

Volume 8 Nomor 1, April 2012

ISSN: 1907-1094

JURNAL
AgroBiogen

Akreditasi Nomor: 414/AU2/P2MI-LIPI/04/2012

J. AgroBiogen	Vol. 8	No. 1	hlm. 1 - 44	Bogor April 2012	ISSN 1907-1094
---------------	--------	-------	----------------	---------------------	-------------------



Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Kementerian Pertanian

Jurnal AgroBiogen

Vol. 8, No. 1, April 2012

Jurnal AgroBiogen memuat artikel primer dan tinjauan hasil penelitian bioteknologi dan sumber daya genetik tanaman, serangga, dan mikroba pertanian. Jurnal ini diterbitkan tiga kali setahun pada bulan April, Agustus, dan Desember oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Jurnal ini sudah mendapat akreditasi ulang pada 24 April 2012.

SK Kepala LIPI Nomor: 395/D/2012 Tanggal 24 April 2012

Penanggung Jawab

Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Dewan Redaksi

Bahagiawati

Bioteknologi Pertanian

Karden Mulya

Hama dan Penyakit Tanaman

Asadi

Pemuliaan dan Genetika Tanaman

I Made Tasma

Bioteknologi Pertanian

Iswari S. Dewi

Bioteknologi Pertanian

Mitra Bestari

I Gede Suastika

Biomolekuler dan Virologi

Ni Made Armini Wiendi

Bioteknologi Tanaman

Bambang S. Purwoko

Bioteknologi Tanaman/Fisiologi

Sútriso

Bioteknologi Pertanian

M. Machmud

Hama dan Penyakit Tanaman Pangan dan Hortikultura

Redaksi Pelaksana

Tri Puji Priyatno

Joko Prasetyono

Ida N. Orbani

Alamat Penerbit

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

E-mail: borif@indo.net.id

Telepon: (0251) 8339793, 8337975

Faksimile: (0251) 8338820

Kala Terbit

Tiga nomor per volume



Analisis Gen Selubung Protein *Chilli Veinal Mottle Potyvirus* dari Beberapa Daerah di Indonesia

Ifa Manzila^{1*}, Sri H. Hidayat², Ika Mariska¹, and Sriani Sujiprihati³

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: ifamanzila@gmail.com

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper, Kampus Darmaga, Bogor 16680

³Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti, Kampus Darmaga, Bogor 16680

Diajukan: 23 Agustus 2011; Diterima: 17 Februari 2012

ABSTRACT

Analysis of Coat Protein Gene of *Chilli Veinal Mottle Potyvirus* Collected from Several Means in Indonesia. *Ifa Manzila, Sri H. Hidayat, Ika Mariska, and Sriani Sujiprihati.* Variation on symptoms and virulence was observed on different isolates of ChiVMV collected from West Java, Central Java, East Java, South Kalimantan, West Sumatera and Central Aceh. Research was conducted to study genetic variation of six ChiVMV isolates based on sequence analysis of coat protein (CP) gene and amino acid. Sequence analysis of CP gene showed 87% to 99% homology among the six isolates with level of variation ranging from 0.02% to 1.48%. Sequence analysis of amino acid derived from CP gene showed 85% to 99% homology. Further analysis on amino acid motives of CP gene indicated mutation of octapeptide motif, i.e. LSGVQPQSRQSEMETEVPQVR on ChiVMV CKB and RMEFGLDGRVGTQEEDTERHT on other ChiVMV isolates. Other differences was observed on amino acid number 61 and 84 i.e. deletion of MET and mutation of GG to KV on ChiVMV BL and KR. Phylogenetic analysis based on nucleotide and amino acid sequence showed that six isolates of ChiVMV can be differentiated into three groups. ChiVMV KR and BL were in the same group with ChiVMV Pataruman (GeneBank No. access DQ854961), ChiVMV CKB was in the same group with ChiVMV Cikabayan 2 (GeneBank No. access DQ854960), and ChiVMV TD, ChiVMV NI and GB ChiVMV were in the same group with ChiVMV Taiwan (GeneBank No. access DQ854948). Analysis of CP gene confirmed the occurrence of genetic variation among ChiVMV isolates although symptom variation is weak.

Keywords: *Chilli veinal mottle potyvirus*, coat protein gene, phylogenetic analysis.

ABSTRAK

Analisis Gen Selubung Protein *Chilli Veinal Mottle Potyvirus* dari Beberapa Daerah di Indonesia. *Ifa Manzila, Sri H. Hidayat, Ika Mariska, dan Sriani Sujiprihati.* Variasi gejala dan tingkat virulensi yang berbeda berhasil diperoleh dari isolat ChiVMV yang berasal dari Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Sumatera Barat dan Aceh Tengah. Variasi tersebut meng-

indikasikan adanya keragaman dari keenam isolat ChiVMV. Penelitian lanjutan dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik berdasarkan runutan nukleotida gen penyandi selubung protein (CP-ChiVMV) isolat-isolat ChiVMV dari berbagai lokasi penanaman cabai di Indonesia. Isolasi dan perunutan nukleotida gen CP-ChiVMV dilakukan dengan menggunakan primer spesifik ChiVMV F Ind dan ChiVMV R Ind. Analisis runutan nukleotida gen CP-ChiVMV enam isolat tersebut menunjukkan tingkat kesamaan 87% hingga 99% dengan tingkat keragaman berkisar 0,02% hingga 1.48%. Analisis runutan asam amino gen CP-ChiVMV menunjukkan tingkat kesamaan antar isolat-isolat ChiVMV berkisar antara 85 sampai 99%. Analisis lebih lanjut pada motif asam amino gen CP-ChiVMV menunjukkan bahwa motif *octapeptide* telah termutasi menjadi LSGVQPQSRQSEMETEVPQVR pada ChiVMV CKB dan menjadi RMEFGLDGRVGTQEEDTERHT pada CP-ChiVMV lainnya. Perbedaan lainnya terjadi pada daerah asam amino nomor 61 dan 84, di mana ChiVMV BL dan KR kehilangan sekuen MET dan mengalami mutasi GG menjadi KV. Analisis filogenetika, berdasarkan nukleotida maupun asam amino gen CP-ChiVMV menunjukkan bahwa keenam isolat dapat dibedakan menjadi tiga kelompok. Isolat ChiVMV KR dan ChiVMV BL berada dalam satu kelompok dengan isolat Pataruman (*GeneBank* No. akses DQ854961), sedangkan isolat ChiVMV CKB satu kelompok dengan Cikabayan 2 (*GeneBank* No. akses DQ854960), kelompok tiga terdiri dari isolat ChiVMV TD, ChiVMV NI dan ChiVMV GB berada pada kelompok yang sama dengan isolat ChiVMV Taiwan (*GeneBank* No. akses DQ854948). Analisis gen CP yang dilakukan menunjukkan adanya keragaman genetik antar isolat ChiVMV walaupun variasi gejala tidak terlalu besar.

Kata kunci: *Chilli veinal mottle potyvirus*, selubung protein, analisis filogenetika.

PENDAHULUAN

Chilli Veinal Mottle Virus (ChiVMV) adalah anggota *Potyvirus* yang dapat menginfeksi dan menyebabkan penyakit belang pada tanaman cabai. ChiVMV memiliki genom berupa RNA utas tunggal positif (+ ssRNA) berukuran 9711 nukleotida (nt) (Fauquet *et al.*, 2005). Partikel virus berbentuk batang lentur dengan ukuran panjang 750 nm dan diameter 12 nm (Ong *et al.*, 1995). Di Indonesia, keberadaan virus ini mulai

diketahui di beberapa sentra produksi tanaman cabai dan prevalensinya semakin luas, seperti di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Sulawesi Selatan (Taufik, 2005).

Tanaman cabai yang terinfeksi ChiVMV biasanya menjadi kerdil dan mengalami malformasi. Pada daun terlihat gejala belang hijau gelap dan bercak-bercak hijau gelap yang kadang-kadang polanya menyatu dengan tulang daun di dekatnya. Gejala *leaf cupping*, epinasti dan nekrosis juga terlihat. Di Indonesia, potensi penurunan hasil cabai akibat infeksi ChiVMV pada beberapa genotipe dapat mencapai 68,0% hingga 98,% (Taufik, 2005) bahkan kehilangan hasil dapat mencapai 100%.

Hasil penelitian di berbagai lokasi di Indonesia (Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, Sumatera Barat, dan Aceh Tengah) menunjukkan bahwa kejadian penyakit, masa inkubasi, dan gejala akibat infeksi ChiVMV berbeda-beda antara lokasi yang satu dengan lokasi yang lain (Manzila, 2011). Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan strain ChiVMV, kondisi lingkungan atau genotipe cabai yang ditanam (Matthews, 2002).

Secara molekuler, keragaman genetik suatu virus dan strain-strainnya dapat dibedakan berdasarkan runutan nukleotida, atau komposisi asam amino di dalam selubung protein (*coat protein*, CP). Pada bagian selubung protein *Potyvirus* terdapat protein yang berperan dalam penularan virus oleh serangga vektor, pergerakan sel ke sel dan pergerakan virus secara sistemik, RNA enkapsidasi, dan regulasi amplifikasi RNA (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001).

Menurut Moury *et al.* (2005), *Pepper Veinal Mottle Virus* dan ChiVMV dibedakan berdasarkan runutan asam amino dari selubung proteinnya. Tingkat kesamaan runutan asam amino selubung protein pada kedua spesies virus tersebut hanya 80%, sedangkan antara strain yang berbeda dalam satu spesies virus yang sama mempunyai tingkat kesamaan mencapai 83-99% (Fauquet *et al.*, 2005). Hasil kajian menunjukkan bahwa tingkat kesamaan runutan asam amino CP antara jenis virus yang berbeda adalah 38-71%, sedangkan antar strain dalam satu jenis virus yang sama mencapai 90-99%.

Keragaman genetik suatu virus umumnya terjadi sebagai akibat adanya mutasi pada gen virus itu sendiri. Mutasi gen dapat mengakibatkan terjadinya perubahan fungsi gen, sehingga dapat saja menyebabkan perubahan gejala penyakit yang muncul atau virulensi virus.

Meskipun ChiVMV sudah mulai dilaporkan menyerang tanaman cabai di beberapa sentra produksi

cabai di Indonesia, tetapi penelitian tentang variasi strain, baik dari gejala yang ditimbulkan, runutan nukleotida maupun asam amino pada selubung proteinnya belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman ChiVMV yang berasal dari beberapa lokasi berdasarkan sifat genetiknya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Virologi BB Biogen dan Rumah Kaca Cikabayan, Departemen Proteksi Tanaman IPB, Bogor, sejak November 2008 hingga Maret 2009. Bahan penelitian yang digunakan terdiri atas 6 contoh daun tanaman cabai yang dikoleksi dari beberapa sentra produksi cabai di Indonesia dan informasi genetik 6 strain ChiVMV dari 5 negara yang diperoleh dari *GeneBank*, yaitu. DQ854962 (India), DQ854951 (Cina), DQ925446 (Vietnam), DQ854948 (Taiwan), DQ854961 (Pataruman, Indonesia), dan DQ854960 (Cikabayan 2, Indonesia).

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah (1) koleksi isolat ChiVMV, (2) deteksi gen protein selubung ChiVMV; (3) peruntan (*sequencing*) gen protein selubung, (4) analisis nukleotida dan asam amino protein selubung, dan (5) analisis filogenetika strain ChiVMV.

Koleksi Isolat Gejala Penyakit *Chilli Veinal Mottle Virus* dari Beberapa Daerah

Contoh daun tanaman cabai bergejala khas penyakit ChiVMV diambil dari 6 lokasi, yaitu Karadenan (Jawa Tengah), Cikabayan (Jawa Barat), Tanah Datar (Sumatera Barat), Nusa Indah (Kalimantan Selatan), Belung (Jawa Timur), dan Gayo Barat (Aceh Tengah). Daun tanaman cabai sakit diuji dengan DAS-ELISA menggunakan teknik Cohen (1979) untuk memastikan keberadaan virus tersebut. Selanjutnya, sampel yang positif mengandung ChiVMV diinokulasikan kembali pada tanaman paprika cv Beauty Bell yang bebas virus untuk mengetahui perkembangan gejalanya dan akan digunakan sebagai sumber inokulum. Pengamatan gejala dilakukan pada 1-15 hari setelah inokulasi (HSI).

Deteksi Gen Protein Selubung ChiVMV

Enam isolat ChiVMV dipilih dan mewakili daerah pengambilan sampel, yaitu Karadenan (Jawa Tengah), Cikabayan (Jawa Barat), Tanah Datar (Sumatera Barat), Nusa Indah (Kalimantan Selatan), Belung (Jawa Timur), dan Gayo Barat (Aceh Tengah). Total RNA diekstraksi dari jaringan daun tanaman cabai terinfeksi ChiVMV menggunakan *Rnase Plant Mini Kits* (Qiagen, Germany). Sebanyak 100 mg sampel daun digerus, dibantu dengan penambahan nitrogen cair.

Ke dalam serbuk hasil gerusan ditambahkan 450 μ l bufer lisis yang mengandung merkaptoetanol 1%, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* dan dipanaskan (dalam penangas air) pada suhu 56°C selama 10 menit. Selanjutnya tabung dimasukkan ke dalam *spin column* ungu dan disentrifugasi dg kecepatan 13.000 rpm selama 2 menit (suhu ruang). Supernatan diambil dan ditambahkan setengah volume etanol 96%, selanjutnya dihomogenisasi dengan *pipetting*. Campuran dipindahkan ke *spin column* warna merah muda dan disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 1 menit. *Spin column* dipindahkan ke tabung yang baru, kemudian ditambahkan 700 μ l bufer pencuci RW I dan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 1 menit. Cairan pada *spin column* dibuang, ditambahkan 500 μ l bufer RPE, kemudian disentrifugasi 10.000 rpm selama 1 menit. Pencucian dengan bufer RPE dilakukan dua kali dengan lama sentrifugasi yang kedua 2 menit. *Spin column* dipindahkan ke *collection tube* baru dan disentrifugasi 13.000 rpm selama 1 menit. *Spin column* dipindahkan ke tabung *ependorf* baru (1,5 ml), kemudian ditambahkan 40 μ l air bebas nuklease ke dalam kolom dan diinkubasikan selama 10 menit pada suhu ruang, selanjutnya disentrifugasi 10.000 rpm selama 1 menit. Total RNA yang diperoleh dan terdapat dalam tabung dapat disimpan di ruang penyimpanan pada suhu -70°C sampai digunakan dalam *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Reaksi RT yang digunakan mengandung sampel RNA 2 μ l, 0,35 μ l enzim *reverse transcriptase Moloney Murine Leukemia Virus* (MMuLV) (New England BioLabs), 0,35 μ l *Recombinant RNasin Ribonuclease Inhibitor* (Promega, Medison, WI, USA), 2 μ l dNTP 10 mM, 1 μ l bufer 10x RT (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl [pH 7,6]), Oligo d(t) 0,75 μ l, dan 3,2 μ l H₂O. Reaksi RT dilakukan pada kondisi 25°C selama 5 menit, 37°C selama 90 menit, dan 72°C selama 15 menit. cDNA hasil RT dipakai sebagai *template* pada reaksi PCR. Reaksi PCR yang digunakan mengandung 1 μ l *template* cDNA, 2,5 bufer 10x + Mg²⁺, 2 μ l dNTP 2,5 mM, 1 μ l Primer ChiVMV F Ind (1st BASE) (5' AACCTGAGCGTATAGTTTCA 3') 10 mM, 1 μ l Primer ChiVMV R Ind (1st BASE) (5' TACGCTTCAGCAAGATTGCT 3') 10 mM, 0,3 μ l Taq 5 unit, 17,2 μ l H₂O. Amplifikasi dengan PCR dilakukan sebanyak 35 kali dengan tahapan sebagai berikut: tahap I suhu 94 C selama 5 menit, tahap II suhu 94 C selama 1 menit, tahap III suhu 50°C selama 1 menit, tahap IV suhu 72 C selama 2 menit, tahap V suhu 72°C selama 5 menit (Jan *et al.*, 2000).

Fragmen DNA hasil PCR dielektroforesis pada gel agarosa 1% dan diamati dengan UV transiluminator

setelah diberi pewarnaan dengan etidium bromida. Pengukuran DNA menggunakan penanda 1 kb *ladder* (Fermentas). Sampel disiapkan dengan mencampurkan 7 μ l DNA dan 2 μ l *loading buffer*. Selanjutnya masing-masing sampel diisikan dalam sumuran dengan pipet mikro. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 50 V DC selama 45 menit. Hasil elektroforesis tersebut dilihat dengan *transilluminator* UV dan didokumentasi.

Perunutan (*Sequencing*) Gen Protein Selubung

Sintesis dan perunutan nukleotida sistron CP-ChiVMV dilakukan mengikuti prosedur Jan *et al.* (2000). Perunutan DNA CP-ChiVMV dari hasil amplifikasi PCR dilakukan di *Macrogen Inc. Korea* dengan primer ChiVMV F Ind dan ChiVMV R Ind.

Analisis Nukleotida dan Asam Amino Protein Selubung

Hasil perunutan DNA digunakan untuk analisis tingkat kesamaan dengan menggunakan *software Blast2.Wu* yang terdapat dalam situs *the European Bioinformatic Institute* (EBI) (www.ebi.ac.uk). Analisis homologi CP-ChiVMV melibatkan informasi sekuen gen 6 isolat ChiVMV dari 5 negara yang tersedia dalam *GeneBank*, yaitu, DQ854962 (India), DQ854951 (Cina), DQ925446 (Vietnam), DQ854948 (Taiwan), DQ854961 (Pataruman, Indonesia), dan DQ854960 (Cikabayan 2, Indonesia). Analisis homologi dilakukan menggunakan *software ClustalW* (www.ebi.ac.uk).

Analisis Filogenetika

Analisis filogenetika dilakukan menggunakan program PHYLIP versi 3.5. Sebelum analisis, runutan nukleotida semua isolat yang terpilih dimodifikasi dengan *software Bioedit V7.0.5* untuk menyamakan format runutannya. Matrik jarak genetika dihitung dengan menggunakan matrik parameter dalam program komputer DNA Dist untuk runutan nukleotida dan Prodist untuk runutan asam amino CP. Pohon filogenetika digambarkan dengan program DRAWTREE dalam paket program PHYLIP. Analisis bootstrap dengan 100 ulangan dilakukan menggunakan program SEQBOOT dan konsensus pohon filogenetika dibuat dengan program CONSENSE. Semua program komputer tersebut menggunakan program Phylodraw versi 0.8, Graphics Application Lab (www.Phylodraw). Untuk mengetahui kelompok data yang ada berikut jarak kekerabatannya atau jarak evolusinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi Isolat Gejala Penyakit *Chilli Veinal Mottle Virus* dari Beberapa Daerah

Enam isolat ChiVMV dari daerah yang berbeda dipilih berdasarkan jenis gejala yang muncul pada tanaman cabai paprika cv. Beauty Bell (Tabel 1). Gejala dominan adalah belang dengan kombinasi gejala lain seperti perubahan bentuk daun, penggulangan daun, pemucatan tulang daun.

Deteksi Gen Protein Selubung ChiVMV

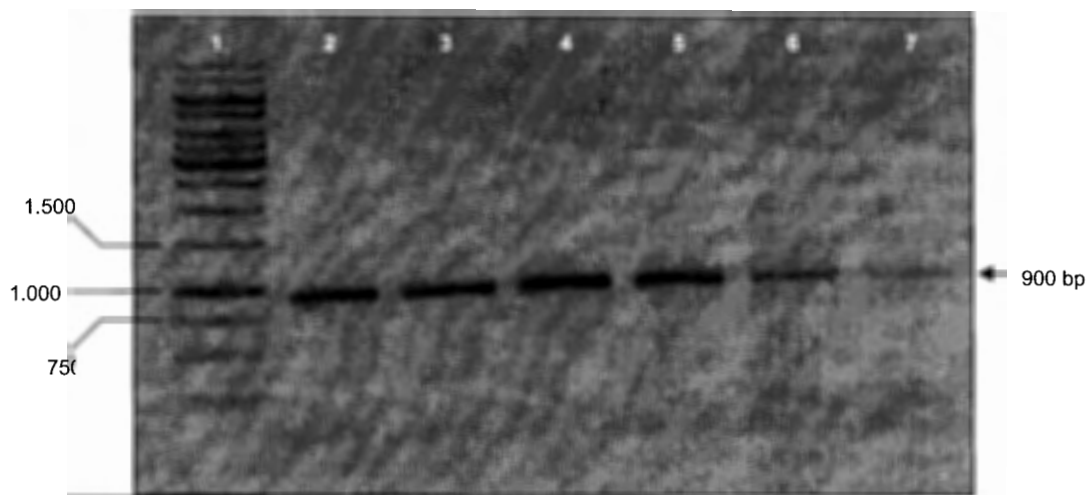
Amplifikasi gen selubung protein ChiVMV dengan teknik RT-PCR berhasil diperoleh dari sampel asal Cikabayan (Jawa Barat), Nusa Indah (Kalimantan Selatan), Tanah Datar (Sumatera Barat), Karadenan (Jawa Tengah), Belung (Jawa Timur), dan Gayo Barat (Aceh Tengah) (Gambar 1). Pita DNA berukuran 900 bp teramplifikasi menggunakan primer ChiVMV F Ind dan ChiVMV R Ind sesuai dengan hasil yang dilaporkan peneliti sebelumnya (Tsai *et al.*, 2008).

Analisis Homologi Gen Protein Selubung ChiVMV

Fragmen DNA hasil amplifikasi dipurifikasi untuk tahapan peruntukan nukleotida (DNA). Analisis *WuBlast* terhadap hasil peruntukan DNA memastikan bahwa fragmen DNA berukuran 900 bp tersebut adalah gen penyandi selubung protein dari ChiVMV (CP ChiVMV). Tingkat kesamaan sekuen CP ChiVMV dari strain asal Indonesia dengan asal Cina, Vietnam, Taiwan, dan India berkisar antara 87 hingga 99% (Tabel 2). Strain ChiVMV asal Indonesia memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan strain ChiVMV yang berasal dari empat negara Asia lainnya. Setelah dilakukan penyejajaran sekuen CP (*sequence alignment*) jelas terlihat bahwa, pada ujung 3' terdapat daerah dengan konservasi yang lebih tinggi dibandingkan pada ujung 5'. ChiVMV yang menyerang tanaman cabai di Indonesia diduga sama dengan virus dari keempat negara asia lainnya, karena seringnya terjadi atau dilakukan introduksi material-material tanaman cabai dari negara-negara tersebut.

Tabel 1. Kode dan nomor aksesori isolat ChiVMV yang diisolasi dari contoh tanaman cabai yang berasal dari 6 lokasi di Indonesia dan diinokulasikan pada tanaman paprika Beauty Bell serta ciri khas gejalanya.

Kode isolat	Nomor aksesori	Asal isolat	Deskripsi gejala
ChiVMV BL	IN001	Belung, Jawa Timur	Belang menyebar
ChiVMV KR	IN002	Karadenan, Jawa Tengah	Belang ringan
ChiVMV TD	IN005	Tanah Datar, Sumtra Barat	Belang/blot hijau gelap
ChiVMV NI	IN006	Nusa Indah, Kalimantan Selatan	Belang menyebar, menyatu ke tulang daun
ChiVMV CKB	IN007	Cikabayan, Jawa Barat	Kombinasi gejala belang dan perubahan bentuk daun
ChiVMV GB	IN009	Gayo Barat, Aceh Tengah	Belang, daun menggulung membentuk mangkok



Gambar 1. Amplifikasi cDNA 6 isolat ChiVMV asal Indonesia dengan metode RT-PCR menggunakan primer ChiVMV F Ind dan ChiVMV R Ind. Lajur 1 : 1 kb DNA ladder (Fermentas). Lajur 2 sampai dengan 7 berturut-turut hasil amplifikasi cDNA isolat ChiVMV CKB (IN007), ChiVMV NI (IN006), ChiVMV TD (IN005), ChiVMV GB (IN009), ChiVMV KR (IN002), dan ChiVMV BL (IN001).

Analisis Filogenetika Gen Selubung Protein ChiVMV

Hasil analisis filogenetika delapan isolat ChiVMV dari lokasi berbeda di Indonesia menunjukkan adanya tiga kelompok ChiVMV. Kelompok I terdiri atas isolat ChiVMV KR (IN002), ChiVMV BL (IN001) dan DQ854961; Kelompok II terdiri atas isolat ChiVMV CKB (IN007) dan DQ854960; sedangkan Kelompok III terdiri atas isolat ChiVMV TD (IN007), ChiVMV NI (IN006), ChiVMV GB(IN009) dan DQ854948 (Gambar 2). Ketiga kelompok ini memiliki jarak genetik terdekat masing-masing, yaitu 0,05-0,06; 0,05; dan 0,02-0,48. Berdasarkan tipe gejala yang ditimbulkan, isolat Kelompok 1 (IN001 dan IN002) menimbulkan gejala belang ringan menyebar, Kelompok II (IN001) menimbulkan kombinasi gejala belang disertai perubahan bentuk daun, dan Kelompok III (IN 006, IN007, dan IN009) menimbulkan

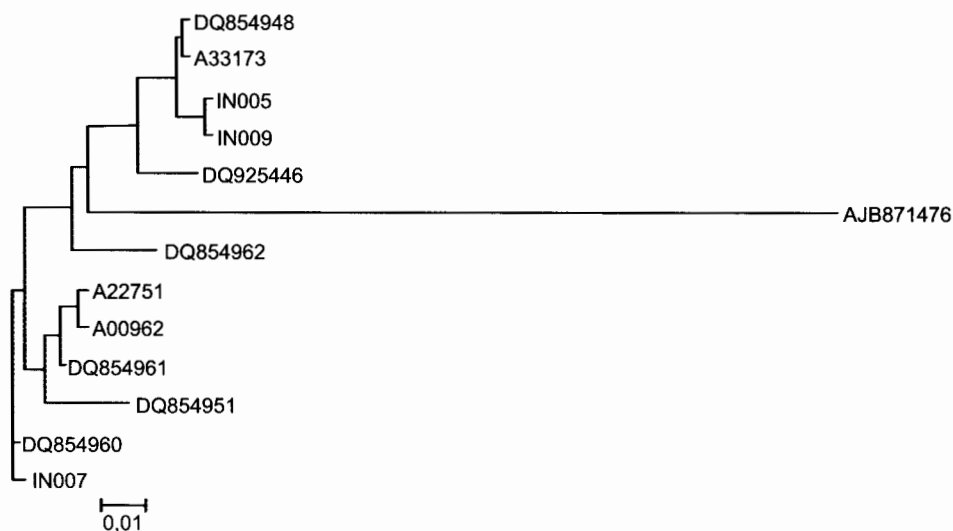
gejala blot hijau, belang menyebar, dan daun menggulung atau membentuk mangkuk.

Analisis Homologi Asam Amino CP ChiVMV

Tingkat homologi CP isolat-isolat ChiVMV Indonesia berkisar antar 85-99%. Selain mempunyai tingkat kekerabatan yang dekat, beberapa isolat virus juga telah mengalami mutasi pada sekuen asam amino CP-nya. Hampir semua CP ChiVMV menunjukkan sekuen asam amino yang terpelihara (*conserved*), kecuali pada sekuen asam amino antara 61-84 serta 299-320. Pada kedua kawasan ini, CP ChiVMV IN007 mempunyai motif sekuen yang sangat berbeda (LSGQVQPQRSQSEMETEVPQVR) dengan sekuen CP ChiVMV lain (RMETFGLDGRVGTQEEDTERHT). CP dari ChiVMV BL

Tabel 2. Tingkat kesamaan sekuen DNA gen CP-ChiVMV antara isolat-isolat Indonesia dan beberapa negara Asia lainnya.

No.	Asal isolat	No. aksesori	Tingkat Kesamaan (%)														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
1.	India	DQ854962	-														
2.	Cina	DQ854951	89	-													
3.	Vietnam	DQ925446	90	90	-												
4.	Taiwan	DQ854948	91	90	95	-											
5.	Pataruman	DQ854961	91	94	88	89	-										
6.	Cikabayan 2	DQ854960	91	93	88	89	97	-									
7.	Belung Jawa Timur (BL)	A22751	90	93	87	88	98	96	-								
8.	Karadenan Jawa tengah (KR)	A00962	90	93	88	88	99	97	99	-							
9.	Tanah Datar Sumatera Barat (TD)	IN005	90	89	93	98	87	88	87	87	-						
10.	Gayo Barat Aceh Tengah (GB)	IN009	90	89	93	98	87	88	87	87	99	-					
11.	Nusa Indah Kalimantan Selatan (NI)	A33173	91	90	94	99	89	89	88	88	98	98	-				
12.	Cikabayan Bogor Jawa Barat (CKB)	IN007	90	93	87	89	97	99	96	96	87	87	88	-			
13.	Cymbidium	AJB871476	70	70	70	70	73	72	70	72	73	70	72	72	-		



Gambar 2. Hubungan filogenetik nukleotida CP-ChiVMV isolat Cikabayan (Jawa Barat, IN007), Karadenan (Jawa Tengah, A00962), Belung (Jawa Timur, A33751), Nusa Indah (Kalimantan Selatan, A33173), Tanah Datar (Sumatera Barat, IN005), Gayo Barat (Aceh Tengah, IN009), Cikabayan 2 (DQ854960), Pataruman (DQ854961), Cina (DQ854951), Taiwan (DQ854948), dan Cibidium potyvirus (AJB871476) sebagai *out group*.

(IN001) dan ChiVMV KR (IN002) mengalami kehilangan sekuen MET, sedangkan pada isolat lain mengalami mutasi GG menjadi KV, misalnya pada CP-ChiVMV IN006, ChiVMV IN005, dan ChiVMV IN009 pada kawasan 61 dan 84 (Gambar 3).

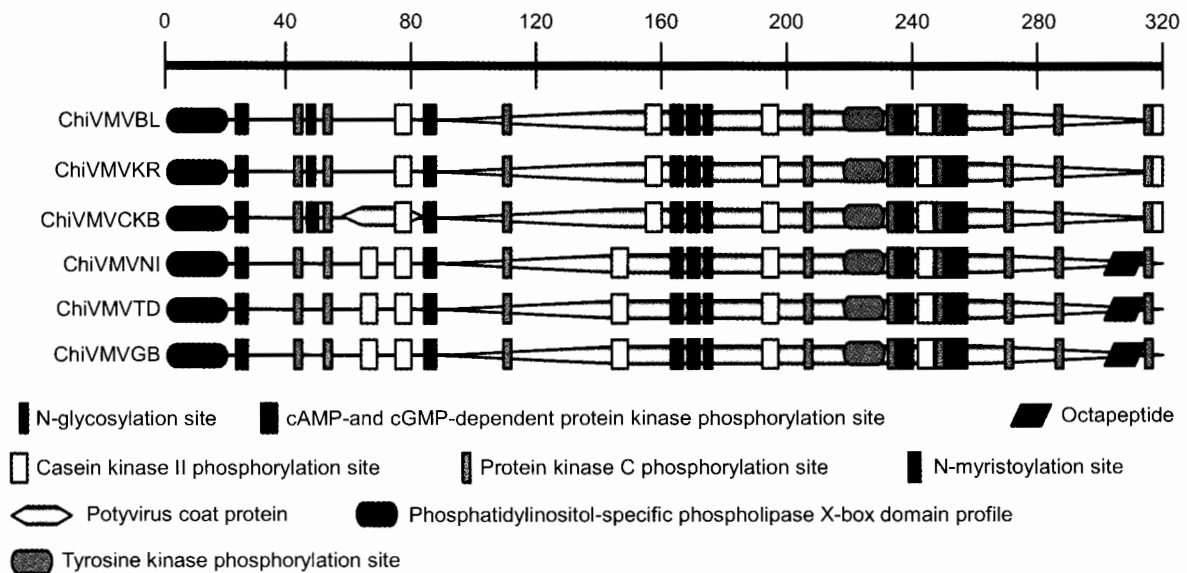
Berdasarkan hasil analisis motif protein menggunakan ExPASy MyHits (http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/motif_scan), CP-ChiVMV mempunyai beberapa motif protein, yaitu *ASN-glikosilasi*, *cAMP-phospho site*, *casein kinase (CK2)-phospho site*, *protein kinase C (PKC)-phosphosite*, *myristolation site*, *tyrosine kinase (TRY)-phospho site*, *phosphatidylinositol specific phospholipase (PIPLC)-X box domain*, *potyvirus coat protein domain*, dan *octapeptide repeat motive* (Gambar 4). Sekuen asam amino pada kawasan 61-84 yang mengalami mutasi mengandung motif protein *CK2-phospho site* (SEME). Motif protein yang terdapat pada sekuen asam amino di kawasan 299-320 adalah *octapeptide repeat motive* (PQEEDTER) domain, ke-

cuali pada CP-ChiVMV IN007 Cikabayan. Sekuen asam amino CP ChiVMV IN007 tidak memiliki motif *octapeptide*. Pada sekuen asam amino yang seharusnya mengandung *octapeptide* telah mengalami mutasi menjadi SEMETEVPO yang mengandung motif *CK2-phosphorylation site* (SEME).

Motif *CK2-phosphorylation site* terdapat pada CP-ChiVMV (Tabel 3). *CK2-phosphorylation site* berperan penting dalam mengatur infeksi *Potato Virus A* (PVA). Motif ini diduga berkaitan dengan jalur sinyal transduksi dalam interaksi inang-patogen untuk aktivasi dan pengaturan infeksi (Yang, 2005). Motif *CK2-phosphorylation site* pada CP-PVA tidak berada pada bagian luar virusnya, karena posisi motif ini terletak pada bagian C-terminal proteinnya dan fosforilasinya hanya terjadi pada partikel virus yang terurai. Hal tersebut berbeda dengan CP-ChiVMV yang memiliki motif *CK2-phosphorylation site* selain terletak pada bagian C-terminal juga pada ujung N-terminal. Dengan

ChiVMVBL	1	KSDISLYLRALIEGARREELDDEGGEVTHQSGESVDAGRVKGEDSSNKSSADKQATDKKS-
ChiVMVVKR	1	KSDISLYLRALIEGARREELDDEGGEVTHQSGESVDAGRVKGEDSSNKSSADKQATDKKS-
ChiVMVCKB	1	ESDISPYLRALIEGARREELNDEGGEVTHQSGESVDAGRVKGEDSSNKSSADKQATDKKNL
ChiVMVNI	1	DSDISPYLRALIEGAKKEGLDDEGGEVAHQSGESVDAGRVKGEDSSSKPADKQITTEKKS
ChiVMVTD	1	DSDISPYLRALIEGAKKEGFQLEGGGEVAHQSGESVDAGRVKGEDSSSKPADKQITTEKKS
ChiVMVGB	1	DSDISPYLRALIEGAKKEGFQLEGGGEVAHQSGESVDAGRVKGEDSSSKPADKQITTEKKS
ChiVMVBL	60	---KVQAQPQTRQSEMETEVPQVRDRDENVGTSFTTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVVKR	60	---KVQAQPQTRQSEMETEVPQVRDRDENVGTSFTTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVCKB	61	RMETFGLDGRVGTQEEDTERHTDRDENVGTSFTTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVNI	61	METGGQAQPHVRQSEMETEVPQVRDRDENVGTSVSTFTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVTD	61	METGGQAQPHVRQSEMETEVPQVRDRDENVGTSFTTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVGB	61	METGGQAQPDVRQSEMETEVPQVRDRDENVGTSFTTIPRLKGISSKLTIPKIKTKAVVN
ChiVMVBL	117	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQSQFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVVKR	117	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQSQFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVCKB	119	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQSQFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVNI	121	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQSQFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVTD	121	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQSQFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVGB	121	LEHLLDYAPEQIHLNTRALQTFASWYEGVKNDYDVTDEQMETQIILNGLMETVWCIN
ChiVMVBL	177	GTSPNINGYWVMTMETDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN-
ChiVMVVKR	177	GTSPNINGYWVMTMETDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN-
ChiVMVCKB	179	GASPNINGYWVMTMETDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN-
ChiVMVNI	181	GTSPNINGYWVMTMETDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN-
ChiVMVTD	181	GTSPNINGYWVN---METDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN
ChiVMVGB	181	GTSPNINGYWVN---METDGDQVEYPIKPLIDHAKPSFRQIMETAHFSNLAEAYIEKRN
ChiVMVBL	236	---SEKPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKASALR
ChiVMVVKR	236	---SEKPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKASALR
ChiVMVCKB	238	---SEKPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKAAALR
ChiVMVNI	240	---SEKPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKAAALR
ChiVMVTD	239	LSTPPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKAAALR
ChiVMVGB	239	LSTPPYMETPRYGLQRNLDMETSLARYAFDFYEMETTSKTPVRAREAHIQMETKAAALR
ChiVMVBL	295	GASNRMETFGLDGRVSTQEEDTERHT
ChiVMVVKR	295	GASNRMETFGLDGRVSTQEEDTERHT
ChiVMVCKB	295	GASNLGSGVQVQPSRQSEMETEVPQVR
ChiVMVNI	299	GVNMRMETFGLDGRVGPQEEDTERHT
ChiVMVTD	299	GVNMRMETFGLDGRVGPQEEDTERHT
ChiVMVGB	299	GVNMRMETFGLDGRVGPQEEDTERHT

Gambar 3. Analisis homologi asam amino CP isolat ChiVMV CKB (IN007) asal Cikabayan, Jawa Barat, CP isolat ChiVMV KR (IN002) asal Karadenan, Jawa Tengah, CP isolat ChiVMV BL (IN001) asal Belung, Jawa Timur, CP isolat ChiVMV NI (IN008) asal Nusa Indah, Kalimantan Selatan; CP isolat ChiVMV TD (IN005) asal Tanah Datar, Sumatera Barat, dan CP isolat ChiVMV GB (IN009) asal Gayo Barat, Aceh Tengah.



Gambar 4. Motif protein pada CP pada 6 isolat ChiVMV dari beberapa daerah di Indonesia berdasarkan analisis menggunakan MYHits ExPASy. Isolat ChiVMV CKB dari Cikabayan, Jawa Barat; ChiVMV KR dari Karadenan, Jawa Tengah; ChiVMV BL dari Belung, Jawa Timur; CP-ChiVMV NI dari Nusa Indah, Kalimantan Selatan; ChiVMV TD dari Tanah Datar, Sumatera Barat, dan ChiVMV GB dari Gayo Barat, Aceh Tengah.

demikian, motif *CK2-phosphorylation site* pada partikel ChiVMV ada yang terdapat di bagian luar partikelnya. Dari enam isolat ChiVMV yang diuji, hanya CP dari isolat ChiVMV IN007 Cikabayan yang mempunyai enam motif *CK2-phosphorylation site*, sedangkan isolat lainnya hanya memiliki lima motif *CK2-phosphorylation site*.

Hasil analisis menunjukkan bahwa runutan nukleotida isolat-isolat ChiVMV yang diuji mempunyai kesamaan antara 87-99%. Hasil analisis ini membuktikan bahwa isolat-isolat tersebut merupakan virus yang sama. Hasil analisis ini serupa dengan yang dilaporkan Frankel *et al.* (1989), bahwa tingkat kesamaan runutan nukleotida kelompok *Potyvirus* berkisar antara 83-99% untuk strain dalam virus yang sama dan 39-53% untuk virus yang berbeda. Menurut Tsai *et al.* (2008), jika suatu virus memiliki tingkat kesamaan nukleotida <79,4% dan kesamaan sekuen asam amino <83,6%, maka virus tersebut termasuk kelompok *Potyvirus* lain. Berdasarkan kriteria taksonomi untuk *Potyvirus*, jika suatu virus memiliki tingkat kesamaan asam amino CP <80%, maka tergolong dalam spesies virus yang berbeda (Fauquet *et al.*, 2005).

Analisis filogenetik berdasarkan runutan fragmen asam amino menunjukkan bahwa isolat-isolat ChiVMV Indonesia berada dalam satu kelompok dengan ChiVMV Cikabayan 2, ChiVMV Pataruman, dan ChiVMV Taiwan (*GeneBank*) (Gambar 5). Antar isolat memiliki tingkat kesamaan runutan asam amino yang sangat tinggi dengan jarak genetik terdekat 0,02-1,48.

Berdasarkan runutan asam amino CP-nya, tingkat kesamaan enam isolat ChiVMV Indonesia yang diuji berkisar antara 85-99%.

Keragaman ChiVMV tidak saja terjadi pada virulensi dan tipe gejala penyakitnya, tetapi juga pada keragaman tingkat molekulernya, khususnya pada motif-motif protein pada CP ChiVMV yang menjadi faktor virulensi, seperti motif *CK-II phosphorylation site* dan *octapeptide*. Enam isolat ChiVMV yang memperlihatkan gejala yang berbeda pada paprika cv. Beauty Bell ternyata mengalami mutasi pada motif tersebut. Menurut Agrios (2005), evolusi virus mengarah pada kesesuaian lingkungan, seperti tanaman inang, strain virus, dan serangga vektor. Mutasi pada virus tanaman seringkali terjadi, karena patogen ini mudah melakukan rekombinasi genetik pada saat replikasi di dalam sel tanaman inangnya. Rekombinasi antar genom RNA dari suatu spesies virus merupakan salah satu sebab terjadinya variasi biologis pada virus tanaman (Matthews, 2002). Selain itu rekombinasi dapat terjadi jika dua strain virus yang sama menginfeksi tanaman yang sama, sehingga muncul strain baru (rekombinan) yang mempunyai sifat berbeda dengan kedua strain asalnya (Agrios, 2005).

Pergerakan virus dari satu sel ke sel lainnya dan ke seluruh jaringan tanaman melibatkan peranan CP virus. CP adalah protein multifungsi yang berperan penting dalam interaksi inang-virus (Beatch dan Hobman, 2000; Law *et al.*, 2003). CP dapat berperan sebagai enzim dalam replikasi genom virus atau

Tabel 3. Motif *CK2-phosphorylation site* pada CP dari enam isolat ChiVMV yang berbeda berdasarkan analisis menggunakan MyHits ExPASy.

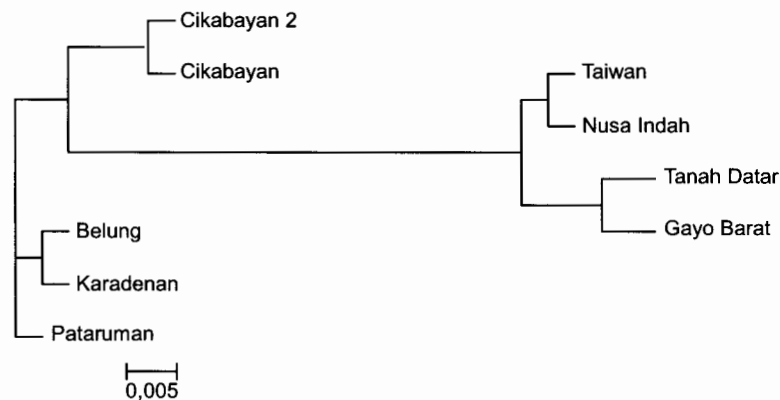
Kode isolat (No. akses)	Asal isolat	Motif <i>CK2-phosphorylation site</i>	Posisi asam amino
ChiVMV BL (IN001)	Belung, Jawa Timur	SEME	70-73
		SWYE	142-145
		TDGD	193-196
		TDME	253-256
		STQE	310-313
ChiVMV KR (IN002)	Karadenan, Jawa Tengah	SEME	70-73
		SWYE	142-145
		TDGD	193-196
		TDME	253-256
		STQE	310-313
ChiVMV CKB (IN007)	Cikabayan, Jawa Barat	TQEE	73-76
		TDRD	82-85
		SWYE	144-147
		TDGD	195-198
		TDME	255-258
ChiVMV NI (IN006)	Nusa Indah, Kalimantan Selatan	SEME	310-313
		SKME	59-62
		SEME	74-77
		SWYE	146-149
		TDGD	197-200
ChiVMV TD (IN005)	Tanah Datar, Sumatera Barat	TDME	257-260
		SKME	59-62
		SEME	74-77
		SWYE	146-149
		TDGD	195-198
ChiVMV GB (IN009)	Gayo Barat, Aceh Tengah	TDME	258-261
		SKME	59-62
		SEME	74-77
		SWYE	146-149
		TDGD	195-198
		TDME	258-261

S = Valine, E = Glutamic acid, M = Methionin, W = Tryptophan, Y = Tyrosine, T = Threonine, D = Aspartic acid, G = Glycine, Q = Glutamine, R = Arginine, dan K = Lysine.

sebagai mediator interaksi inang-virus (Flint *et al.*, 2002; Hull, 2002). Proses aktivasi virus dalam sel inang terjadi melalui rangkaian mekanisme fosforilasi CP dan modifikasi lainnya, seperti *acetylation*, *ubiquitination*, *methylation*, *citrullination*, dan *sumoylation* (Yang, 2005). Menurut Martinez-Izquiero dan Hohn (1987), siklus infeksi *Cauliflower Mosaic Virus* (CaMV) terjadi melalui fosforilasi CP oleh protein kinase yang terkait dengan virion yang ada di dalam tanaman. *Movement Protein* (MP) yang berperan penting dalam penyebaran *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) and *Tomato Mosaic Virus* (ToMV) di dalam jaringan tanaman inang diphosforilasi oleh protein kinase inang (Matsushita *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 1992). Motif fosforilasi juga banyak ditemukan pada CP ChiVMV, seperti *casein kinase II phosphorylation*, *protein kinase C phosphorylation*, *tyrosine kinase phosphorylation*, serta *cAMP-* dan *cGMP-dependent protein kinase phosphorylation site*. Di samping itu, ditemukan juga motif modifikasi protein lainnya seperti *myristoylation* dan *glycosylation*. Motif fosforilasi dan modifikasi protein yang ditemukan dalam CP ChiVMV diduga ber-

peran penting mengatur interaksi inang-patogen serta pergerakan virus dari satu sel ke sel lainnya serta distribusi partikel virus ke seluruh jaringan tanaman.

CK2-phosphorylation merupakan motif fosforilasi yang paling bervariasi di dalam CP-ChiVMV. CP-ChiVMV CKB mempunyai enam putative *CK2-phosphorylation*, sedangkan CP pada isolat ChiVMV BL, KR, NI, TD, dan GB mempunyai lima motif *CK2-phosphorylation*. *CK2-phosphorylation* dengan motif SEME terletak di ujung N-terminal pada semua strain ChiVMV, kecuali pada strain ChiVMV CKB yang ada di ujung C-terminal. Motif SEME di ujung N-terminal CP strain ChiVMV CKB termutasi menjadi TQEE. CP-ChiVMV CKB juga mempunyai *CK2-phosphorylation* dengan motif TDRD yang tidak dijumpai pada isolat-isolat lainnya. Menurut Ivanov *et al.* (2003), fosforilasi CP *potato virus A* (CP-PVA) mempunyai empat motif *CK2-phosphorylation*. Fosforilasi CP-PVA oleh CK2 berperan penting dalam mengatur infeksi virus. Mutasi residu Thr132/Ser133 dan Thr168 pada motif *CK2-phosphorylation* menunjukkan perbedaan akumulasi virus pada sel inang (Ivanov *et al.*, 2003). Penelitian lanjutan masih perlu dilakukan untuk menge-



Gambar 5. Hubungan filogenetik asam amino CP dari 9 isolat ChiVMV yang berasal dari Cikabayan (Jawa Barat), Karadenan (Jawa Tengah), Belung (Jawa Timur), Nusa Indah (Kalimantan Selatan), Tanah Datar (Sumatera Barat), Gayo Barat (Aceh Tengah) dengan isolat Indonesia dan Asia yang ada pada *GeneBank* (Cikabayan 2, Pataruman dan Taiwan).

tahui bahwa perbedaan motif *CK2-phosphorylation* pada CP-ChiVMV menjadi penyebab perbedaan virulensi antar strain ChiVMV. Dengan teknik *site directed mutagenesis*, kaitan antara mutasi setiap kodon pada motif *CK2-phosphorylation* dengan virulensi dapat diketahui.

Isolat ChiVMV CKB paling virulen dibandingkan dengan isolat lainnya berdasarkan waktu munculnya gejala yang sangat cepat dan terjadinya disformasi daun yang paling parah. Isolat ini juga mampu menginfeksi beberapa varietas cabai yang berbeda-beda dibandingkan dengan isolat lainnya. Munculnya gejala yang cepat diduga berkaitan dengan cepatnya penyebaran virus, baik dari sel ke sel maupun ke seluruh jaringan tanaman, karena CP pada *Potyvirus* terlibat dalam transportasi virus dari sel ke sel dan ke seluruh jaringan tanaman (Dolja *et al.*, 1994). Pada TMV, penyebaran virus di dalam inang diatur oleh *nonstructural movement protein* (MP). CP dan MP dapat difosforilasi baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Waigmann *et al.*, 2000). Menurut Lee dan Lucas (2001), peran fosforilasi MP diduga berkaitan dengan perlintasan makromolekul intraseluler. Fosforilasi protein pada virus *negative-strand RNA* juga penting untuk aktivitas transkripsi virus (Barik dan Banerjee, 1992).

Pada ujung-N urutan asam amino ditemukan motif DAG (Asp-Ala-Gly) yang berfungsi untuk transmisi virus oleh vektor aphid. DAG merupakan motif yang *conserved* pada semua isolat virus (Shukla dan Ward, 1988). Pada *Tobacco Vein Mottling Virus* (TMV) dan *Zucchini Yellow Mosaic Virus* (ZYMV), mutasi pada motif DAG yang masing-masing menjadi DAE dan DTG menyebabkan virus tersebut tidak dapat ditularkan oleh kutu daun (Graff dan Brault, 2008).

Menurut Lucas (2006), paling sedikit ada dua mekanisme pergerakan virus di dalam jaringan tanaman. Mekanisme pertama adalah pergerakan virus menggunakan *CP-independent* (Takamatsu *et al.*, 1987) dan memerlukan MP tunggal yang secara eksklusif terlibat dalam transport virus (Lucas, 2006), seperti pada famili *Bromoviridae* dan *Caulimoviridae*, genus *Tospovirus* dari famili *Bunyaviridae*, dan genera *Tobamovirus*, *Dianthovirus*, dan *Tombusvirus*. Melalui proses fosforilasi, CP dan MP meningkatkan batas ukuran pengeluaran plasmodesmata sel yang memungkinkan virus berpindah dari satu sel ke sel lain (Lucas, 2006). Mekanisme yang kedua adalah pergerakan virus menggunakan *CP-dependent*, seperti pada *comovirus* dan *nepovirus* (Lucas, 2006). Meskipun mekanisme ini memerlukan CP, perpindahan virus berlangsung melalui *tubules* yang diinduksi oleh MP, sehingga dapat menjangkau dinding sel yang berdekatan (Wieczorek dan Sanfacon, 1993; Bertens *et al.*, 2000). Pada famili *Closteroviridae* serta genera *Potyvirus* dan *Potexvirus*, pergerakan virus juga diatur oleh *CP-dependent*, tetapi jenis MP yang terlibat lebih dari satu, sedangkan pergerakan virus pada mekanisme pertama dan kedua hanya dikendalikan oleh satu jenis MP yang berukuran 30 KDa (Carrington *et al.*, 1998).

Adanya motif *octapeptide repeat* (PQEEDTER) pada CP ChiVMV isolat NI, TD dan GB merupakan informasi menarik yang perlu dikaji lebih mendalam peranannya untuk memahami interaksi ChiVMV dengan inangnya. Pada penyakit yang disebabkan oleh prion, seperti *scrapie*, motif *octapeptide-quaci repeat* berperan penting dalam fungsi fisiologis protein prion (Zahn *et al.*, 1997). *Octapeptide repeat* dengan motif GGGWGQPH pada prion *scrapie* berfungsi sebagai pengikat ion Cu(II) yang berperan penting dalam me-

meningkatkan infektivitas protein prion guna menimbulkan penyakit *scrapie* (Viles *et al.*, 1999). Semakin banyak motif *octapeptide repeat* dalam protein prion, semakin banyak ion Cu(II) yang terikat (Brown *et al.*, 1997), sehingga protein prion semakin infeksi (Sigurdsson *et al.*, 2003). Sampai saat ini, peran motif *octapeptide* pada CP virus belum pernah diteliti. Pada protein prion penyebab penyakit *Creutzfeldt-Jakob*, motif *octapeptide repeat* merupakan kawasan yang labil dan kerap bermutasi melalui mekanisme *insertion* yang dapat meningkatkan toksisitas protein prion (Owen *et al.*, 1990). CP pada isolat ChiVMV CKB motif *octapeptide*-nya telah termutasi secara total menjadi motif TQEEDTER; sedangkan pada CP ChiVMV BL, KR, NI, TD, dan GB hanya termutasi menjadi EMETEVQP. Penelitian perlu dilakukan untuk mengetahui bahwa mutasi motif *octapeptide* pada CP-ChiVMV CKB berpengaruh positif terhadap virulensi virus ini.

CP-ChiVMV diduga mempunyai peran sangat penting dalam mengatur interaksi ChiVMV dengan inangnya. Beberapa motif protein yang terdapat pada CP-ChiVMV berkaitan dengan infektivitas dan penyebaran virus dari sel ke sel serta ke seluruh jaringan tanaman. Kajian yang mendalam tentang motif protein pada CP-ChiVMV perlu dilakukan untuk menentukan strategi pengendalian ChiVMV yang efektif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis runutan nukleotida enam isolat ChiVMV yang berasal dari Jawa Barat (CKB), Jawa Tengah (KR), Jawa Timur (BL), Kalimantan Selatan (NI), Sumatera Barat (TD), dan Aceh Tengah (GB) menunjukkan homologi yang tinggi. Tingkat homologi runutan nukleotida isolat ChiVMV asal Indonesia dengan ChiVMV asal Cina, Vietnam, Taiwan, dan India cukup tinggi, berkisar antara 87-99%. Tingkat homologi CP isolat-isolat ChiVMV asal Indonesia berkisar antara 85 sampai 99%. Keragaman ChiVMV pada tingkat molekuler berkorelasi dengan keragaman berdasarkan tipe gejala penyakit.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa karakter gejala dan infeksi ChiVMV diperkirakan tidak hanya dikendalikan oleh gen CP ChiVMV, tetapi juga dikendalikan oleh gen-gen lain dalam genom ChiVMV. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui gen-gen yang berperan di dalam menentukan virulensi isolat ChiVMV.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press, New York. 2777 p.
- Barik, S. and A.K. Banerjee. 1992. Phosphorylation by cellular casein kinase II is essential for the transcriptional activity of vesicular stomatitis virus phosphoprotein. *Phytopathology* 89:6570-6574.
- Beatch, M.D. and T.C. Hobman. 2000. Rubella virus capsid associates with host cell protein p32 and localizes to mitochondria. *J. Virol.* 74:5569-5576.
- Bertens, P., J. Wellink, R. Goldbach, and A. van Kammen. 2000. Mutational analysis of the cowpea mosaic movement protein. *Virology* 267:199-208.
- Brown, D.R., K. Qin, J.W. Herms, A. Madlung, J. Manson, R. Strome, P.E. Fraser, T. Kruck, A. von Bohlen, and W. Schulz-Schaeffer. 1997. The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature* 390:684-687.
- Carrington, J.C., P.E. Jensen, and M.C. Schaad. 1998. Genetic evidence for an essential role for potyvirus CI protein in cell-to-cell movement. *Plant J.* 14:393-400.
- Cohen, M.S. 1979. Rapid detection and titer evaluation of viruses in pepper by enzyme-linked immunosorbent assay. *Phytopathology* 69:1259-1262.
- Dolja, V.V., R. Haldeman, N.L. Robertson, W.G. Dougherty, and J.C. Carrington. 1994. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of tobacco etch potyvirus in plants. *EMBO J.* 13:1482-1491.
- Fauquet C.M., C.M. Mayo, J. Manihoff, U. Desselberger, and I.A. Ball. 2005. Virus Taxonomy 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, San Diego, USA.
- Flint, S.J., L.W. Enquist, R.M. Krug, V.R. Racaniello, and A.M. Skalka. 2002. Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control. ASM Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Frankel, M.J., C.W. Ward, and D.D. Shukla. 1989. The use of 3' non coding nucleotide sequences in Taxonomy of Potyviruses: Application to Watermelon Mosaic Virus and Soybean Mosaic Virus. *N. J. Gen. Virol.* 70:2775-2783.
- Graff, Z.V. and V. Brault. 2008. Role of vector transmission protein. In G.D. Foster, I.E. Johansen, Y. Hong, and P.D. Nagy (eds.) *Plant Virology Protocols from Viral Sequence to Protein Function 2^{ed}*. Humana Press, USA. p. 84-85.
- Hull, R. 2002. *Matthews Plant Virology*. Academic Press, San Diego, USA.
- Ivanov, K.I., P. Puustinen, R. Gabrenaite, H. Vihinen, L. Ronnstrand, L. Valmu, N. Kalkkinen, and K. Makinen. 2003. Phosphorylation of the potyvirus capsid protein by protein kinase CK2 and its relevance for virus infection. *Plant Cell* 15:2124-2139.
- Jan, F.J., C. Fagoaga, S.Z. Pang, and D. Gonsalves. 2000. A single chimeric transgene derived from two distinct

- viruses confers multi-virus resistance in transgenic plants through homology dependent gene silencing. *J. Gen. Virol.* 81:2103-2109.
- Law, L.M., J.C. Everitt, M.D. Beatch, C.F. Holmes, and T.C. Hobman. 2003. Phosphorylation of rubella virus capsid regulates its RNA binding activity and virus replication. *J. Virol.* 77:1764-1771.
- Lee, J.Y., and W.J. Lucas. 2001. Phosphorylation of viral movement proteins-Regulation of cell-to-cell trafficking. *Trends Microbiol.* 9:5-8.
- Lucas, W.J. 2006. Plant viral movement proteins: agents for cell-to-cell trafficking of viral genomes. *Virology* 344:169-184.
- Manzila, I. 2011. *Chilli veinal mottle potyvirus* (ChiVMV) penyebab penyakit belang pada cabai (*Capsicum annum* L.): Keragaman isolat dan strategi pengendaliannya melalui induksi variasi somaklonal. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Martinez-Izquierdo, J. and T. Hohn. 1987. Cauliflower mosaic virus coat protein is phosphorylated in vitro by a virion associated protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84:1824-1828.
- Matsushita, Y., K. Hanazawa, K. Yoshioka, T. Oguchi, S. Kawakami, Y. Watanabe, M. Nishiguchi, and H. Nyunoya. 2000. *In vitro* phosphorylation of the movement protein of tomato mosaic tobamovirus by a cellular kinase. *J. Gen. Virol.* 81:2095-2102.
- Matthews, R.E.F. 2002. *Plant Virology*. Academic Press, San Diego, California. 1001 p.
- Moury, B., A. Palloix, C. Caranta, P. Gognalons, S. Souche, K.G. Sellasie, and G. Marcoux. 2005. Serological, molecular, and pathotype diversity of Pepper Veinal Mottle Virus and Chilli Veinal Mottle Virus. *Phytopathology* 95:227-232.
- Ong, C.A. 1995. Symptomatic variants of CVMV in Malaysia. *Proc. AVNET II Midterm Workshop, Philippines.* 21-25 Februari 1995. AVRDC, Taiwan.
- Owen, F., M. Poulter, and T. Shah. 1990. An in-frame insertion in the prion protein gene in familial Creutzfeldt-Jakob disease. *Mol. Brain Res.* 7:273-276.
- Sigurdsson, E.M., D.R. Bown, M.A. Alim, H. Scholtzova, R. Carp, and H.C. Meeker, F. Prelli, and B. Frangione, T. Wisniewski. 2003. Copper chelation delays the onset of prion disease. *J. Biol. Chem.* 278:46199-46202.
- Shukla, D.D., and C.W. Ward. 1988. Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *J. Gen. Virol.* 69:2703-2710.
- Takamatsu, N., M. Ishikawa, T. Meshi, and Y. Okada. 1987. Expression of bacterial chloramphenicol acetyl transferase gene in tobacco plants mediated by TMV-RNA. *EMBO J.* 6:307-311.
- Taufik, M. 2005. *Cucumber Mosaic Virus dan Chilli Veinal Mottle Virus: Karakterisasi isolat cabai dan strategi pengendaliannya*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Tsai, W.S., Y.C. Huang, D.Y. Zhang, K. Reddy, S.H. Hidayat, W. Srithongchai, S.K. Green, and F.J. Jan. 2008. Molecular characterization of the CP gene and 3'UTR of chilli veinal mottle virus from South and Southeast Asia. *Plant Pathol.* 57:408-416.
- Urcuqui-Inchima, S., A.L. Haenni, and F. Bernardi. 2001. Potyvirus proteins: A wealth of functions. *Virus Research* 74:157-175.
- Viles, J.H., F.E. Cohen, S.B. Prusiner, D.B. Goodin, P.E. Wright, and H.J. Dyson. 1999. Copper binding to the prion protein: Structural implications of four identical cooperative binding sites. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96:2042-2047.
- Waigmann, E., M.H. Chen, R. Bachmaier, S. Ghoshroy, and V. Citovsky. 2000. Regulation of plasmodesmal transport by phosphorylation of tobacco mosaic virus cell-to-cell movement protein. *EMBO J.* 19:4875-4884.
- Watanabe, Y., T. Ogawa, and Y. Okada. 1992. In vivo phosphorylation of the 30-kDa protein of tobacco mosaic virus. *FEBS Letter* 313:181-184.
- Wieczorek, A. and H. Sanfaçon. 1993. Characterization and subcellular localization of tomato ringspot nepovirus putative movement protein. *Virology* 194:734-742.
- Yang, X.J. 2005. Multisite protein modification and intramolecular signaling. *Oncogene* 24:1653-1662.
- Zahn, R., C. von Schroetter, and K. Wuthrich. 1997. Human prion proteins expressed in *Escherichia coli* and purified by high-affinity column refolding. *FEBS Letter* 417:400-404.
-