

Deteksi Virus-Virus pada Kentang di Jawa Barat dengan Menggunakan Teknik Molekuler (*Detection of Viruses on Potato in West Java by Using Molecular Techniques*)

Damayanti, TA dan Kartika, R

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB, Jln. Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

E-mail: triasmiradamayanti@gmail.com

Naskah diterima tanggal 15 Oktober 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 18 Februari 2015

ABSTRAK. Gejala infeksi virus ditemukan bervariasi di sentra pertanaman kentang di Jawa Barat (Rancabali, Pangalengan, dan Bayongbong). Diagnosis virus berdasarkan gejala sulit untuk menentukan identitas suatu virus. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mendeteksi virus-virus pada tanaman kentang dengan teknik molekuler. Sebanyak 50 sampel daun dikoleksi secara acak dari tanaman kentang yang bergejala di setiap lokasi. Parameter yang diamati adalah gejala, kejadian penyakit, dan runutan DNA virus yang dominan ditemukan. Kejadian penyakit ditentukan dengan uji serologi menggunakan antiserum PVY, PVX, PVS, dan CMV, sedangkan deteksi asam nukleat dilakukan dengan RT-PCR dan perunutan DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gejala yang ditemukan bervariasi pada daun kentang, seperti *vein clearing*, *vein banding*, *rugose*, dan malformasi daun. Kejadian penyakit oleh PVY, PVX, PVS, dan CMV di Rancabali berturut-turut adalah 28%, 0%, 0%, dan 28%, di Pangalengan adalah 80%, 24%, 2%, dan 82%, serta di Bayongbong adalah 82%, 0%, 6%, dan 74%. RT-PCR menggunakan primer spesifik PVY dan CMV berhasil mengamplifikasi gen *coat protein* PVY dan CMV asal Bayongbong masing-masing berukuran ~800 pb dan ~650 pb. Homologi nukleotida dan asam amino PVY asal Bayongbong terhadap PVY dari negara lain berkisar 89,5–99,7% dan 92,0–100%. Homologi tertinggi yaitu dengan PVY-NTN asal Cina dan Jepang, sedangkan homologi nukleotida dan asam amino CMV asal Bayongbong terhadap CMV asal negara lain berkisar 87,6–96,9% dan 86,9–93,7%. Homologi tertinggi yaitu dengan CMV strain *soybean stunt* (S) asal Bogor (Indonesia). Kedua strain virus (PVY-NTN dan CMV-S) pertama kali terdeteksi pada kentang di Jawa Barat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teridentifikasinya kedua strain virus baru harus dipertimbangkan sebagai pembatas penting produksi kentang di Jawa Barat.

Katakunci: *Solanum tuberosum*; CMV-S; PVY-NTN; Deteksi molekuler

ABSTRACT. Symptoms of viral infection were found vary in the center of potato cultivations in West Java (Rancabali, Pangalengan, and Bayongbong). It is difficult to diagnose virus based on symptoms to determine the identity of virus. This research aimed to detect and identify the viruses of potato in West Java using molecular technique. Fifty leaf samples were randomly collected from symptomatic potato plants at each location. Parameters measured were symptoms, disease incidence, and viral DNA sequences which were predominantly found. Disease incidence was determined serologically by using PVY, PVX, PVS, and CMV antisera, while nucleic acid was amplified by RT-PCR and DNA sequencing. The results showed that the symptoms were found vary in potato leaves, such as mosaic, vein clearing, vein banding, rugose, and leaf malformation. Disease incidence of PVY, PVX, PVS, and CMV in Rancabali were 28%, 0%, 0%, and 28%, in Pangalengan were 80%, 24%, 2%, and 82%, and in Bayongbong were 82%, 0%, 6%, and 74%, respectively. RT-PCR using specific DNA primers successfully amplified PVY and CMV coat protein gene from Bayongbong which each was approximately size ~800 bp and ~650 bp. The homology of nucleotide and amino acid of PVY from Bayongbong against PVY isolates from the other countries ranged from 89.5–99.7% and 92.0–100%. The highest homology was closely to PVY-NTN from China and Japan. Whereas the homology of nucleotide and amino acid of CMV from Bayongbong against CMV isolates from the other countries ranged from 87.6–96.9% and 86.9–93.7%. The highest homology was closely to CMV strain soybean (S) from Bogor (Indonesia). Both of viruses strain (PVY-NTN and CMV-S) was the first reported on potato in West Java, Indonesia. These results suggested that the presence of the new identified virus strains should be considered as an important constraint of potato production in West Java.

Keywords: *Solanum tuberosum*; CMV-S; PVY-NTN; Molecular detection

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) dikenal sebagai tanaman pangan dan hortikultura yang bernilai ekonomi tinggi. Kentang termasuk spesies tanaman dari famili *Solanaceae* yang berasal dari daerah subtropis dan dibudidayakan untuk menghasilkan umbi. Umbi kentang merupakan salah satu komoditas pangan utama dunia (vegetabletravelers/potatoes.html). Di Indonesia, kentang memiliki nilai penting sebagai komoditas hortikultura

setelah cabai dan kubis. Badan Pusat Statistik (2012) mencatat bahwa produksi kentang di Indonesia pada tahun 2010 mencapai 1.060 805 ton. Namun pencapaian produksinya menurun pada tahun 2011 menjadi 955.488 ton. Menurunnya produksi dan mutu kentang di Indonesia terkait banyak kendala produksi. Salah satu kendala dalam budidaya dan produksi kentang yaitu adanya penyakit tanaman yang disebabkan oleh virus.

Gejala infeksi virus pada tanaman kentang, seperti nekrosis, mosaik, klorosis, penebalan warna hijau di sekitar pertulangan daun (*vein banding*), pemucatan tulang daun (*vein clearing*), belang (*mottle*), pengerutan (*crinkle*) daun, hingga pengerdilan tanaman, telah diketahui disebabkan oleh beberapa virus yang berbeda yaitu *potato virus Y* (PVY) (potyviridae; *potyvirus*), *potato virus X* (alphaflexiviridae; *potexvirus*) (PVX), dan *potato virus S* (Betaflexiviridae; *Carlavirus*) (PVS) (Shikata *et al.* 1998, Gray *et al.* 2010, Hosseini *et al.* 2011). Infeksi PVS umumnya tanpa gejala tetapi gejala yang tidak spesifik dideskripsikan seperti klorotik *mottling* pada daun dan *rugosity* pada bagian bawah daun (Dolby & Jones 1987). Namun, tidak banyak yang melaporkan *cucumber mosaic virus* (CMV) (Bromoviridae; *cucumovirus*) pada tanaman kentang. Somerville *et al.* (1987) melaporkan bahwa CMV strain S secara alami dapat menginfeksi tanaman kentang di California dengan gejala klorosis dan mosaik. Virus-virus tersebut dapat menginfeksi tanaman kentang secara tunggal (*single infection*) maupun campuran (*mixed infection*) dan gejala infeksi oleh masing-masing virus tersebut sulit dibedakan secara spesifik langsung di lapangan (Brunt 2001).

Infeksi PVY dapat mengurangi produksi umbi sampai 80% di negara-negara produsen utama kentang, seperti Cina, India, dan Amerika (Brunt 2001). Sementara infeksi PVX dapat mengurangi produksi umbi kentang sampai 30% di India dan infeksi PVS menyebabkan kehilangan hasil panen sampai 20% pada tanaman kentang (Reddy 2010). Kehilangan hasil akibat infeksi beberapa virus kentang di Indonesia sekitar 25–90% oleh *Potato leaf roll virus* (PLRV), dan 5–80% oleh serangan PVX, PVY dan PVS (Duriat *et al.* 2006).

Metode yang dapat mendeteksi masing-masing virus secara terpisah (*differential diagnostic method*) diperlukan sehingga gejala infeksi PVY, PVX, PVS, dan CMV dapat dibedakan dengan tepat. Penelitian ini menggunakan uji serologi *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), *dot immuno.banding assay* (DIBA), dan uji molekuler *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) diketahui banyak digunakan untuk mendeteksi virus pada kentang (Baldauf *et al.* 2006, Hosseini *et al.* 2011).

Deteksi infeksi virus pada kentang lebih banyak dilakukan secara serologi sehingga sampai saat ini belum tersedia informasi mengenai identitas dan informasi genetik virus-virus yang menginfeksi tanaman kentang di Indonesia. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah mendeteksi dan mengidentifikasi virus-virus yang menginfeksi tanaman kentang di Jawa Barat secara molekuler untuk memperkaya

pengetahuan tentang virus-virus kentang di Indonesia. Identitas virus dapat membantu dalam penentuan strategi manajemen virus yang tepat pada kentang.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai September 2013 di Laboratorium Virologi, Departemen Proteksi Tanaman, IPB. Survei dan koleksi sampel tanaman kentang dilakukan di dua sentra produksi kentang di Jawa Barat. Lokasi di Kabupaten Bandung berada di Kecamatan Pangalengan dan Rancabali. Sementara lokasi di Kabupaten Garut berada di Kecamatan Bayongbong. Sampel tanaman kentang berupa daun yang bergejala diambil secara acak (*random sampling*) sebanyak 50 sampel dari tiap lokasi.

Bahan dan Alat yang Digunakan

Deteksi molekuler

Uji serologi. PVS dan PVX dideteksi dengan *double antibody sandwich*-ELISA sesuai protokol yang direkomendasikan *Deutsche sammlung von microorganismen und zellkulturen* (DSMZ), Jerman. PVY dideteksi dengan *compound*-ELISA sesuai protokol yang direkomendasikan Agdia, USA. CMV dideteksi dengan DIBA dengan protokol sesuai yang dilakukan Anggraini & Hidayat (2014). Hasil ELISA dapat dilihat secara kualitatif dengan reaksi pewarnaan menggunakan *p-nitrophenyl phosphate* (PNP). Perubahan warna menjadi kuning pada sumuran plat menunjukkan sampel positif terinfeksi virus. Secara kuantitatif ditentukan dengan nilai absorbansi ELISA (NAE) diukur dengan ELISA reader (Bio-RAD 550) pada 405 nm. Uji positif jika NAE sampel yang diuji dua kali lebih besar daripada NAE kontrol sehat, sedangkan reaksi pewarnaan dalam DIBA menggunakan *nitro blue tetrazolium* (NBT) dan *bromo chloro indolyl phosphate* (BCIP). DIBA positif jika terjadi perubahan warna bekas tetesan sap menjadi ungu pada membran nitroselulosa.

RT-PCR. Metode ini dilakukan terhadap sampel asal Bayongbong menggunakan primer spesifik yang dapat mengamplifikasi gen *coat protein* (CP) PVY dan CMV secara terpisah. Ekstraksi RNA total menggunakan kit ekstraksi sesuai protokol *phile korea technology* (PKT). Sintesis *complementary DNA* (cDNA) menggunakan teknik *reverse transcription* (RT) pada suhu 42°C selama 60 menit sesuai dengan protokol RT yang dibuat oleh Thermo. cDNA digunakan sebagai templat DNA dalam reaksi PCR.

Komposisi reagen untuk sintesa cDNA sesuai dengan yang digunakan oleh Anjarsari *et al.* (2013).

Amplifikasi DNA virus dilakukan dengan PCR menggunakan pasangan primer PVY-cpF (5'-ATGGSAAATGACACAATYGATGCA-3') dan PVY-cpR (5'-ACATGTTSACTCCAAGYAG-3') untuk mengamplifikasi gen CP PVY dengan ampikon berukuran ~800 pb. Program PCR yang digunakan adalah predenaturasi pada suhu 94°C/2 min, 35 siklus pada suhu denaturasi 94°C /1 min, suhu *annealing* 52°C /1 min, suhu elongasi 72°C/2 min dan ekstensi final pada suhu 72°C/7 min. Gen CP CMV diamplifikasi dengan sepasang primer CMV-cpF (5'-ATGGACAAATCTGAATCAACCAGTGCC-3') dan CMV-cpR (5'-ACTGGGAGCACTCCAG ATGTG-3') dengan ampikon berukuran ~650 pb. Program PCR yang digunakan adalah predenaturasi pada suhu 95°C/5 min, 35 siklus pada suhu denaturasi 95°C/1 min, suhu *annealing* 45°C/1 min, suhu elongasi 72°C/1 min, dan ekstensi final pada suhu 72°C/10 min.

Visualisasi hasil PCR. Produk PCR diseparasi dengan elektroforesis pada 1% gel agarosa yang dilarutkan dalam 0,5× bufer *tris-borate* EDTA (TBE) yang mengandung ethidium bromida. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt selama 25 menit. Hasil elektroforesis berupa pita DNA divisualisasikan dengan *transluminator ultraviolet* dan didokumentasi dengan kamera digital.

Perunutan DNA dan Analisis Filogenetik

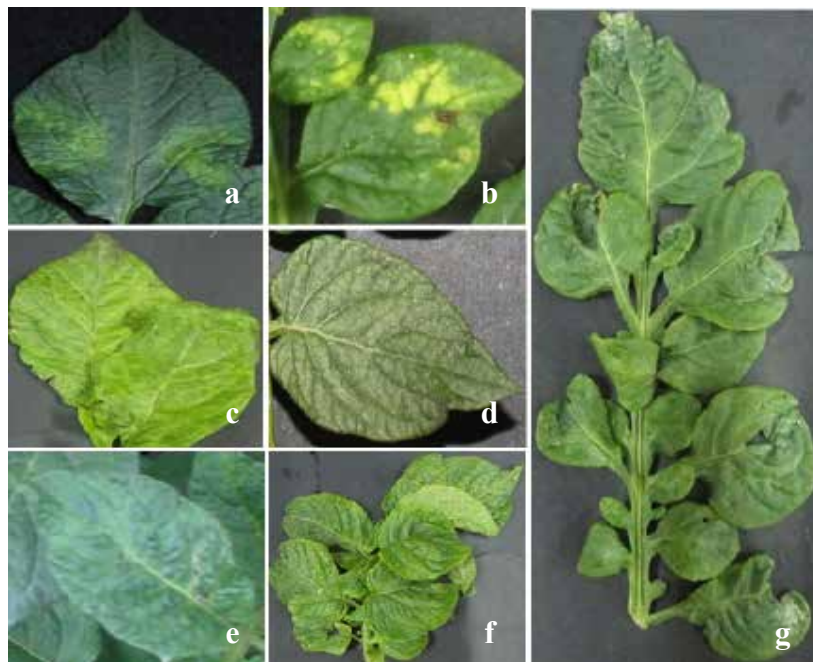
Perunutan nukleotida gen CP virus hasil amplifikasi dilakukan di First Base, Singapura. Runutan nukleotida dianalisis dengan cara membandingkannya dengan runutan nukleotida virus asal negara lain yang terdaftar di *GenBank* menggunakan program *basic local alignment search tool* (BLAST) pada situs *National Center for Biotechnology Information*.

Tingkat homologi nukleotida dan asam amino diperoleh dengan program *clustalW multiple alignment* dan *sequence identity matrix* menggunakan *software* BioEdit 7,05. Analisis filogenetik dilakukan menggunakan *software molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA 5,02).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala di Lapangan

Survei yang dilakukan di beberapa sentra produksi kentang di Jawa Barat menunjukkan bahwa kentang di pertanaman memperlihatkan gejala penyakit yang disebabkan oleh virus. Gejala yang banyak ditemukan di lapangan yaitu mosaik sistemik pada varietas Granola. Ada dua tipe gejala mosaik yang ditemukan di daerah Bayongbong, yaitu gejala mosaik biasa dan mosaik berpola sirkuler (mosaik bercincin) (Gambar



Gambar 1. Variasi gejala yang ditemukan di lapangan. (a) mosaik bercincin, (b) mosaik ringan, (c) *vein clearing*, (d) *vein banding*, (e) *rugose*, (f) ruas batang memendek, dan (g) malformasi daun [*Symptom variation found in the fields. (a) ring mosaic, (b) mild mosaic, (c) vein clearing, (d) vein banding, (e) rugose, (f) shorten internode, and (g) leaf malformation*]

Tabel 1. Variasi gejala di lapangan (*Symptom variation in the fields*)

Lokasi (Location)	Varietas (Variety)	Ketinggian (Altitude), m dpl.	Variasi gejala ¹⁾ (<i>Symptom variation</i>)								
			MR	N	KL	VC	VB	MD	R	DD	L
Rancabali	Granola	2.200	√	√	√	√	√	√	√	√	
Pangalengan	Granola	1.400	√	√			√		√	√	√
Bayongbong	Granola	1.400	√		√		√	√	√	√	√

¹⁾DD = distorsi daun (*leaf distortion*), KL = klorosis (*chlorosis*), L = laten (*latent*), MD = malformasi daun (*leaf malformation*), MR = mosaik ringan (*mild mosaic*), N = nekrosis (*necrosis*), VB = *vein banding*, VC = *vein clearing*, R = *rugose*

1a-b). Gejala tersebut disertai dengan permukaan daun yang tidak rata karena adanya lepuh atau perbedaan pertumbuhan antara tulang daun (*rugose*), *vein banding*, klorosis, bahkan malformasi daun (Gambar 1c-g). Gejala infeksi virus yang ditemukan di daerah Rancabali dan Pangalengan direkapitulasi pada Tabel 1.

Gejala mosaik yang dicirikan dengan adanya *vein banding* pada daun kentang di Indonesia disebabkan oleh PVY (Shikata *et al.* 1998). Gejala tersebut sesuai dengan yang ditemukan di tiga lokasi survei dalam penelitian ini. Di samping menyebabkan gejala mosaik pada daun, infeksi virus tersebut di lapangan juga menyebabkan tajuk tanaman kentang menjadi kerdil. Akibatnya kualitas dan kuantitas umbi kentang yang dihasilkan menurun. Berdasarkan pengamatan di lapangan, kualitas umbi yang rusak ditandai dengan adanya bercak nekrosis seperti cincin, ukuran, dan bobot umbi yang dihasilkan berkurang. Hal itu terjadi karena infeksi virus mengganggu proses fisiologis tanaman kentang (Brunt 2001).

Gejala infeksi PVY yang ditemukan dalam penelitian ini berbeda dengan laporan Gray *et al.* (2010) di Amerika Serikat, tanaman kentang yang terinfeksi PVY menyebabkan gejala *vein necrosis*. Variasi gejala infeksi virus dapat terjadi tergantung pada faktor strain virus, varietas tanaman, lingkungan, dan adanya infeksi campuran virus. Infeksi campuran virus umum terjadi di alam dan menyebabkan interaksi yang bervariasi (Syller 2012). Infeksi campuran menyebabkan variasi seperti gejala, infektivitas virus,

akumulasi, dan atau kemampuan ditularkan melalui vektor (Martin & Elena 2009). Berdasarkan gejala infeksi virus pada tanaman kentang di Rancabali, Pangalengan, dan Bayongbong disebabkan oleh PVY secara tunggal atau campuran dengan beberapa virus lain yang berasosiasi dengan gejala mosaik yang sulit dibedakan (Tabel 1, Gambar 1).

Deteksi Molekuler

Uji Serologi. Hasil uji serologi menunjukkan bahwa beberapa tanaman terdeteksi positif terinfeksi PVY, PVX, PVS, dan CMV dari 150 sampel tanaman kentang di Jawa Barat. Kejadian penyakit PVY dan CMV merupakan yang paling dominan di setiap lokasi survei dan persentasenya masing-masing 28% (Rancabali), 80% dan 82% (Pangalengan), dan 82% dan 74% (Bayongbong) (Tabel 2). PVS terdeteksi pada tanaman kentang dari daerah Pangalengan dan Bayongbong walaupun dengan kejadian penyakit yang rendah.

Beberapa tanaman kentang yang diamati menunjukkan infeksi campuran. Sebanyak tiga sampel tanaman (6%) dari Rancabali terdeteksi adanya infeksi campuran PVY dengan virus lainnya. Infeksi campuran juga terdeteksi pada 38 sampel tanaman (76%) dari Pangalengan dan 33 sampel tanaman (66%) dari Bayongbong (Tabel 3).

Infeksi campuran virus pada satu tanaman kemungkinan terjadi karena penyebaran virus oleh kutudaun di pertanaman dan secara mekanis dari alat-

Tabel 2. Kejadian penyakit oleh beberapa virus berdasarkan uji serologi (*Disease incidence by several virus based on serological test*)

Lokasi (Location)	Kejadian penyakit ¹⁾ (<i>Disease incidence</i>), %			
	PVY	PVX	PVS	CMV
Rancabali	14/50 (28,0)	0/50 (0,0)	0/50 (0,0)	14/50 (28,0)
Pengalengan	40/50 (80,0)	12/50 (24,0)	1/50 (2,0)	41/50 (82,0)
Bayongbong	41/50 (82,0)	0/50 (0,0)	3/50 (6,0)	37/50 (74,0)
Total (Total)	95/150 (63,3)	12/150 (8,0)	4/150 (2,7)	92/150 (61,3)

¹⁾Kejadian penyakit = $n/N \times 100\%$, n = jumlah tanaman positif terdeteksi virus (*Disease incidence = $n/N \times 100\%$, n = number of plant infected virus positive*), N = total tanaman yang diuji (*N = total of tested plant*)

Tabel 3. Frekuensi infeksi tunggal dan infeksi campuran virus (*Single and mixed infection virus frequency*)

Lokasi (Location)	Sehat (Healthy)	Infeksi tunggal ¹⁾ (Single infection)				Infeksi campuran ¹⁾ (Mix infection)									
		Y	X	S	C	YX	YS	YC	XS	XC	SC	YXC	YXS	YSC	XSC
Rancabali	25	11	0	0	11	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
Pengalengan	1	6	0	0	5	2	0	25	0	4	0	6	0	1	0
Bayongbong	3	9	0	0	5	0	1	30	0	0	1	0	0	1	0

¹⁾Y = PVY, X = PVX, S = PVS, C = CMV

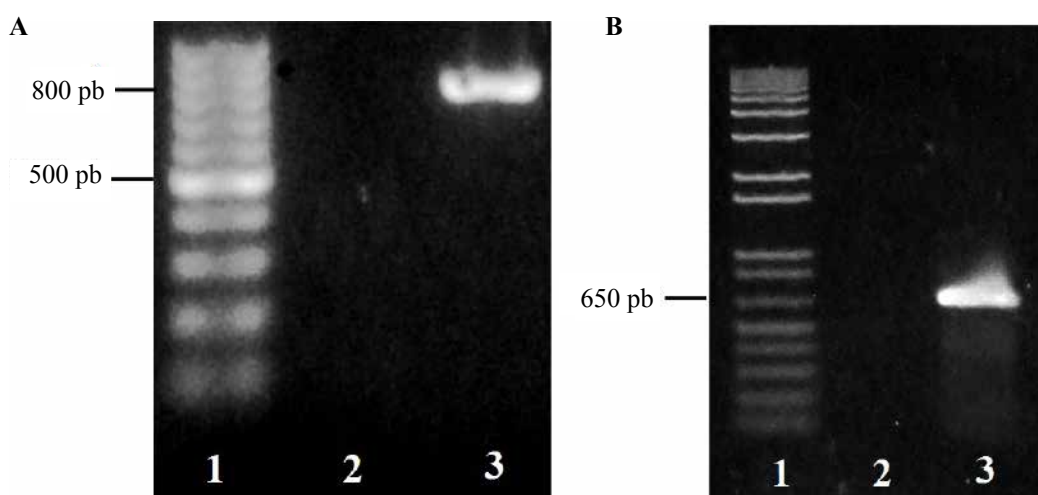
alat pertanian. Hal ini terkait dengan ditemukannya populasi kutudaun pada tanaman kentang di lapangan. Infeksi campuran antara PVY dengan CMV dominan dibandingkan dengan virus lainnya (Tabel 3). Pada infeksi campuran, CMV berinteraksi sinergistik dengan virus-virus dari taxa yang berbeda pada tanaman kacang-kacangan, cucurbit, dan solanaceae (Palukaitis & Garcia-Arenal 2003, Wege & Siegmund 2007). Di Pakistan, infeksi campuran yang dominan antara PVY, PVX, dan PVS dimana infeksi campuran PVX dan PVS menunjukkan persentase tertinggi di antara ketiga virus (Hameed *et al.* 2014). Infeksi campuran oleh PVY, PLRV, dan PVX pernah juga dilaporkan terjadi pada kentang di Amerika (Baldauf *et al.* 2006), Yunani (Chatzivassiliou *et al.* 2008) dan Pakistan (Hameed *et al.* 2014). Infeksi campuran virus menyebabkan variasi gejala dan kehilangan hasil panen yang lebih tinggi pada tanaman kentang. Infeksi campuran PVX dengan PVY dapat menghilangkan hasil sampai 50%, sedangkan infeksi campuran tiga virus (PVY, PVX, dan PVS) menyebabkan kerugian ekonomi sebesar 25% (Brunt 2001, Reddy 2010). Hal ini karena infeksi campuran yang sinergis menyebabkan perkembangan

penyakit yang lebih parah dan akumulasi virus yang lebih tinggi jika dibandingkan infeksi tunggal virus-virus tersebut (Hameed *et al.* 2014).

Pada varietas Granola di Jawa Barat, diketahui bahwa PLRV, PVY, PVM, dan PVA dapat ditularkan secara bersamaan oleh *M. persicae* yang menghasilkan gejala mosaik pada tanaman kentang (Duriat 1984). Kutudaun tersebut juga menjadi vektor beberapa virus penyebab gejala mosaik lainnya, seperti PVS dan CMV (Brunt 2001, Jacquemond 2012). Oleh karena beberapa virus yang menginfeksi kentang ditularkan dan disebarkan oleh kutudaun, maka tingginya infeksi campuran dapat terjadi secara alami.

RT-PCR. Pita DNA PVY dan CMV dari gen *coat protein* (CP) asal Bayongbong berhasil teramplifikasi dengan ukuran ~800 pb dan ~650 pb (Gambar 2). Hal ini mengkonfirmasi hasil uji serologi bahwa pada sampel tanaman asal Bayongbong terinfeksi campuran PVY dan CMV.

Analisis runutan DNA gen CP. Hasil perunutan DNA gen CP berhasil merunut nukleotida PVY berukuran 759 pb yang mengkode 253 asam amino dari



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA gen CP (a) PVY dan (b) CMV isolat Bayongbong. Lajur 1a = penanda DNA 100 pb (thermo), lajur 1b= penanda DNA 1 kb plus (invitrogen), lajur 2= kontrol negatif, lajur 3a= PVY isolat Bayongbong, lajur 3b= CMV isolat Bayongbong [Amplification result of CP gene of (a) PVY and (b) CMV CP Bayongbong isolate, line 1a= DNA marker 100 bp (thermo), line 1b= DNA marker 1kb plus (Invitrogen), line 2= negative control, line 3a= PVY, Line 3b= CMV]

Tabel 4. Persentase^{a)} identitas sekuen gen coat protein PVY-NTN isolat kentang dan PVY lainnya (*Percentage sequence identity of coat protein gene of PVY-NTN isolated from potato and those other PVY*)

Negara (<i>Country origin</i>)	Strain virus (<i>Virus strain</i>)	Coat protein		Nomor aksesori (<i>Accession number</i>)
		nt	aa	
Jepang	PVY-NTN	99,7	100	AB702952
Cina	-NTN	99,7	100	HQ631374,1
Amerika Serikat	-NTN	99,4	99,6	AY884982,1
Jerman	-NTN ^{b)}	99,3	99,2	AJ890345,1
Iran	-NTN	99,3	99,2	HM243480,1
Inggris	-NTN	99,2	99,2	EF027869,1
Brazilia	-NTN	94,4	96,4	AY840082,1
Swiss	-N ^{c)}	97,3	98,8	X97895
Spanyol	-C ^{d)}	89,9	93,6	AF012027,1
India	-O ^{e)}	89,5	92,0	AY061994,1
Amerika Serikat	PeMoV ^{f)}	68,7	73,9	NC_001517,1

^{a)}Dihitung dengan menggunakan program BioEdit versi 7,05, ^{b-e)} PVY asal tembakau, ^{f)}Pepper mottle virus (PeMoV) asal cabai sebagai pembandingan luar kelompok, nt = nukleotida, aa = asam amino [*Percentage is measured by using BioEdit version 7.05 program, ^{b-e)} PVY isolate tobacco, ^{f)}pepper mottle virus (PeMoV) isolate hot pepper as out group, nt = nucleotide, aa = amino acid*]

total gen CP PVY yang berukuran 801 pb, sedangkan hasil peruntutan DNA gen CP CMV berhasil merunut nukleotida berukuran 528 pb yang mengkode 176 asam amino dari total gen CP CMV yang berukuran 657 pb. Runutan DNA gen CP kedua virus tersebut terunut secara parsial.

Analisis nukleotida gen CP PVY isolat asal Bayongbong terhadap 10 isolat PVY asal negara lain menunjukkan homologi berkisar 89,5–99,7%. Perbandingan berdasarkan runutan asam amino menunjukkan isolat PVY asal Bayongbong memiliki homologi berkisar 92,0–100%. PVY asal Bayongbong memiliki NTN asal Cina dan Jepang (Tabel 4).

Analisis runutan gen CP CMV isolat asal Bayongbong terhadap 10 isolat CMV asal negara lain menunjukkan homologi nukleotida berkisar 87,6–96,9% dan homologi asam amino berkisar 86,9–93,7% (Tabel 5). CMV asal Bayongbong memiliki homologi nukleotida (96,9%) dan asam amino (93,7%) tertinggi terhadap CMV strain *soybean stunt* (CMV-S) asal Bogor, Indonesia yang menginfeksi kedelai.

Analisis filogenetik. Hasil analisis filogenetik PVY berdasarkan runutan nukleotida dan asam amino menunjukkan bahwa PVY asal Bayongbong (Indonesia) membentuk satu *cluster* dengan isolat PVY-NTN yang berasal dari Cina dan Jepang (Gambar

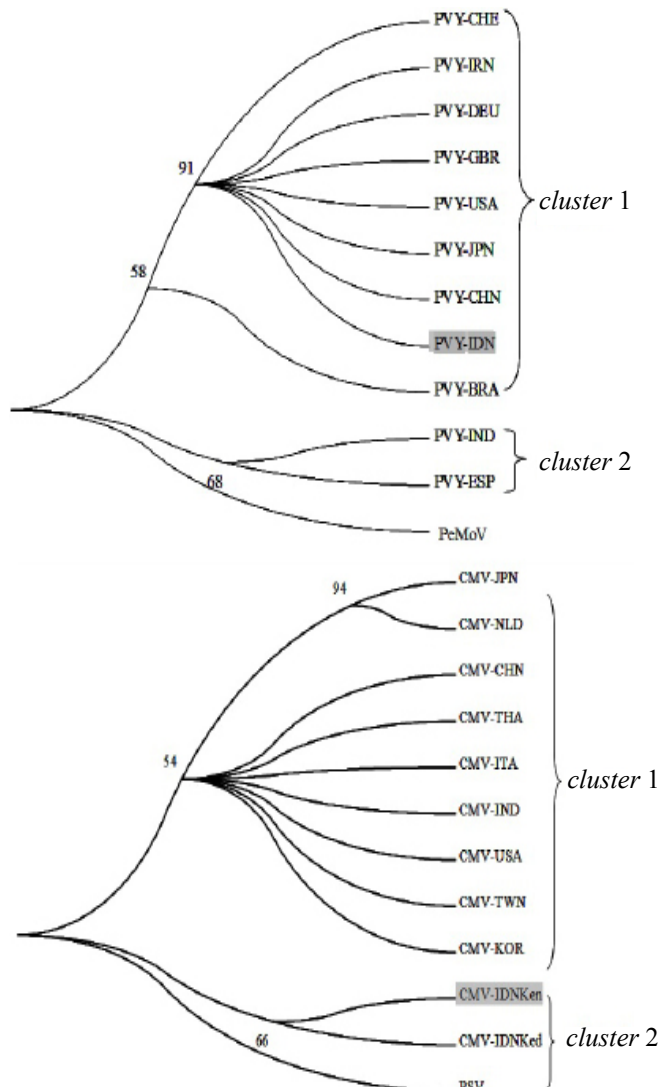
Tabel 5. Persentase^{a)} identitas sekuen gen coat protein CMV-S isolat kentang dan CMV lainnya (*Percentage sequence identity of coat protein gene of CMV-S isolated from potato and those other CMV*)

Negara (<i>Country origin</i>)	Strain/isolat virus (<i>Virus strain/isolate</i>)	Coat protein		Nomor aksesori (<i>Accession number</i>)
		nt	aa	
Indonesia ^{b)}	CMV-S	96,9	93,7	FJ177303.1
India ^{c)}	Ts	90,1	89,2	EF153734.2
Amerika Serikat ^{d)}	113	90,1	89,2	AF523340.1
Taiwan ^{c)}	NT9	89,9	88,6	D28780.1
Italia ^{c)}	Tfn	89,9	89,2	Y16926
Cina ^{c)}	SXFQ	89,7	88,0	JX993914.1
Jepang ^{e)}	HL	89,2	88,6	AB049568
Korea ^{f)}	RP20	89,0	88,0	KC527749.1
Belanda ^{e)}	lily	89,0	88,6	AJ131615.1
Thailand ^{g)}	TR15	87,6	88,9	AJ810264.1
Cina ^{h)}	PSV-Mi	52,0	39,7	AY775057.1

^{a)}Persentase dihitung dengan menggunakan program BioEdit versi 7,05, ^{b-g)} CMV isolat kedelai, tomat, labu, lili, cabai, mentimun, ^{h)}peanut stunt virus (PSV) asal kacang tanah sebagai pembandingan luar kelompok. nt= nukleotida, aa= asam amino, [*Percentage is measured by using BioEdit version 7.05 program, ^{b-g)} CMV isolate soybean, tomato, pumpkin, lily, hot pepper, cucumber. ^{h)}Peanut stunt virus (PSV) isolate peanut as out group. nt= nucleotide, aa= amino acid*]

3a, pohon filogenetik asam amino tidak ditampilkan), sedangkan PVY lainnya membentuk *cluster* tersendiri.

Strain NTN termasuk strain utama PVY selain strain O, N, dan C. Strain NTN dibedakan dari strain



Gambar 3. Pohon filogenetik runutan nukleotida (a) gen CP PVY dan (b) gen CPCMV isolat Bayongbong (abu-abu) dibandingkan dengan 10 isolat lain. *Pepper mottle virus* (PeMoV) dan *peanut stunt virus* (PSV) sebagai pembanding di luar kelompok [Phylogenetic tree of nucleotide sequences of (a) PVY CP gene and (b) CMV CP gene Bayongbong isolate (grey highlight) in compared with 10 other isolates. *Pepper mottle virus* (PeMoV) and *peanut stunt virus* (PSV) as out groups]

lain berdasarkan potensinya yang menyebabkan *potato tuber necrotic ringspot disease* (PTNRD) pada umbi kentang. PVY-NTN pertama kali dilaporkan Beczner pada tahun 1984 berasal dari Hungaria (Brunt 2001). Gejala pada umbi ini akan semakin berkembang dalam penyimpanan pascapanen kentang. Kerugian akibat infeksi PVY-NTN dapat mencapai 90% pada kultivar kentang yang sesuai (Beczner *et al.* 1984, Gray *et al.* 2010). Kejadian penyakit oleh PVY NTN meningkat secara global sehingga menjadi perhatian semua penanam kentang di berbagai negara (Nie & Singh 2003). Selanjutnya PVY-NTN dilaporkan terdapat hampir di seluruh Eropa dan Amerika Serikat. Oleh karena itu PVY-NTN menjadi OPT karantina di Amerika dan Kanada sejak pertama kali dilaporkan terdapat di kedua negara ini pada tahun 2002 (Gray *et al.* 2010).

Hasil analisis filogenetik CMV berdasarkan runutan nukleotida dan asam amino menunjukkan bahwa CMV asal kentang Bayongbong membentuk satu *cluster* dengan isolat CMV-S asal kedelai Bogor (Gambar 3b, pohon filogenetik asam amino tidak ditampilkan), sedangkan CMV lainnya membentuk *cluster* tersendiri. Isolat CMV asal Bayongbong termasuk strain S. CMV-S menginfeksi kedelai di Jepang dan Korea (Hong *et al.* 2003, Masuta *et al.* 2002, Phan *et al.* 2014). Namun, strain S pertama kali dideteksi menginfeksi tanaman kentang di California dengan gejala berupa klorosis berat, mosaik, pengerdilan buku batang, malformasi daun, dan pengrusakan fisik umbi (Somerville *et al.* 1987).

KEMPULAN DAN SARAN

1. Gejala infeksi virus pada tanaman kentang di Jawa Barat disebabkan oleh infeksi tunggal dan campuran PVY, PVX, PVS, dan CMV.
2. Virus yang dominan terdeteksi di tiga lokasi adalah PVY dan CMV. Kejadian penyakit oleh PVY di Rancabali, Pangalengan, dan Bayongbong berturut-turut sebesar 28%, 80%, dan 82%, sedangkan kejadian penyakit oleh CMV berturut-turut sebesar 28%, 82%, dan 74%. PVX hanya terdeteksi di Pangalengan dengan kejadian penyakit sebesar 24%, sedangkan PVS terdeteksi di Pangalengan dan Bayongbong dengan kejadian penyakit sebesar 2% dan 6%.
3. Berdasarkan analisis runutan nukleotida dan asam amino gen CP diketahui bahwa PVY dan CMV isolat Bayongbong pada tanaman kentang di daerah Jawa Barat adalah PVY strain NTN dan CMV strain *soybean*.

4. Isolat PVY-NTN asal Bayongbong sangat dekat kekerabatannya dengan PVY-NTN asal Cina dan Jepang. Isolat CMV-S asal Bayongbong sangat dekat kekerabatannya dengan CMV-S pada tanaman kedelai asal Bogor. Kedua strain tersebut untuk pertama kalinya dilaporkan menginfeksi kentang di Jawa Barat, Indonesia.
5. Perlu dilakukan deteksi dan pengamatan rutin terhadap kejadian penyakit virus-virus yang di sentra-sentra produksi kentang lainnya.
6. Perlu dilakukan kajian pengaruh infeksi virus-virus tersebut terhadap tingkat produktivitas tanaman kentang
7. Perlu dilakukan survei dan pemetaan virus-virus yang menginfeksi tanaman kentang di Indonesia agar dapat diketahui identitas dan keragaman genetik virus-virus tersebut sehingga berguna bagi pengembangan strategi pengendaliannya

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh kerjasama penelitian *International Plant Viruses Diseases Network* (IPVDN) tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anggraini, S & Hidayat, SS 2014, 'Sensitivitas metode serologi dan *polymerase chain reaction* untuk mendeteksi *bean common mosaic potyvirus* pada kacang panjang', *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 10, no. 1, hlm. 17-22.
2. Anjarsari, L, Suastika, G & Damayanti, TA 2013, 'Deteksi dan identifikasi potyvirus pada ubi jalar di Tana Toraja, Sulawesi Selatan', *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 9, no. 6, hlm. 193-201.
3. Badan Pusat Statistik 2012, *Produksi sayuran di Indonesia*, [Internet], Jakarta (ID): Badan Pusat Statistik Republik Indonesia, diunduh 9 Desember 2012, <http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=27>.
4. Baldauf, PM, Gray, SM & Perry, KL 2006, 'Biological and serological properties of *potato virus Y* isolates in north eastern United States potato', *Plant Dis.*, vol. 90, pp. 559-66.
5. Beczner, L, Horvath, H, Romhanyi, L & Forster, H 1984, 'Etiology of tuber ring spot disease in potato', *Potato Res.*, vol. 27, pp. 339-51.
6. Brunt, AA 2001, 'The main viruses infecting potato crops', Loebeinstein G, Berger, PH, Brunt, AA & Lawson RH, (eds.), *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (NL), pp 65-7.
7. Chatzivassiliou, EK, Moschos, E, Gazi, S, Koutretsis, P & Tsoukaki, M 2008, 'Infection of potato crops and seeds with *potato virus Y* and *potato leafroll virus* in greece', *j. phytopathol.*, vol. 90, no. 2, pp. 253-61.
8. Dolby, CA & Jones, RAC 1987, 'Occurrence of the Andean strain of *potato virus S* in imported potato material and its effects on potato cultivars', *Plant Pathol.*, vol. 36, pp. 381-8.
9. Duriat, AT 1984, 'Peranan *myzus persicae* Sulzer dalam penyebaran virus daun menggulung (*potato leafroll virus*) di lapangan', Risalah Seminar Hama dan Penyakit Sayuran Cipanas, 29-30 Mei 1984, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jawa Barat.
10. Duriat, AT, Gunawan, OS & Gunaeni, N 2006, 'Penerapan teknologi PHT pada tanaman kentang', *Monografi* No. 28, Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Puslitbang Hortikultura, Balitbang Pertanian, hlm 2.
11. Gray, SM, De Boer, SH, Lorenzen, J, Karasev, AV, Whitworth, J, Nolte, P, Singh, RP, Boucher, A & Xu, H 2010, '*Potato virus Y*: A significant and evolving threat to potato crops in the United States and Canada', *Plant Dis.*, vol. 94, no.12, pp.1384-97.
12. Hameed, A, Iqbal, Z, Asad, S, & Mansoor, S 2014, 'Detection of multiple potato viruses in the field suggests synergistic interactions among potato viruses in Pakistan', *Plant Pathol. J.*, vol. 30, no. 4, pp. 407-15.
13. Hong, JS, Masuta, C, Nakano, M, Abe, J & Uyeda, I 2003, 'Adaptation of *cucumber mosaic virus* soybean strains (SSVs) to cultivated and wild soybeans', *Theor. Appl. Genet.*, vol. 107, pp. 49-53.
14. Hosseini, A, Massumi, H, Heydarnejad, J, Pour, AH & Varsani, A 2011, 'Characterization of *potato virus Y* isolates from Iran', *Virus Genes*, vol. 42, pp.128-40.
15. Jacquemond, M 2012, 'Cucumber mosaic virus', *Adv. Virus Res.*, vol. 84, pp 439-504.
16. Lambert, SJ & Scott, JB 2012, 'Strain characterization of *potato virus S* isolates from Tasmania, Australia', *Plant Dis.*, vol. 96, pp 813-9.
17. Martin, S & Elena, SF 2009, 'Application of game theory to the interaction between plant viruses during mixed infections', *J. Gen. Virol.*, vol. 90, pp. 2815-20.
18. Masuta, C, Seshimo, Y, Mukohara, M, Jung, HJ, Uedas, S, Ryu, KH & Choi, JK, 2002, 'Evolutionary characterization of two isolates of *cucumber mosaic virus* isolated from Japan and Korea', *J. Gen. Plant Pathol.*, vol. 68, pp. 163-8.
19. Nie, X & Singh, RP 2003, 'Evolution of North American PVY^{NTN} strain TU 660 from local PVY^N by mutation rather than recombination', *Virus Genes*, vol. 26, pp. 39-47.
20. Palukaitis, P & Garcia-Arenal, F 2003, 'Cucumoviruses', *Adv. Virus Res.*, vol. 62, pp. 241-323.
21. Phan, MSV, Seo, JK, Choi, HS, Lee, SH & Kim, KH 2014, 'Molecular and biological characterization of an isolate of *cucumber mosaic virus* from *Glycine soja* by generating its infectious full-genome cDNA clones', *Plant Pathol. J.*, vol 30, no.2, pp 159-67.
22. Reddy, PP 2010, *Bacterial and viral disease and their management in horticultural crops*, Scientific Publisher, Jodhpur.

23. Shikata, E, Murayama, D, Agrawal, HO, Inoue, T, Kimura, I, Tomaru, K, Tsuchizaki, T & Triharso 1998, *Plant viruses in Asia*, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
24. Somerville, PA, Campbell, RN, Hall, DH & Rowhani, A 1987, 'Natural infection of potatoes (*Solanum tuberosum*) by a legume strain of cucumber mosaic virus', *Plant Dis.*, vol. 71, no.1, pp. 18-20.
25. Syller, J, 2012, 'Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections', *Mol. Plant Pathol.*, vol. 13, no. 2, pp. 204-16.
26. Wege, C & Siegmund, D 2007, Synergism of a DNA and an RNA virus: Enhanced tissue infiltration of the begomovirus *abutilon mosaic virus* (AbMV) mediated by *cucumber mosaic virus* (CMV)', *Virology*, vol. 357, pp 10-28.