

IDENTIFIKASI MOLEKULER VIRUS PENYEBAB PENYAKIT DAUN KERITING ISOLAT BANTUL PADA MELON

MOLECULAR IDENTIFICATION OF VIRUS CAUSING LEAF CURL DISEASE BANTUL ISOLATE ON MELON

Fariha Wilisiani^{1)*}, Susanto Somowiyarjo²⁾, & Sedyo Hartono²⁾

¹⁾Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada
Jln. Teknik Utara, Pogung, Sleman, Yogyakarta 55281

²⁾Laboratorium Virologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: farihawilis@gmail.com

ABSTRACT

One of important problems of melon farming in Yogyakarta is a leaf curl disease that show specific symptom of Begomovirus infection. The little information about the nature of virus causal agent was constraint for the disease management. The purposes of this research were to molecularly identify the leaf curl causing virus in melon in Yogyakarta and to find the genetic relationship of this virus with other Begomovirus members which cause leaf curl disease. This research was conducted through several phases, which are: curly leaves collection on the field, virus DNA isolation, Begomovirus identification using universal primer *Krusty Homer*, Begomovirus DNA-A and DNA-B detection using primer *Gemini full BamHI forward and reverse for full genome DNA-A*, and primer *BF518 and BR1641 for DNA-B*, genome sequencing and genetic relationship analysis of the sequence with other Begomovirus causing leaf curl. The result of field studies which were conducted in Sewon found some melon plant with symptom of Begomovirus infection. The molecular identification result using PCR showed that leaf curl causing virus in melon is Begomovirus, having DNA-A and DNA-B. Genetic relationship analysis of this virus with other Begomovirus causing leaf curl shows that this virus is closely related with *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus (AB267834)* based on nucleotide and amino acid sequencing as coat protein of Begomovirus. The result of shows that the study is the first report of *PepYLCIDV* infection, a bipartite genome virus on melon, and its natural leaf curl symptom in Indonesia.

Key words: Begomovirus, leaf curl, melon, *PepYLCIDV (AB267834)*

INTISARI

Salah satu kendala budidaya melon (*Cucumis melo L.*) di Yogyakarta yaitu adanya penyakit daun keriting dengan gejala khas infeksi *Begomovirus*. Belum tersedianya informasi mengenai jenis dan ciri patogen virus penyebab penyakit tersebut merupakan salah satu kendala penting dalam menentukan strategi pengelolaan virus tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi secara molekuler virus penyebab daun keriting pada melon di Yogyakarta dan mengetahui hubungan kekerabatan virus tersebut dengan virus anggota *Begomovirus* lain penyebab daun keriting yang telah dipublikasi di *database genbank*. Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu deskripsi gejala daun keriting di lapangan, isolasi DNA virus, identifikasi *Begomovirus* dengan primer universal *Krusty Homer*, deteksi DNA-A dan DNA-B *Begomovirus* dengan primer *Gemini full BamHI forward and reverse* untuk *full genome DNA-A*, serta primer *BF518 dan BR1641* untuk DNA-B, *sequencing* genom, dan analisis hubungan kekerabatan *sequence* tersebut dengan *Begomovirus* lain penyebab daun keriting. Hasil pengamatan lapangan di Sewon Bantul diperoleh tanaman melon dengan gejala khas infeksi *Begomovirus*. Hasil identifikasi secara molekuler dengan PCR menunjukkan bahwa virus penyebab daun keriting pada melon adalah *Begomovirus*, memiliki DNA-A dan DNA-B. Analisis hubungan kekerabatan virus penyebab daun keriting pada melon dengan *Begomovirus* lain penyebab daun keriting menunjukkan bahwa virus tersebut berkerabat dekat dengan *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus (AB267834)* berdasarkan sekuen nukleotida dan asam amino sebagian *coat protein Begomovirus*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi *PepYLCIDV* dengan *bipartite genome* pada melon dengan gejala daun keriting secara alamiah di Indonesia.

Kata kunci: *Begomovirus*, daun keriting, melon, *PepYLCIDV (AB267834)*

PENGANTAR

Tanaman melon (*Cucumis melo L.*) merupakan tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomi dan keuntungan yang menjanjikan, tetapi dalam pembudidayaannya sering terkendala oleh infeksi patogen virus dengan gejala daun keriting. Infeksi virus tersebut

berdampak pada penurunan hasil produksi buah, baik kualitas maupun kuantitasnya. Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa gejala daun keriting pada tanaman melon merupakan gejala khas infeksi virus anggota *Begomovirus* dengan vektor *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Julijantono, 2013; Idris *et al.*,

2008; Chang *et al.*, 2010). *Squash leaf curl virus* (SLCV) yang ditemukan di USA oleh Cohen *et al.* pada tahun 1983 merupakan penelitian pertama yang menunjukkan infeksi *Begomovirus* pada tanaman Cucurbitaceae. *Begomovirus* lain yang telah dilaporkan menginfeksi tanaman Cucurbitacea di beberapa negara, diantaranya yaitu *Cucurbit leaf curl virus* (CuLCV) di USA bagian barat dan Meksiko bagian utara, *Squash leaf curl Phillipines virus* (SLCPhV) dan *Luffa yellow mosaic virus* (LYMV) di Filipina dan Vietnam, *Squash leaf curl China virus* (SLCCnV) dan *Squash leaf curl Yunnan virus* (SLCYnV) di China, *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) di Thailand dan Pakistan, dan *Melon chlorotic leaf curl virus-Guatemala* (MCLCuV-Gt) di Amerika bagian tengah (Chang *et al.*, 2010). Infeksi *Begomovirus* juga telah dilaporkan di Indonesia yaitu *Squash leaf curl philippines virus* pada tanaman melon (Cucurbitaceae) di Kediri, Jawa Timur (Julijantono, 2013).

Identifikasi jenis dan penentuan ciri-ciri patogen, termasuk virus, merupakan langkah awal yang sangat menentukan keberhasilan usaha pengelolaan penyakit yang efektif, aman, dan efisien. Beberapa metode yang dapat digunakan dalam identifikasi virus, di antaranya yaitu secara morfologi, serodiagnosis, serta molekuler. Identifikasi secara molekuler telah banyak dikembangkan dalam mengidentifikasi virus, yaitu dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) dengan hasil yang cepat dan akurat. PCR untuk mengidentifikasi *Begomovirus* telah banyak dilakukan dengan menggunakan primer *Krusty Homer* yang dapat mengamplifikasi sebagian dari *coat protein* virus tersebut (Revill *et al.*, 2003).

Begomovirus memiliki genom *circular single-stranded DNA* (ssDNA) yang terdiri dari *single molecule* berukuran 2,7–2,8 kb (*monopartite*) dan sebagian besar *double molecules*, DNA-A dan DNA-B (*bipartite*) (Vanitharani *et al.*, 2005). Virus-virus yang telah diketahui menginfeksi melon di luar negeri termasuk dalam *Begomovirus* dengan genom *bipartite*. Keseluruhan genom tersebut berperan dalam infeksi serta transmisinya oleh vektor *whiteflies B. tabaci* (Brown *et al.*, 2011).

Virus penyebab daun keriting pada tanaman melon di Yogyakarta belum diketahui jenis dan karakternya. Jenis dan karakter virus tersebut perlu diketahui sebagai langkah awal usaha pengendalian virus tersebut. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan identifikasi secara molekuler terhadap virus tersebut serta dilakukan analisis hubungan kekerabatan virus tersebut dengan *Begomovirus* penyebab daun keriting yang telah dipublikasikan di *database genebank*.

BAHAN DAN METODE

Pengamatan dan Pengambilan Sampel Daun Melon Isolat Bantul

Pengamatan dan pengambilan sampel daun melon dilakukan di Sewon, Bantul, Yogyakarta. Sampel yang diambil adalah daun bagian pucuk dari tanaman melon yang bergejala bercak kuning, daun keriting, dan tanaman tumbuh kerdil. Sampel tersebut dibersihkan, kemudian disimpan dalam keadaan kering segar (*fresh dry*) ke dalam botol yang berisi silika gel. Kejadian penyakit di lokasi tersebut dihitung berdasarkan persentase jumlah tanaman bergejala dibandingkan dengan jumlah total tanaman tidak bergejala di satu tempat pengamatan.

Identifikasi Molekuler Virus Penyebab Daun Keriting pada Tanaman Melon dengan PCR

Tanaman yang menunjukkan gejala khas infeksi *Begomovirus*, diidentifikasi secara molekuler dengan teknik PCR. Identifikasi dilanjutkan secara molekuler dengan teknik PCR menggunakan primer universal *Begomovirus*, *Krusty Homer* (Revill *et al.*, 2003). Sampel DNA diekstraksi dari daun melon bergejala keriting dengan *Nucleon Phytopure Genomic DNA Extraction Kits* (GE Healthcare). Sampel daun sebanyak 0,1 gram digerus, ditambahkan 600 µl Reagent 1 (10 mM) dan 200 µl Reagent 2 (10 mM). Selanjutnya diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 65°C selama 10 menit, dan disimpan dalam es selama 20 menit. Sampel ditambah 500 µl kloroform dan 100 µl *Nucleon Phytopure DNA extraction resin suspension*, di *sentrifuge* pada 4300 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan ditambah isopropanol dingin, di *sentrifuge* pada 15000 rpm selama 5 menit. DNA *pellet* dicuci dengan etanol dingin 70%, kemudian di *sentrifuge* pada 15000 rpm selama 5 menit. Setelah kering, DNA *pellet* dilarutkan dengan TE *buffer* dan disimpan pada suhu 20°C. Amplifikasi dilakukan menggunakan *Bioline Kit* (*Mediterrania Life Science*), mix PCR dibuat dengan DNA yang digunakan sebanyak 1 µl dan primer *Krusty Homer* masing-masing sebanyak 1 µl (50 pmol), dan ditambahkan *destillated water* hingga volume akhir 25 µl. Amplifikasi dengan PCR dilakukan dengan tahapan pre denaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing 55°C selama 30 detik, elongasi 72°C selama 30 detik, dilakukan sebanyak 35 siklus, dan dilanjutkan final elongasi 72°C selama 5 menit.

Deteksi DNA-A dan DNA-B Virus Penyebab Daun Keriting pada Melon dengan PCR

Sampel DNA yang telah diketahui positif terinfeksi *Begomovirus* diamplifikasi kembali untuk dideteksi DNA-A dan DNA-B *Begomovirus*. Amplifikasi untuk

deteksi DNA-A dilakukan dengan KOD Pluz Neo Kit (Toyobo) dan primer *Gemini full* BaM-F & Bam-R untuk DNA-A (Nishigawa, komunikasi pribadi), sedangkan deteksi DNA-B dilakukan dengan Bioline Kit (*Mediterranea Life Science*) dan primer BF518 dan BR1641 (Reddy *et al.*, 2005). DNA yang digunakan sebanyak 1 µl dan masing-masing primer sebanyak 1 µl, dicampur dengan KOD Pluz Neo Kit untuk DNA-A dan Bioline Kit untuk DNA-B, ditambahkan *distilled water* hingga volume akhir masing-masing deteksi sebanyak 25 µl. Amplifikasi dengan PCR untuk deteksi DNA-A dilakukan dengan tahapan pre denaturasi 94°C selama 2 menit, denaturasi 94°C selama 10 detik, *annealing* 55°C selama 30 detik, elongasi 68°C selama 90 detik, dilakukan sebanyak 35 siklus, dan dilanjutkan final elongasi 68°C selama 5 menit. Deteksi DNA-B dilakukan dengan pengaturan temperatur dan waktu proses amplifikasinya sama dengan deteksi *Begomovirus*.

Hubungan Kekerabatan dengan Begomovirus Lain yang Telah Dipublikasi di Database GeneBank

Produk PCR yang telah diketahui positif terdeteksi *Begomovirus* dengan primer *Krusty Homer* disekuensi di *Macrozone* dengan *Genetic Analyzer* (ABI Pris 310, version 5,2). Data hasil *sequencing* sampel uji dimasukkan ke program BLAST di NCBI untuk dipilih beberapa isolat yang memiliki kekerabatan yang tinggi dengan sekuen sampel uji. Selain itu, juga dipilih sekuen nukleotida dari *Begomovirus* yang telah diketahui menginfeksi tanaman melon di luar negeri, sebagai pembandingan. Sekuen sampel uji dan beberapa sekuen yang telah dipilih melalui NCBI tersebut di-*alignment* menggunakan *Clustal W Multiple Alignment* BioEdit. Hubungan kekerabatan sekuen

sampel uji dan beberapa sekuen yang telah dipilih melalui NCBI tersebut divisualisasi dalam bentuk dendrogram menggunakan program MEGA5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Gejala Daun Keriting pada Melon

Hasil pengamatan gejala daun keriting pada melon di lahan melon Sewon, Bantul Yogyakarta menunjukkan bahwa tanaman melon tersebut diduga terinfeksi *Begomovirus* dengan gejala awal infeksi ditunjukkan dengan bercak kuning pada daun, berkembang menjadi penebalan tulang daun, daun keriting (*curly*), dan pertumbuhan tanaman terhambat (*stunting*) (Gambar 1). Infeksi virus pada tanaman dapat mengakibatkan berkurangnya fotosintesis, yaitu berkurangnya klorofil pada daun, berkurangnya efisiensi klorofil, atau berkurangnya luas daun, serta berkurangnya substansi pengatur pertumbuhan tanaman (Mushtaq *et al.*, 2014) sehingga dapat menghambat pertumbuhan tanaman tersebut.

Identifikasi Molekuler Virus Penyebab Daun Keriting pada Melon

Identifikasi sampel bergejala daun keriting dengan PCR menggunakan primer *universal Begomovirus*, *Krusty & Homer* (Revill *et al.*, 2003) menunjukkan hasil positif terinfeksi *Begomovirus* dengan terlihatnya band berukuran ± 580 bp (Gambar 2). Primer *Krusty & Homer* dapat mengamplifikasi nukleotida yang mengkode *coat protein Begomovirus*, yang merupakan *conserved gene* dari *Begomovirus* (Revill *et al.*, 2003; Reddy, *et al.*, 2005), sehingga primer tersebut dapat digunakan untuk identifikasi awal virus tersebut. Sampel yang positif terdeteksi *Begomovirus* di-

**A****B**

Gambar 1. Tanaman melon tidak bergejala *leaf curl* (A) dibandingkan dengan tanaman melon dengan gejala *leaf curl* (B) yang diduga terinfeksi *Begomovirus*

deteksi lebih lanjut dengan primer *Gemini full Bam-F* dan *Bam-R* untuk mendeteksi DNA-A virus tersebut (Nishigawa, komunikasi pribadi). Hasil amplifikasi dengan primer tersebut menunjukkan bahwa sampel yang diuji dalam penelitian ini memiliki DNA-A dengan teramplifikasinya *full genome* DNA-A-nya berukuran ± 2700 bp (Gambar 3).

Sebagian besar Begomovirus merupakan virus dengan genom *bipartite*, yaitu memiliki DNA-A dan DNA-B. Deteksi ada tidaknya DNA-B dengan primer BF518 dan BR1641 (Reddy *et al.*, 2005) pada sampel yang telah diketahui positif terinfeksi *Begomovirus* menunjukkan bahwa sampel tersebut positif memiliki DNA-B dengan teramplifikasinya sekuen berukuran ± 1180 bp (Gambar 4). Sepasang primer tersebut merupakan primer *degenerate* yang didesain dari sekuen DNA-B Indian yang telah diketahui sekuen totalnya. Hasil deteksi tersebut merupakan laporan pertama yang menunjukkan bahwa *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman melon dengan gejala *leaf curl* di Indonesia memiliki *bipartite genome*, yaitu DNA-A dan DNA-B.

Analisis Sekuen Coat Protein DNA Virus dari Melon dengan Gejala Daun Keriting

Analisis BLAST pada database *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) yang dilakukan pada sekuen sampel uji menunjukkan bahwa sekuen tersebut sesuai dengan sebagian sekuen nukleotida yang mengkode *coat protein* beberapa *Pepper yellow leaf curl virus* di Indonesia, yaitu PepYLCIDV (AB267834), PepYLCIDV *Tomato* (AB267836), PepYLCIDV *Ageratum* (AB267838), PepYLCIDV *Bogor* (DQ083764), dan PepYLCIDV *Bogor tomato* (DQ083765). Dalam penelitian ini dilakukan *alignment* sekuen sampel uji (PepYLCIDV-melon) dengan beberapa isolat PepYLCIDV serta beberapa virus anggota *Begomovirus* yang telah diketahui menginfeksi tanaman melon dengan gejala daun keriting, yaitu *Squash leaf curl China virus* (HM566112) (Wu *et al.*, 2010), *Melon chlorotic leaf curl Guatemala virus* (AF325497) (Brown *et al.*, 2001), dan *Tomato leaf curl New Delhi virus* (GU180095) (Chang, 2010).

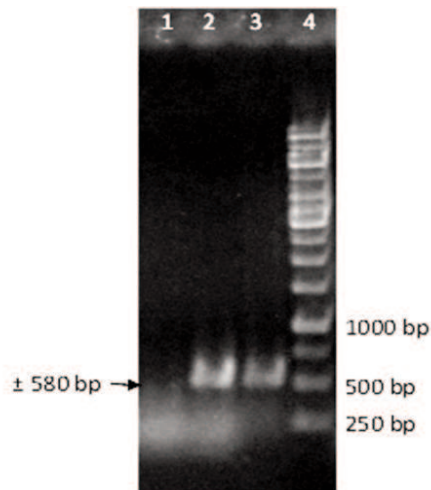
Analisis sekuen nukleotida PepYLCIDV-melon melalui *multiple sequence alignment* dengan program BioEdit menunjukkan adanya beberapa basa yang berbeda di posisi tertentu antar sekuen PepYLCIDV-melon dengan beberapa PepYLCIDV maupun dengan SLCV-China, TolCNDV-OM, dan MCLCV-Guatemala (Gambar 5). Sekuen nukleotida PepYLCIDV-melon memiliki persentase kemiripan paling tinggi dengan PYLCIDV, yaitu sebesar 98,2% dan paling rendah dengan SLCV-China, yaitu sebesar 69,3% (Tabel 1). Sekuen tersebut juga memiliki persentase kemiripan lebih dari 90% dengan beberapa PYLCIDV yang

lain, sedangkan dengan TolCNDV-OM dan MCLCV-Guatemala hanya memiliki persentase kemiripan di bawah 80%.

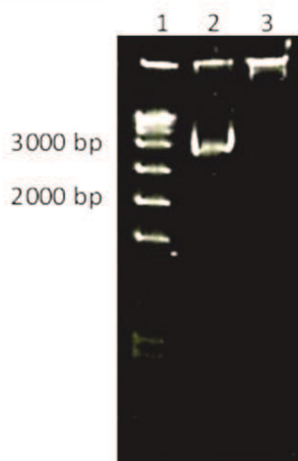
Hasil *alignment* sebagian sekuen asam amino yang mengkode *coat protein* virus tersebut juga menunjukkan bahwa sekuen PepYLCIDV-melon memiliki lebih banyak kemiripan dengan beberapa sekuen PYLCIDV dibandingkan dengan sekuen SLCV-China, TolCNDV-OM, dan MCLCV-Guatemala (Gambar 6). Sekuen PepYLCIDV-melon memiliki kemiripan yang tinggi dengan isolat PYLCIDV *Bogor tomato* (DQ083765) dan PYLCIDV (AB267834), yaitu sebesar 100% (Tabel 2).

Kekerabatan secara molekuler PepYLCIDV-melon dan beberapa *Begomovirus* yang lain yaitu beberapa isolat PYLCIDV, SLCV-China, TolCNDV-OM, dan MCLCV-Guatemala berdasarkan sebagian sekuen yang mengkode *coat protein Begomovirus*, baik dari sekuen nukleotida (Gambar 7.a) maupun asam amino (Gambar 7.b) menunjukkan bahwa PepYLCIDV-melon membentuk kelompok yang berkerabat dekat dengan beberapa isolat PepYLCIDV. Sekuen PepYLCIDV-melon diketahui berkerabat paling dekat dengan PYLCIDV berdasarkan sekuen nukleotidanya, sedangkan berdasarkan sekuen asam aminonya PepYLCIDV-melon berkerabat paling dekat dengan PepYLCIDV dan PepYLCIDV *tomato-Bogor*. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan basa nukleotida PepYLCIDV-melon dengan PepYLCIDV dan PepYLCIDV *tomato-Bogor* yang tidak berpengaruh dalam mengkode asam aminonya sehingga persentase kemiripan dan tingkat kekerabatan PepYLCIDV-melon dengan PepYLCIDV maupun PepYLCV *tomato-Bogor* berdasarkan sekuen asam aminonya lebih tinggi dibandingkan berdasarkan sekuen nukleotidanya.

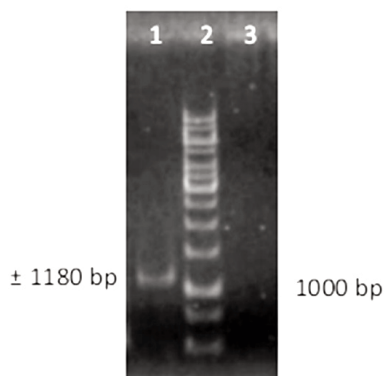
Hasil identifikasi molekuler virus penyebab daun keriting pada tanaman melon dalam penelitian ini menunjukkan bahwa virus tersebut berkerabat dekat dengan PYLCIDV (AB267834) berdasarkan analisis sebagian sekuen nukleotida dan asam amino yang mengkode *coat protein Begomovirus*. Penelitian ini merupakan laporan pertama infeksi PepYLCIDV secara alami pada tanaman melon di Indonesia. PepYLCIDV merupakan salah satu anggota *Begomovirus* dengan genom *bipartite*, yang telah banyak diketahui menginfeksi tanaman cabai (*Capsicum annum*) di Indonesia (Sakata *et al.*, 2008). Virus tersebut dapat menular dari tanaman inang ke tanaman lain melalui vektor *Bemisia tabaci*. Vektor tersebut diketahui mempunyai kisaran inang (*host range*) yang luas. PepYLCIDV telah diketahui dapat menginfeksi tanaman tomat (*L. esculentum* L.), *ageratum* (*A. conyzoides* L.), *N. benthamiana* L., *N. glutinosa* L., *N. tabacum* var Xanthi, *N. tabacum* var Samsun,



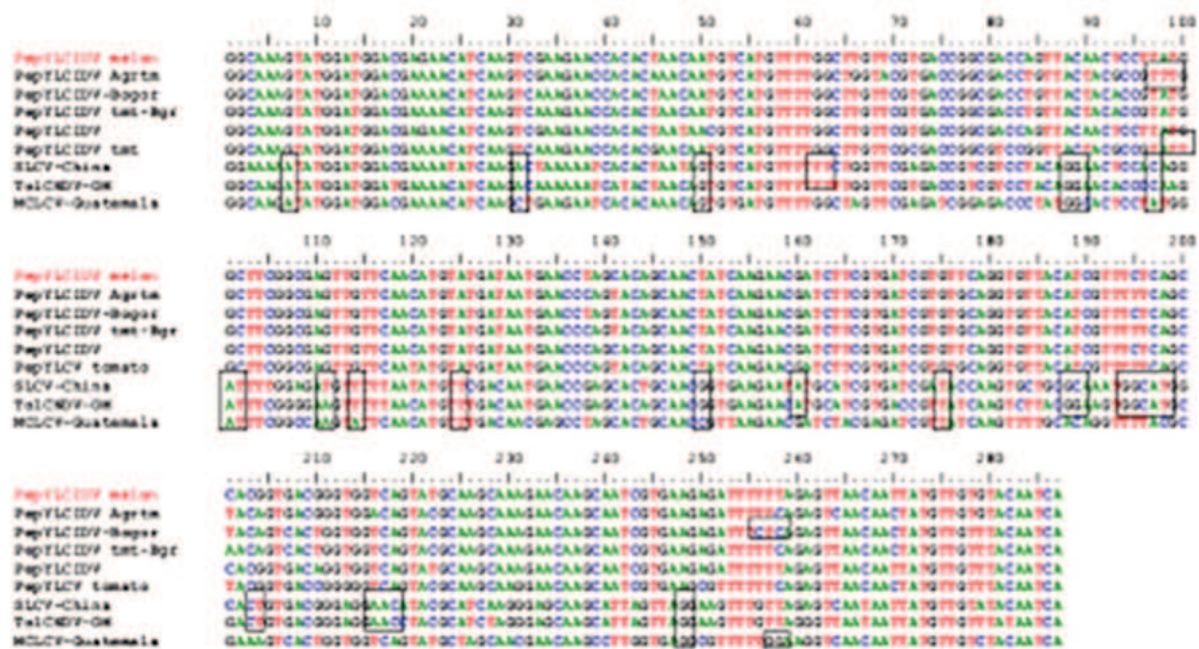
Gambar 2. Hasil identifikasi virus pada tanaman melon bergejala daun keriting dengan PCR, divisualisasi dengan gel agarose 1% (lajur 1: sampel tidak bergejala daun keriting (kontrol negatif); lajur 2: cabai terinfeksi *Begomovirus* (kontrol positif); lajur 3: tanaman melon dengan gejala *leaf curl*; lajur 4: *marker* 1 kb DNA ladder)



Gambar 3. Hasil deteksi DNA-A *Begomovirus* pada tanaman melon bergejala daun keriting dengan PCR, divisualisasi dengan gel agarose 1% [lajur 1: *marker* 1 kb DNA ladder; lajur 2: sampel bergejala daun keriting (\pm 2700 bp); lajur 3: sampel tidak bergejala daun keriting (kontrol negatif)]



Gambar 4. Hasil deteksi DNA-B *Begomovirus* pada tanaman melon bergejala daun keriting dengan PCR divisualisasi dengan gel agarose 1% [lajur 1: sampel bergejala daun keriting; lajur 2: *marker* 1 kb DNA ladder; lajur 3: sampel tidak bergejala daun keriting (kontrol negatif)]

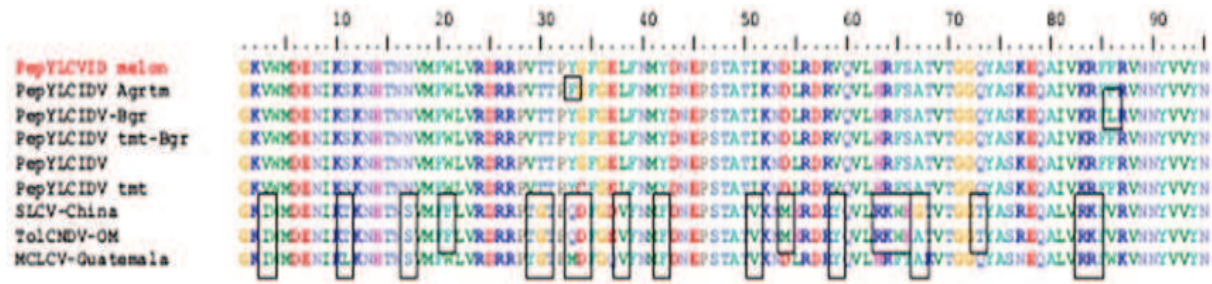


Gambar 5. Homologi sekuen nukleotida dari sebagian sekuen yang mengkode *coat protein* *Begomovirus* pada sampel uji (PepYLCIDV-melon) dengan beberapa virus anggota *Begomovirus* lain yang telah dipublikasi di *database* NCBI melalui analisis *multiple sequence alignment* dengan program BioEdit (PepYLCIDV-Agrtm= AB267838; PepYLCIDV-Bgr= DQ083764; PepYLCIDV tmt-Bgr= DQ083765; PepYLCIDV= AB267834; PepYLCIDV tmt= AB267836; SLCV-China= HM566112; ToICNDV-OM= GU180095; MCLCV-Guatemala= AF325497; kotak hitam: substitusi nukleotida)

Tabel 1. Persentase kesamaan basa nukleotida dari sebagian sekuen yang mengkode *coat protein* *Begomovirus* pada sampel uji (PepYLCIDV-melon) dan beberapa isolat *Begomovirus* lain yang telah dipublikasi di *database* NCBI

Sekuen	M-Bt	P-Ag	P-Bg	P-tmBg	P-Ind	P-tm	S-Ch	T-Om	M-Gt
M-Bt	ID								
P-Ag	93,0%	ID							
P-Bg	94,0%	95,1%	ID						
P-tmBg	93,7%	95,8%	98,6%	ID					
P-Ind	98,2%	91,9%	93,3%	93,7%	ID				
P-tm	91,2%	93,3%	94,0%	94,7%	91,2%	ID			
S-Ch	69,3%	68,2%	67,5%	67,5%	68,9%	67,5%	ID		
T-Om	71,0%	69,6%	70,7%	70,7%	70,3%	69,3%	87,8%	ID	
M-Gt	76,3%	75,2%	74,9%	75,2%	75,2%	73,5%	69,3%	70,7%	ID

Keterangan: Sekuen dengan cetak tebal (M-Bt) merupakan sekuen sampel uji dalam penelitian ini. Persentase dengan cetak merah merupakan persentase tertinggi: PepYLCIDV-Agrtm= AB267838; PepYLCIDV-Bgr= DQ083764; PepYLCIDV tmt-Bgr= DQ083765; PepYLCIDV= AB267834; PepYLCIDV tmt= AB267836; SLCV-China= HM566112; ToICNDV-OM= GU180095; MCLCV-Guatemala= AF325497

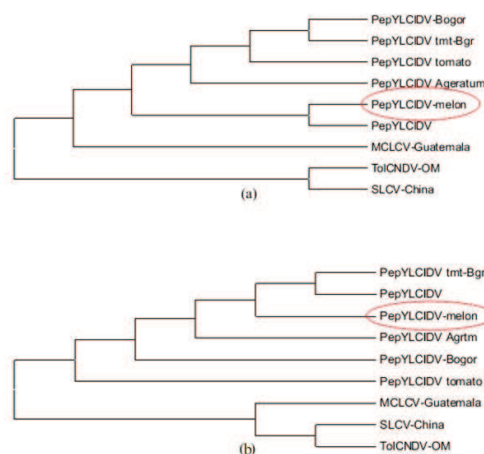


Gambar 6. Homologi sekuen asam amino dari sebagian sekuen *coat protein Begomovirus* pada sampel uji (PepYLCIDV-melon) dengan beberapa virus anggota *Begomovirus* lain yang telah dipublikasi di *database* NCBI melalui analisis *multiple sequence alignment* dengan program BioEdit (PepYLCIDV-Agrtm= AB267838; PepYLCIDV-Bgr= DQ083764; PepYLCIDV tmt-Bgr= DQ083765; PepYLCIDV= AB267834; PepYLCIDV tmt= AB267836; SLCV-China= HM566112; TolCNDV-OM= GU180095; MCLCV-Guatemala= AF325497; kotak hitam: substitusi nukleotida)

Tabel 2. Persentase kesamaan sekuen asam amino dari sebagian sekuen *coat protein Begomovirus* pada sampel uji (PepYLCIDV-melon) dan beberapa isolat *Begomovirus* lain yang telah dipublikasi di *database* NCBI

Sekuen	M-Bt	P-Ag	P-Bg	P-tmBg	P-Ind	P-tm	S-Ch	T-Om	M-Gt
M-Bt	ID								
P-Ag	98,9%	ID							
P-Bg	98,9%	97,8%	ID						
P-tmBg	100%	98,9%	98,9%	ID					
P-Ind	100%	98,9%	98,9%	100%	ID				
P-tm	98,9%	97,8%	97,8%	98,9%	98,9%	ID			
S-Ch	72,6%	72,6%	72,6%	72,6%	72,6%	72,6%	ID		
T-Om	74,7%	74,7%	74,7%	74,7%	70,3%	74,7%	97,8%	ID	
M-Gt	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%	80,0%	81,0%	82,1%	ID

Keterangan: Sekuen dengan cetak tebal (M-Bt) merupakan sekuen sampel uji dalam penelitian ini. Persentase dengan cetak merah merupakan persentase tertinggi: PepYLCIDV-Agrtm= AB267838; PepYLCIDV-Bgr= DQ083764; PepYLCIDV tmt-Bgr= DQ083765; PepYLCIDV= AB267834; PepYLCIDV tmt= AB267836; SLCV-China= HM566112; TolCNDV-OM= GU180095; MCLCV-Guatemala= AF32549



Gambar 7. Dendogram kekerabatan molekuler sampel uji (PepYLCIDV-melon) dan beberapa *Begomovirus* lain yang telah dipublikasi di *database* NCBI menggunakan analisis *Construct Neighbor-Joining Tree* program Mega5: berdasarkan perbedaan sekuen nukleotida dari sebagian sekuen *coat protein Begomovirus* (a); berdasarkan perbedaan sekuen asam amino dari sebagian sekuen *coat protein Begomovirus* (b) [PepYLCIDV-Agrtm= AB267838; PepYLCIDV-Bgr= DQ083764; PepYLCIDV tmt-Bgr= DQ083765; PepYLCIDV= AB267834; PepYLCIDV tmt= AB267836; SLCV-China= HM566112; TolCNDV-OM= GU180095; MCLCV-Guatemala= AF325497; sekuen yang dilingkari merupakan sekuen sampel uji (PepYLCIDV-melon)]

V. unguiculata L., *V. radiata* L., *G. max* Merr., dan *P. floridana* L. (Sulandari *et al.*, 2006). Adanya infeksi PepYLCIDV pada tanaman melon dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh *B. tabaci* yang telah membawa virus tersebut. Ekosistem di sekitar lahan melon sebagai sampel uji dalam penelitian ini juga diduga berpengaruh terhadap adanya infeksi PepYLCIDV pada tanaman melon. Beberapa lahan di sekitar sampel uji ditanami oleh tanaman cabai rawit, kacang tanah dan kedelai. Tanaman-tanaman tersebut termasuk dalam kisaran inang *B. tabaci* sehingga diduga vektor tersebut berperan dalam penyebaran infeksi virus tersebut pada tanaman melon. Pola tanam gilir oleh petani di daerah pengambilan sampel uji, yaitu ditanami dengan tanaman yang berbeda secara bergilir juga dapat menjadi sebab penyebaran infeksi PepYLCIDV di sekitar wilayah tersebut. Oleh karena itu, dalam usaha pengendalian virus tersebut perlu diperhatikan beberapa faktor, yaitu faktor virus penyebab penyakit, tanaman inangnya, vektor *B. tabaci*, dan lingkungannya sehingga diharapkan dapat meminimalkan penyebaran penyakit tersebut.

KESIMPULAN

Virus penyebab daun keriting pada melon termasuk dalam *Begomovirus*, memiliki genom *bipartite* (DNA-A dan DNA-B). Virus tersebut berkerabat dekat dengan virus PepYLCIDV (AB267834) berdasarkan sekuen nukleotida dan asam amino pada sebagian sekuen *coat protein Begomovirus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian penelitian ini dibiayai oleh Hibah Kompetensi (Nomor: 346/SP2H/PL/Dit. Litabmas/IV/2011).

DAFTAR PUSTAKA

Brown, J.K., A.M. Idris, & D. Rogan. 2001. *Melon chlorotic leaf curl virus*, a New Begomovirus Associated with *Bemisia tabaci* Infestations in Guatemala. *Plant Disease* 85: 1027.

Brown, J.K., K.M. Lujan, & A.M. Idris. 2011. Phylogenetic Analysis of *Melon chlorotic leaf curl virus* from Guatemala: Another emergent species in the *Squash leaf curl virus* clade. *Virus Research* 158: 257–262.

Chang, H.H., H.M. Ku, & W.S. Tsai. 2010. Identification and Characterization of a Mechanical Transmissible Begomovirus Causing Leaf Curl on Oriental Melon. *Plant Pathology Journal* 127: 219–228.

Idris, A.M., K. Mills-Lujan, K. Baumann, & J.K. Brown. 2008. *Melon Chlorotic Leaf Curl Virus*: Characterization and Differential Reassortment with Closest Relatives Reveals Adaptive Virulence in the SLCV Clade, and Host Shifting by the Host-restricted BCaMV. *Journal of Virology* 82: 1959–196.

Julijantono, I. 2013. *Identifikasi Penyebab Penyakit, Vektor dan Marka Molekuler Terpaut Gen Ketahanan Melon terhadap Begomovirus*. Disertasi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Mushtaq, S., F. Shamin, M. Shafique, M.S. Haider. 2014. Effect of Whitefly Transmitted *Geminiviruses* on Physiology of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and Tobacco (*Nicotiana benthiana* L.) Plants. *Journal of Natural Science Research* 4: 2225

Reddy, R.C.V., J. Colvin, V. Muniyappa, & S. Seal. 2005. Diversity and Distribution of Begomoviruses Infecting Tomato in India. *Archives of Virology* 150: 845–867.

Revill, P.A., C.V. Ha, S.C. Porchun, M.T. Vu, J.L. Dale. 2003. The Complete Nucleotide Sequence of Two Distinct Geminiviruses Infecting Cucurbits in Vietnam. *Archives of Virology* 148: 1523–1541.

Sakata, J., S. Y. Sibuya, P. Sharma, & M. Ikegami. 2008. Strain of New Bipartite Begomovirus, *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus*, in Leaf-curl-disease Tomato and Yellow-vein-diseased Ageratum in Indonesia. *Archives of Virology* 153: 2307–2313.

Sudiono, S.H. Hidayat, R. Suseno, & S. Sosromarsono. 2001. Deteksi Molekuler dan Uji Kisaran Inang Virus Geminivirus Asal Tanaman Tomat. *Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah Perhipunan Fitopatologi Indonesia*; 22-24 Agustus 2001, Bogor.

Sulandari, S., R. Suseno, S.H. Hidayat, J. Harjosudarmo, & S. Sosromarsono. 2006. Deteksi dan Kajian Kisaran Inang Virus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai. *Hayati* 13: 1–6.

Wu, H.J., Q.S. Gu, & B. Peng. 2010. Detection *Squash leaf curl China virus* in Cucurbitaceae in China. *Biotechnology, Chinese Academy of Agricultural Science, China*.