

DETEKSI DINI VIRUS MOSAIK PADA BENIH DAN TANAMAN NILAM

Detection of Early Stage of Mosaic Disease on Patchouli Seed and Plant

RITA NOVERIZA dan MAYA MARIANA

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

E-mail: rita_noveriza2000@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus merupakan salah satu kendala utama pada produksi minyak nilam. Virus tersebut ditularkan melalui benih nilam dan serangga vektor sehingga penyebarannya sangat cepat dan sudah banyak ditemukan di sentra pertanaman nilam di Sumatera, Jawa dan Sulawesi. Deteksi dini virus pada benih nilam merupakan langkah strategis untuk mengendalikan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknik deteksi dini virus penyebab penyakit mosaik pada benih dan tanaman nilam secara serologi, sehingga mudah diaplikasikan oleh petani dan pengguna di lapangan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman Balitro dari bulan Februari 2015 sampai dengan bulan April 2016. Teknik deteksi secara serologi yang dilakukan adalah *Tissue Blot Immunobinding Assay* (TBIA), *Dot Immuno Binding Assay* (DIBA) dan *Enzyme Linked Immuno Assay* (ELISA). Sampel benih dan tanaman nilam bergejala mosaik diperoleh dari pertanaman atau penangkar benih di Bogor, Pandeglang-Banten dan Cigombong-Kabupaten Bogor. Sebanyak 180 sampel diuji keberadaan virusnya dengan menggunakan antisera komersial, yaitu *Potyvirus*, *Broad bean wilt virus 1.2*; *Cucumber mosaic virus* (AGDIA-USA) dan *Anti Mouse*, *Anti Rabbit Universal* (SIGMA-USA). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ketiga teknik serologi yang diuji dapat mendeteksi seluruh jenis virus yang menimbulkan gejala mosaik pada benih dan tanaman nilam, dengan tingkat keberhasilan 100%. Teknik deteksi TBIA dan DIBA mosaik lebih cepat dan mudah dibandingkan dengan ELISA sehingga dapat dianjurkan kepada petani dan penangkar benih nilam untuk mencegah penyebaran virus mosaik, karena lebih cepat dan mudah digunakan.

Kata kunci: *Pogostemon cablin*, virus mosaik, ELISA, TBIA, DIBA

ABSTRACT

Mosaic disease of patchouli plant caused by viruses is one of the main constraints on patchouli oil production. The viruses are transmitted by patchouli seedlings and insect vectors, therefore their spreadings are very quickly and widely found in the center of patchouli plantations in Sumatera, Java, and Sulawesi. Early detection of the viruses in the seedling is a strategic step for controlling the disease. This study aimed to get an early detection technique of mosaic viruses infecting seedlings and patchouli plants by using serological techniques. This research was conducted at the Laboratory of Plant Protection Balitro from February 2015 until April 2016. The serological techniques performed were *Tissue Blot Assay Immunobinding* (TBIA), *Dot Immuno Binding Assay* (DIBA) and *Enzyme Linked Immuno Assay* (ELISA). Samples of the seedlings and patchouli plants showing symptomatic mosaic disease were obtained from nurseries or fields in Bogor, Pandeglang-Banten and Cigombong. A total of 150 samples were tested using the commercial viruses antisera, i.e. *Potyvirus*, *Broad bean wilt virus 1.2*; *Cucumber mosaic virus* [AGDIA-USA] and *Anti-Mouse*, *Rabbit Anti Universal* [SIGMA-USA]. The results showed that all the three serological tests used can detect all types of mosaic viruses in infected seedling and patchouli plants with a success rate of 100%. The TBIA and DIBA techniques are faster and

easier than ELISA, therefore these techniques are recommended to be used by farmers and patchouli seed producers to prevent the distribution of mosaic viruses.

Keywords: *Pogostemon cablin*, mosaic virus, ELISA, TBIA, DIBA

PENDAHULUAN

Penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus khususnya kelompok *Potyvirus*, dapat menyebabkan menurunnya produksi biomassa dan kadar minyak tanaman nilam (NOVERIZA *et al.*, 2012). Penyakit ini ditularkan melalui benih nilam (tanaman nilam diperbanyak secara vegetatif) dan serangga vektor; sehingga penyebarannya sangat cepat dan sudah banyak ditemukan di sentra pertanaman nilam di Sumatera, Jawa dan Sulawesi. Menurut BISWAS *et al.* (2016), deteksi virus secara dini sangat penting untuk memastikan amannya bahan tanaman yang digunakan sebagai benih. Salah satu cara penting untuk mengurangi risiko dari virus yang berasosiasi pada tanaman adalah mengembangkan teknik deteksi yang berkualitas tinggi untuk virus. Teknik deteksi yang berkualitas tinggi akan memberikan strategi manajemen yang efektif, biosekuriti untuk bahan tanaman impor dan sertifikasi kesehatan tanaman yang kredibel untuk produk ekspor pertanian dan bahan tanaman (KHATTAB dan ABDELKADER, 2015).

Teknik yang sudah banyak dilakukan untuk mendeteksi virus yang menunjukkan gejala mosaik pada tanaman nilam adalah serologi (*Enzyme Linked Immuno Assay*; ELISA) dan molekuler (*Polymerase Chain Reacton*; PCR). Teknik tersebut tidak ekonomis, lebih rumit dan butuh waktu yang lama (HUSSNAIN *et al.*, 2013; DJELOUAH *et al.*, 2014), jika dilakukan untuk mendeteksi jumlah sampel yang banyak. Selain itu juga membutuhkan peralatan yang banyak. Sedangkan TBIA adalah teknik yang lebih disukai untuk mendapatkan perkiraan yang tepat dan cepat dari insiden infeksi virus dibandingkan RT-PCR (FREEMAN *et al.*, 2013). Menurut HAN *et al.* (2007), ZEIN dan MIYATAKE (2009) bahwa teknik deteksi virus secara *Tissue Blot Immunobinding Assay* (TBIA) atau *Dot Immuno Binding Assay* (DIBA) adalah prosedur yang cepat dan dapat diandalkan untuk mendeteksi virus tanaman, seperti

Citrus tristeza virus (CTV) dan *Citrus psorosis virus* (CPsV) pada tanaman jeruk. Metode ini membutuhkan bagian sampel tanaman yang sedikit dan penyiapan sampel tanaman dapat dilakukan di lapangan. Jaringan tanaman yang sudah ditetaskan (*blotting*) pada membrane nitroselulosa dapat disimpan pada suhu 25 °C selama sedikitnya 4 minggu sebelum pengujian dilakukan. Selain itu, membran yang sudah *blotting* dapat dikirim ke laboratorium pengujian untuk diproses lebih lanjut dan dapat diukur dengan densitometer (ZEIN dan MIYATAKE, 2009).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan teknik deteksi dini virus penyebab penyakit mosaik pada benih dan tanaman nilam secara serologi.

BAHAN DAN METODE

1. Pengambilan Sampel Nilam

Sampel daun (bagian pucuk) dari benih tanaman nilam yang bergejala mosaik diperoleh dari (1) pembibitan Cimanggu, Kota Bogor (6°26' LS dan 106°48' BT), (2) pertanaman nilam varietas Sidikalang dan Pachoulina milik penangkar benih di Cigombong, Kabupaten Bogor (6°18'0" - 6°47'10" LS dan 106°23'45" - 107°13'30" BT) (3), dan kebun nilam di Pandeglang, Banten (6°21' - 7°10' LS dan 104°48' - 106°11' BT). Pengambilan sampel dilakukan secara diagonal dengan 5 titik pengambilan, dan masing-masing titik 3-5 sampel. Jumlah total sampel benih nilam dan tanaman nilam adalah 180 sampel. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam plastik dan dibawa ke laboratorium untuk diuji atau dideteksi.

2. Teknik Deteksi Serologi dan Jenis Antiserum (Antibodi dan Konjugat)

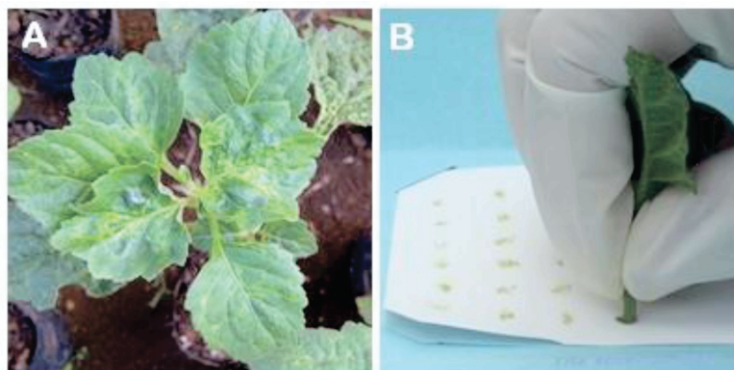
Teknik serologi yang digunakan adalah Tissue Blot Immunobinding Assay (TBIA), Dot Immuno Binding Assay (DIBA) dan Enzyme Linked Immuno Assay

(ELISA). Antibodi yang digunakan adalah (1) *Potyvirus*, (2) *Broad bean wilt virus* 1,2 dan (3) *Cucumber mosaic virus* [AGDIA, USA]. Sedangkan konjugatnya adalah Anti Rabbit dan Anti Mouse Universal [SIGMA,USA].

Tissue Blot Immuno Assay (TBIA)

Teknik TBIA menggunakan metode metode CHANG *et al.*(2011) yang dimodifikasi. Sampel jaringan daun tanaman nilam *blotting* langsung pada membrane nitroselulosa (Gambar 1). Membran nitroselulosa yang digunakan adalah *Thermo Scientific* (USA), karena sudah diuji menggunakan jenis membrane yang lain tidak berhasil.

Setelah *blotting* sampel kering, membran direndam di dalam larutan 5% Triton X-100 selama 10 menit, lalu dibilas selama 10 menit dalam larutan buffer KPS (0,02M K₂HPO₄, 0,15M NaCl, 0,05% Tween-20, pH 7,4), setelah itu direndam dalam larutan *blocking* (5% non fat milk, 0,5% BSA bovine serum albumin dalam KPS). Membran kemudian diinkubasi pada suhu ruang sambil digoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 1 jam. Tanpa dibilas, membran direndam dalam larutan campuran antibody (1:1000, AGDIA-USA) dan konjugat (1:2000, goat anti rabbit -IgG, SIGMA-USA). Antibodi dan konjugat dilarutkan dalam larutan KPS. Kemudian membran diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar sambil digoyang dengan kecepatan 100 rpm. Membran kemudian dicuci selama 10 menit dengan larutan TBS (0,05 M Tris base, 0,15 M NaCl, pH 7,6) yang mengandung *tween* 0,05% (TBST). Pencucian diulangi sebanyak 2 kali masing masing selama 5 menit. Membran kemudian direndam dalam bufer substrat (100mM Tris-HCl pH 9,5, 100mM NaCl, 5mM MgCl₂ 5mM) yang mengandung *nitro blue tetrazolium* (NBT) dan *bromo indolil phosphate* (BCIP) (Sigma Fast B5655-5TAB, SIGMA) sampai terjadi perubahan warna. Bila reaksi positif akan terjadi perubahan warna putih menjadi ungu pada membran nitroselulosa yang telah ditetesi cairan perasan tanaman dan reaksi dapat dihentikan dengan merendam membran dengan akuabidest.



Gambar 1. Benih nilam (varietas Sidikalang) yang terinfeksi virus mosaik (A), *blotting* sampel daun terinfeksi pada membran nitroselulosa (B)

Figure 1. Patchouli seed (varieties Sidikalang) infected with mosaic virus (A), *blotting* samples of infected leaves on a nitrocellulose membrane (B)

Teknik serologi DIBA

Teknik DIBA menggunakan metode CHANG *et al.* (2011) yang dimodifikasi. Sampel jaringan daun tanaman nilam digerus dalam plastik kaca yang tebal (Gambar 2A) yang telah ditambahkan *sampel extraction buffer* dengan perbandingan 1:1 (b/v). Selanjutnya cairan perasan daun

nilam tersebut diteteskan kepada membran nitoselulosa (ukuran 0,45 mikron, Prod #88018-Germany) sebanyak 3 µl setiap sampel (Gambar 2B). Setelah tetesan sampel kering, membran direndam di dalam larutan 5% Triton X-100 selama 10 menit seperti proses teknik TBIA di atas.



Gambar 2. Sampel (daun nilam yang terinfeksi) digerus dalam bufer ekstraksi (A), cairan hasil dari gerusan daun (sap daun) diteteskan dengan menggunakan mikro pipet pada membran nitoselulosa (B)

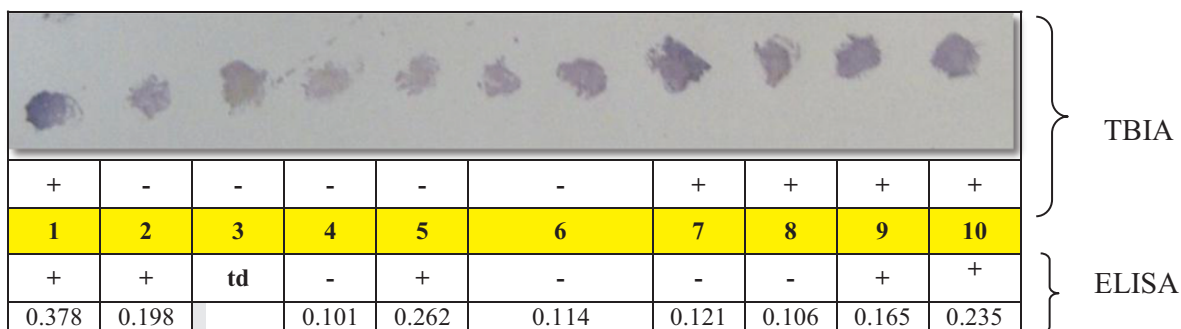
Figure 2. Samples (patchouli leaves infected) ground in extraction buffer (A), the liquids resulting from scouring the leaf (leaf sap) dropped by using a micro pipette on a nitrocellulose membrane (B)

Teknik serologi ELISA

Sampel nilam yang sudah dikoleksi dideteksi dengan metode serologi ELISA yang dibedakan berdasarkan prosedur kerjanya yaitu (1) *Indirect-ELISA* menggunakan antiserum *Potyvirus* mengikuti metode AGDIA (USA) dan (2) *Direct-ELISA* menggunakan antiserum *Broad bean wilt virus 2* (BBWV 2) mengikuti metode DSMZ (Germany) dan antiserum *Cucumber mosaic virus* (CMV) mengikuti metode AGDIA (USA). Selanjutnya hasil ELISA diukur nilai absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm. Hasil pembacaan dinilai positif apabila nilai absorbannya 1,5 kali lebih besar dari nilai absorbansi sampel negatif.

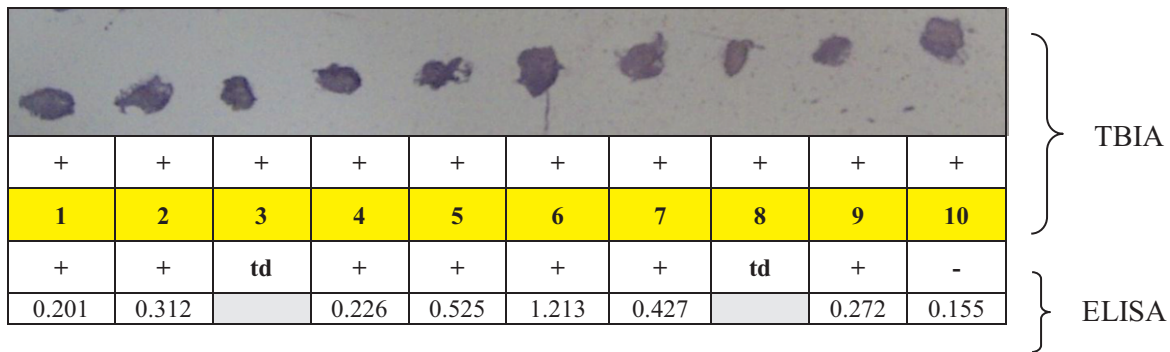
HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi virus *Broad bean wilt virus 2* (BBWV2) dan *Cucumber mosaic virus* (CMV) berhasil (100%) dilakukan pada 10 sampel benih nilam dengan menggunakan teknik *tissue blot immuno assay* (TBIA) (Gambar 3 dan 4). Ada perbedaan yang cukup signifikan antara hasil deteksi virus BBWV2 dengan TBIA dibandingkan ELISA, dimana TBIA lebih sensitif dibandingkan ELISA. Sedangkan hasil deteksi virus CMV, tidak berbeda antara TBIA dan ELISA.



Gambar 3. Hasil deteksi *Broad bean wilt virus 2* (BBWV2) pada benih nilam dengan dengan teknik TBIA dan ELISA. Nilai absorbansi kontrol negatif = 0.109. td=tidak dideteksi

Figure 3. The results detection of *Broad bean wilt virus 2* (BBWV2) on the seed patchouli with TBIA and ELISA techniques. Negative control absorbance value = 0109. td = not detected



Gambar 4. Deteksi *Cucumber mosaic virus* (CMV) pada benih nilam dengan menggunakan teknik TBIA dan ELISA. Nilai absorbansi kontrol negatif = 0.109. td=tidak dideteksi

Figure 4. Detection of *Cucumber mosaic virus* (CMV) in seed patchouli using TBIA and ELISA techniques. Negative control absorbance value = 0.109. td = not detected

Secara prinsip dan hasilnya, tidak ada perbedaan antara teknik TBIA dan DIBA. Kedua teknik ini efektif untuk mendeteksi seluruh virus mosaik pada tanaman nilam dan aplikatif dilakukan di pembibitan maupun di lapangan. Perbedaannya hanya pada cara penyiapan sampelnya saja. Seluruh virus telah dideteksi pada seluruh sampel yang diambil (data tidak ditampilkan) dengan prinsip teknik yang

sama dan dianalisis dengan membandingkan antara metode TBIA/DIBA dengan ELISA.

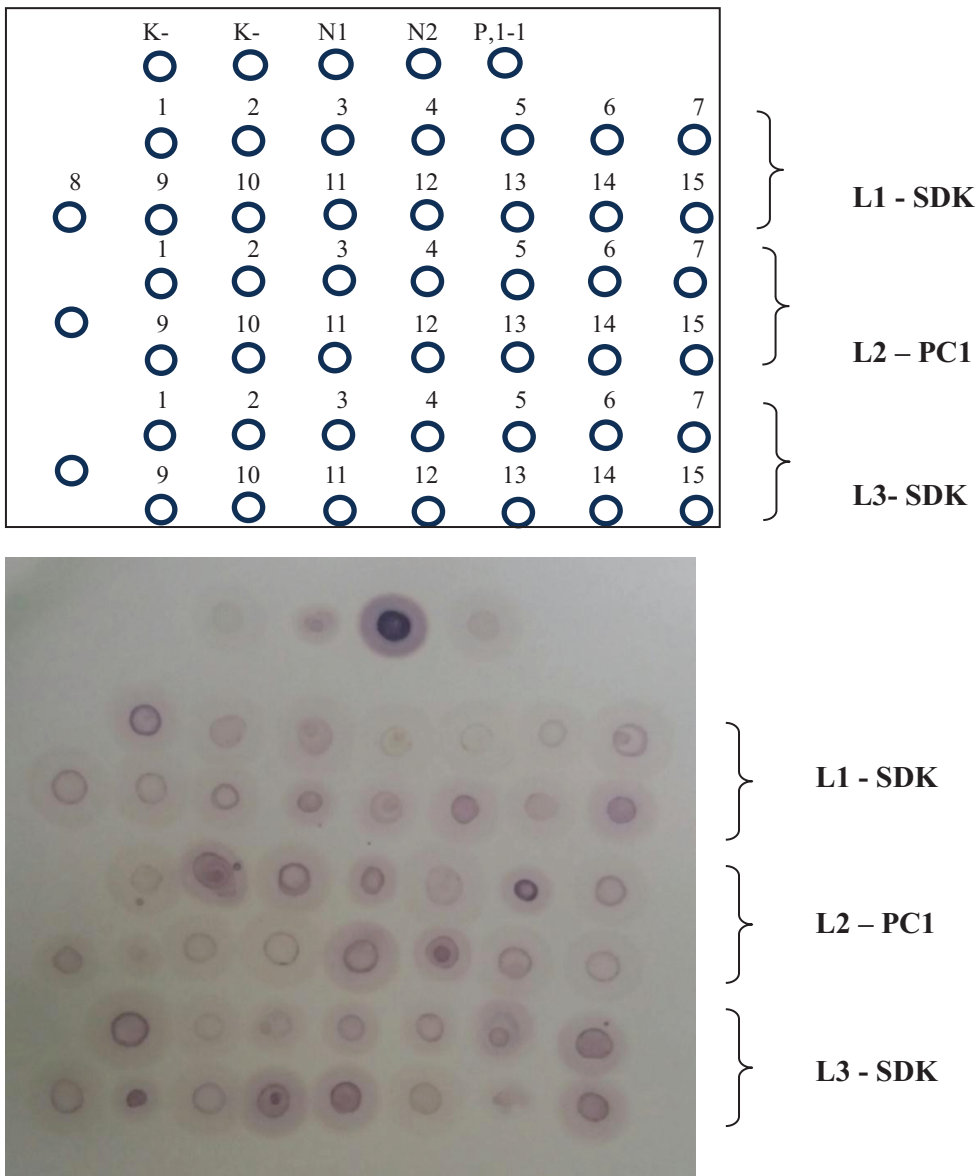
Hasil deteksi virus mosaik *Potyvirus* pada 45 sampel benih nilam asal Cigombong dengan metode DIBA dapat dilihat pada Gambar 5 dan kemudian hasilnya dibandingkan dengan metode ELISA pada Tabel 1.

Tabel 1. Deteksi virus mosaik (*Potyvirus*) pada sampel benih nilam yang berasal dari Cigombong

Table 1. Detection mosaic virus (*Potyvirus*) on seed samples derived from Cigombong patchouli

Sampel Sample	<i>Potyvirus</i>		Sampel Sample	<i>Potyvirus</i>		Sampel Sample	<i>Potyvirus</i>	
	Nilai absorbansi Absorbant value	Hasil Yield		Nilai absorbansi Absorbant value	Hasil Yield		Nilai absorbansi Absorbant value	Hasil Yield
Bufér	0,098		Bufér	0,098		Bufér	0,098	
K (-)	0,141		K (-)	0,141		K (-)	0,141	
K(+)	0,964		K(+)	0,964		K(+)	0,964	
K(+) ^{N1}	0,772		K(+) ^{N1}	0,772		K(+) ^{N1}	0,772	
K(+) ^{N2}	0,528		K(+) ^{N2}	0,528		K(+) ^{N2}	0,528	
L1-SDK 1	1,456	Positif	L2-PC1-1	0,512	Positif	L3-SDK 1	0,812	Positif
L1-SDK 2	0,762	Positif	L2-PC1-2	1,009	Positif	L3-SDK 2	0,326	Positif
L1-SDK 3	0,599	Positif	L2-PC1-3	0,785	Positif	L3-SDK 3	0,504	Positif
L1-SDK 4	0,342	Positif	L2-PC1-4	0,831	Positif	L3-SDK 4	0,461	Positif
L1-SDK 5	0,658	Positif	L2-PC1-5	1,215	Positif	L3-SDK 5	0,703	Positif
L1-SDK 6	1,145	Positif	L2-PC1-6	0,859	Positif	L3-SDK 6	0,563	Positif
L1-SDK 7	0,663	Positif	L2-PC1-7	0,676	Positif	L3-SDK 7	0,869	Positif
L1-SDK 8	1,031	Positif	L2-PC1-8	0,851	Positif	L3-SDK 8	0,649	Positif
L1-SDK 9	0,717	Positif	L2-PC1-9	0,444	Positif	L3-SDK 9	0,615	Positif
L1-SDK 10	0,937	Positif	L2-PC1-10	0,435	Positif	L3-SDK 10	0,430	Positif
L1-SDK 11	0,669	Positif	L2-PC1-11	0,834	Positif	L3-SDK 11	0,616	Positif
L1-SDK 12	0,650	Positif	L2-PC1-12	0,490	Positif	L3-SDK 12	0,641	Positif
L1-SDK 13	1,077	Positif	L2-PC1-13	0,942	Positif	L3-SDK 13	0,452	Positif
L1-SDK 14	0,692	Positif	L2-PC1-14	0,558	Positif	L3-SDK 14	0,357	Positif
L1-SDK 15	0,984	Positif	L2-PC1-15	0,592	Positif	L3-SDK 15	0,714	Positif

Keterangan: L1,2,3 = lahan 1,2,3; SDK = sidikalang; PC1 = Pachoulina 1.
 Note: L1,2,3 = land 1,2,3; SDK = sidikalang; PC1 = Pachoulina 1.



Gambar 5. Deteksi *Potyvirus* pada benih nilam yang berasal dari Cigombong dengan teknik DIBA. L1,2,3 = lahan 1,2,3. SDK = Sidikalang. PC1 = Pachoulina 1. K- = kontrol negatif (akuades). N1,N2, P1-1 = kontrol positif (tanaman nilam yang positif terinfeksi *Potyvirus*)

Figure 5. Detection *Potyvirus* on patchouli seeds derived from Cigombong with DIBA techniques. L1,2,3 = 1,2,3 land. SDK = Sidikalang. PC1 = Pachoulina 1. K = negative control (aquadest). N1, N2, P1-1 = positive control (Patchouli plant are positive infected with *Potyvirus*)

Hasil deteksi 45 sampel dari penangkar benih nilam di Kecamatan Cigombong, Kabupaten Bogor terhadap *Potyvirus* juga menunjukkan hasil yang sama antara teknik DIBA dan ELISA, seluruh sampel 100% terinfeksi *Potyvirus*. Banyak kemudahan dan kelebihan dalam menggunakan teknik TBIA/DIBA yaitu: (1). blotting sampel pada membran nitroselusa dengan teknik DIBA atau TBIA

yang telah disimpan selama 1 bulan, masih bekerja dengan baik dan menunjukkan hasil yang sama (data tidak ditampilkan). Hal ini bisa diaplikasikan untuk melakukan deteksi sampel nilam yang membutuhkan waktu transportasi yang lama dari lapangan menuju laboratorium, (2). antiserum yang telah digunakan, masih dapat digunakan untuk deteksi sampel yang baru, (3). teknik

DIBA atau TBIA lebih murah dibandingkan dengan ELISA karena perbandingan antibodi yang digunakan adalah 1 : 1000 untuk maksimal 120 sampel daun nilam; sedangkan pada ELISA adalah 1 : 100 untuk maksimal 45 sampel daun nilam. Jadi dalam penggunaan antiserum, teknik DIBA dan TBIA adalah 10 kali lebih murah dibandingkan dengan teknik ELISA.

Menurut DJELOUAH *et al.* (2014), TBIA merupakan teknik, yang dianjurkan sebagai alternatif pengganti ELISA yang dapat diandalkan dalam survey penyakit tanaman dengan skala besar, karena memiliki beberapa keunggulan yang dapat diringkas sebagai berikut: (1) teknik ini mudah untuk menangani dan tidak memerlukan peralatan yang canggih atau operator sangat terampil; (2) metode ini membutuhkan waktu yang singkat untuk eksekusi (kurang lebih 4 jam); (3) biaya adalah sekitar 50% kurang dari teknik ELISA; (4) jumlah sampel harian yang bisa dikerjakan dua kali ELISA; (5) membran dapat disimpan pada suhu kamar selama beberapa hari sebelum deteksi dilakukan, hal ini sangat menguntungkan; dan (6) blotting sampel dapat langsung dilakukan di lapangan, untuk mengurangi resiko penyebaran virus ke daerah baru yang belum terinfeksi. Selanjutnya, TBIA terbukti sangat membantu untuk pengujian skala besar dengan biaya yang sangat rendah tanpa banyak kompromi pada sensitivitas atau spesifisitas (HUSSNAIN *et al.*, 2013). TBIA dapat mendeteksi virus *Cowpea mosaic comovirus* (CPMV) pada 4 hari setelah inokulasi secara mekanis (MERVAT dan FATH, 2006).

Prinsip teknik TBIA sama dengan ELISA, yaitu menggunakan antibodi untuk mendeteksi virus tanaman (HANCEVIC *et al.*, 2012). Namun, pada ELISA digunakan plat khusus yang terbuat dari polystyrene, sedangkan TBIA memakai membran nitroselulosa dan nylon. Itulah alasan bahwa teknik deteksi ini disebut sebagai TBIA atau DIBA. Seperti ELISA, TBIA juga memerlukan antibodi spesifik untuk menunjukkan sampel positif dan juga perlu sejumlah besar konsentrasi virus untuk mengurangi hasil yang negatif. Penggunaan teknik TBIA lebih menguntungkan dibandingkan ELISA dalam hal waktu deteksi lebih cepat, biaya lebih murah, dan tingkat sensitivitas serta kenyamanan lebih baik. Teknik TBIA sudah banyak digunakan untuk mendeteksi beberapa jenis virus tanaman, seperti *Bamboo mosaic virus* (BoMV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), CTV, *Cymbidium mosaic virus* (CyMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), dan *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (HANCEVIC *et al.*, 2012; MAKKOUK dan KUMARI, 2006; SHANG *et al.*, 2011). TBIA atau DIBA lebih efektif dan aplikatif digunakan di lapangan (AHANGARAN *et al.*, 2009).

Ada 8 keuntungan dari teknik TBIA yaitu (1) tidak perlu menggerus atau mengekstrak cairan (sap) dari daun, (2) dapat meng blot banyak sampel dan menguji untuk banyak virus, (3) membran yang sudah di blot dapat disimpan lama, (4) beberapa membran dapat diproses secara bersamaan, (5) membutuhkan peralatan yang

minimal: shaker (atau bisa digoyang dengan tangan), forcep, timer, gunting, wadah kotak plastik, dan lain-lain; (6) waktu pengujian proses yang pendek, kira-kira 4 jam, (7) endapan ungu yang dihasilkan sifatnya permanen, sehingga skoring dapat dilakukan kapan saja dan di ulang-ulang, (8) ekonomis dan mudah dilakukan.

KESIMPULAN

Ketiga teknik deteksi secara serologi [Tissue Blot Immunobinding Assay (TBIA), Dot Immuno Binding Assay (DIBA) dan Enzyme Linked Immuno Assay (ELISA)] dapat digunakan untuk mendeteksi virus (*Potyvirus*, BBWV2 dan CMV) pada nilam. Teknik serologi secara TBIA dan DIBA menggunakan antisera komersial berhasil mendeteksi 100% ketiga jenis virus (*Potyvirus*, BBWV2 dan CMV) yang menginfeksi tanaman nilam di pembibitan dan di lapangan. Kedua teknik ini lebih cepat dan juga mudah dibandingkan dengan ELISA sehingga dapat dianjurkan kepada petani dan penangkar benih tanaman nilam untuk mencegah penyebaran penyakit mosaik ke daerah lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuti Legiastuti, Halimah Siregar, Siti Nuryanih dan Asep Muslihat yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian. Naskah ini telah dipresentasikan sebagai poster pada Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Fitopatologi Indonesia (PFI) ke 23 di Bekasi tanggal 11 – 13 Nopember 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- AHANGARAN, A., G.M. MOHAMMADI, M.K. HABIBI, S. KHEZRI, and N. SHAHREEN. 2009. Use of rapid serological and nucleic acid based methods detecting the *Soybean mosaic virus*. *J. Agric. Sci. Technol.* 11: 91-97.
- BISWAS K, A. TARAFDAR, and R. KUMAR. 2016. Detection of plant viruses for their management: Recent Trends. Chapter 3. In: *Plant Pathogen Interaction: Recent Trends.* (Eds) Mitra R and Barman A. Sharma Publications & Distributors: New Delhi. Pp. 77-92.
- CHANG, P.G.S, W.A. MCLAUGHLIN, and S.A. TOLIN. 2011. Tissue blot immunoassay and direct RT-PCR of cucumoviruses and potyviruses from the same NitroPure nitrocellulose membrane. *J. Virological Methods* 171: 345-351.
- DJELLOUAH, K., D. FRASHERI, F. VALENTINI, A.M. D'ONGHIA, and M. DIGIARO. 2014. Direct tissue blot immunoassay for detection of *Xylella fastidiosa* in olive trees. *Phytopathologia Mediterranea* 53(3): 559-564. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-14603.

- FREEMAN, A.J., M.E. SPACKMAN, M. AFTAB, V. MCQUEEN, S. KING, J.A.G. VANLEUR, M.H. LOH, and B. RODONI. 2013. Comparison of tissue blot immunoassay and reverse transcription polymerase chain reaction assay for virus-testing pulse crops from a South-Eastern Australia survey. *Australian Plant Pathol.* 42: 675-683.
- HAN, J.H., J.S. HIN, Y.H. KIM, and B.P. KIM. 2007. Improvement of antigen blotting in a tissue blot immunobinding assay for detection of two chili pepper viruses. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17(11): 1885-1889.
- HANCEVIC, K., S. CERNI, T. RADIC, and D. SKORIC, D. 2012. Comparison of different methods for *Citrus tristeza* virus detection in Satsuma mandarins. *J. Plant Dis. Protect.* 119: 2-7.
- HUSSNAIN S.Z.U, C.A. RAUF CA, M.I. HAQUE MI, S. AFGHAN S, T. MUKHTAR T, F. NAZ F, M.K.N. SHAH MKN, and A. SHAHAZAD A. 2013. Comparison of DAC-ELISA and tissue blot immunoassay for the detection of *Acidovorax avenae* subsp *avenae*, causal agent of red stripe of sugarcane. *J. Plant Pathol. Microb.* 4(4):1-4. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000172>.
- KHATTAB, E.A.H. and H.S. ABDELKADER. 2015. Production of polyclonal antibodies to bean yellow mosaic virus isolates affecting legumes and ornamental plants In Taif Province. *Intl J Agri Crop Sci.* 8(2): 149-159.
- MAKKOUK, K.M. and S.G. KUMARI. 2006. Molecular diagnosis of plant viruses. *Arab. J. Plant Protect.* 24: 135-138.
- MERVAT, M. and A. FATH. 2006. Comparison between different serological methods for detection of *Cowpea mosaic comovirus*. *Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.)* 2: 13-17.
- NOVERIZA, R., G. SUASTIKA, S.H. HIDAYAT dan U. KARTOSUWONDO. 2012. Pengaruh infeksi virus mosaik terhadap produksi dan kadar minyak tiga varietas nilam. *Buletin Littro* 23(1): 93-101.
- SHANG, H., Y. XIE, X. ZHOU, Y. QIAN, and J. WU. 2011. Monoclonal antibody-based serological methods for detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. *Virology* 438: 228-234.
- ZEIN, H.S. and K. MIYATAKE. 2009. Development of Rapid, Specific and Sensitive Detection of Cucumber Mosaic Virus. *Afr. J. Biotechnol.* 8(5): 751-759.