

DETEKSI DAN SEBARAN *SOYBEAN MOSAIC VIRUS* (SMV) DAN *SOYBEAN STUNT VIRUS* (SSV) DI BERBAGAI SENTRA PRODUKSI KEDELAI DI INDONESIA

DETECTION AND DISTRIBUTION OF SOYBEAN MOSAIC VIRUS (SMV) AND SOYBEAN STUNT VIRUS (SSV) AT SOYBEAN PRODUCTION CENTERS IN INDONESIA

Sri Sulandari*, Sedyo Hartono, Y.M.S. Maryudani, & Yashanti B. Paradisa

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

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: sulandari77@yahoo.com

ABSTRACT

There were some commonly found mosaic diseases on soybean in Indonesia that were suspected to be caused by viruses. The main virus diseases of soybean plant are Soybean mosaic virus (SMV) and Soybean stunt virus (SSV). The occurrence of mosaic diseases are very harmful because they might reduce soybean grain yield. The aim of this research is to determine the disease incidence and distribution of mosaic disease in the field that caused by SMV and SSV. The surveys were conducted in some regions of the area of soybean production center in Indonesia including: Special Region of Yogyakarta (DIY), Central Java, East Java, West Nusatenggara (NTB), and South Sulawesi. Detection of the viruses were done by serological test using I-ELISA and by molecular analysis using PCR. The field surveys showed that the mosaic symptoms always found in all the field location. The disease incidence and the disease severity varied in any locations. The disease symptoms showed as mild mosaic, yellow mosaic, mosaic with blister, and mosaic with leaves malformation by curling and stunting. The I-ELISA showed that all the samples collected were double infected by SMV and SSV. Both of the viruses were widespread all over the soybean production center in Indonesia. By PCR using CI-SMV primer, the DNA of virus could be amplified to about 638 bp which indicated SMV infection, but using cp-SSV primer, the DNA could be amplified to about 657 bp that indicated of SSV infection.

Key words: I-ELISA, mosaic symptom, PCR, SMV, soybean, SSV

INTISARI

Pada pertanaman kedelai di Indonesia banyak ditemukan gejala mosaik yang diduga disebabkan virus. Virus penyebab penyakit mosaik pada tanaman kedelai antara lain *Soyben mosaic virus* (SMV) dan *Soybean stunt virus* (SSV). Keberadaan penyakit mosaik pada pertanaman kedelai sangat merugikan karena berpotensi dapat menurunkan angka hasil kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kejadian dan sebaran penyakit mosaik yang disebabkan SMV dan SSV di berbagai sentra produksi kedelai di Indonesia. Survei dilakukan di DIY, Jawa Tengah, Jawa Timur, NTB, dan Sulawesi Selatan. Deteksi keberadaan virus dilakukan secara serologi dengan teknik I-ELISA (*Indirect-Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dan secara molekuler dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Berdasarkan pengamatan di lapangan gejala mosaik selalu ditemukan pada setiap lokasi pengamatan. Kejadian dan tingkat keparahan penyakit yang ditemukan bervariasi. Gejala yang ditemukan adalah mosaik ringan, mosaik kuning, mosaik dengan tonjolan warna hijau tua (blister), dan mosaik dengan malformasi berupa daun keriting dan tanaman kerdil. Berdasarkan uji I-ELISA semua sampel daun bergejala mosaik terinfeksi ganda oleh SMV dan SSV. Kedua jenis virus tersebut sudah tersebar luas di semua sentra pertanaman kedelai di Indonesia. Deteksi PCR menggunakan primer spesifik CI-SMV dari beberapa lokasi dapat mengamplifikasi pita DNA berukuran sekitar 638 bp yang mengindikasikan terinfeksi SMV, sedangkan menggunakan primer universal cp-CMV dapat mengamplifikasi pita DNA berukuran sekitar 657 bp yang mengindikasikan terinfeksi SSV.

Kata kunci: gejala mosaic, I-ELISA, kedelai, PCR, SMV, SSV

PENGANTAR

Di Indonesia kebutuhan kedelai secara nasional selalu meningkat dari tahun ke tahun. Namun karena produktivitas kedelai dalam negeri masih sangat rendah, maka untuk memenuhi kebutuhan tersebut sebagian besar masih mengandalkan dari impor. Produktivitas kedelai yang masih rendah antara lain disebabkan karena faktor iklim, luas pertanaman kedelai yang

masih rendah, dan serangan hama dan patogen. Virus merupakan salah satu patogen utama yang menyerang tanaman kedelai. Serangan virus pada kedelai pada umumnya menimbulkan gejala mosaik, dan pada gejala lanjut menyebabkan tanaman kerdil.

Soybean stunt virus (SSV) dan *Soybean mosaic virus* (SMV) merupakan virus yang sangat merugikan pada pertanaman kedelai dan berpotensi dalam me-

nurunkan produksi. Virus tersebut apabila menginfeksi kedelai menimbulkan gejala mosaik dan keduanya merupakan virus tular benih (Honda *et al.*, 1988; Roechan, 1992; Sinclair & Backman, 1993; Sulandari *et al.*, 1999). Di lapangan, kedua virus tersebut ditularkan oleh serangga vektor yaitu *Aphis glycine* dan *A. cracivora* secara non persisten (Roechan, 1992; Sinclair & Backman, 1993). Selain SSV dan SMV gejala mosaik pada pertanaman kedelai dapat disebabkan oleh virus lain dan salah satunya adalah *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV) yang ditularkan oleh *Bemisia tabaci* Genn secara non persisten (Bhargande *et al.*, 1987; Bunt *et al.*, 1973).

Pengamatan di berbagai sentra pertanaman kedelai banyak ditemukan variasi gejala mosaik dengan intensitas yang tinggi. Mosaik pada pertanaman kedelai berpotensi menurunkan produksi, sehingga perlu dilakukan pemetaan dan deteksi penyebabnya sebagai dasar untuk menyusun strategi pengendaliannya. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi dan mengetahui sebaran penyakit mosaik yang disebabkan SMV dan SSV di berbagai sentra produksi kedelai di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan September 2008 sampai Juli 2009. Penelitian lapangan dilakukan di berbagai sentra penghasil kedelai di DIY (Bantul dan Gunung Kidul), Jawa Tengah (Grobogan, Klaten, dan Wonogiri), Jawa Timur (Probolinggo dan Ngawi), NTB (Lombok Barat, Lombok Tengah, dan Sumbawa), dan Sulawesi Selatan (Maros, Bone, dan Soppeng). Penelitian laboratorium dilakukan di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Bahan dan alat yang digunakan adalah sampel daun dari tanaman bergejala mosaik yang dikoleksi dari berbagai lokasi, antibodi terhadap SMV dan SSV (koleksi laboratorium Virologi Tumbuhan), alat dan reagen untuk uji I-ELISA, Kit ekstraksi RNA (Qiagen), Kit untuk membuat cDNA (Fermentas), kit PCR (Ready To Go PCR bead (GE Healthcare), sepasang primer universal untuk mengamplifikasi genom SMV, sepasang primer universal untuk mengamplifikasi genom SSV (disikuen dari genom CMV karena SSV merupakan salah satu strain CMV yang menyerang kedelai), mesin PCR, seperangkat peralatan untuk elektroforesis dan ELISA reader.

Penelitian dilakukan melalui tahapan sebagai berikut:

Pengamatan di Lapangan

Survei di lapangan untuk mengamati jenis gejala dan variasinya, kejadian penyakit dan koleksi sampel.

Untuk menghitung kejadian penyakit setiap lokasi pengamatan diambil tiga hamparan pertanaman kedelai, dan pada masing-masing hamparan ditetapkan lima titik pengamatan yaitu satu di bagian tengah dan empat titik di setiap ujung petak pertanaman kedelai. Pada setiap titik pengamatan 100 tanaman untuk diamati. Intensitas penyakit dihitung secara kualitatif berdasarkan keparahan gejala yang ditimbulkan.

Kejadian penyakit dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

n: Jumlah tanaman sakit pada masing-masing lokasi pengamatan

N: Jumlah total tanaman yang ada

Deteksi Penyebab Penyakit Mosaik di Laboratorium

Pengujian sampel secara I-ELISA. Pengujian dengan metode Koenig (1981) yang dimodifikasi. Sampel berupa daun bergejala mosaik digerus dalam buffer ekstraksi (bufer natrium karbonat 0,05 M pH 9,6) sampai lumat kemudian disaring dan diambil *sap*-nya sebagai antigen (w/v=1:10). Antibodi poliklonal SMV dan SSV masing-masing diencerkan 1000 kali dari titer awal 1000–10.000 (Sulandari *et al.*, 2007). Pada setiap sumuran atau *polystyrene microtitre plate* (Nunc-immuno-Plate, InterMed) yang sudah ditentukan tata letak untuk masing-masing sampel selanjutnya dimasukkan berturut-turut: (1) 100 µl antigen yang dan diinkubasikan selama 4 jam pada suhu 37°C; (2) 150 µl BSA 0,05% selama 60 menit pada suhu 37°C; (3) 100 µl antibodi selama 18 jam pada suhu 40°C; (4) 100 µl *general conjugate* yang sudah diencerkan 3000 kali kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C; (5) 200 µl substrat berupa 1 mg/ml p-nitrophenil phosphate dalam 10% diethanolamine pH 9,8 selama 1–1,5 jam pada suhu ruang. Pada setiap akhir tahapan dilakukan 3 kali pencucian masing-masing 3 menit menggunakan PBS 0,02 M yang mengandung 0,05% Tween 20 (PBS-T). Hasil pengujian dilihat dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 405 nm menggunakan ELISA-Reader.

Deteksi virus secara Polymerase chain reaction (PCR). Ekstraksi genom virus. Ekstraksi RNA dilakukan sesuai prosedur yang dibakukan GeneAid Plant Virus RNA Kit Qiagen RNeasy Mini Handbook. 0,1 gram sampel berupa daun segar atau sampel kering sebanyak 0,025 gram digerus dalam 1 ml bufer PVR dan 100 µl PVRS dan 20 µl β-mercaptoetanol. *Sap* yang diperoleh diinkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit kemudian disentrifugasi 10.000 rpm selama 7 menit. RNA dalam supernatan dipresipitasi meng-

gunakan etanol absolut dan disentrifugasi 10.000 rpm selama 2 menit. Presipitat dicuci dengan buffer pencuci selanjutnya RNA yang tertahan pada matrix ditambah 400 µl buffer RW1 kemudian disentrifugasi 10.000 rpm selama 2 menit. Presipitat ditambah 600 µl buffer pencuci dan disentrifugasi 10.000 rpm selama 2 menit kemudian disentrifugasi kembali secara kering pada 10.000 rpm 3 menit. RNA yang berada pada matrix ditambah 30 µl akuades bebas RNA. Suspensi yang diperoleh diinkubasi 2 menit kemudian disentrifugasi 10.000 rpm 2 menit kemudian dilakukan *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

RT-PCR. Pembuatan cDNA menggunakan kit RT PCR Thermo Scientific dan dilakukan sesuai dengan prosedur yang dibakukan. Pada tabung PCR dimasukkan 4 µl RNA, 1 µl oligodT, 4 µl 5× *reaction buffer*, 1 µl riboloc RNase Inhibitor, 2 µl 10mM dNTP mix, 1 µl RevertAid reverse-transcriptase, dan 7 µl akuades. Semua reagen tersebut dicampur kemudian dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan pengaturan sebagai berikut: 65°C, 5 menit; 42°C, 60 menit; 70°C, 5 menit; kemudian diinkubasi pada suhu 40°C.

Amplifikasi secara RT-PCR. Deteksi SMV dan CMV secara PCR dilakukan menggunakan metode dari Chen *et al.* (2001) dan Choi *et al.* (2006) yang dimodifikasi.

Amplifikasi genom dari SMV menggunakan primer yang disusun dari sikuen DNA yang menyandi *Cytoplasmic inclusion Coding Region* (CI). SSV merupakan salah satu strain CMV yang menyerang kedelai, sehingga primer disusun dari genom CMV yang menyandi protein selubung virus (*coat protein*).

Amplifikasi menggunakan primer yang disikuen dari CI: SMV-F dan SMV-R diharapkan akan dapat mengamplifikasi pita DNA SMV sebesar 1380 bp. Primer yang digunakan tersebut adalah SMV-F: TTGAGCTGCAAAAATTTACTCACTT dan SMV-F: GCATTCAACTGTGCGCTTAAAGAAT. Amplifikasi cDNA dilakukan dengan menggunakan *Ready To Go PCR bead* (GE Healthcare). Proses amplifikasi menggunakan 2 µl cDNA dan 1,5 µl untuk masing-masing primer kemudian ditambahkan *aquabides* sampai volume total mencapai 25 µl. Hasil tersebut dimasukkan dalam mesin PCR selanjutnya dilakukan denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan pada suhu 55°C selama 1 menit, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 2 menit sebanyak 35 siklus.

Sedangkan menggunakan primer dari yang disikuen dari cp-CMV yaitu CMV-F : CTCCGACGGATC CATGGACAAATCTGAATCAAC dan CMV-R: TGTACTGAATTCTCAGACTGGGAGCACC CCAG diharapkan akan dapat mengamplifikasi DNA berukuran sekitar 657 bp. Amplifikasi dilakukan dengan

denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, penempelan pada suhu 50°C selama 1 menit, dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 2 menit sebanyak 35 siklus.

Visualisasi DNA hasil PCR dilakukan dengan melakukan elektroforesis dalam 1% Agarose atau PAGE 6%. Setelah gel direndam dalam *ethidium bromide* kemudian diamati di bawah sinar UV dengan alat *UV Transiluminator*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

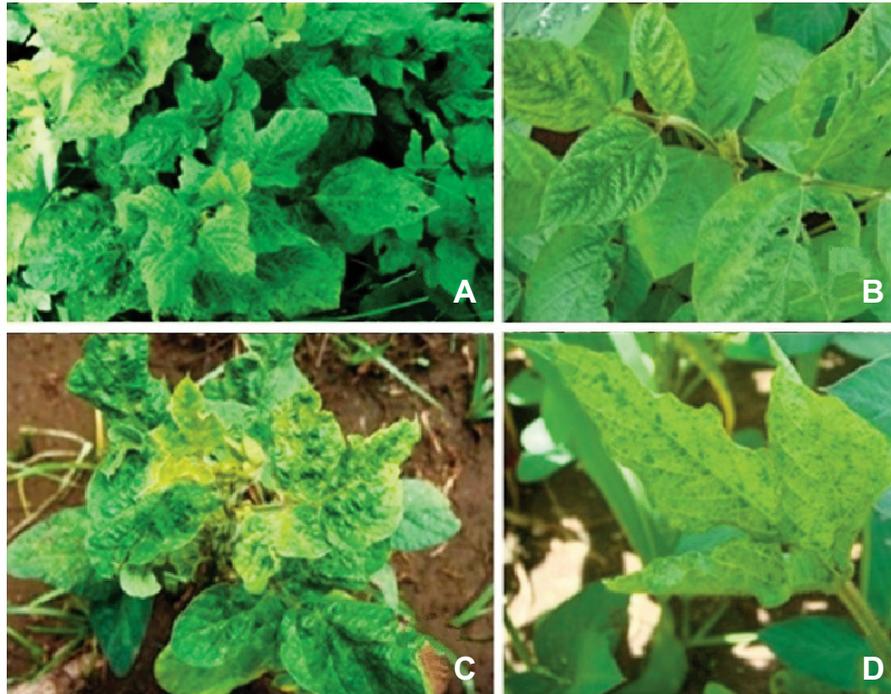
Survei dan Koleksi Isolat di Lapangan

Berdasarkan hasil survei di berbagai sentra produksi kedelai di DIY, Jawa Tengah, Jawa Timur, NTB, dan Sulawesi Selatan ditemukan gejala mosaik dengan tingkat kejadian penyakit dan gejala yang bervariasi (Tabel 1).

Gejala yang ditemukan meliputi mosaik ringan; mosaik dengan daun keriting dan kerdil; mosaik dengan tonjolan pada helai daun berwarna hijau tua (*blister*), keriting, dan kerdil; serta mosaik kuning (Gambar 1).

Pada pengamatan di lapangan gejala mosaik selalu ditemukan pada setiap lokasi pengamatan. Pada fase vegetatif awal tingkat kejadian penyakit relatif rendah dan tingkat keparahan ringan sampai sedang yang diindikasikan gejala yang timbul berupa *vein clearing* dan mosaik ringan. Seiring dengan bertambahnya umur tanaman maka gejala yang timbul makin berkembang dan pada umumnya tingkat kejadian penyakit semakin tinggi dan gejalanya semakin parah.

Berdasarkan pengamatan di lapangan diketahui bahwa pada lahan pertanaman kedelai dengan tingkat kejadian penyakit yang rendah (5–15%) pada umumnya gejala yang timbul berupa mosaik ringan dan belang. Pada lahan dengan kejadian penyakit lebih dari 30% gejala yang timbul semakin kompleks berupa mosaik disertai malformasi daun dan beberapa tanaman kerdil. Gejala kerdil banyak ditemukan apabila tanaman terinfeksi sejak dini. Hal ini didukung pengamatan kedelai varietas Malabar umur sekitar 10–14 hari ditemukan insidensi penyakit mencapai 20–50% dengan gejala mosaik, keriting, dan pertumbuhannya terhambat di Kecamatan Toroh, Grobogan, Jawa Tengah. Penyakit diduga tertular benih karena benih yang digunakan, walaupun bersertifikat belum diuji kesehatan benihnya (komunikasi pribadi dengan petani dan Petugas Penyuluh Lapangan). Keterbawaan virus pada biji yang digunakan untuk benih sangat mungkin terjadi karena potensi keterbawaan SSV pada biji mencapai 40–84% (Roechan *et al.*, 1975; Honda *et al.*, 1988), sedangkan SMV terbawa benih mencapai 17–75% (Roechan, 1992).



Gambar 1. Variasi gejala mosaik pada tanaman kedelai di lapangan (A: mosaik dengan daun keriting; B: mosaik ringan; C: mosaik dengan tonjolan pada helai daun berwarna hijau tua (blister), keriting, dan kerdil; D: mosaik kuning)

SSV dalam biji kedelai tersebar sampai bagian embrionya (Sulandari *et al.*, 2006). Oleh karena infeksi virus sifatnya sistemik maka benih yang embrionya sudah mengandung virus akan terbawa sampai pada kecambahnya. Tanaman sakit yang berasal dari benih yang mengandung virus akan menjadi sumber inokulum di lapangan. SSV dan SMV di lahan terutama ditularkan dan disebarkan oleh serangga vektor yaitu afid secara nonpersisten. Adanya sumber inokulum berupa tanaman sejak awal pertumbuhan dan didukung adanya serangga vektor yang aktif pada lahan tersebut sangat memungkinkan virus dengan cepat tersebar luas sehingga kejadian penyakitnya meningkat. Hal ini sesuai dengan temuan hasil di Kecamatan Toroh yang pada pengamatan pertama kejadian penyakit pada stadia vegetatif awal sekitar 20–50%, kemudian pada pengamatan kedua (stadia vegetatif akhir) kejadian penyakit meningkat menjadi 50–70% dengan gejala yang parah.

Kejadian penyakit yang sangat tinggi yaitu mencapai 100% dengan gejala mosaik, keriting, dan kerdil pada fase vegetatif ditemukan di Kebun Percobaan Muneng, Probolinggo, Jawa Timur. Pengamatan bulan September 2008 penyakit tersebut menyebabkan puso seluas 3,5 ha varietas Argopuro dan Anjasmoro. Akibat serangan virus tersebut maka tanaman umur 42 hari tanaman dibongkar karena kerdil dan tidak menghasilkan

polong. Pada bulan Juni 2009 penyakit yang sama muncul kembali dan menyebabkan puso pada varietas Anjasmoro, Mahameru, dan Panderman. Pada pengamatan gejala di lapangan ada indikasi selain serangan SMV dan SSV mungkin juga terinfeksi oleh CpMMV. Hal ini didukung pada tanaman yang bergejala selain ditemukan populasi afid juga populasi *B. tabaci* sangat tinggi yang berperan sebagai vektor CpMMV. Serangan CpMMV pernah dilaporkan menimbulkan puso pada pertanaman kedelai di daerah Lampung seiring meningkatnya populasi kutu kebul (Jumanto *et al.*, 1999; Roechan, 1992). Tanaman yang terserang CpMMV akan mengalami penurunan angka hasil 11–56% (Akin, 2003) bahkan dapat mencapai hingga 90% (Sinclair & Backman, 1993). Oleh karena serangan CpMMV sangat merugikan pada pertanaman kedelai maka keberadaan penyakit tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut meliputi deteksi dan sebarannya.

Kedelai yang ditanam di lahan sawah kejadian dan keparahan penyakitnya lebih tinggi dibandingkan dengan yang ditanam secara tumpangsari di bawah tegakan pohon jati atau tanah tegalan. Pengamatan di Kabupaten Ngawi pada pertanaman kedelai di bawah tegakan pohon jati intensitas penyakitnya rendah yaitu berkisar 5–10% dan 20–30% dan tingkat keparahan gejalanya ringan–sedang.

Tabel 1. Kejadian penyakit mosaik pada pertanaman kedelai di berbagai lokasi

No.	Provinsi	Lokasi	Varietas	KP	Variasi Gejala	Ekosistem
1	DIY	Bantul	Malabar	10–80	vc, mm, m, ml	Sawah
			Wilis	20–30	mm, m, ml	Sawah
		Gunung Kidul	Wilis	30–50	mm, kr, ml	Tegalan
			Orba	30–40	kr, ml	Sawah
			Malabar	60–70	vc, mm	Sawah
			Baluran	20–30	m, kr, kd	Sawah
2	Jawa Tengah	Klaten	Wilis	10–20	m, bl, kr	Sawah
			Grobogan	Malabar	30–70	vc, bl, kr, m, kd
		Sukoharjo	Wilis	70–100	m, bl, kr, kd, ml	Sawah
			Wilis	10–30	vc, m, bt	Sawah
		Wonogiri	Malabar	40–70	m, bl, bl, kd	Sawah
			Malabar	20–30	vc, kr, bt	Tegalan
			Wilis	20–30	kr, m, bl, ml, kd	Sawah
			3	Jawa Timur	Probolinggo	Argopuro
Wilis	40–50	m, bl, ml, kd				Sawah
Mahameru	60–100	kr, kd, bt				Sawah
Anjasmoro	70–100	m, kr, ml, bt, bl				Sawah
Panderman	100	m, kr, ml, bt, bl				Sawah
Ngawi	Malabar	5–20				kr, kd
	Wilis	20–30			m, ml, kd	Tegalan
	Malabar	30–60			m, kr, bt, ml	Sawah
4	Sulawesi Selatan	Maros			Orba	5–15
			Sinabung	40–50	kr, m, bl, kd, ml, kr	Sawah
		Bone	Orba	50–60	m, ml, kr, kd	Sawah
				15–20	m, kd	
		Sopeng	Wilis	50–80	m, kr, ml	Sawah
			Orba	50–60	m, bl, bt, ml, kd	Sawah
5	NTB	Lombok Barat	Wilis	30–50	m, kr, bt, kd, ml	Sawah
		Lombok Timur	Wilis	40–60	m, kr, ml, kd, ml	Sawah
		Sumbawa	Wilis	30–40	m, kr, bl, kd, ml	Sawah

Keterangan: m: mosaik bl: belang bt: *blister* kr: keriting
ml: malformasi mm: mosaik ringan kd: kerdil vc: *vein clearing*

Pada lahan tegalan dan di bawah tegakan pohon jati maka keanekaragaman hayati masih tinggi sehingga kondisinya tidak mendukung untuk perkembangan penyakit dan vektornya. Hal ini sangat berbeda pada pertanaman kedelai di tanah sawah secara monokultur maupun tumpangsari dengan tanaman palawija dan jagung yang kejadian penyakitnya relatif tinggi yaitu berkisar 30–60% dengan tingkat keparahan penyakit sedang sampai berat.

Variasi gejala SMV dari berbagai lokasi di lapangan disebabkan oleh perbedaan varietas dan strain SMV yang berbeda (Choi *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2006). Variasi gejala akibat serangan strain SSV juga telah dilaporkan terdapat di Indonesia dan Jepang (Honda *et al.*, 1998; Hong *et al.*, 2003).

Pengujian di Laboratorium

Uji I-ELISA. Hasil pengujian secara serologi menunjukkan bahwa pada semua sampel yang diuji terjadi infeksi ganda antara SMV dan SSV. Kejadian

infeksi ganda tersebut diketahui karena sampel yang digunakan sama, namun diuji menggunakan dua jenis antibodi yang berbeda dan hasil keduanya menunjukkan reaksi positif terhadap SMV dan SSV. Hasil pengujian secara serologi dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan uji I-ELISA, pada gejala mosaik yang ditemukan di lapangan selalu terjadi infeksi ganda antara SSV dan SMV. Infeksi ganda terjadi karena kedua jenis virus tersebut tertularkan melalui vektor yang sama yaitu *A. glycine* dan *A. craccivora* secara nonpersisten.

Sifat virus yang non persisten tersebut akan memberi peluang yang sangat besar untuk menularkan virus yang berbeda pada inang yang sama. Adanya infeksi ganda pada umumnya juga akan terjadi sinergisme antara kedua virus tersebut sehingga menyebabkan gejala semakin parah. Ada 16 spesies aphid yang dapat menularkan SMV, termasuk *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae*, dan *Myzus persicae* secara non-

Tabel 2. Deteksi keberadaan SMV dan SSV di berbagai sentra produksi kedelai di Indonesia

Provinsi	Provinsi/Lokasi	Variasi gejala	SMV	SSV
DIY	Bantul	Mosaik, kerdil	++	++
		Mosaik	++	+
		Mosaik, malformasi	++	+
		Mosaik, kerdil, malformasi	++	++
		Mosaik, kerdil	+	+
		Mosaik, malformasi	++	+
	Gunung Kidul	Mosaik	+	++
		Mosaik, kerdil	+	+
		Mosaik ringan	++	++
		Mosaik, malformasi	++	+
		Mosaik ringan	++	++
		Mosaik ringan	++	++
		Mosaik, malformasi	++	++
		Mosaik kuning	++	++
Jawa Tengah	Grobogan	Mosaik kuning	+	++
		Mosaik ringan	+	++
		Mosaik, kerdil	++	++
		Mosaik, daun kuning	+	++
		Mosaik, kerdil	++	+
		Mosaik, malformasi	++	+
	Wonogiri	Biji belang	++	+
		Mosaik kuning, malformasi	++	+
		Mosaik ringan	++	+
		Biji belang	++	+
Jawa Timur	Probolinggo	Mosaik	+	+
		Mosaik kuning, malformasi	+	+
		Mosaik kuning, kerdil	+	+
		Mosaik, malformasi, kerdil	++	+
		Mosaik, malformasi	++	+
		Mosaik kuning, kerdil	++	+
		Mosaik ringan	++	+
		Mosaik, kerdil	++	+
		Mosaik kuning, kerdil	++	+
	Ngawi	Mosaik	++	+
		Mosaik, kerdil	++	+
		Mosaik, malformasi	++	++
Sulawesi Selatan	Maros	Mosaik, kerdil,	++	+
		Mosaik, malformasi	++	+
		Mosaik kuning, kerdil	+++	+
		Biji belang	+++	+
	Bone	Mosaik, kerdil	++	+
		Mosaik, kerdil, malformasi	++	+
		Mosaik kuning	++	+
	Sopeng	Mosaik, malformasi, kerdil	++	+
		Mosaik	++	+++
		Mosaik, kerdil	++	++
		Mosaik kuning, kerdil	++	++
		Biji belang	++	++
NTB	Lombok Barat	Mosaik, malformasi	+	+
		Biji belang	+	+++
	Lombok Timur	Mosaik, kerdil	+	+
	Sumbawa	Mosaik kuning, kerdil	+	+

Keterangan: + = nilai absorbansi cukup tinggi (nisbah sakit/sehat =1,5)

++ = nilai absorbansi tinggi (nisbah sakit/sehat =2)

+++ = nilai absorbansi sangat tinggi (nisbah sakit/sehat .2)

- = nilai absorbansi rendah (nisbah sakit/sehat <1,5)

persisten. Akan tetapi, aphid utama yang mampu menularkan virus ini adalah *A. glycine* (Bos, 1972; Sinclair & Backman, 1993), sedangkan untuk virus SSV adalah *A. glycine* dan *A. craccivora* (Roehan, 1992).

Uji Molekuler dengan RT-PCR. Primer CI yaitu: SMV-F dan SMV-R dapat mengamplifikasi pita DNA SMV sekitar 1380 bp (Gambar 2) dan primer dari CP CMV yaitu CMV-F dan CMV-R dapat mengamplifikasi DNA berukuran sekitar 657 bp (Gambar 3).

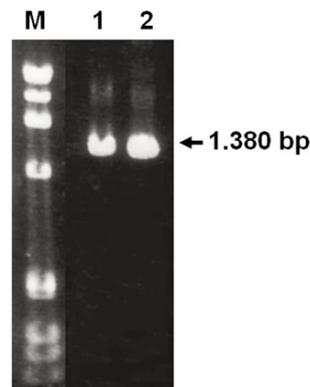
Gambar 2 dan 3 membuktikan bahwa penyakit mosaik pada tanaman kedelai disebabkan oleh SMV dan SSV. Pita DNA berukuran sekitar 1380 bp mengindikasikan DNA dari *Cytoplasmic inclusions* (CI) dari SMV, sedangkan pita DNA berukuran sekitar 657 bp merupakan *coat protein* dari CMV. SSV merupakan salah satu strain dari CMV yang menyerang kedelai sehingga sikuen dari CMV digunakan untuk menyusun primer universal (Hong *et al.*, 2003). Pengujian secara PCR terhadap keberadaan SMV dan SSV tidak dilakukan pada semua sampel karena ketiadaan alat dan reagen.

Berdasarkan pengamatan di lapangan, gejala mosaik yang disebabkan oleh SMV dengan SSV

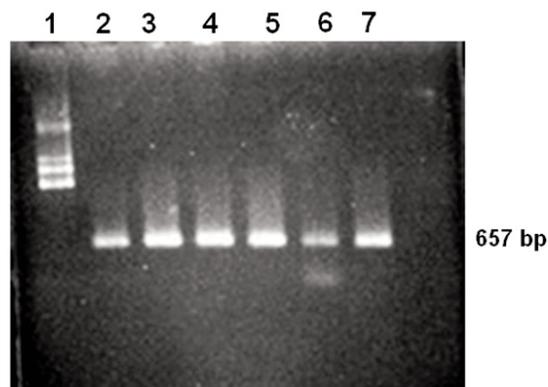
sangat sulit dibedakan jika hanya berdasarkan gejalanya. Hal ini terutama disebabkan karena pengaruh strain virus, varietas, dan lingkungannya. Respons tanaman kedelai terhadap infeksi SSV oleh isolat Indonesia dan Jepang berbeda (Honda *et al.*, 1998). Hong *et al.* (2003) melaporkan bahwa respons kedelai yang sudah dibudidayakan dengan kedelai yang belum dibudidayakan terhadap strain CMV berbeda.

Deteksi SSV dan SMV melalui uji I-ELISA mempunyai keunggulan yaitu lebih cepat dan hasil pengujiannya dapat dilihat secara kuantitatif dan kualitatif. Pengujian secara I-ELISA dapat mendeteksi serangan SSV dari berbagai sampel yang berupa daun dan biji kedelai serta gulma menggunakan antibodi poliklonal yang diproduksi dari isolat SSV Indonesia (Sulandari *et al.*, 1998; 2003). Penggunaan antibodi monoklonal juga berhasil mendeteksi keberadaan SSV pada tanaman kedelai dan gulma (Sulandari *et al.*, 1998).

Selain deteksi secara ELISA, saat ini sudah banyak dikembangkan deteksi virus secara PCR. Keunggulan deteksi virus secara PCR yaitu cepat dan kepekaannya sangat tinggi. Deteksi virus secara PCR juga telah digunakan untuk deteksi SMV (Choi



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA menggunakan Primer SMV-CI (M: 1 kb ladder; 1: SMV isolat Probolinggo; 2: SMV isolat Wonogiri)



Gambar 3. Hasil amplifikasi DNA menggunakan primer cp-CMV (1: 1 kb ladder, 2: isolat Bantul, 3: isolat Bone, 4: isolat Grobogan, 5: isolat Ngawi, 6: isolat NTB, 7: isolat Probolinggo)

et al., 2006) dan deteksi strain-strain SMV yang menyerang kedelai (Lim *et al.*, 2003). Pada deteksi SSV digunakan sepasang primer universal dari CMV karena SSV merupakan salah satu strain dari CMV yang menyerang kedelai. Penggunaan primer universal tersebut telah digunakan untuk mendeteksi virus kedelai yang termasuk dalam famili Potyviridae (Chen *et al.*, 2001). Melalui analisis secara PCR selain untuk keperluan deteksi juga telah banyak digunakan untuk mengetahui kekerabatan dan asal usul suatu virus melalui analisis filogenetik.

KESIMPULAN

Penyakit mosaik sudah tersebar luas di semua sentra produksi kedelai di DIY, Jawa Tengah, Jawa Timur, NTB, dan Sulawesi Selatan dengan gejala dan intensitas penyakit yang bervariasi. Tanaman yang terserang virus menimbulkan gejala mosaik, malformasi daun berupa keriting dan *blister* dan pada gejala lanjut menyebabkan tanaman kerdil. Tanaman kedelai bergejala mosaik berdasarkan deteksi virus secara I-ELISA dan PCR antara lain disebabkan oleh SMV dan SSV. Kedua jenis virus tersebut di pertanaman sering menginfeksi secara bersama sama pada satu tanaman (infeksi ganda) terjadi. Pada tanaman kedelai yang bergejala mosaik juga perlu dideteksi keberadaan virus lain dan sebarannya sebagai dasar untuk menyusun strategi pengendalian virus pada pertanaman kedelai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih atas bantuan dana dari Kementerian Riset dan Teknologi melalui hibah Insentif Riset Dasar tahun 2009 (RD-2009-1497).

DAFTAR PUSTAKA

Akin, H.M. 2003. Respon Beberapa Genetik Tanaman Kedelai terhadap Infeksi CPMMV (*Cowpea Mild Mottle Virus*). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 3: 40–42.

Bhargande, V.Y., A.P. Suriawanshi, V.R. Mali, D.D. Nirmal, F.S. Patel. 1987. Natural Occurrence of 10 Cowpea Mild Mottle Virus on Soybean. *Indian Phytopathology* 40: 292.

Bos, 1972. *Soybean mosaic virus*. No 93 in Descriptions of Plant Viruses. Commonwealth Mycology Institute/Association of Applied Biologists. Kew, Surrey, England.

Bunt, A.A. & R.H. Kenten. 1973. Cowpea Mild Mottle Virus, Newly Recognized Virus Infecting Cowpeas (*Vigna unguilata*) in Ghana. *Annals of Applied Biology* 74: 67–74.

Chen, J., J.P. Chen, & M.J. Adam. 2001. A Universal PCR Primer Detect Members of Potyviridae and its Use to Examine the Taxonomic Status of Several Members of the Family. *Archives of Virology* 146: 757–766.

Choi, B.K., J.S. Park, H.J. Ahn, H.J. Yum, V. Ayyappan, L.S. Vijayachandran, J.S. Kim, S.C. Kim, & C.W. Choi. 2006. Molecular Characterization of Soybean Mozaic Virus NIa Protein and its Processing Event in Bacterial Expression. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2: 148–153.

Honda, Y., M. Muhsin, N. Iizuka, & K. Yoshida. 1988. Comparisons among Indonesian Isolates and Japanese Strains of Soybean stunt virus. *Japan Agricultural Research Quarterly* 22: 14–19.

Hong, J.S., C. Masuta, M. Nakano, J. Abe, & I. Uyeda. 2003. Adaptation of Cucumber mosaic virus Soybean Strains (SSVs) to Cultivated and Wild Soybeans. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 49–53.

Jumanto, H., M. Roechan, M. Muhsin, Asadi, M. Nakano, & H. Sawahata. 1999. *Distribution of Soybean Disease in Indonesia*. Research Institute for Food Crop Biotechnology, Bogor.

Koenig, R. 1981. Indirect ELISA Methods for Broad Specificity Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology* 55:53–62.

Lim, W.S., Y.H. Kim, & K.H. Kim. 2003. Complete Genome Sequences of the Genomic RNA of Soybean mosaic virus Strains G7H and G5. *Plant Pathology Journal* 19: 171–176.

Roechan, M., M. Iwaki, & D.M. Tantera. 1975. Virus Disease of Legume Plants in Indonesia. Soybean stunt virus. *Contributions of Central Research Institute of Agriculture* 15: 1–16.

Roechan, M. 1992. *Penyakit-Penyakit Virus pada Tanaman Kedelai*. Disertasi. Universitas Padjadjaran, Bandung. 325 p.

Sinclair, J.B. & P.A. Backman. 1993. *Compendium of Soybean Diseases*. 2nd Ed. APS Press. St. Paul, Minnesota. 106 p.

Sulandari, S., Y.B. Sumardiyono, & M. Roechan. 1998. Reaktivitas Antibodi Poliklonal SSV terhadap Antigen Homolog dan Heterolog. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 4: 51–56.

Sulandari, S., Y.B. Sumardiyono, & M. Roechan, 1999. *Deteksi Virus Kerdil Kedelai pada Biji, Serangga dan Gulma secara DAS-ELISA*. Laporan Akhir Penelitian Hibah Bersaing V tahun ke IV.

Sulandari, S., Y.B. Sumardiyono, M. Roechan. 2003. Seleksi, Karakterisasi, dan Reaktivitas Antibodi Monoklonal Virus Kerdil Kedelai. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 9: 69–74.