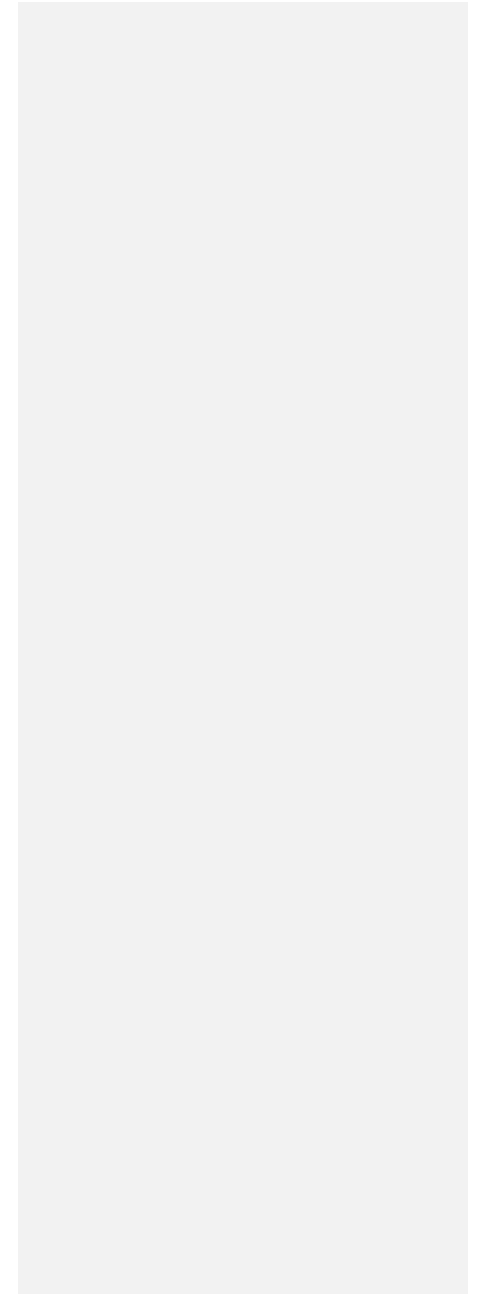
316

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

317 Tabel 1. Tingkat homologi nukleotida gen CP 5 isolat ORSV asal anggrek alam Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain

No	Asal Isolat	No. Akses	Indeks Similiaritas (IS) (%)																					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
1	Indonesia-KRB2	-	100	ID																				
2	Indonesia-KRB12	-	99.5	100	ID																			
3	Indonesia-KRP18	-	97.9	98.7	100	ID																		
4	Indonesia-KRP20	-	99.4	98.9	98.3	100	ID																	
5	Indonesia-KRBp5	-	99.8	98.7	98.1	99.6	100	ID																
6	Indonesia-Bogor	AB693989	96.6	96.6	96.0	96.6	96.6	100	ID															
7	Indonesia-Cipanas	AB693991	98.7	99.4	98.7	99.2	98.9	97.3	100	ID														
8	Indonesia-Gumung Sindur	AB693988	98.7	99.4	96.6	99.2	98.9	100	95.1	100	ID													
9	Indonesia-Jakarta	AB693990	96.6	97.3	98.7	97.0	96.8	97.9	97.9	96.8	100	ID												
10	Singapura	U34586	98.7	99.4	98.9	99.2	98.9	99.6	99.6	97.5	97.0	100	ID											
11	India	AJ564563	98.9	99.6	98.5	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	96.8	100	ID										
12	Jepang	X55295	98.5	99.2	98.3	98.9	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	96.6	100	ID									
13	Korea Selatan	AJ606107	98.3	98.9	98.3	98.7	99.5	99.2	99.2	97.0	99.2	99.4	98.9	96.6	100	ID								
14	Cina	KP137373	98.5	99.2	98.5	98.8	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	99.2	98.9	97.0	100	ID							
15	Taiwan	JN584484	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	97.0	100	ID						
16	Amerika	U89894	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	100	94.3	100	ID					
17	Jerman	AJ429091	96.2	96.8	96.2	96.6	96.4	97.0	97.0	94.9	97.0	97.3	98.8	99.6	99.8	97.3	97.3	96.7	100	ID				
18	Argentina	KT733673	97.4	98.0	97.7	98.0	97.7	98.4	98.4	95.1	98.4	98.7	98.4	98.4	98.4	98.7	98.7	94.8	84.3	100	ID			
19	Brazil	AF515606	86.0	86.5	85.9	86.2	86.2	86.8	86.8	84.7	86.8	87.0	86.6	86.8	86.6	87.0	87.0	84.3	98.4	96.6	100	ID		
20	TMV-Yunnan	AAM64218.1	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.7	67.7	66.5	67.9	67.9	66.7	68.4	68.4	67.9	97.9	67.3	67.7	61.4	100	100		

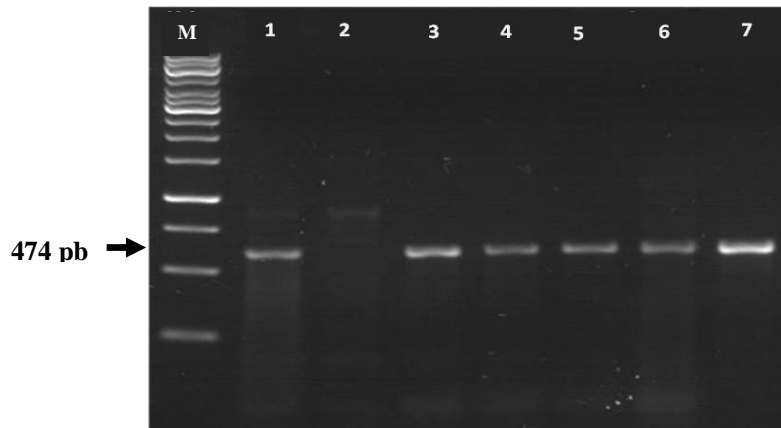
318 Tingkat homologi nukleotidagen CP ORSVasal anggrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program *DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*



319 Tabel 2. Frekuensi asam amino gen CP ORSV asal angrek alam Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asama Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
Indonesia-KRB2	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91
Indonesia-KRB12	5.43	4.35	2.17	0.00	6.52	6.53	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	9.78	4.29	5.43	4.35	17.39	6.52	4.35	1.09	7.61	92
Indonesia-KRP18	5.43	6.52	2.17	0.00	6.52	4.35	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	10.87	5.43	5.43	4.35	17.39	6.52	3.26	1.09	7.61	92
Indonesia-KRP20	4.44	4.44	2.22	0.00	6.67	5.56	0.00	2.22	1.11	8.89	1.11	10.00	5.56	5.56	4.44	18.89	6.67	3.33	1.11	7.78	90
Indonesia-KRBp5	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91

320



321

322 Gambar 1. Hasil visualisasi RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarose 2%. (M)

323 Marker 1 kb (Rainbow invitrogen), (1) kontrol positif, (2) kontrol negatif

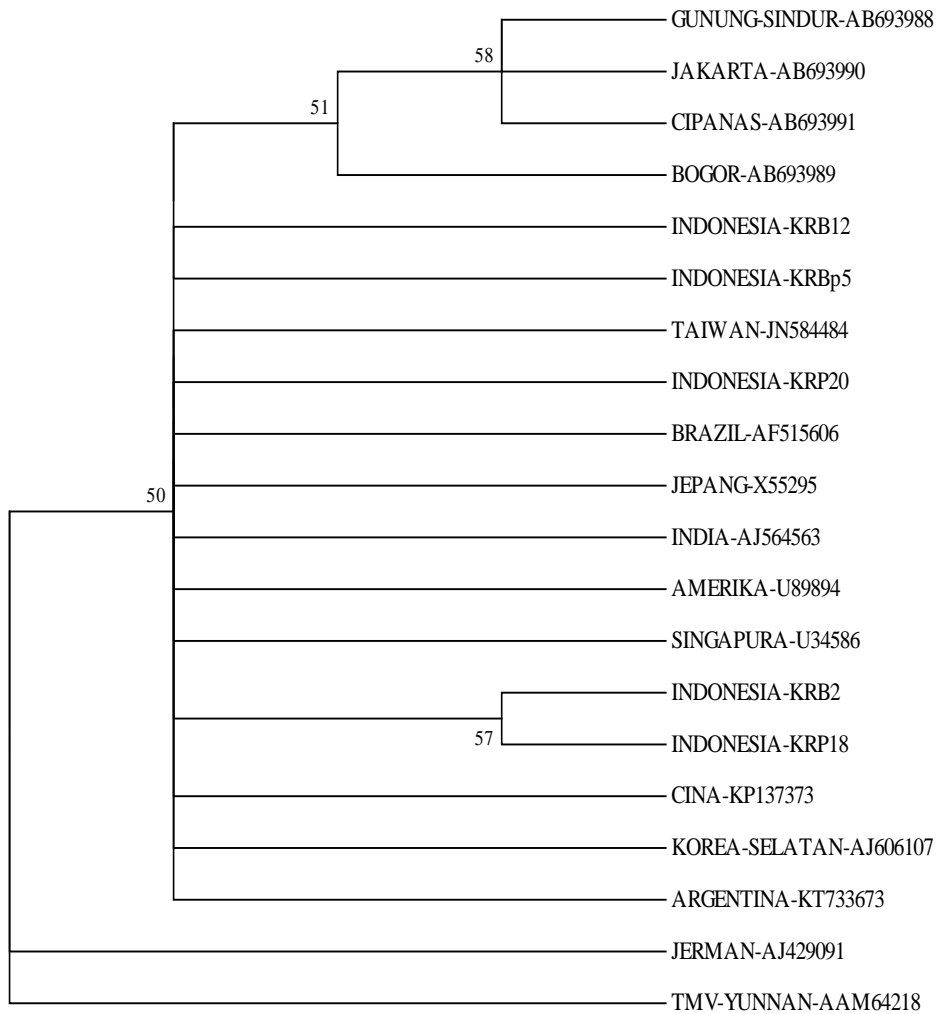
324 dari tanaman sehat, (3-4) ORSV dari Kebun Raya Bogor (KRB2 dan

325 KRB12), (5-6) ORSV dari Kebun Raya Puwodadi (KRP18 dan KRP20),

326 dan (7) ORSV dari Kebun Raya Balikpapan (KRBp5)

327

328



329

330 Gambar 2. Pohon filogenetika isolat ORSV berdasarkan sikuen nukleotida gen CP 4

331 isolat dari Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain. TMV-

332 Yunnan digunakan sebagai pembanding luar grup

12.

Contoh Cetak Naskah

Compose

- Inbox 283
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel
- Folders Hide
- + New Folder

Back navigation icons

Contoh Cetak Naskah No 211 Yahoo/Inbox

Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com>
To: Mahfut Kariem

Kepada Yth.,
Bapak Mahfut
di Universitas Lampung

Berikut Kami kirimkan contoh cetak naskah Bapak yang berjudul "**Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia**"

Naskah Bapak telah melalui proses penyuntingan dan layout, untuk itu mohon naskah dapat dibaca dan dikoreksi dengan teliti.

Mohon Bapak dapat memperbaiki naskah sesuai dengan komentar pada naskah. Perbaikan naskah dapat dituliskan pada file pdf menggunakan add Sticky note atau pada file terpisah.

Kami menunggu hasil koreksi naskah Bapak 2 hari setelah email ini diterima. Terima kasih atas perhatiannya.

Salam,
Prof. Dr. Sri Hendrastuti Hidayat
Ketua Dewan penyunting

1211-Mahfu... .pdf
313.7KiB

Reply, Reply All or Forward

Ok Thank you Received

Send

1211-Mahfut et all (contoh Ceta... Page 1 of 8

JURNAL
FITOPATOLOGI
INDONESIA
ISSN 0215-7950

Volume 13, Nomor 1, Januari 2017
Halaman 1-8
DOI: 10.14692/jf.13.1.1-8

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* on **Native Orchids** Collection of Botanical Gardens in Indonesia

Mahfut*, Budi Setiadi Daryono, Soesanto Somontyaryo*
*Universitas Lampung, Lampung 35145
*Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55221

ABSTRAK

Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk pergilangan dalam pemuliaan tanaman anggrek. Infeksi virus menjadi salah satu faktor pembatas dalam budidaya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam. Sampel dikoleksi dari tanaman bergajala asal 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Erekang. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, dilanjutkan dengan metode reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), dan penentuan DNA. Uji serologi menggunakan 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV, yaitu pada *Phalaenopsis amabilis* (KR81) dan *Phalaenopsis amabilis* (KR51) dari Kebun Raya Bogor, *Phalaenopsis amabilis* (KR18) dan *Dendrobium zalanense* (KR21) dari Kebun Raya Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* f. 1 dan (KR52) dari Kebun Raya Balikpapan. Deteksi hasil mikroskop 5 sampel tersebut dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik gen coat protein ORSV menghasilkan fragmen DNA berukuran = 474 pb. Analisis homologi 5 isolat ORSV tersebut menunjukkan nilai indeks similitas (SI) sebesar 99.8% dengan 14 isolat ORSV lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat KR81 dan isolat KR18 berada dalam satu kelompok dan terafiliasi dengan isolat ORSV dari negara-negara lain. Ini adalah laporan pertama adanya infeksi ORSV pada anggrek alam koleksi 5 kebun raya di Indonesia. Kata kunci: analisis filogenetika, homologi, serologi, RT-PCR.

ABSTRACT

Nature orchids is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada **Anggrek Alam** Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* on **Native Orchids** Collection of Botanical Gardens in Indonesia

Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², Soesanto Somowiyarjo²

¹Universitas Lampung, Lampung 35145

²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek alam merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman anggrek. Infeksi virus menjadi salah satu faktor pembatas dalam budi daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek alam. Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala asal 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, dilanjutkan dengan metode *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR), dan perunutan DNA. Uji serologi menunjukkan 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV, yaitu pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) dan *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) dari Kebun Raya Bogor, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) dan *Dendrobium salacence* (KRP20) dari Kebun Raya Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) dari Kebun Raya Balikpapan. Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik gen *coat protein* ORSV menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi 5 isolat ORSV tersebut menunjukkan nilai indeks similaritas (IS) sebesar 99.8% dengan 14 isolat ORSV lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat KRB2 dan isolat KRP18 berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan isolat ORSV dari negara-negara lain. Ini adalah laporan pertama adanya infeksi ORSV pada anggrek alam koleksi 5 kebun raya di Indonesia.

Kata kunci: analisis filogenetika, homologi, serologi, RT-PCR

ABSTRACT

Nature orchids is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials in breeding program. Virus infection is one of the limiting factors in the cultivation of orchid. The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from **nature orchids**. Symptomatic orchids were collected from 5 botanical gardens, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, and Enrekang Botanical Gardens. Detection and identification was conducted by serological method using ORSV specific antisera, followed by RT-PCR and DNA sequencing. The serological test showed that 5 samples gave positive reaction against ORSV antiserum, i.e. *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence* (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. RT-PCR of the 5 samples using specific primer of ORSV coat protein gene was successfully amplified fragment DNA with size ± 474 bp. Homology analysis of those 5 ORSV isolates showed the highest index similarity of 99.8% with corresponding

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jalan Sumantri Brojonegoro No. 01, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625, Faks: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

sequences from 14 other ORSV isolates. Phylogenetic analysis indicated that ORSV KRB2 and KRP18 isolates was clustered in a separate group far from ORSV isolates in other countries. This is the first report of ORSV infection on native orchids collection from 5 botanical gardens in Indonesia.

Key words: homology, phylogenetic analysis, RT-PCR, serology

PENDAHULUAN

Anggrek alam memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman yang bertujuan memperluaskan keragaman genetika bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, dan tahan terhadap patogen serta cekaman lingkungan. Serangan hama penyakit menjadi salah satu kendala dalam budi daya dan pengembangan potensi anggrek. Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Chang *et al.* 2005; Navalinskiene *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan menginfeksi anggrek dan memiliki penyebaran luas di Indonesia ialah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Inouye dan Gara 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati *et al.* 2011), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus* (Lakani 2011). ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015).

Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan kualitas bunga (Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). ORSV menyebabkan kerugian secara ekonomi akibat menurunnya kualitas bunga di Florida, Hawaii, India, Taiwan, Thailand, Singapura, dan Australia (Zettler *et al.* 1990; Hu *et al.* 1993; Wong *et al.* 1994; Barry *et al.* 1996; Chang *et al.* 1996; Sherpa *et al.* 2006; Khentry *et al.* 2006; Chang 2008; Ali *et al.* 2014).

Berdasarkan survei pada 5 kebun raya (KR) di Indonesia, yaitu; KR Bogor (Jawa Barat), KR Cibodas (Jawa Barat), KR Purwodadi (Jawa Timur), KR Balikpapan (Kalimantan Timur), dan KR Enrekang (Makasar) selama

tahun 2010-2014 banyak dijumpai anggrek alam dengan gejala terinfeksi virus yang diduga disebabkan oleh ORSV. Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi ORSV untuk pemutakhiran status kesehatan anggrek alam koleksi kebun raya di Indonesia. Penerapan hasil penelitian ini menjadi salah satu upaya potensial pendukung konsep konservasi anggrek alam di Indonesia melalui upaya perlindungan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Deteksi Protein dengan secara Serologi

Deteksi serologi untuk menentukan insidensi infeksi virus menggunakan metode DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari 27 genus) paling representatif berdasarkan pada gejala infeksi dari masing-masing lokasi. ELISA menggunakan antiserum spesifik ORSV sesuai dengan protokol yang direkomendasikan pembuat antiserum (Agdia Inc.). Pewarnaan dengan substrat PNP dibaca menggunakan ELISA-reader (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dinyatakan positif apabila nilai absorbansinya mendekati nilai kontrol positif atau paling tidak 2–3 kali nilai absorbansi bufer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

Deteksi Asam Nukleat dengan RT-PCR

Isolasi RNA dilakukan pada sampel positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan total RNA isolation kit dan dilakukan sesuai dengan protokol (SBS Genetech Co., Ltd., China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-GGAAGAGGTCCAA GTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006).

Tahap *reverse transcription* (RT) dilakukan dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo Scientific, USA), selanjutnya cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam tahap PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 96 °C selama 5 menit dan diakhiri pada suhu 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan tahap pre-denaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 34 siklus, meliputi denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, aneling pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit.

Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2% dalam bufer TBE 1× menggunakan voltase 50 Volt selama 40 menit. Gel agarosa direndam dalam etidium bromida (10 µL 100 mL⁻¹) selama 30 menit. Pita DNA divisualisasi pada transluminator UV (Bio-Rad Transilluminator 2000) dan didokumentasikan.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika

DNA hasil amplifikasi dirunut sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke FirstBase, Malaysia. Sikuen nukleotida dianalisis dan digabungkan dengan peranti lunak *Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen nukleotida ORSV isolat dari Indonesia dilakukan terhadap sikuen yang terdaftar di GenBank menggunakan *basic local alignment search tool* (BLAST) (www.ncbi.nlm.nih.gov). Seleksi berdasarkan distribusi daerah terpilih diperoleh 4 isolat ORSV terdaftar asal Indonesia dan 10 isolat ORSV asal dari negara lain (Singapura, Cina, India, Jerman, Korea Selatan, Argentina, dan Brazil). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*).

Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan peranti lunak *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *neighbor joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak. Nilai *bootstrap* yang digunakan ialah sebanyak 1000 kali pengulangan.

HASIL

Deteksi Virus

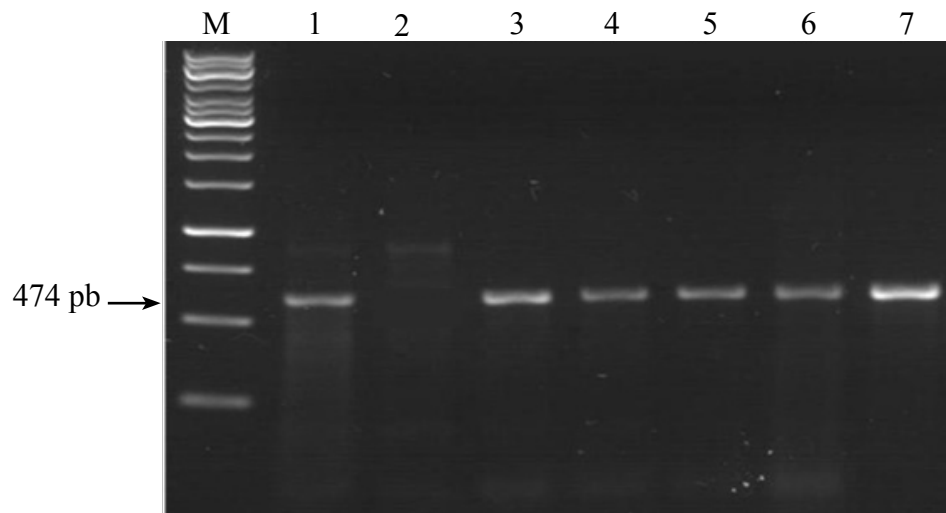
Hasil deteksi serologi menunjukkan insidensi infeksi virus sebesar 11.4%. Sebanyak 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV dengan rerata nilai absorbansi berkisar 1.125–1.152, yaitu 2 sampel berasal dari KR Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari KR Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari KR Balikpapan (KRBp5). Dari keseluruhan sampel anggrek yang positif tersebut, 4 di antaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. Sampel daun positif yang terinfeksi ORSV ialah pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12), *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *Dendrobium salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5). RT-PCR pada 5 sampel positif ORSV menunjukkan adanya fragmen DNA berukuran ± 474 pb (Gambar 1).

Analisis Sikuen Nukleotida

Total nukleotida gen CP isolat ORSV-KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5 berukuran 474–480 nukleotida. Analisis BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan bahwa 5 isolat tersebut memiliki homologi sebesar 99% dengan isolat ORSV dari negara Asia, Afrika, Amerika, dan Eropa. Hasil analisis 14 isolat ORSV lain menunjukkan homologi sampai dengan 99.8% dengan isolat ORSV asal kebun raya di Indonesia (Tabel 1).

Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

Hasil penyejajaran sikeun nukleotida menunjukkan adanya mutasi titik berupa substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat KRP18 dan KRB12 mengalami kejadian mutasi terbanyak, yaitu transisi dan insersi masing-masing 2 kali sehingga kedua isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino. Isolat KRP18 menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam amino Gly dan Val yang mengalami penurunan masing-masing 4.7% dan 3.6% serta peningkatan pada Cys dan



Gambar 1 Visualisasi hasil RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarosa 2%. M, Penanda DNA 1 kb (Rainbow invitrogen); 1, kontrol positif; 2, kontrol negatif dari tanaman sehat; 3–4, ORSV dari Kebun Raya Bogor (KRB2 dan KRB12); 5–6, ORSV dari Kebun Raya Puwodadi (KRP18 dan KRP20) dan; 7, ORSV dari Kebun Raya Balikpapan (KRBp5).

Asn sebesar 7.1% dan 11.8%. Berbeda dengan isolat KRB12 yang mengalami peningkatan pada asam amino Gly dan Ala sebesar 7.2% dan 5.9%, serta penurunan pada Pro 0.8% dan Tyr 4.7% (Tabel 2). Pada sikeun nukleotida gen CP isolat ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

Analisis filogenetika menunjukkan bahwa 5 isolat ORSV asal KR di Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil analisis pohon filogenetika membagi isolat ORSV menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok isolat Jerman yang terpisah dengan kelompok 18 isolat lainnya. Kelompok ini terbagi menjadi 3 subgrup, yaitu 4 isolat Indonesia yang telah terdaftar di Genbank, 3 isolat kebun raya (Bogor, Balikpapan, dan Purwodadi) dengan 10 isolat dari negara lain, serta 2 isolat KRB2 dan KRP18. Isolat KRB2 dan KRP18 terpisah dari isolat ORSV asal negara lain (Gambar 2). Walaupun keseluruhan isolat membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antarisolat masih sangat dekat. Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk subgrup.

PEMBAHASAN

Upaya pemeliharaan anggrek sebaiknya dilakukan secara rutin untuk pemantauan

perkembangan dan penyebaran penyakit virus serta tindakan pengendaliannya sedini mungkin. Meskipun insidensinya masih rendah, yaitu <20%, sama seperti yang dilaporkan oleh Lakani (2011), infeksi ORSV harus mendapat perhatian serius mengingat virus ini paling banyak menginfeksi (Zettler *et al.* 1990). Di Indonesia, ORSV dilaporkan telah menginfeksi 9 dari total 27 genus anggrek di dunia, yaitu *Aranda*, *Grammatophyllum*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, dan *Oncidium* (Inouye dan Gara 1996).

Beberapa mutasi nukleotida yang terjadi menyebabkan 2 isolat ORSV, yaitu KRB12 dan KRP18 terpisah dengan isolat lainnya. Proses terjadinya mutasi nukleotida pada masing-masing isolat didukung oleh kemampuan alami virus untuk beradaptasi dengan lingkungan. Mutasi nukleotida selanjutnya menyebabkan perubahan asam amino yang terbentuk dalam susunan genom virus. Perubahan asam amino tersebut akan mengubah fungsi gen yang disusun sehingga infektivitasnya juga berubah (Lakani *et al.* 2010).

Gen *coat protein* (CP) bersifat *conserved* sehingga memiliki kemampuan mekanisme *proofreading* seperti umumnya gen nuklear lainnya. Hal ini menyebabkan virus dapat melakukan koreksi dan memperbaiki

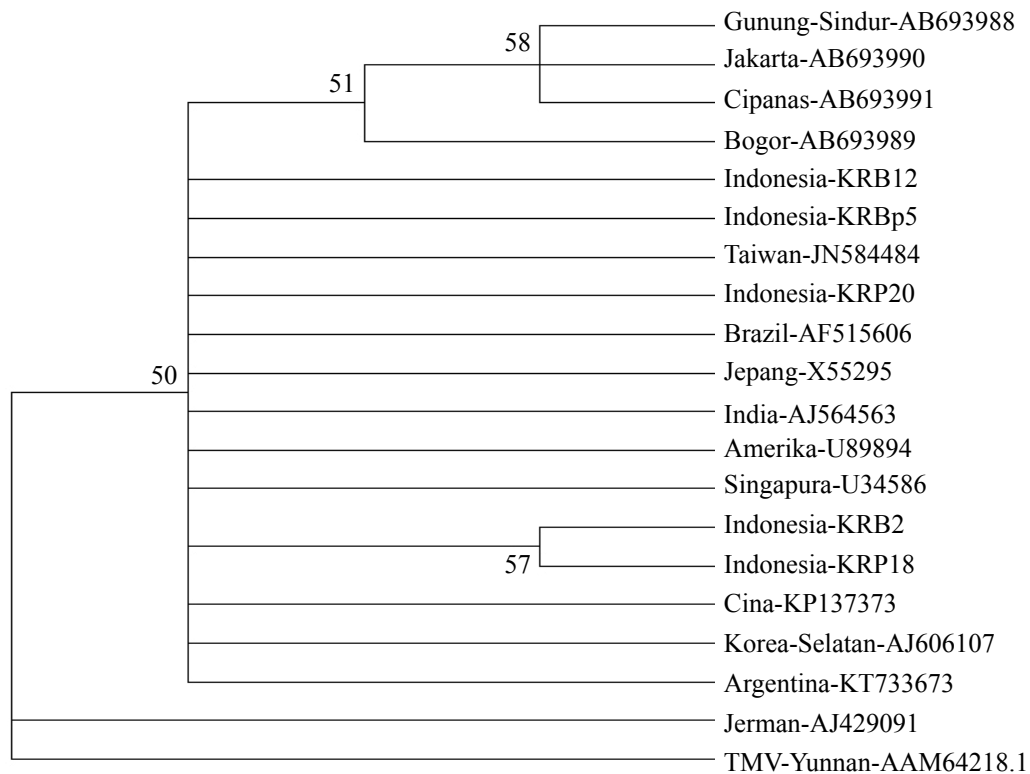
Tabel 1 Tingkat homologi nukleotida gen CP 5 isolat ORSV asal **anggrek alam** Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain

No	Asal Isolat	No.Akresi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Indonesia-KRB2	-	100	ID																		
2	Indonesia-KRB12	-	99.5	100	ID																	
3	Indonesia-KRP18	-	97.9	98.7	100	ID																
4	Indonesia-KRP20	-	99.4	98.9	98.3	100	ID															
5	Indonesia-KRBp5	-	99.8	98.7	98.1	99.6	100	ID														
6	Indonesia-Bogor	AB693989	96.6	96.6	96.0	96.6	96.6	100	ID													
7	Indonesia-Cipanas	AB693991	98.7	99.4	98.7	99.2	98.9	97.3	100	ID												
8	Indonesia-Gunung Sindur	AB693988	98.7	99.4	96.6	99.2	98.9	100	95.1	100	ID											
9	Indonesia-Jakarta	AB693990	96.6	97.3	98.7	97.0	96.8	97.9	97.9	96.8	100	ID										
10	Singapura	U34586	98.7	99.4	98.9	99.2	98.9	99.6	99.6	97.5	97.0	100	ID									
11	India	AJ564563	98.9	99.6	98.5	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	96.8	100	ID								
12	Jepang	X55295	98.5	99.2	98.3	98.9	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	96.6	100	ID							
13	Korea Selatan	AJ606107	98.3	98.9	98.3	98.7	99.5	99.2	99.2	97.0	99.2	99.4	98.9	96.6	100	ID						
14	Cina	KP137373	98.5	99.2	98.5	98.8	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	99.2	98.9	97.0	100	ID					
15	Taiwan	JN584484	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	97.0	100	ID				
16	Amerika	U89894	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	100	94.3	100	ID			
17	Jerman	AJ429091	96.2	96.8	96.2	96.6	96.4	97.0	97.0	94.9	97.0	97.3	98.8	99.6	99.8	97.3	97.3	96.7	100	ID		
18	Argentina	KT733673	97.4	98.0	97.7	98.0	97.7	98.4	98.4	95.1	98.4	98.7	98.4	98.4	98.4	98.7	98.7	94.8	84.3	100	ID	
19	Brazil	AF515606	86.0	86.5	85.9	86.2	86.2	86.8	86.8	84.7	86.8	87.0	86.6	86.8	86.6	87.0	87.0	84.3	98.4	96.6	100	ID
20	TMV-Yunnan	AAM64218.1	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.7	67.7	66.5	67.9	67.9	66.7	68.4	68.4	67.9	97.9	67.3	67.7	61.4	100	100

Tingkat homologi nukleotidagen CP ORSVasal anggrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program *DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*

Tabel 2 Frekuensi asam amino gen CP ORSV asal **anggrek alam** Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asam Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
KRB2	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91
KRB12	5.43	4.35	2.17	0.00	6.52	6.53	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	9.78	4.29	5.43	4.35	17.39	6.52	4.35	1.09	7.61	92
KRP18	5.43	6.52	2.17	0.00	6.52	4.35	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	10.87	5.43	5.43	4.35	17.39	6.52	3.26	1.09	7.61	92
KRP20	4.44	4.44	2.22	0.00	6.67	5.56	0.00	2.22	1.11	8.89	1.11	10.00	5.56	5.56	4.44	18.89	6.67	3.33	1.11	7.78	90
KRBp5	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91



Gambar 2 Pohon filogenetika isolat ORSV berdasarkan sikuen nukleotida gen CP 4 isolat dari Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain. TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding luar grup

kesalahan yang terjadi selama proses replikasi genom. Namun dengan ukuran genom virus yang relatif kecil maka adanya sedikit kesalahan akan memberikan pengaruh laju mutasi secara nyata. Laju mutasi akan menghasilkan variasi genetika virus sehingga meningkatkan probabilitas evolusi lebih cepat. Cabang yang cukup panjang pada isolat KRB2 dan KRP18 juga mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan dapat mengarah terjadinya spesiasi.

ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman. BPPP (2005) mencatat Jerman menduduki peringkat 14 sebagai negara yang mengirim benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997–2001, selain Amerika Serikat, Brazil, India, Singapura, Korea Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh laporan adanya infeksi ORSV di Jerman, Amerika Serikat, Jepang (Lawson 1990), Brazil (Freitas *et al.* 1999), India (Sherpa *et al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994), Taiwan (Chang 2008), Korea (Chang *et al.*

1991), Cina (Rao *et al.* 2015), dan Taiwan (Zheng *et al.* 2008). Berdasarkan hal tersebut, cara lain yang efektif untuk melindungi dan mempertahankan status kesehatan anggrek alam di Indonesia ialah dengan membatasi dan mengontrol impor anggrek dari negara lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh 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

Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three common viruses infecting orchids. *Arch Virol.* 159(11):3095–3099. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2161-9>.

- Barry K, Hu JS, Kuehnle AR, Sughii N. 1996. Sequence analysis and detection using immunocapture-PCR of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in Hawaiian orchids. *J Phytopathol.* 144(4):179–186. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb01511.x>.
- [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI.
- Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce clean orchid plantlets. *Orchids.* 77(9):668–671.
- Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid protein gene. *Transgenic Research.* 14:41–46. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11248-004-2373-y>.
- Chang CG, Wong SM, Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Kao MC, Chung MC, Watanabe Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum ringspot virus* and comparison with other Tobamoviruses. *Gene.* 171(2):155–161. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(96\)00046-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(96)00046-7).
- Chang MU, Chun HH, Baik DH, Chung JD. 1991. Studies on the viruses in orchids in Korea. *Dendrobium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Orchid fleck virus*, and unidentified potyvirus. *Korean J Plant Pathol.* 7:118–129.
- Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei virus yang menyerang labu-labuan di Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Perlin Tan Indones.* 15:83–89.
- Freitas AJ, Rezende JAM, Kitajima EW. 1999. Incidence of orchid viruses in the state of São Paulo, Brazil. *Fitopatol Bras.* 24(2):125–130.
- Hu JS, Ferreira S, Wang M, Xu MQ. 1993. Detection of *Cymbidium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Tomato spotted wilt virus*, and *Potyriviruses* infecting orchids in Hawaii. *Plant Dis.* 77:464–468. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-77-0464>.
- Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and identification of viruses of orchid in Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109–118.
- Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Khentry Y, Paradornuwat A, Tantiwiwat S, Phansiri S, Thaveechai N. 2006. Incidence of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Protec.* 25(9):926–932. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.12.002>.
- Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.015>.
- Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*; 2011 Sep 23–24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.
- Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati J Biosci.* 17(2):101–104. DOI: <https://doi.org/10.4308/hjb.17.2.101>.
- Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman anggrek di Pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest and diseases*, AM Pridgeon, LL Tillman, editor. Florida (US): American Orchid Society. West Palm Beach. Hlm 66–101.
- Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT-PCR detection of two orchid viruses with an internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187–196.

- Menisa F. 2009. Deteksi dan identifikasi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Identification of viruses affecting orchids (*Cymbidium* Sw.). *Biologija*. 2:29–34.
- Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, Xiang M. 2015. Genetic diversities of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* isolates based on the coat protein genes from orchids in Guangdong Province, China. *J Phytopathol*. 163(4):324–329. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12285>.
- Sherpa AR, Bag TK, Hallan V, Zaidi AA. 2006. Detection of *Odontoglossum ringspot virus* in orchids from Sikkim, India. *Australas Plant Pathol*. 35(1):69–71. DOI: <https://doi.org/10.1071/ap05094>.
- Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) on Vanda plants. *IJSR*. 4(1):374–377.
- Syahierah P. 2010. Respon berbagai jenis anggrek (*Orchidaceae*) terhadap infeksi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wong SM, Chng, CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. 1994. Incidence of *Cymbidium mosaic* and *Odontoglossum ringspot* viruses and their significance in orchid cultivation in Singapore. *Crop Protec*. 13(3):235–239. DOI: [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90084-1).
- Zettler FW, KoNJ, WislerGC, ElliotMS, WongSM. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis*. 74:621–626. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-74-0621>.
- Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ. 2008. Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur J Plant Pathol*. 121(1):87–95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9281-6>.

13.

Proofread Naskah

Compose

- Inbox 283
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel
- Folders Hide
- + New Folder

← Back →

Proofread Naskah No 211 (JFI Vol 13 No 1) Yahoo/Inbox ☆

Jurnal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gmail.com>
 To: Mahfut Kariem, mahfut.mipa@fmipa.unila.ac.id
 Fri, Apr 28, 2017 at 3:15 PM ☆

Kepada Yth.,
 Bapak Mahfut,
 di Universitas Lampung




Berikut Kami kirimkan contoh cetak naskah Bapak yang berjudul "**Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia**"

Naskah Bapak telah melalui proses penyuntingan dan layout, untuk itu mohon naskah dapat dikoreksi kembali.

Jika ada perbaikan, mohon dituliskan pada file pdf menggunakan add Sticky note atau pada file terpisah. Selain itu, Kami kirimkan juga invoice biaya cetak naskah. Mohon bukti proofread dapat ditandatangani dan dikirimkan kembali ke redaksi Jurnal Fitopatologi Indonesia.

Kami menunggu hasil koreksi naskah Bapak 1 hari setelah email ini diterima. Jika Bapak tidak mengembalikan pada batas waktu yang ditentukan maka Kami anggap Bapak menyetujui contoh cetak yang kami kirimkan. Terima kasih atas perhatiannya.


Salam,
Editor Jurnal Fitopatologi Indonesia
[Download all attachments as a zip file](#)

 1 211-Mahfu... .pdf 817.7kB	 1-Bukti Pro... .docx 24.9kB	 1-Invoice Bia... .pdf 36.8kB
---	---	--

← → ...

Reply, Reply All or Forward

Ok Thank you Received

Send 

1 211-Mahfut et al-Proofread.pdf Page 1 of 8

JURNAL
FITOPATOLOGI
 INDONESIA
 ISSN: 0215-7950

Volume 13, Nomor 1, Januari 2017
 Halaman 1-8
 DOI: 10.144692/jfi.13.1.1-8

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* on Native Orchids Collection of Botanical Gardens in Indonesia

Mahfut*, Budi Setiadi Daryono, Soesanto Soemawijaya†
 *Universitas Lampung, Lampung 35149
 †Universitas Cendekia Maca, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek asli merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman anggrek. Infeksi virus menjadi salah satu faktor pembatas dalam budidaya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek asli. Sampel dikoleksi dari tanaman bergala asli 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Bogor, Cibodas, Purwokerto, Balikpapan, dan Erekang. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antisera spesifik ORSV, dilanjutkan dengan metode *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR), dan penentuan DNA Uji serologi menggunakan 5 sampel berkecukupan terhadap infeksi ORSV, yaitu pada *Phaiolanopsis andalensis* (GR2) dan *Phaiolanopsis andalensis* (KR1) di Kebun Raya Bogor, *Phaiolanopsis andalensis* (KRP1) dan *Dendrobates sudanense* (KRPM) dari Kebun Raya Purwokerto, dan *Phaiolanopsis modesta* J. J. Sm. (KR16) dari Kebun Raya Balikpapan. Dengan asumsi tidak ada sampel terinfeksi dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik gen *ORSV*, *ORSV* menghasilkan fragmen DNA berukuran = 474 pb. Analisis homologi 5 isolat ORSV tersebut menunjukkan nilai indeks similitas (IS) sebesar 99.8% dengan 14 isolat ORSV yang diketahui. Analisis filogenetik menunjukkan isolat KR2 dan isolat KRP18 berada dalam satu kelompok dan merupakan isolat ORSV dari negara-negara lain. Ini adalah laporan pertama adanya infeksi ORSV pada anggrek asli koleksi 5 kebun raya di Indonesia.

Kata kunci: analisis filogenetik, homologi, serologi, RT-PCR.

ABSTRACT

Native orchid is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials

JURNAL FITOPATOLOGI INDONESIA
PERHIMPUNAN FITOPATOLOGI INDONESIA
(THE INDONESIAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY)

Alamat Editor: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Jalan. Kamper, Kampus IPB, Darmaga-Bogor,
Telepon/Faks +62 251 8621267, Surel: jurnal.fitopatologi@gmail.com
Alamat Sekjen PFI Pusat: Jalan Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281 Telpn/Faks +62 274 523926,
Surel: sekjenpfi@faperta.ugm.ac.id

BUKTI PERSETUJUAN
PROOF READING

Penulis dengan keterangan dibawah ini:

Judul : **Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia**
Penulis : **Mahfut, Budi Setiadi Daryono, Soesanto Somowiyarjo**
Korespondensi : **Mahfut. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jalan Sumantri Brojonegoro No. 01, Lampung 35145. Tel: 0721-704625, Faks: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com**

Menyatakan bahwa:

- a. Telah melakukan pengecekan naskah (*proof reading*), termasuk tabel dan gambar. Apabila terjadi kesalahan ketik bukan menjadi tanggung jawab Redaksi Jurnal Fitopatologi Indonesia.
Catatan: Apabila resolusi gambar kurang bagus. Mohon dikirim file asli secara terpisah.
- b. Apabila ditemukan kesalahan setelah proses cetak adalah menjadi tanggung jawab penulis.
- c. Kandungan isi tulisan pada naskah adalah benar dan telah mengikuti kaidah ilmiah.
- d. Bersedia membayar biaya penerbitan naskah per halaman sebesar Rp125 000.- (halaman hitam putih) dan Rp500 000 (halaman berwarna).
- a. Memberikan persetujuan untuk dapat diterbitkan di Jurnal Fitopatologi Indonesia.

Demikian surat persetujuan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bogor, _____ 2017
Penulis Jurnal Fitopatologi Indonesia

Nama lengkap

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia

Detection of *Odontoglossum ringspot virus* on Native Orchids Collection of Botanical Gardens in Indonesia

Mahfut^{1*}, Budi Setiadi Daryono², Soesanto Somowiyarjo²

¹Universitas Lampung, Lampung 35145

²Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRAK

Anggrek asli merupakan salah satu kekayaan flora asli Indonesia yang memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman anggrek. Infeksi virus menjadi salah satu faktor pembatas dalam budi daya anggrek. Penelitian bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi anggrek asli. Sampel dikoleksi dari tanaman bergejala asal 5 kebun raya di Indonesia, yaitu Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, dan Enrekang. Deteksi dan identifikasi dilakukan secara serologi menggunakan antiserum spesifik ORSV, dilanjutkan dengan metode *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR), dan perunut DNA. Uji serologi menunjukkan 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV, yaitu pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) dan *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) dari Kebun Raya Bogor, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) dan *Dendrobium salacence* (KRP20) dari Kebun Raya Purwodadi, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) dari Kebun Raya Balikpapan. Deteksi asam nukleat 5 sampel tersebut dengan RT-PCR menggunakan primer spesifik gen *coat protein* ORSV menghasilkan fragmen DNA berukuran ± 474 pb. Analisis homologi 5 isolat ORSV tersebut menunjukkan nilai indeks similaritas (IS) sebesar 99.8% dengan 14 isolat ORSV lain. Analisis filogenetika menunjukkan isolat KRB2 dan isolat KRP18 berada dalam satu kelompok dan terpisah dengan isolat ORSV dari negara-negara lain. Ini adalah laporan pertama adanya infeksi ORSV pada anggrek asli koleksi 5 kebun raya di Indonesia.

Kata kunci: analisis filogenetika, homologi, serologi, RT-PCR

ABSTRACT

Native orchid is one of Indonesian natural resources which play important role as parental materials in breeding program. Virus infection is one of the limiting factors in the cultivation of orchid. The purpose of this study was to detect *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from native orchid. Symptomatic orchids were collected from 5 botanical gardens, i.e. Bogor, Cibodas, Purwodadi, Balikpapan, and Enrekang Botanical Gardens. Detection and identification was conducted by serological method using ORSV specific antisera, followed by RT-PCR and DNA sequencing. The serological test showed that 5 samples gave positive reaction against ORSV antiserum, i.e. *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2) and *Phalaenopsis amabilis* (KRB12) from Bogor Botanical Garden, *Phalaenopsis amabilis* (KRP18) and *Dendrobium salacence* (KRP20) from Purwodadi Botanical Garden, dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5) from Balikpapan Botanical Garden. RT-PCR of the 5 samples using specific primer of ORSV coat protein gene was successfully amplified fragment DNA with size ± 474 bp. Homology analysis of those 5 ORSV isolates showed the highest index similarity of 99.8% with corresponding

*Alamat penulis korespondensi: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jalan Sumantri Brojonegoro No. 01, Lampung 35145.
Tel: 0721-704625, Faks: 0721-704625.; surel: mahfutkariem@yahoo.com

sequences from 14 other ORSV isolates. Phylogenetic analysis indicated that ORSV KRB2 and KRP18 isolates was clustered in a separate group far from ORSV isolates in other countries. This is the first report of ORSV infection on native orchids collection from 5 botanical gardens in Indonesia.

Key words: homology, phylogenetic analysis, RT-PCR, serology

PENDAHULUAN

Anggrek asli memiliki peran penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman yang bertujuan memperluas keragaman genetika bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, dan tahan terhadap patogen serta cekaman lingkungan. Serangan hama penyakit menjadi salah satu kendala dalam budi daya dan pengembangan potensi anggrek. Anggrek dilaporkan dapat terinfeksi 50 jenis virus (Zettler *et al.* 1990; Chang *et al.* 2005; Navalinskiene *et al.* 2005). Beberapa virus yang dilaporkan menginfeksi anggrek dan memiliki penyebaran luas di Indonesia ialah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) (Inouye dan Gara 1996; Isnawati 2009; Syahierah 2010; Lakani *et al.* 2010; Kumalawati *et al.* 2011; Mahfut *et al.* 2016), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Inouye dan Gara 1996; Menisa 2009; Kumalawati *et al.* 2011; Lakani 2011), *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus* (Lakani 2011). ORSV merupakan virus yang dominan menginfeksi pertanaman anggrek di dunia (Ali *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015).

Infeksi virus pada tanaman anggrek menyebabkan penurunan vigor tanaman dan kualitas bunga (Koh *et al.* 2014; Sudha dan Rani 2015). ORSV menyebabkan kerugian secara ekonomi akibat menurunnya kualitas bunga di Florida, Hawaii, India, Taiwan, Thailand, Singapura, dan Australia (Zettler *et al.* 1990; Hu *et al.* 1993; Wong *et al.* 1994; Barry *et al.* 1996; Chang *et al.* 1996; Sherpa *et al.* 2006; Khentry *et al.* 2006; Chang 2008; Ali *et al.* 2014).

Berdasarkan survei pada 5 kebun raya (KR) di Indonesia, yaitu; KR Bogor (Jawa Barat), KR Cibodas (Jawa Barat), KR Purwodadi (Jawa Timur), KR Balikpapan (Kalimantan Timur), dan KR Enrekang (Makasar) selama

tahun 2010-2014 banyak dijumpai anggrek asli dengan gejala terinfeksi virus yang diduga disebabkan oleh ORSV. Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi ORSV untuk pemutakhiran status kesehatan anggrek asli koleksi kebun raya di Indonesia. Penerapan hasil penelitian ini menjadi salah satu upaya potensial pendukung konsep konservasi anggrek asli di Indonesia melalui upaya perlindungan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Deteksi Protein dengan secara Serologi

Deteksi serologi untuk menentukan insidensi infeksi virus menggunakan metode DAS-ELISA terhadap 44 total sampel daun anggrek (dari 27 genus) paling representatif berdasarkan pada gejala infeksi dari masing-masing lokasi. ELISA menggunakan antiserum spesifik ORSV sesuai dengan protokol yang direkomendasikan pembuat antiserum (Agdia Inc.). Pewarnaan dengan substrat PNP dibaca menggunakan ELISA-reader (BioTek) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dinyatakan positif apabila nilai absorbansinya mendekati nilai kontrol positif atau paling tidak 2–3 kali nilai absorbansi bufer kontrol (Daryono dan Natsuaki 2009).

Deteksi Asam Nukleat dengan RT-PCR

Isolasi RNA dilakukan pada sampel positif terinfeksi ORSV secara ELISA, menggunakan total RNA *isolation kit* dan dilakukan sesuai dengan protokol (SBS Genetech Co., Ltd., China). Amplifikasi RNA dengan RT-PCR dilakukan dengan metode terpisah menggunakan primer spesifik, yaitu ORSV CP-F1 (5'-ATGTCTTACACTATTACAGACCCG-3') dan ORSV CP-R1 (5'-GGAAGAGGTCCAA GTAAGTCC-3') (Lee dan Chang 2006).

Tahap *reverse transcription* (RT) dilakukan dengan *first strand cDNA synthesis kit* (Thermo Scientific, USA), selanjutnya cDNA yang terbentuk digunakan sebagai cetakan dalam tahap PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix* (Promega, USA). Reaksi RT dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 96 °C selama 5 menit dan diakhiri pada suhu 4 °C. Amplifikasi cDNA diawali dengan tahap pre-denaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 34 siklus, meliputi denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, aneling pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan ekstensi pada suhu 70 °C selama 1 menit.

Produk PCR dianalisis menggunakan elektroforesis pada gel agarosa 2% dalam bufer TBE 1× menggunakan voltase 50 Volt selama 40 menit. Gel agarosa direndam dalam etidium bromida (10 µL 100 mL⁻¹) selama 30 menit. Pita DNA divisualisasi pada transluminator UV (Bio-Rad Transilluminator 2000) dan didokumentasikan.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetika

DNA hasil amplifikasi diruntut sikuen nukleotidanya dengan mengirimkan DNA ke FirstBase, Malaysia. Sikuen nukleotida dianalisis dan digabungkan dengan peranti lunak *Suite for Sequence Analysis DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*. Analisis penyejajaran sikuen nukleotida ORSV isolat dari Indonesia dilakukan terhadap sikuen yang terdaftar di GenBank menggunakan *basic local alignment search tool* (BLAST) (www.ncbi.nlm.nih.gov). Seleksi berdasarkan distribusi daerah terpilih diperoleh 4 isolat ORSV terdaftar asal Indonesia dan 10 isolat ORSV asal dari negara lain (Singapura, Cina, India, Jerman, Korea Selatan, Argentina, dan Brazil). Isolat TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding di luar grup (*outgroup*).

Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan peranti lunak *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) versi 5 Beta) dengan metode *neighbor joining* (NJ) dan Kimura-2 parameter model untuk estimasi jarak. Nilai *bootstrap* yang digunakan ialah sebanyak 1000 kali pengulangan.

HASIL

Deteksi Virus

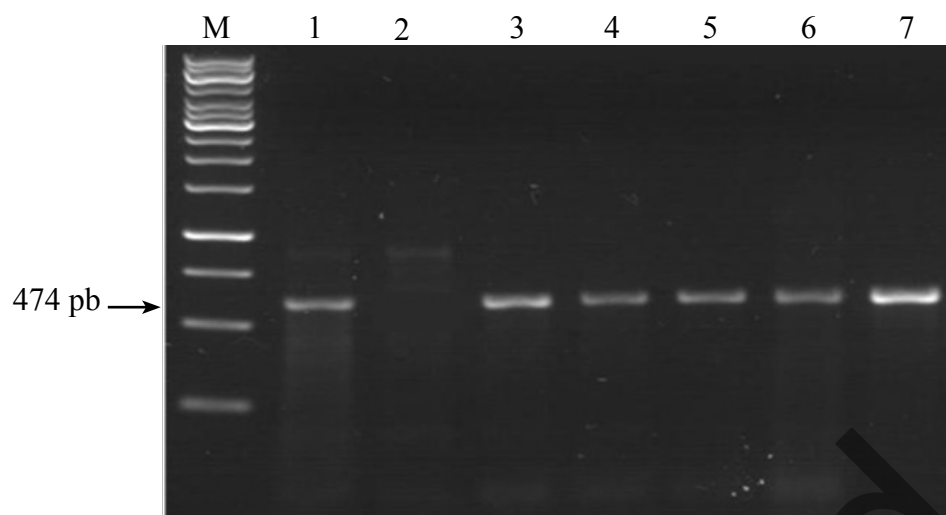
Hasil deteksi serologi menunjukkan insidensi infeksi virus sebesar 11.4%. Sebanyak 5 sampel bereaksi positif terhadap antiserum ORSV dengan rerata nilai absorbansi berkisar 1.125–1.152, yaitu 2 sampel berasal dari KR Bogor (KRB2, KRB12), 2 sampel dari KR Purwodadi (KRP18, KRP20), dan 1 sampel dari KR Balikpapan (KRBp5). Dari keseluruhan sampel anggrek yang positif tersebut, 4 di antaranya merupakan *Phalaenopsis* sp. Sampel daun positif yang terinfeksi ORSV ialah pada *Phalaenopsis amboinensis* (KRB2), *Phalaenopsis amabilis* (KRB12), *Phalaenopsis amabilis* (KRP18), *Dendrobium salacence* (KRP20), dan *Phalaenopsis modesta* J. J. Sm. (KRBp5). RT-PCR pada 5 sampel positif ORSV menunjukkan adanya fragmen DNA berukuran ± 474 pb (Gambar 1).

Analisis Sikuen Nukleotida

Total nukleotida gen CP isolat ORSV-KRB2, KRB12, KRP18, KRP20, dan KRBp5 berukuran 474–480 nukleotida. Analisis BLAST terhadap masing-masing isolat menunjukkan bahwa 5 isolat tersebut memiliki homologi sebesar 99% dengan isolat ORSV dari negara Asia, Afrika, Amerika, dan Eropa. Hasil analisis 14 isolat ORSV lain menunjukkan homologi sampai dengan 99.8% dengan isolat ORSV asal kebun raya di Indonesia (Tabel 1).

Pohon Filogenetika Gen CP ORSV

Hasil penyejajaran sikeun nukleotida menunjukkan adanya mutasi titik berupa substitusi dan insersi pada isolat ORSV di Indonesia. Isolat KRP18 dan KRB12 mengalami kejadian mutasi terbanyak, yaitu transisi dan insersi masing-masing 2 kali sehingga kedua isolat ini terpisah dengan isolat Indonesia lainnya. Efek mutasi yang terjadi mampu menyebabkan perubahan pada triplet kodon penyandi asam amino. Isolat KRP18 menunjukkan perbedaan pada frekuensi asam amino Gly dan Val yang mengalami penurunan masing-masing 4.7% dan 3.6% serta peningkatan pada Cys dan



Gambar 1 Visualisasi hasil RT-PCR beberapa isolat ORSV pada gel agarosa 2%. M, Penanda DNA 1 kb (Rainbow invitrogen); 1, kontrol positif; 2, kontrol negatif dari tanaman sehat; 3–4, ORSV dari Kebun Raya Bogor (KRB2 dan KRB12); 5–6, ORSV dari Kebun Raya Puwodadi (KRP18 dan KRP20) dan; 7, ORSV dari Kebun Raya Balikpapan (KRBp5).

Asn sebesar 7.1% dan 11.8%. Berbeda dengan isolat KRB12 yang mengalami peningkatan pada asam amino Gly dan Ala sebesar 7.2% dan 5.9%, serta penurunan pada Pro 0.8% dan Tyr 4.7% (Tabel 2). Pada sikeun nukleotida gen CP isolat ORSV dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya delesi.

Analisis filogenetika menunjukkan bahwa 5 isolat ORSV asal KR di Indonesia memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Hasil analisis pohon filogenetika membagi isolat ORSV menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok isolat Jerman yang terpisah dengan kelompok 18 isolat lainnya. Kelompok ini terbagi menjadi 3 subgrup, yaitu 4 isolat Indonesia yang telah terdaftar di Genbank, 3 isolat kebun raya (Bogor, Balikpapan, dan Purwodadi) dengan 10 isolat dari negara lain, serta 2 isolat KRB2 dan KRP18. Isolat KRB2 dan KRP18 terpisah dari isolat ORSV asal negara lain (Gambar 2). Walaupun keseluruhan isolat membentuk beberapa kelompok, namun kekerabatan antarisolat masih sangat dekat. Hal ini terlihat pada pohon filogenetika tersebut hanya membentuk subgrup.

PEMBAHASAN

Upaya pemeliharaan anggrek sebaiknya dilakukan secara rutin untuk pemantauan

perkembangan dan penyebaran penyakit virus serta tindakan pengendaliannya sedini mungkin. Meskipun insidensinya masih rendah, yaitu <20%, sama seperti yang dilaporkan oleh Lakani (2011), infeksi ORSV harus mendapat perhatian serius mengingat virus ini paling banyak menginfeksi (Zettler *et al.* 1990). Di Indonesia, ORSV dilaporkan telah menginfeksi 9 dari total 27 genus anggrek di dunia, yaitu *Aranda*, *Grammatophyllum*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Bulbophyllum*, *Calanthe*, *Cattleya*, dan *Oncidium* (Inouye dan Gara 1996).

Beberapa mutasi nukleotida yang terjadi menyebabkan 2 isolat ORSV, yaitu KRB12 dan KRP18 terpisah dengan isolat lainnya. Proses terjadinya mutasi nukleotida pada masing-masing isolat didukung oleh kemampuan alami virus untuk beradaptasi dengan lingkungan. Mutasi nukleotida selanjutnya menyebabkan perubahan asam amino yang terbentuk dalam susunan genom virus. Perubahan asam amino tersebut akan mengubah fungsi gen yang disusun sehingga infektivitasnya juga berubah (Lakani *et al.* 2010).

Gen *coat protein* (CP) bersifat *conserved* sehingga memiliki kemampuan mekanisme *proofreading* seperti umumnya gen nuklear lainnya. Hal ini menyebabkan virus dapat melakukan koreksi dan memperbaiki

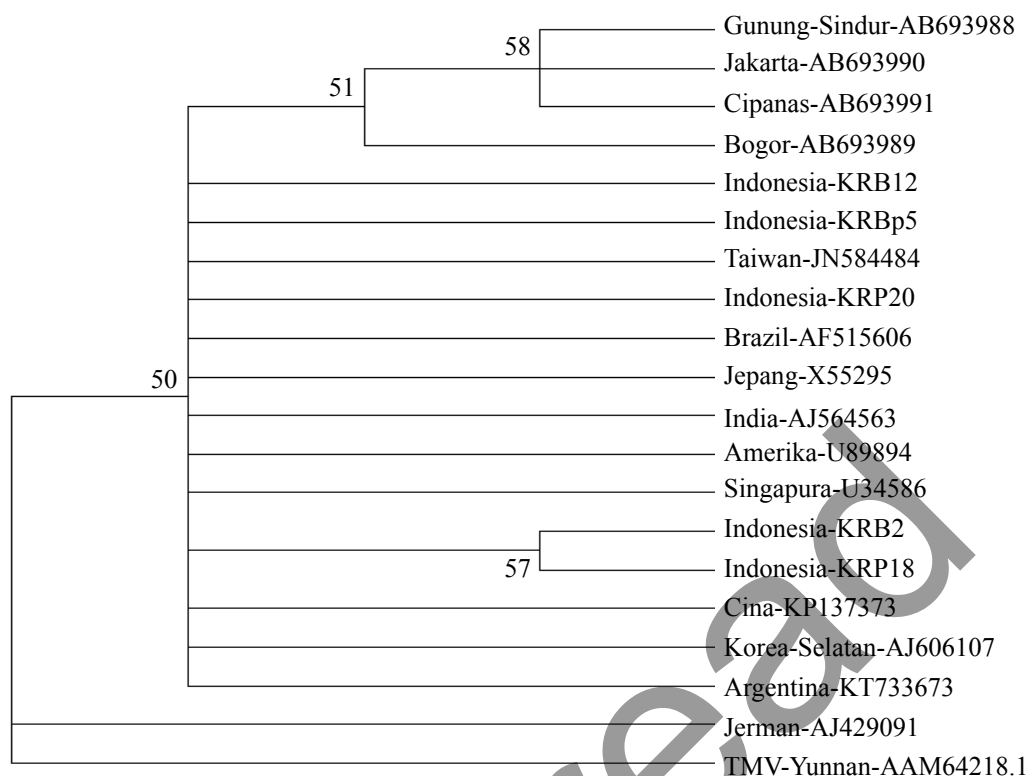
Tabel 1 Tingkat homologi nukleotida gen CP 5 isolat ORSV asal angrek asli Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain

No	Asal Isolat	No.Aksesi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Indonesia-KRB2	-	100	ID																		
2	Indonesia-KRB12	-	99.5	100	ID																	
3	Indonesia-KRP18	-	97.9	98.7	100	ID																
4	Indonesia-KRP20	-	99.4	98.9	98.3	100	ID															
5	Indonesia-KRBp5	-	99.8	98.7	98.1	99.6	100	ID														
6	Indonesia-Bogor	AB693989	96.6	96.6	96.0	96.6	96.6	100	ID													
7	Indonesia-Cipanas	AB693991	98.7	99.4	98.7	99.2	98.9	97.3	100	ID												
8	Indonesia-Gunung Sindur	AB693988	98.7	99.4	96.6	99.2	98.9	100	95.1	100	ID											
9	Indonesia-Jakarta	AB693990	96.6	97.3	98.7	97.0	96.8	97.9	97.9	96.8	100	ID										
10	Singapura	U34586	98.7	99.4	98.9	99.2	98.9	99.6	99.6	97.5	97.0	100	ID									
11	India	AJ564563	98.9	99.6	98.5	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	96.8	100	ID								
12	Jepang	X55295	98.5	99.2	98.3	98.9	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	96.6	100	ID							
13	Korea Selatan	AJ606107	98.3	98.9	98.3	98.7	99.5	99.2	99.2	97.0	99.2	99.4	98.9	96.6	100	ID						
14	Cina	KP137373	98.5	99.2	98.5	98.8	98.7	99.4	99.4	97.3	99.4	99.6	99.2	98.9	97.0	100	ID					
15	Taiwan	JN584484	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	97.0	100	ID				
16	Amerika	U89894	98.9	99.6	98.9	99.4	99.2	99.8	99.8	97.7	99.8	100	99.6	99.4	99.6	100	94.3	100	ID			
17	Jerman	AJ429091	96.2	96.8	96.2	96.6	96.4	97.0	97.0	94.9	97.0	97.3	98.8	99.6	99.8	97.3	97.3	96.7	100	ID		
18	Argentina	KT733673	97.4	98.0	97.7	98.0	97.7	98.4	98.4	95.1	98.4	98.7	98.4	98.4	98.4	98.7	98.7	94.8	84.3	100	ID	
19	Brazil	AF515606	86.0	86.5	85.9	86.2	86.2	86.8	86.8	84.7	86.8	87.0	86.6	86.8	86.6	87.0	87.0	84.3	98.4	96.6	100	ID
20	TMV-Yunnan	AAM64218.1	68.2	68.2	67.9	67.7	67.7	67.7	67.7	66.5	67.9	67.9	66.7	68.4	68.4	67.9	97.9	67.3	67.7	61.4	100	100

Tingkat homologi nukleotidagen CP ORSVasal angrek alam Indonesia dihitung menggunakan Program *DNASTAR Lasergene DM Version 3.0.25*

Tabel 2 Frekuensi asam amino gen CP ORSV asal angrek asli Indonesia

Asal Isolat	Frekuensi Asam Amino (%)																				
	Ala	Cys	Asp	Glu	Phe	Gly	His	Ile	Lys	Leu	Met	Asn	Pro	Gln	Arg	Ser	Thr	Val	Trp	Tyr	Total
KRB2	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91
KRB12	5.43	4.35	2.17	0.00	6.52	6.53	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	9.78	4.29	5.43	4.35	17.39	6.52	4.35	1.09	7.61	92
KRP18	5.43	6.52	2.17	0.00	6.52	4.35	0.00	2.17	1.09	8.70	1.09	10.87	5.43	5.43	4.35	17.39	6.52	3.26	1.09	7.61	92
KRP20	4.44	4.44	2.22	0.00	6.67	5.56	0.00	2.22	1.11	8.89	1.11	10.00	5.56	5.56	4.44	18.89	6.67	3.33	1.11	7.78	90
KRBp5	4.40	4.40	2.20	0.00	5.49	5.49	0.00	2.20	1.10	8.79	1.10	9.89	5.49	5.49	4.40	18.68	7.69	4.40	1.10	7.69	91



Gambar 2 Pohon filogenetika isolat ORSV berdasarkan sikuen nukleotida gen CP 4 isolat dari Indonesia dibandingkan dengan isolat dari negara lain. TMV-Yunnan digunakan sebagai pembanding luar grup

kesalahan yang terjadi selama proses replikasi genom. Namun dengan ukuran genom virus yang relatif kecil maka adanya sedikit kesalahan akan memberikan pengaruh laju mutasi secara nyata. Laju mutasi akan menghasilkan variasi genetika virus sehingga meningkatkan probabilitas evolusi lebih cepat. Cabang yang cukup panjang pada isolat KRB2 dan KRP18 juga mengindikasikan bahwa virus telah berevolusi, bahkan dapat mengarah terjadinya spesiasi.

ORSV Indonesia diduga berasal dari negara Jerman. BPPP (2005) mencatat Jerman menduduki peringkat 14 sebagai negara yang mengirim benih dan tanaman anggrek ke Indonesia sejak 1997–2001, selain Amerika Serikat, Brazil, India, Singapura, Korea Selatan, Cina, Jepang, Taiwan, dan beberapa negara Asia Barat. Hal ini diperkuat oleh laporan adanya infeksi ORSV di Jerman, Amerika Serikat, Jepang (Lawson 1990), Brazil (Freitas *et al.* 1999), India (Sherpa *et al.* 2006), Singapura (Wong *et al.* 1994), Taiwan (Chang 2008), Korea (Chang *et al.*

1991), Cina (Rao *et al.* 2015), dan Taiwan (Zheng *et al.* 2008). Berdasarkan hal tersebut, cara lain yang efektif untuk melindungi dan mempertahankan status kesehatan anggrek asli di Indonesia ialah dengan membatasi dan mengontrol impor anggrek dari negara lain.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh 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

Ali RN, Dann AL, Cross PA, Wilson CR. 2014. Multiplex RT-PCR detection of three common viruses infecting orchids. Arch Virol. 159(11):3095–3099. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2161-9>.

- Barry K, Hu JS, Kuehnle AR, Sughii N. 1996. Sequence analysis and detection using immunocapture-PCR of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in Hawaiian orchids. *J Phytopathol.* 144(4):179–186. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb01511.x>.
- [BPPP] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta (ID): Departemen Pertanian RI.
- Chang CA. 2008. Economically important orchid viruses. How to identify and produce clean orchid plantlets. *Orchids.* 77(9):668–671.
- Chang C, Chen CY, Hsu YH, Wu JT, Hu CC, Chang WC, Lin NS. 2005. Transgenic resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid protein gene. *Transgenic Research.* 14:41–46. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11248-004-2373-y>.
- Chang CG, Wong SM, Mahtani PH, Loh CS, Goh CJ, Kao MC, Chung MC, Watanabe Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of *Odontoglossum ringspot virus* and comparison with other Tobamoviruses. *Gene.* 171(2):155–161. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(96\)00046-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(96)00046-7).
- Chang MU, Chun HH, Baek DH, Chung JD. 1991. Studies on the viruses in orchids in Korea. *Dendrobium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Orchid fleck virus,* and unidentified potyvirus. *Korean J Plant Pathol.* 7:118–129.
- Daryono BS, Natsuaki KT. 2009. Survei virus yang menyerang labu-labuan di Yogyakarta dan Jawa Tengah. *J Perlin Tan Indones.* 15:83–89.
- Freitas AJ, Rezende JAM, Kitajima EW. 1999. Incidence of orchid viruses in the state of São Paulo, Brazil. *Fitopatol Bras.* 24(2):125–130.
- Hu JS, Ferreira S, Wang M, Xu MQ. 1993. Detection of *Cymbidium mosaic virus, Odontoglossum ringspot virus, Tomato spotted wilt virus,* and *Potyrviruses* infecting orchids in Hawaii. *Plant Dis.* 77:464–468. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-77-0464>.
- Inouye N, Gara, IW. 1996. Detection and identification of viruses of orchid in Indonesia. *Bull Res Inst.* 4:109–118.
- Isnawati L. 2009. Deteksi dan identifikasi *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Khentry Y, Paradornuwat A, Tantiwiwat S, Phansiri S, Thaveechai N. 2006. Incidence of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Protec.* 25(9):926–932. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.12.002>.
- Koh KW, Lu HC, Chan MT. 2014. Virus resistance in orchids. *Plant Sci.* 228:26–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.015>.
- Kumalawati AD, Abdullah S, Setiadi BS, Mahfut. 2011. Study on genetic diversity and conservation of orchids in Wonosadi forest, Gunung Kidul based on molecular analysis. Di dalam: *Prosiding International Conference on Biological Science*; 2011 Sep 23–24; Yogyakarta (ID): Fakultas Biologi UGM. Hlm. 54.
- Lakani I, Suastika G, Mattjik N, Damayanti TA. 2010. Identification and molecular characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati J Biosci.* 17(2):101–104. DOI: <https://doi.org/10.4308/hjb.17.2.101>.
- Lakani I. 2011. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman anggrek di Pulau Jawa [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lawson RH. 1990. Orchid viruses and their control. Di dalam: *Handbook on orchid pest and diseases*, AM Pridgeon, LL Tillman, editor. Florida (US): American Orchid Society. West Palm Beach. Hlm 66–101.
- Lee SC, Chang YC. 2006. Multiplex RT-PCR detection of two orchid viruses with an internal control of plant nad5 mRNA. *Plant Pathol Bull.* 15:187–196.

- Mahfut, Joko T, Daryono BS. 2016. Molecular Characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) in Java and Bali, Indonesia. *Asian J Plant Pathol*. 10(1–2):9-14. DOI: <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2016.9.14>.
- Menisa F. 2009. Deteksi dan identifikasi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada tanaman anggrek [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Navalinskiene MJ, Raugalas J, Samuitiene M. 2005. Identification of viruses affecting orchids (*Cymbidium* Sw.). *Biologija*. 2:29–34.
- Rao X, Li Y, Sun J, Li X, Li M, Xiang M. 2015. Genetic diversities of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* isolates based on the coat protein genes from orchids in Guangdong Province, China. *J Phytopathol*. 163(4):324–329. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12285>.
- Sherpa AR, Bag TK, Hallan V, Zaidi AA. 2006. Detection of *Odontoglossum ringspot virus* in orchids from Sikkim, India. *Australas Plant Pathol*. 35(1):69–71. DOI: <https://doi.org/10.1071/ap05094>.
- Sudha DR, Rani GU. 2015. Detection of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) on Vanda plants. *IJSR*. 4(1):374–377.
- Syahierah P. 2010. Respon berbagai jenis anggrek (*Orchidaceae*) terhadap infeksi *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wong SM, Chng, CG, Lee YH, Tan K, Zettler FW. 1994. Incidence of *Cymbidium mosaic* and *Odontoglossum ringspot viruses* and their significance in orchid cultivation in Singapore. *Crop Protec*. 13(3):235–239. DOI: [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(94\)90084-1](https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90084-1).
- Zettler FW, KoNJ, WislerGC, ElliotMS, WongSM. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis*. 74:621–626. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-74-0621>.
- Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ. 2008. Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur J Plant Pathol*. 121(1):87–95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9281-6>.

TAGIHAN BIAYA CETAK PENULIS

Kepada Yth.

Bapak Mahfut

Di Universitas Lampung

No.Tagihan: 001/BCP/JFI/13.I/2017

Tanggal : 28 April 2017

Jatuh Tempo: 15 Mei 2017

No. Naskah	Deskripsi	Jumlah	Harga/artikel (Rp)	Total (Rp.)
211	Halaman hitam-putih	8	125.000	1.000.000
	Halaman berwarna	-	-	-
Total Biaya				1.000.000

Mohon biaya cetak naskah Bapak/Ibu dapat ditransfer ke:

Bank Mandiri KCP Sholeh Iskandar Bogor

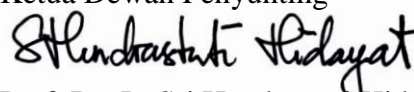
no rek. 900 000 364 6123 a/n Ifa Manzila dan Sri Hendrastuti Hidayat

Catatan: Mohon bukti pembayaran dapat dikirim melalui alamat email

jurnal.fitopatologi@gmail.com atau faks 0251 8621267.

Hormat kami,

Ketua Dewan Penyunting



Prof. Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, MSc.

14.

**Permohonan Softfile
Cover Jurnal, Dewan
Redaksi, Dewan
Editor Dan Naskah
Artikel**

Compose

- Inbox (283)
- Unread
- Starred
- Drafts
- Sent
- Archive
- Spam
- Trash
- Less
- Views Hide
- Photos
- Documents
- Subscriptions
- Shopping
- Receipts
- Travel

Back

Re: Permohonan softfile cover jurnal, dewan redaksi, dewan editor dan naskah artikel No 211 "Deteksi Odontoglossum ringspot virus (ORSV) Pada Anggrek Alam Koleksi Kebun Raya di Indonesia"

Journal Fitopatologi Indonesia <jurnal.fitopatologi@gn> To: Mahfut Kariem Wed, May 31, 2017 at 4:07 PM

Kepada Yth Bapak Mahfut, S.Si., M.Sc. di Universitas Lampung

Bersama ini kami kirimkan file Cover dan Halaman pengelola dan naskah Bapak untuk dipergunakan sebagaimana mestinya. Mohon maaf atas keterlambatan respons email, karena beberapa minggu ini ada gangguan jaringan pada server kami.

Salam Ketua Dewan Penyunting Jurnal Fitopatologi Indonesia

2017-05-14 3:22 GMT+07:00 Mahfut Kariem <mahfutkariem@yahoo.com>

Show original message

Naskah Nopdf 932kB

Reply, Reply All or Forward

Received. Ok. Thank you.

Send

ISSN 0215-7950
E-ISSN 2339-2479
Volume 13, Nomor 1, Januari 2017

FITOPATOLOGI INDONESIA

Deteksi *Odontoglossum ringspot virus* pada Anggrek Asli Koleksi Kebun Raya di Indonesia
Mahfut, Budi Setiadi Daryono, Soesanto Somowijanto 1

Keragaman Morfologi, Genetika, dan Patogenesis *Colletotrichum aratatum* Penyebab Antraknosa Cabai di Jawa dan Sumatera
Roy Ibrahim, Sri Hendrarnati Hidayat, Widodo 9

Mekanisme Pengendalian Penyakit Busuk Batang Jeruk oleh Khamir, Kitevan, Cendawan Mikoriza Arbuskular, dan Bakteri Simbiotiknya
Hagia Sophia Khairani, Mety Suradji Sinaga, Kikim Hamszak Managi 17

Spesies *Meloidogyne* Penyebab Puru Akar pada Seladri di Pacet, Cianjur, Jawa Barat
Fitriastriana Kurniasari, Supramana, Abdul Maim Adnan 26