

KAJIAN SIFAT BIO-EKOLOGI DAN BIO-MOLEKULER VIRUS MOSAIK BERGARIS PADA TEBU DI INDONESIA

Dr. Tri Asmira Damayanti
(Institut Pertanian Bogor)

Dr. Giyanto
(Institut Pertanian Bogor)

Ir. Lilik Koesmihartono Putra, M.AgSt
(Pusat Penelitian dan Pengembangan Gula Indonesia)

Tujuan

Tahun-3

1. Konstruksi rekombinan CP dan produksi antisera SCSMV untuk tujuan deteksi serologi
2. Eksplorasi bakteri endofit dan PGPR asal tanaman tebu untuk pengendalian biologi SCSMV

KELUARAN

TAHUN BERJALAN

- Mendapatkan sumber protein SCSMV hasil ekspresi bakteri
- Antiserum berkualitas
- Mendapatkan kandidat bakteri potensial untuk menekan keparahan SCSMV
- Publikasi ilmiah; 1) Hayati dan 2) Journal of ISSAAS

JANGKA PANJANG

- Didapatkan antiserum SCSMV untuk deteksi rutin
- Didapatkan bakteri endofit dan rizosfer untuk dimanfaatkan dalam meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan sistemik tanaman terhadap terhadap infeksi SCSMV

LINGKUP KEGIATAN

- a. Konstruksi CP rekombinan dan ekspresinya pada bakteri yang sesuai dan aplikasinya dalam beberapa uji serologi
- b. Eksplorasi dan *screening* bakteri rizosfer dan endofit dalam menekan SCSMV dalam skala rumah kaca

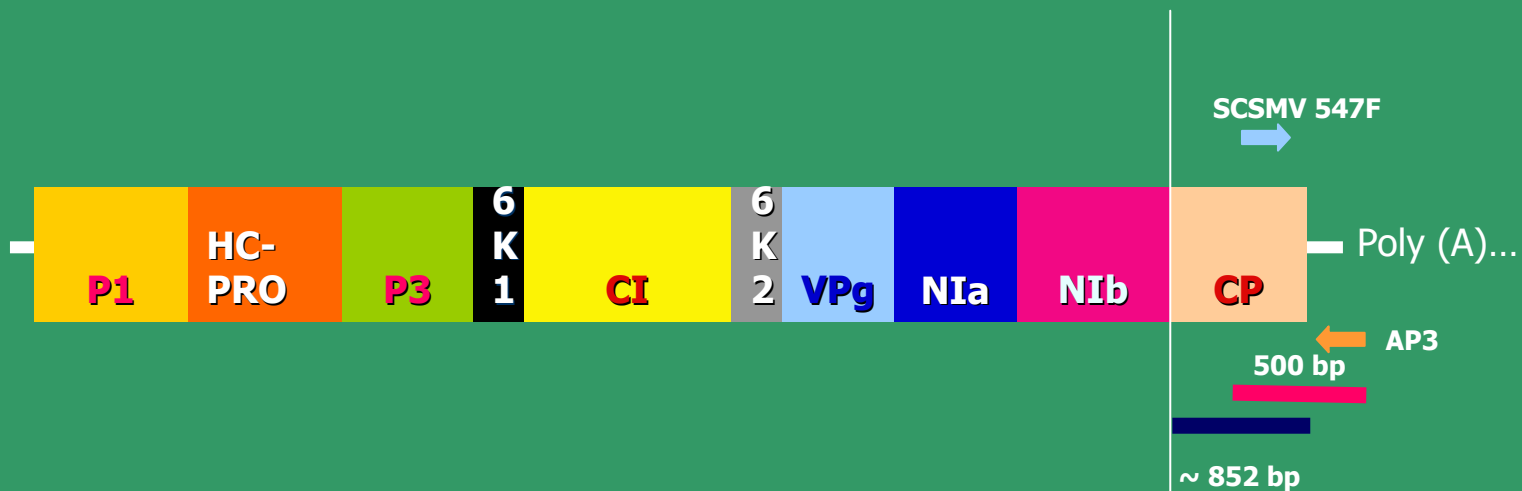
Tempat Penelitian

1. Lab. Virologi Tumbuhan IPB : Deteksi gen CP, cloning, SDS-PAGE, deteksi serologi
2. Lab. Bakteri Tumbuhan IPB : isolasi bakteri endofit/rizosfer, screenig bakteri in vitro, ekspresi gen
3. FKH – IPB : Pembuatan antiserum
4. Rumah Kaca P3GI-Pasuruan : screening bakteri potensial

PROSEDUR KERJA

A. KONSTRUKSI CP-REKOMBINAN SCSMV

1. Amplifikasi full-length gen CP dan Perunutan DNA



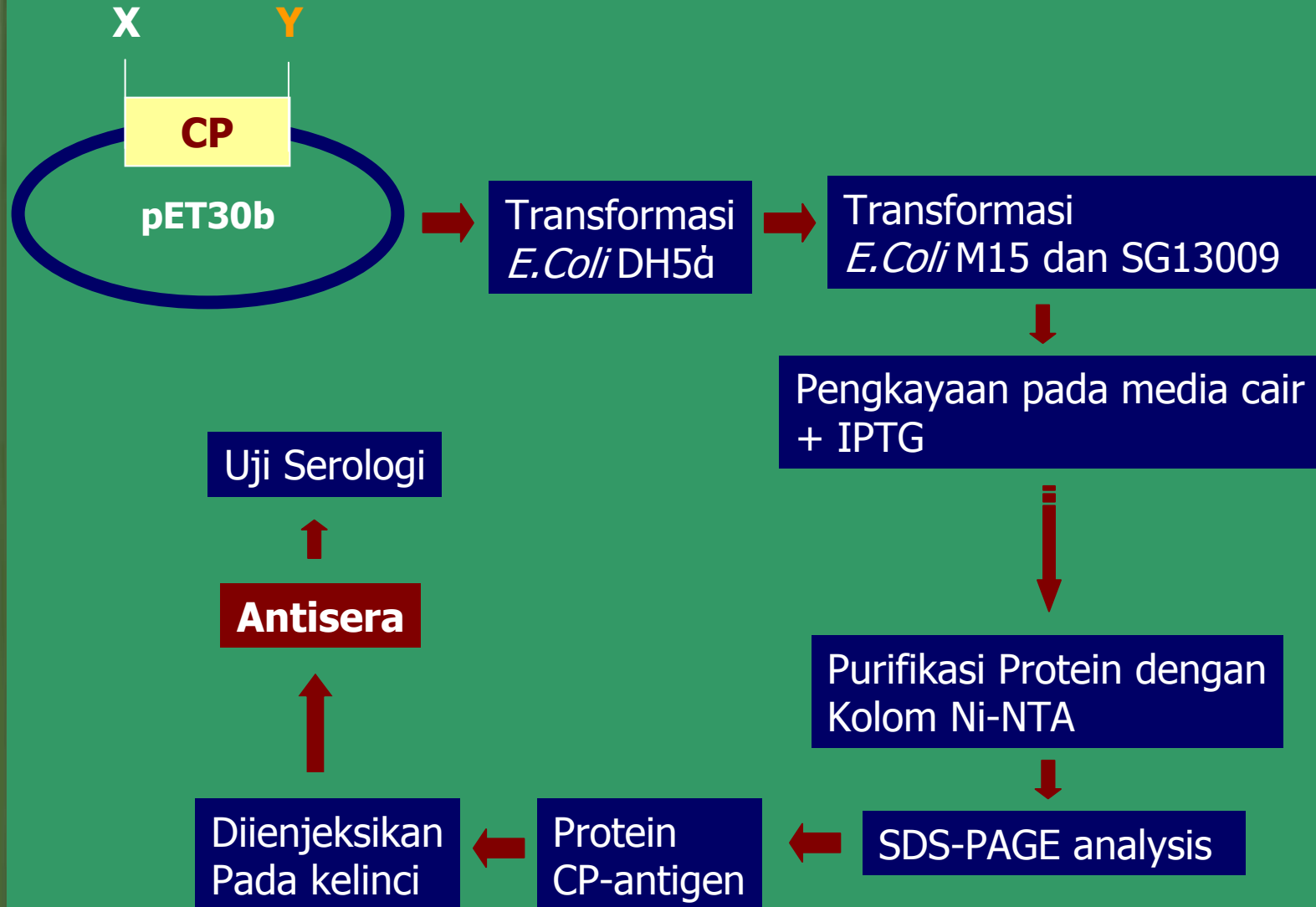
2. Penyisipan site enzim restriksi pada N dan C terminal gen CP

BamHI

HindIII



PEMBUATAN CP-REKOMBINAN ANTISERA in BRIEF



KEUNGGULAN CP-REKOMBINAN ANTISERA

- 1. Tidak memerlukan isolasi, propagasi dan purifikasi virus murni**
- 2. Cocok untuk virus yang sulit mendapatkan virus murninya karena mudah rusak dalam proses purifikasi, distribusinya tidak merata dan sifat tanaman inangnya**
- 3. Kualitas antiserumnya tinggi dan bebas reaksi silang dengan inang**
- 4. Teknologinya prospektif dikembangkan untuk berbagai virus/ patogen secara luas**

B. EKSPLORASI BAKTERI RIZOSFER & ENDOFIT



PARAMETER PENGAMATAN

Perlakuan : Perendaman bagal/stek sebelum tanam, dan penyiraman 1-3 bulan setelah tanam dengan interval 1 bulan

Stek : Positif terinfeksi SCSMV, Kontrol : tanpa perlakuan bakteri

1. Jumlah rumpun
2. Jumlah Anakan
3. Tinggi tanaman
4. Diameter batang
5. Intensitas penyakit
6. Keparahan penyakit

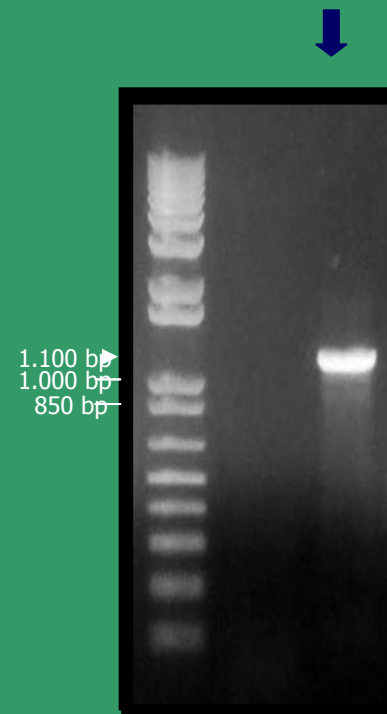
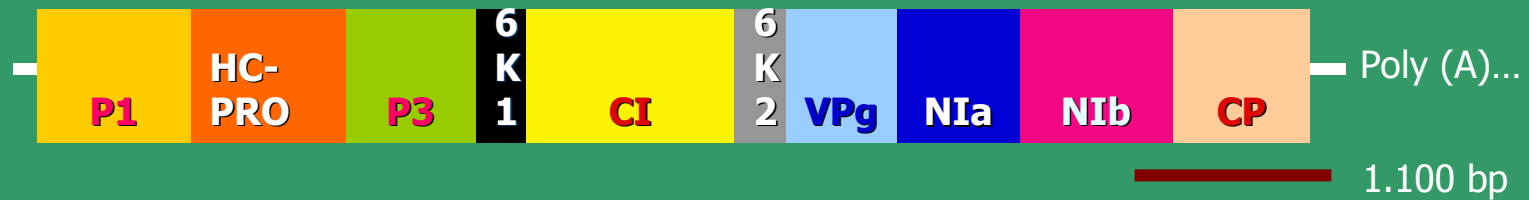
Parameter 1-4 : umur 2, dan 4 bulan

Parameter 5-6 : 2 minggu setelah perlakuan sampai 4 bulan; interval 2 minggu

HASIL PENELITIAN

A. Konstruksi CP rekombinan

A.1. Amplifikasi dan Perunutan DNA gen CP



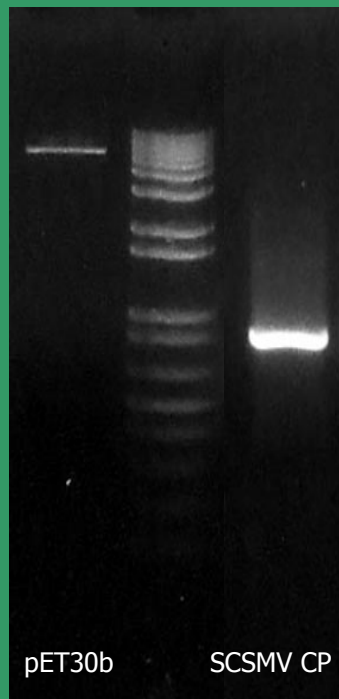
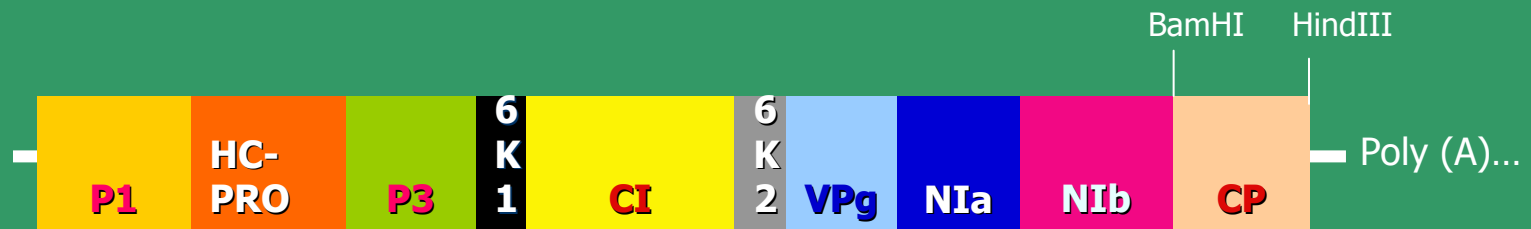
Tabel 1. Identitas matriks homologi gen SCSMV CP isolate Indonesia terhadap isolate lainnya

Sekuen	SCSMV ta	SCSMV-IDN	SCSMV ka	SCSMV Pktn	SCSMV AP
SCSMV ta	ID				
SCSMV-IDN	0,850	ID			
SCSMV ka	0,989	0,849	ID		
SCSMV Pakistan	0,854	0,921	0,854	ID	
SCSMV AP	0,873	0,849	0,876	0,856	ID

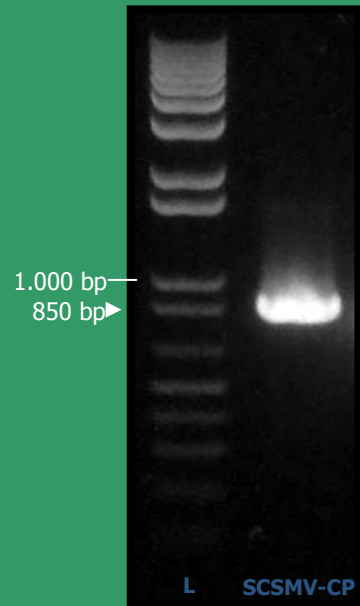
Keterangan; Idn-Indonesia, AP- Andra Pradesh, Pktn – Pakistan, Ka- Kartaka

Gen CP SCSMV isolat Indonesia berukuran 852 bp; mengkode 283 asam amino

A.2. Inseri site enzim restriksi



Pemotongan DNA & vektor
Dengan enzim
restriksi

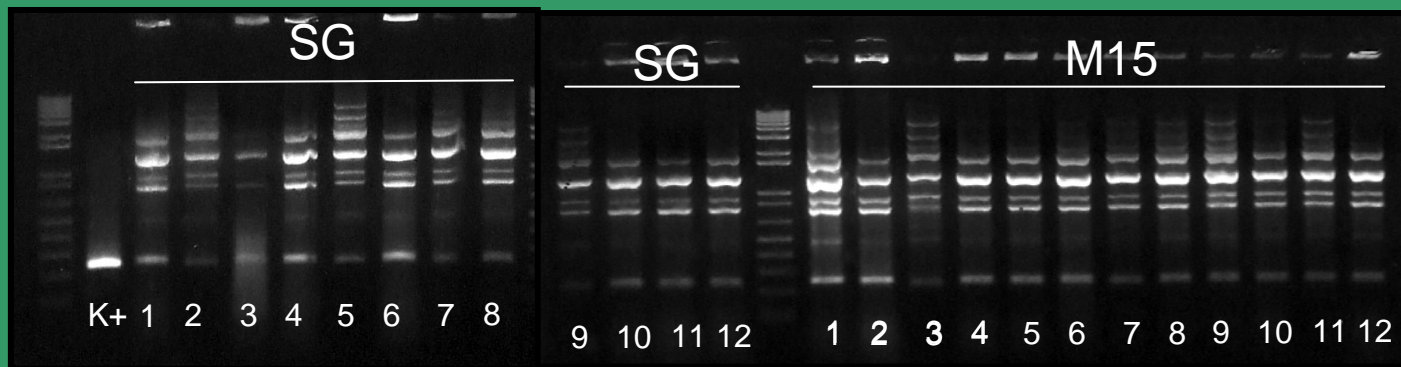


Hasil Koloni PCR

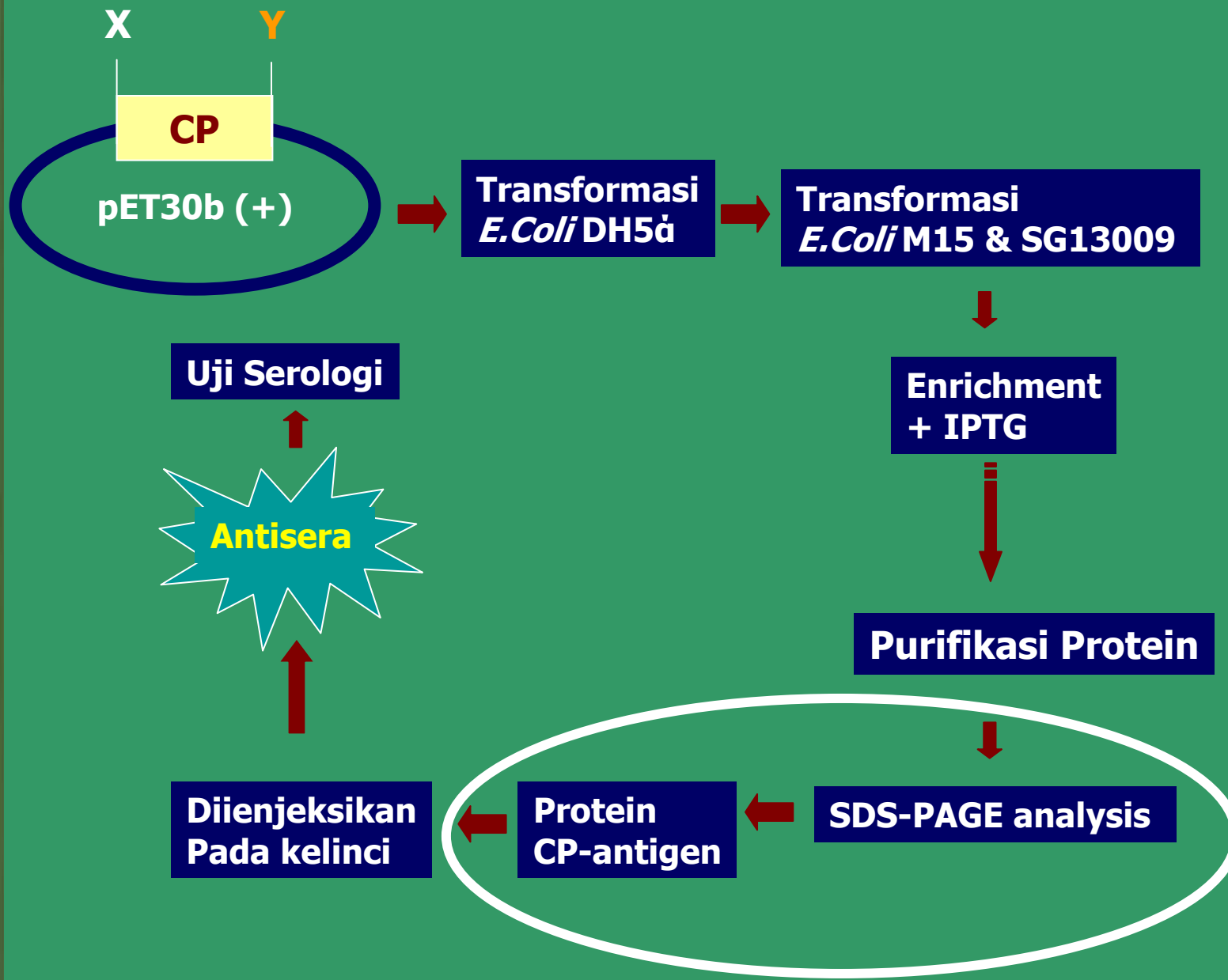


Transformasi ke
Bakteri ekspresi **M15**
Dan **SG13009**





Koloni PCR gen CP SCSMV hasil transformasi ke bakteri ekspresi



B. Isolasi bakteri endofit dan PGPR dari Tanaman Tebu

B.1. Isolasi.....98 isolat bakteri; 87 isolat non-patogenik



Uji Patogenisitas

B.2. Seleksi bakteri potensial



Screening



K



D7.2

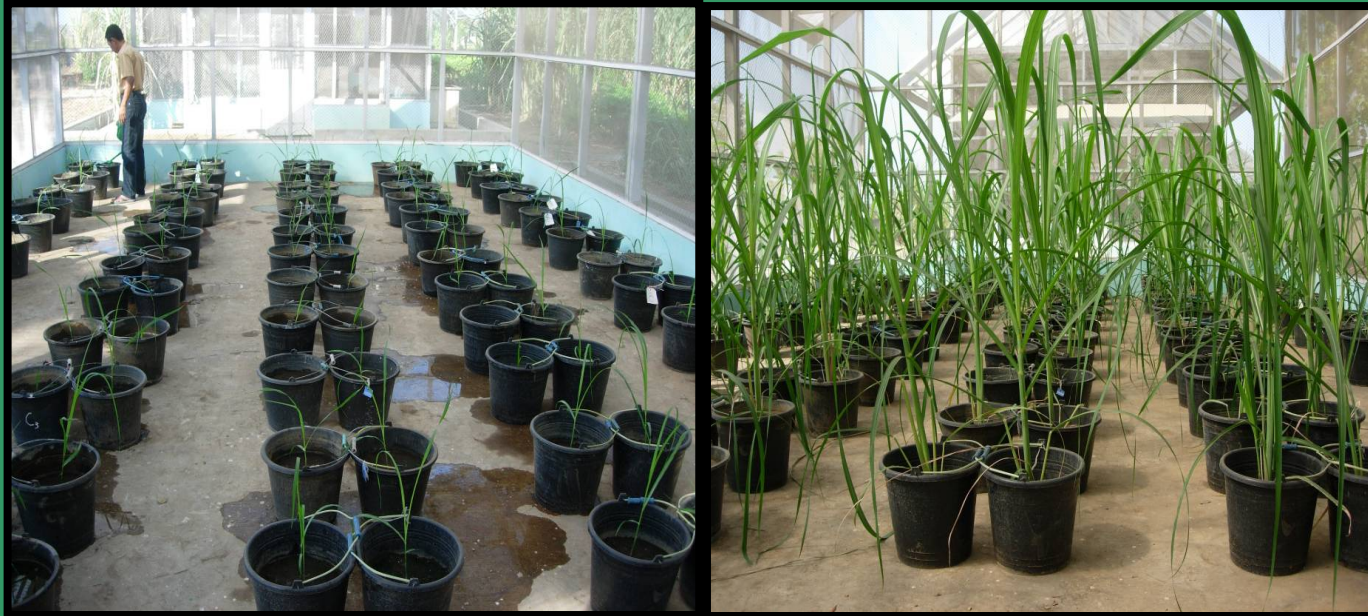


T5.2



T4.2

B.3. Uji bakteri potensial dalam menekan infeksi SCSMV di Rumah kaca



Tebu yang diberi perlakuan bakteri pertumbuhannya lebih baik, sedangkan insiden Penyakit tidak berpengaruh, namun cenderung tebu perlakuan keparahannya Lebih rendah

Tabel 2. Hasil Screening bakteri

Isolat	2 MST	4 MST	6 MST
K1	77.9b	128ab	137.95abc
K2	56.85c	110.1bcdefgh	124.9abcdef
D5.M	56.1cd	122.9abcde	133.95abcde
D4.M	54.75cde	110.9cdefgh	125.2bcdef
D2.M	52.75cde	124.15abcd	143.8ab
D1.M	62.5c	128.7abc	143.55ab
T2.1	48.66cdef	112.9bcdefgh	143.5ab
T4.1	37.9	99.6	116cdef
T5.1	56.95c	116.35bcdefgh	116cdef
T6.1	43.2def	107.05defgh	129.45abcdef
D3.1	56.3cd	112.85bcdefgh	126.85 abcdef
D1.2	56.3cd	100h	112.05ef
B5.2	55.3cd	107.3cdefgh	125.5abcdef
T5.2	58.05c	113.29bcdefgh	124cdef
B22	61.95c	109.15bcdefgh	109.15f
B4.2	59.9c	110.95bcdefgh	124.4abcdef
D7.2	61.4c	99.3fgh	117.85def
D6.2	39.75ef	93.8gh	122.05abcdef
T4.2	55.4cd	108.35bcdefgh	134.9abcd
T6.2	59.5c	108.25defgh	127.7abcdef
B4	80.75b	122abcd	133.5abcd
D2.K2	84.65ab	118.5abc	135.7abcd
A3.K2	84.55ab	124abcdefg	131.15abcdef
B2.K1	96.6a	138a	145.55a
D2.K1	83.5b	120.1abcde	125.1abcdef
B2.K2	79.7b	120.4abcde	134.5abcd
A2.K3	84.55b	130.4abcd	138.4abcd
T2.K	80.45b	119.65abcdef	132.55abcd
B2.2	76.9b	118.65bcdefgh	129.1abcdef

Isolat yg Menunjukkan Pertumbuhan & vigor yg baik Yg dipilih

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan Bakteri terhadap pertumbuhan tanaman

Kode Isolat	Bulan 1	Bulan 2
cm.....	
A2K3	13.14ab*	33.82ab
A3K2	14.77a	34.50ab
B2.2	8.99bc	32.01ab
D2K2	12.30ab	34.22ab
B4.2	8.25bc	32.12ab
T6.2	11.82ab	34.78ab
T5.2	12.92ab	36.20ab
D3.1	8.23bc	31.41b
D2.M	7.87bc	32.27ab
D1.M	9.40bc	33.34ab
Kontrol-Air	12.35ab	36.58a
Kontrol-LB	11.24abc	33.32ab

Perlakuan bakteri meningkatkan vigor Tanaman, namun tidak Berbeda nyata terhadap Tinggi tanaman

Keterangan : Asal isolat : A-akar; B-batang; D-daun; T-tanah, K-Kediri, M-Madiun

*Huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata dengan uji Duncan pada taraf 5%

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan Bakteri terhadap kejadian penyakit

Kode Isolat	Bulan 1	Bulan 2
%.....	
A2K3	11.1c	100a
A3K2	10.0c	100a
B2.2	0.0c	100a
D2K2	50.0abc	100a
B4.2	0.0c	100a
T6.2	50.0abc	100a
T5.2	22.2c	100a
D3.1	10.0c	100a
D2.M	0.0c	100a
D1.M	22.2bc	100a
Kontrol-Air	70.0ab	100a
Kontrol-LB	90.0a	100a

➤ **Incidence SCSMV rendah pada Bulan 1 setelah perlakuan**

> **Perlakuan bakteri; delay Masa inkubasi**

Keterangan : Asal isolat : A-akar; B-batang; D-daun; T-tanah, K-Kediri, M-Madiun

*Huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata dengan uji Duncan pada taraf 5%

Tabel 5. Pengaruh Perlakuan bakteri terhadap keparahan penyakit

Kode Isolat	Bulan 1	Bulan 2
%.....	
A2K3	0.1d	1.8cd
A3K2	0.1d	2.5abc
B2.2	0.0d	1.8bcd
D2K2	0.5bc	2.0bcd
B4.2	0.0d	1.9cd
T6.2	0.5bc	3.0a
T5.2	0.2cd	3.0ab
D3.1	0.1d	2.3bcd
D2.M	0.0d	1.6cd
D1.M	0.2cd	2.7abc
Kontrol-Air	0.7ab	2.1abcd
Kontrol-LB	0.9a	2.4abc

- **Keparahan rendah pada bulan ke-1 dibanding kontrol**
- **Beberapa perlakuan cenderung rendah keparahannya dan beberapa perlakuan tinggi**

KESIMPULAN

1. Gen CP SCSMV isolat Indonesia telah berhasil diketahui sekuennya; berukuran 852 bp mengkode 283 asam amino
2. Gen CP ini telah berhasil diekspresikan ke dalam bakteri ekspresi dan telah dipurifikasi proteinnya. Protein ini akan digunakan sebagai antigen untuk produksi antiserum
3. Bakteri endofit dan PGPR hasil eksplorasi dari tanaman tebu menunjukkan kemampuannya dalam meningkatkan vigor tanaman dan menekan keparahan walau tidak berbeda nyata
4. Beberapa isolat memiliki efek negatif terhadap tanaman; meningkatkan kerentanan tanaman tanaman dan menghambat pertumbuhan dalam percobaan rumah kaca (isolat T6.2, T5.2, D1.M, A3K2)



Ir.Lilik KP,MAgrSt-P3GI

Dr Tri AD

Dr.Giyanto

Ratdiana SP

TERIMAKASIH