

KERAGAMAN GENETIK CUCUMBER MOSAIC VIRUS ASAL TANAMAN TAPAK DARA, NILAM, KARUK, MELATI, DAN KUMIS KUCING

Genetic Diversity of Cucumber Mosaic Virus from Catharanthus roseus, Jasminum sambac, Patchouly, Cubeb and Java-tea

Miftakhurohmah*, Rita Noveriza, dan Maya Mariana

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

INFO ARTIKEL

Article history:

Diterima: 24 Juni 2020

Direvisi: 09 September 2020

Disetujui: 29 September 2020

Kata kunci:

Analisis sikuen, CMV, karakterisasi molekuler

Key words:

Sequence analysis, Cucumber mosaic virus, molecular characterization

ABSTRAK/ABSTRACT

Gejala infeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV) ditemukan pada tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus*), nilam (*Pogostemon cablin*), karuk (*Piper chaba*), melati (*Jasminum sambac*), dan kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*), tetapi karakteristik genetiknya belum diketahui. Tujuan penelitian adalah mengarakterisasi secara molekuler isolat CMV dari tapak dara, nilam, karuk, melati, dan kumis kucing. Sampel tanaman sakit yang menunjukkan gejala mosaik dan mosaik kuning diambil dari Kebun Petak Pamer, Balitetro, Bogor. Deteksi molekuler dilakukan secara *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan primer spesifik yang mengamplifikasi bagian selubung protein CMV. Konfirmasi hasil RT-PCR dilakukan secara sikuensing. Analisis sikuen dilakukan menggunakan program BLAST, Bioedit, Genedoc dan Mega X. Teknik RT-PCR berhasil mengamplifikasi pita DNA berukuran 650 pb, sesuai prediksi desain primer. Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa seluruh isolat merupakan CMV subgroup IB. Sikuen nukleotida isolat CMV asal tapak dara, karuk, nilam dan melati memiliki homologi > 95%, dan berdasarkan analisis filogeni, keempat isolat tersebut dekat dengan isolat CMV dari Jepang (AB070622). Homologi sikuen nukleotida isolat CMV asal kumis kucing sebesar < 95% dibandingkan empat isolat CMV lain. Berdasarkan pohon filogeni, isolat tersebut dekat dengan isolat CMV asal Indonesia (AB042294), terpisah dengan empat isolat lain. Pada pencejajaran runutan asam amino, isolat kumis kucing memiliki lima perbedaan asam amino dibandingkan empat isolat lainnya. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa potensi penularan CMV antara tanaman nilam, kumis kucing, tapak dara, dan melati sangat memungkinkan sehingga harus diantisipasi pencegahan penyebarannya.

*Cucumber mosaic virus (CMV) symptoms are found in Catharanthus roseus, patchouly (*Pogostemon cablin*), cubeb (*Piper chaba*), Jasminum sambac and Java-tea (*Orthosiphon aristatus*); however, their genetic characterization has not been studied. The study aimed to molecularly characterize the CMV isolates from Catharanthus roseus, patchouly, cubeb, Jasminum sambac and Java-tea. Disease plant samples showing mosaic and yellow mosaic symptoms were collected from Petak Pamer Garden, ISMCRI, Bogor. Molecular characterization was carried out by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay using a specific primer of CMV coat protein gene and DNA sequenced. Sequence analysis was performed using the BLAST, Bioedit, Genedoc, Mega 5 programs. The RT-PCR technique succeeded in amplifying a DNA band measuring 650 bp, according to the prediction of the primary design. BLAST analyses revealed that all of these CMV isolates belonged to subgroup IB. Nucleotide sequence homology of CMV from C. roseus, patchouly, P. chaba, and J. sambac, were more than 95.00%. Based on the phylogenetic tree, these four isolates were closely related to CMV isolate from Japan (AB070622). Homology of the nucleotide sequence of CMV from Java-tea with the other four isolates was below 95.00%. This isolate clustered with CMV*

* Alamat Korespondensi : miftahita05@gmail.com

DOI : <http://dx.doi.org/10.21082/bullitro.v31n2.2020.59-66>

0215-0824/2527-4414 @ 2017 Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

This is an open access article under the CC BY-NC-SA license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>)

Accreditation Kemenristekdikti Number : 30/E/KPT/2018

isolate from Indonesia (AB042294) and was separated with another four isolates according to the phylogeny tree. In the amino acid sequence alignment, Java-tea isolates had five different amino acids compared to the other four isolates. This result indicates the possibility of CMV transmission between patchouly, Java-tea, C. roseus and J. sambac, so it must be anticipated to prevent its spread.

PENDAHULUAN

Pemahaman keragaman genetik virus diperlukan untuk mengetahui sejarah evolusi virus yang terkait dengan virulensi, penyebaran dan kemungkinan munculnya epidemi penyakit akibat virus (Kim *et al.* 2014). Informasi ini juga penting untuk pengembangan varietas tanaman tahan virus (Damayanti dan Wiyono 2015). Dengan demikian, kajian karakter molekuler virus seperti halnya sifat-sifat biologi diperlukan untuk penentuan strategi pengendalian penyakit akibat virus.

Cucumber mosaic virus (CMV) merupakan anggota genus *Cucumovirus*, memiliki kisaran inang yang luas, lebih dari 1 300 spesies serta mampu menular secara mekanis (melalui peralatan pertanian), bahan tanaman (benih), biji dan serangga vektor. Lebih dari 80 spesies Aphid mampu menularkan CMV secara non persisten (Duarte *et al.* 2013) (Zitter dan Murphy 2009). Genom CMV terdiri atas tiga RNA utas tunggal, memiliki lima *Open Reading Frame* (ORF) (Roossinck 2002). Berdasarkan analisis filogeni gen *coat protein* (selubung protein) dari 53 strain, isolat CMV diklasifikasikan menjadi tiga subgroup yang terdiri dari IA, IB dan II (Roossinck dan Zhang 1999).

Keragaman genetik CMV telah banyak dipelajari sebelumnya. Hasil analisis filogeni 5 isolat kedelai Indonesia menunjukkan 4 isolat berada dalam kelompok yang sama, sedangkan 1 isolat berada di kelompok yang berbeda (Damayanti dan Wiyono 2015). Analisis keragaman nukleotida dan filogeni beberapa isolat CMV menunjukkan jika perpindahan jarak jauh isolat sangat berperan pada evolusi dan keragaman CMV di Italia utara. Hal ini terjadi karena genom RNA CMV memiliki tingkat mutasi yang tinggi sehingga mudah beradaptasi di lingkungan yang baru (Davino *et al.* 2012).

Kerugian ekonomi akibat CMV telah banyak dilaporkan dari berbagai negara. Virus ini menyebabkan kerugian hingga 100 % pada tanaman Cucurbitaceae di Pakistan (Akbar *et al.* 2015). Epidemi CMV di Amerika Serikat bagian Timur dan midwest sangat memengaruhi produksi *snap bean* (*Phaseoulus vulgaris* L.) (Nouri *et al.* 2014). Di Indonesia, infeksi CMV pada tembakau cerutu dapat menyebabkan kehilangan hasil yang

cukup besar, yaitu sekitar 7-30 % (Hamida & Suhara 2013).

Infeksi CMV pada nilam (*Pogostemon cablin*) dan karuk (*Piper chaba*) serta karakterisasi molekulernya telah dilaporkan oleh (Miftakhurohmah *et al.* 2017a) dan (Miftakhurohmah *et al.* 2017b). Gejala serupa infeksi virus juga ditemukan pada tapak dara (*Catharanthus roseus*), melati (*Jasminum sambac*) dan kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) sehingga diperlukan deteksi dan identifikasi secara molekuler. Nilam merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang menjadi salah satu sumber devisa negara. Tanaman karuk, tapak dara, melati dan kumis kucing banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional, yaitu berturut-turut sebagai obat asma (Syahid 2008), tekanan darah tinggi (Sukarman *et al.* 2000), membantu penyembuhan luka (Wibawani *et al.* 2015), dan diabetes (Febjislami *et al.* 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari keragaman genetik isolat CMV asal karuk, nilam, tapak dara, melati dan kumis kucing, sebagai salah satu dasar dalam menentukan strategi pengendalian penyebaran virus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Penyakit dan laboratorium Terpadu, Balitetro, mulai bulan Februari 2016 sampai Maret 2017.

Pengambilan sampel daun tapak dara, kumis kucing dan melati

Pengamatan penyakit dan pengambilan sampel daun tapak dara, kumis kucing dan melati dilakukan beberapa kali di kebun Petak Pamer, Balitetro. Tanaman bergejala mosaik yang diamati dan diambil sampelnya pertama kali adalah tanaman tapak dara pada bulan Februari 2016. Tanaman melati dan kumis kucing diamati dan diambil sampel daunnya pada bulan Desember 2016. Pada bulan Februari 2017, dilakukan pengulangan pengambilan sampel ketiga tanaman tersebut. Sampel daun ditimbang sebanyak 0.1 g, disimpan dalam plastik tebal, diberi label, disimpan di freezer - 80 °C, sampai digunakan untuk kegiatan serologi dan molekuler.

Deteksi awal virus secara Serologi

Deteksi serologi virus pada sampel daun dilakukan secara *DOUBLE ANTIBODY SANDWICH* (DAS)-ELISA berdasarkan metode Clark & Adams (1977), menggunakan antiserum CMV (Agdia, Inc., Elkart, USA). Hasil pengujian ELISA dibaca menggunakan *ELISA reader* model 550 (Bio-Rad, USA) pada panjang gelombang 405 nm. Sampel dinilai positif terinfeksi CMV apabila nilai absorbannya 1,5 kali lebih besar daripada kontrol negatif. Untuk setiap tanaman, deteksi serologi dilakukan dua kali, pada sampel pertama dan kedua.

Isolasi asam nukleat dan RT-PCR

Isolasi asam nukleat total (RNA + DNA) dari sampel daun tapak dara, kumis kucing dan melati, dilakukan menggunakan metode sodium sulphite, mengacu pada protokol yang dikembangkan oleh (Bhat dan Siju 2007). Amplifikasi RNA dilakukan secara *one step reverse-transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR), menggunakan primer spesifik dengan target gen selubung protein CMV, berukuran 650 pasang basa (pb). Pasangan primer yang digunakan adalah, CMV-F (ATGGACAAATCTGAATCAAC), dan CMV R (TCAAACCTGGGAGCACCC). Perekusi RT-PCR yang digunakan adalah : 1x kapa taq *extra hotstart readymix* PCR buffer (kapa biosystems), 0,4 µm primer CMV-F dan CMV-R, 5U RNase inhibitor, 0,2 mm dithiothreitol, 10 U *revert aid reverse transcriptase* (*thermo scientific*), RNA template 2 µl, dan air bebas nuklease sampai mencapai volume sebanyak 25 µl. Sebagai kontrol negatif PCR, air bebas nuklease digunakan sebagai *template*, menggantikan RNA. Program *one step* RT-PCR mengacu pada (Bhat & Siju 2007) sebagai berikut : 42 °C selama 45 menit (sintesis cDNA), 95 °C selama 1 menit (pre denaturasi), dilanjutkan 40 siklus, terdiri dari denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 50 °C selama 1 menit dan pemanjangan DNA (ekstensi) pada suhu 72 °C selama 1 menit, diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Produk RT-PCR dianalisis pada 1,5% gel agarose, diwarnai dengan FluoroVue™ Nucleic acid (1,0 µl/10 ml 1x TAE), diamati dan didokumentasikan pada GelDoc Fire Reader V4 (Uvitec Cambridge).

Sikuensing dan analisis sikuen

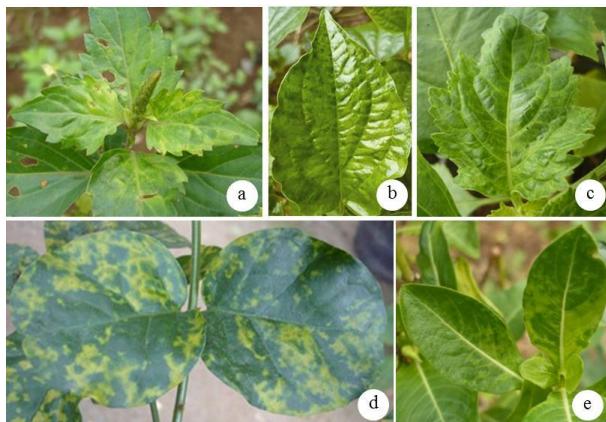
Produk RT-PCR sampel tapak dara, melati dan kumis kucing dikirimkan ke PT Genetika Science Indonesia, untuk proses sikuensing. Sikuen yang diperoleh, dicek terlebih dahulu dengan analisis BLAST (online). Sikuen yang telah sesuai berdasarkan analisis BLAST, dedit menggunakan program *Bioedit Sequence Alignment Editor*. Sikuen nukleotida hasil edit kemudian diterjemahkan menjadi runutan asam amino menggunakan program *ExPASy* (online), untuk mengonfirmasi hasil edit sikuen. Runutan asam amino dengan *start* kodon di awal, dan *stop* kodon di akhir, menunjukkan hasil edit sikuen sudah sesuai.

Sikuen nukleotida CMV asal karuk, tapak dara, nilam, melati dan kumis kucing dibandingkan homologinya dengan sikuen CMV dari database GenBank (Tabel 1) menggunakan program *Bioedit Sequence Alignment Editor*. Rekonstruksi pohon filogeni dilakukan dengan program *Molecular Evolutionary Genetic Analysis Software* (versi X) menggunakan metode *neighborhood joining bootstrap*, dengan 1000 ulangan. *Peanut stunt virus* (PSV) digunakan sebagai *outgrup*. Untuk mengetahui variasi genetik berdasarkan runutan asam amino, dilakukan pencepatan menggunakan program GeneDoc.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala penyakit dan deteksi secara serologi

Gejala infeksi virus terlihat jelas pada daun bagian pucuk tanaman, berupa mosaik pada karuk, nilam dan tapak dara, serta mosaik kuning pada kumis kucing dan melati (Gambar 1). Mosaik merupakan terjadinya perubahan warna yang tidak merata pada daun. Infeksi virus menyebabkan beberapa gangguan pada fungsi normal kloroplas, diantaranya terjadi kerusakan kloroplas atau pengurangan ukuran dan jumlah kloroplas (Zhao *et al.* 2016). Sel-sel daun yang mengalami gangguan fungsi kloroplas, menyebabkan perubahan warna daun menjadi hijau muda atau kuning. Infeksi virus tidak terjadi pada seluruh sel daun, sehingga menyebabkan perubahan warna yang tidak merata pada seluruh daun, dan menimbulkan gejala mosaik.



Gambar 1. Gejala mosaik akibat infeksi virus pada daun: a. Kumis kucing; b. Karuk (Miftakhurohmah *et al.* 2017); c. Nilam, d. Melati; dan e. Tapak dara.

Figure 1. The mosaic symptoms on leaves: a. *Orthosiphon aristatus*; b. *Piper sarmentosum* (Miftakhurohmah *et al.* 2017b); c. *Pogostemon cablin*; d. *Jasminum sambac*; and e. *Catharanthus roseus*.

Deteksi awal terhadap sampel tapak dara, kumis kucing dan melati secara serologi menggunakan antiserum CMV menunjukkan reaksi positif, pada dua kali pengujian yang dilakukan. Identifikasi lebih lanjut secara molekuler diperlukan untuk mengonfirmasi hasil deteksi secara serologi, dan untuk mempelajari karakter molekulernya.

RT-PCR dan analisis BLAST

Amplifikasi RNA sampel tapak dara, melati, dan kumis kucing menggunakan teknik *one step* RT-PCR berhasil memperoleh pita DNA berukuran kurang lebih 650 pb (gambar tidak ditampilkan), sama ukurannya dengan yang telah diperoleh sebelumnya dari sampel karuk (Miftakhurohmah *et al.* 2017a) dan nilam (Miftakhurohmah *et al.* 2017b). Analisis BLAST terhadap isolat asal tapak dara, melati dan kumis kucing menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut merupakan CMV sub group IB, seperti halnya isolat CMV yang ditemukan pada nilam dan karuk. Hal ini menunjukkan bahwa hasil deteksi dan identifikasi secara RT-PCR mengonfirmasi hasil deteksi secara serologi. Dengan demikian, kegiatan deteksi CMV secara massal pada ketiga tanaman tersebut, selanjutnya dapat dilakukan secara serologi.

Berdasarkan edit sikuen isolat CMV dari tapak dara, melati dan kumis kucing, diperoleh

runutan nukleotida sebesar 657 pb, dan diterjemahkan menjadi 218 asam amino. Sikuen nukleotida gen CP CMV asal kumis kucing, tapak dara, nilam, melati dan selanjutnya didaftarkan di GenBank dengan nomor aksesi, berturut-turut sebagai berikut: LC228063, LC228064, LC228065, dan LC228066. Sedangkan isolat CMV asal karuk sudah didaftarkan di GenBank, dengan nomor aksesi LC168754 (Miftakhurohmah *et al.* 2017a).

Analisis homologi, pohon filogeni, pensejajaran asam amino

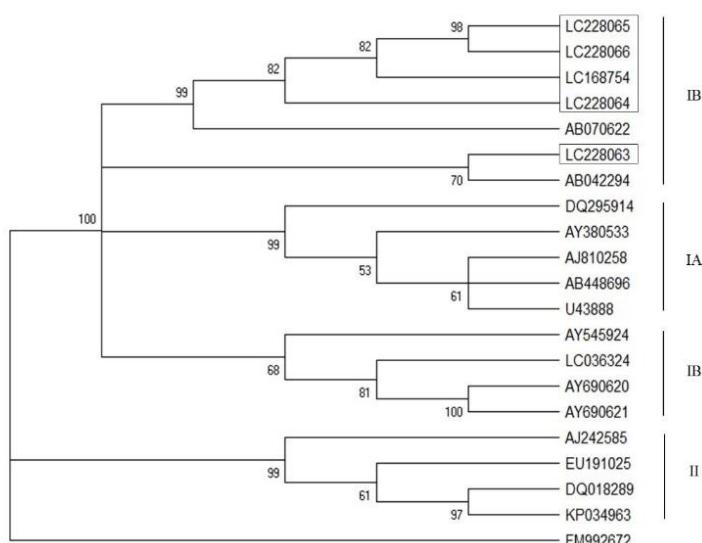
Pada pohon filogeni, kelima isolat CMV membentuk kelompok besar dengan isolat CMV subgrup IB lain dari beberapa negara, terpisah dari CMV subgrup IA dan II, serta PSV sebagai *outgrup*. Hasil ini mendukung analisis BLAST yang menunjukkan bahwa seluruh isolat CMV yang ditemukan merupakan CMV subgrup IB. Isolat-isolat CMV subgrup IB terlihat membentuk 3 kelompok kecil. Empat isolat CMV dari tapak dara, nilam, karuk dan melati berada dalam 1 kelompok dengan isolat CMV asal Jepang (AB070622), hal ini mengindikasikan kesamaan asal-usul isolat, dan diduga migrasi ke Indonesia melalui bahan tanaman terinfeksi virus ataupun melalui serangga vektor. Isolat CMV dari kumis kucing membentuk kelompok tersendiri dengan isolat CMV asal Indonesia (AB042294), terpisah dari keempat isolat lain (Gambar 2). Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat kumis kucing berasal dari Indonesia. Pengelompokan isolat-isolat CMV berdasarkan gen selubung protein dalam pohon filogeni terlihat tidak berdasarkan wilayah dan inang, seperti hasil penelitian sebelumnya (Arafati *et al.* 2013; Eyvazi *et al.* 2015).

Hasil analisis homologi dibandingkan dengan beberapa isolat CMV subgrup IB menunjukkan bahwa keempat isolat CMV dari karuk, nilam, melati dan tapak dara memiliki homologi tertinggi dengan isolat CMV asal Jepang dari tanaman aprikot Jepang (*Prunus mume*) (AB070622), sedangkan isolat CMV dari kumis kucing memiliki homologi tertinggi dengan isolat CMV asal Indonesia (AB042294) (Tabel 1). Hasil analisis homologi keempat isolat CMV dari karuk, nilam, melati dan tapak dara masuk ke dalam subgrup IB menurut hasil pengelompokan dengan isolat CMV lainnya dalam Genbank dan memiliki kekerabatan yang tinggi dengan isolat CMV dari Jepang (AB070622), sedangkan isolat CMV dari kumis kucing memiliki homologi tertinggi dengan CMV isolat AB042294 dari Indonesia (Tabel 2).

Demikian juga ketika membandingkan homologi sikuen nukleotida di antara kelima isolat tersebut, CMV dari karuk, nilam, melati dan tapak dara memiliki homologi lebih dari 95%. Sebaliknya, isolat CMV dari kumis kucing memiliki homologi di bawah 95% dibandingkan keempat isolat CMV lain (Tabel 2). Dengan demikian, terlihat bahwa berdasarkan analisis homologi, sikuen nukleotida gen selubung protein isolat CMV kumis kucing memiliki variasi genetik dibandingkan keempat isolat lain.

Pensejajaran asam amino gen selubung protein kelima isolat CMV yang dipelajari (baris 1-5 / huruf tebal), beserta dua isolat CMV dari

GenBank, menunjukkan terjadinya perbedaan asam amino isolat kumis kucing dibandingkan keempat isolat lain. Terdapat lima perbedaan asam amino, yaitu di posisi 31, 82, 172, 196 dan 211. Di posisi 31 dan 82, isolat kumis kucing dan AB042294, memiliki asam amino unik yang sama, berbeda dengan isolat lain. Sedangkan di posisi 172, 196 dan 211, isolat kumis kucing memiliki asam amino yang berbeda dengan isolat CMV lain (Gambar 3). Runutan asam amino keempat isolat CMV yang lain hanya berbeda 1-2 asam amino. Dengan demikian, isolat CMV kumis kucing lebih memiliki variasi runutan asam amino dibandingkan keempat isolat CMV lain.



Gambar 2. Pohon filogeni lima isolat CMV dari nilam, melati, karuk, tapak dara dan kumis kucing (di dalam kotak) dan isolat CMV dari database GenBank berdasarkan sikuen nukleotida gen selubung protein.

Figure 2. Phylogenetic tree of five CMV isolates from *P. cablin*, *J. sambac*, *C. roseus* and *O. aristatus* (boxed) and CMV isolates from GenBank database based on nucleotide of CP protein genes.

Tabel 1. Persentase homologi nukleotida gen selubung protein lima isolat CMV yang dipelajari dibandingkan dengan isolat CMV lain dari GenBank.

Table 1. Percentage of nucleotide homology of CP protein genes from five CMV isolates-studied, compared to other CMV isolates from GenBank database.

Isolat GenBank	Isolat yang dipelajari				
	Kumis kucing (LC228063)	Tapak dara (LC228064)	Karuk (LC168754)	Nilam (LC228065)	Melati (LC228066)
LC036324 (tanaman kedelai, Indonesia)	91,10	92,90	93,10	93,60	93,60
AY545924 (tanaman lada, India)	93,30	94,00	93,90	94,30	94,30
EU926956 (tanaman lada, Cina)	91,70	93,10	92,90	93,40	93,70
AB070622 (tanaman <i>Prunus mume</i> , Jepang)	92,90	96,40	96,60	97,10	97,10
AB042294 (Indonesia)	95,80	94,60	94,80	94,90	94,90
AJ829778 (tanaman tomat, Spanyol)	93,30	93,90	94,30	94,80	94,80
EU329007 (tanaman pisang, Taiwan)	92,30	93,60	94,30	94,80	95,10

Tabel 2. Homologi sikuen nukleotida (%) gen selubung protein antara lima isolat CMV dari kumis kucing, tapak dara, karuk nilam dan melati

Table 2. Nucleotide sequence homology (%) of CP protein genes among five CMV isolates from *O. aristatus*, *P. chaba*, *P. cablin*, *J. sambac* and *C. roseus*.

Isolat CMV	LC228063	LC228064	LC168754	LC228065	LC228066
LC228063	ID				
LC228064	93,70	IDE			
LC168754	93,90	98,00	ID		
LC228065	93,70	97,50	99,20	ID	
LC228066	93,70	97,50	99,20	99,60	ID

	10	20	30	40
LC168754	M D K S E S T S A G R N R R R P R R G S R S A P S S A D A T F R V L S Q Q L S R L N K T L A A G R			
LC228066	.			
LC228063	.	I	.	S
LC228064	.	I	.	S S
LC228065	.			
AB070622	.		S R	S
AB042294	.		.	S
	60	70	80	90
LC168754	P T I N H P T F V G S E R C K P G Y T F T S I T L K P P K I D R G S Y Y G K R L L L P D S V T E F D			100
LC228066	.			
LC228063	.			K
LC228064	.			.
LC228065	.			.
AB070622	.			K
AB042294	.			.
	110	120	130	140
LC168754	K K L V S R I Q I R V N P L P K F D S T V W W T V R K V P A S S D L S V S A I S A M F A D G A S P V			150
LC228066	.			.
LC228063	.			A
LC228064	.			.
LC228065	.			.
AB070622	.			.
AB042294	.			T
	160	170	180	190
LC168754	L V Y Q Y A A S G V Q A N N K L L Y D L S A M R A D I G D M R K Y A V L V Y S K D D T L E T D E L V			200
LC228066	.			.
LC228063	.		V	.
LC228064	.			A
LC228065	.			A
AB070622	.			A
AB042294	.			A
	210	218		
LC168754	L H V D I E H Q R I P T S G V L P V			
LC228066	.			
LC228063	.	P		
LC228064	.			
LC228065	.	H		
AB070622	.			
AB042294	.			

Gambar 3. Pensejajaran sikuen asam amino lima isolat CMV dari tanaman kumis kucing (LC228063), tapak dara (LC228064), tanaman karuk (LC168754), nilam (LC228065), dan melati (LC228066), serta 2 sikuen dari GenBank, yaitu AB070622 (Jepang), dan AB042294 (Indonesia). Titik menunjukkan asam amino identik. Huruf hijau menunjukkan kesamaan asam amino kumis kucing dengan isolat Indonesia. Huruf merah menunjukkan perbedaan asam amino isolat kumis kucing dengan isolat lain.

Figure 3. Alignment of amino acid sequences of five CMV isolates from *O. aristatus* (LC228063), *C. roseus* (LC228064), *P. chaba* (LC168754), *P. cablin* (LC228065), and *J. sambac* (LC228066) with two CMV sequences from Genbank. Ab070622 (Japan), and Ab042294 (Indonesia). The dot showed the identical amino acid. Green letter indicates the amino acid similarity between isolate from *O. aristatus* and Indonesian isolate. Red letter indicates the amino acid differences of isolates from *O. aristatus* with other isolates.

Hasil analisis filogeni, homologi sikuen nukleotida dan pensejajaran asam amino kelima isolat CMV yang dipelajari menunjukkan bahwa isolat kumis kucing memiliki variasi genetik yang berbeda dibandingkan keempat isolat lainnya. Variasi genetik gen selubung protein antar isolat CMV memungkinkan terjadinya perbedaan karakter biologi, seperti penularan melalui serangga vektor, kisaran inang, maupun ekspresi gejala. Gen selubung protein CMV dilaporkan terkait dengan sifat penularan CMV melalui serangga vektor (Liu *et al.* 2002) dan kemampuan perpindahan CMV antar sel di dalam jaringan tanaman, yang memengaruhi keberhasilan CMV dalam menginfeksi tanaman (Kaplan *et al.* 1998). Perbedaan sifat biologi virus akan memengaruhi penentuan pengambilan strategi pengendalian yang tepat.

CMV isolat nilam, melati, tapak dara dan kumis kucing memiliki kekerabatan yang dekat, menunjukkan kesamaan asal isolat. Diduga bahwa terjadi penyebaran CMV antar tanaman. Genom RNA CMV memiliki tingkat mutasi yang tinggi saat replikasi, menyebabkan variasi genetik yang tinggi dan memiliki kemampuan evolusi yang cepat (Moya *et al.* 2004).

Keberadaan CMV asal tanaman nilam, melati, tapak dara, kumis kucing dan karuk yang tergolong ke dalam subgrup IB perlu diwaspadai dan dikendalikan. CMV subgrup IB dilaporkan lebih virulen dibandingkan dengan subgrup IA dan II (Zhang *et al.* 1994). Tindakan pengendalian yang harus dilakukan antara lain adalah karantina tanaman dengan menempatkannya di dalam rumah kedap serangga, khususnya untuk tanaman yang akan dijadikan sebagai sumber benih, sterilisasi alat yang dipakai untuk grafting dan lainnya, dan pengendalian serangga vektor. Konfirmasi kesehatan benih bebas dari CMV menggunakan teknik deteksi ELISA dan PCR yang digunakan dalam penelitian perlu dilakukan untuk mencegah penyebaran CMV melalui benih tanaman ke tempat lain.

KESIMPULAN

Isolat CMV dari kumis kucing memiliki kekerabatan genetik yang lebih jauh dibandingkan dengan isolat CMV asal nilam, karuk, melati, dan tapak dara. Kekerabatan genetik yang dekat di antara isolat CMV asal nilam, karuk, melati, dan tapak dara, mengindikasikan kemungkinan penyebaran CMV antar tanaman. Kelima isolat CMV termasuk grup IB yang berpotensi memiliki virulensi lebih tinggi dibandingkan dengan subgrup IA dan II sehingga perlu tindakan karantina dan pengendalian yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

Akbar, A., Ahmad, Z., Begum, F., Ubairah, & Raees, N. (2015). Varietal Reaction of Cucumber Against *Cucumber mosaic virus*. *American Journal of Plant Sciences.* 6 (7), 833-838. doi : 10.4236/ajps.2015.67090.

- Arafati, N., Farzadfar, S. & Pourrahim, R. (2013). Characterization of Coat Protein Gene of *Cucumber mosaic virus* Isolates in Iran. *Iran Journal of Biotech.* 11 (2), 109-114. doi : 10.5812/ijb.10715.
- Bhat, A.I. & Siju, S. (2007). Development of A Single-tube Multiplex RT-PCR for the Simultaneous Detection of *Cucumber mosaic virus* and *Piper yellow mottle virus* Associated with Stunt Disease of Black Pepper. *Current Science.* 93 (7), 973-976.
- Clark, M.F. & Adams, A.N. (1977). Characteristics of the Microplate Method of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology.* 34 (3), 475-483. doi : 10.1099/0022-1317-34-3-475.
- Damayanti, T. & Wiyono, S. (2015). Short Communication : Genetic Diversity of *Cucumber mosaic virus* Strain Soybean from Several Areas. *Microbiology.* 9 (1), 44-49. doi : org/10.5454/mi.9.1.6.
- Davino, S., Panno, S., Rangel, E.A., Davino, M., Bellardi, M.G. & Rubio, L. (2012). Population Genetics of *Cucumber mosaic virus* Infecting Medicinal, Aromatic and Ornamental Plants from Northern Italy. *Archives of Virology.* 157 (4), 739-745. doi : 10.1007/s00705-011-1216-4.
- Duarte, L.M.L., Rivas, E.B., Harakava, R., Veauvy, M.C.D. & Alexandre, M.A.V. (2013). Genealogy of *Cucumber mosaic virus* isolated from ornamental species. *American Journal of Plant Sciences.* 4(5), 1081-1087. https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45134.
- Eyvazi, A., Dizadji, A., Rastgoli, M. & Habibi, M.K. (2015). Bioassay and Phylogeny of Five Iranian Isolates of *Cucumber mosaic virus* from Different Hosts Based on CP Gene Sequence. *Plant Protect. Sci.* 51 (4), 200-207. doi : 10.17221/80/2014-PPS.
- Febjislami, S., Melati, M., Kurniawati, A. & Wahyu, Y. (2018). Karakter agronomi dan Kadar Sinensetin Beberapa Akses Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*). *Jurnal Hortikultura Indonesia.* 9 (3), 206-215.
- Hamida, R. & Suhara, C. (2013). Pengaruh Infeksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) terhadap Morfologi, Anatomi, dan Kadar Klorofil Daun Tembakau Cerutu. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat Dan Minyak Atsiri.* 5 (1), 11-19.
- Kaplan, I.B., Zhang, L. & Palukaitis, P. (1998). Characterization of *Cucumber Mosaic Virus*. *Virology.* 246, 221-231.
- Kim, M.K., Seo, J.K., Kwak, H.R., Kim, J.S., Kim, K.H., Cha, B.J. & Choi, H.S. (2014). Molecular Genetic Analysis of *Cucumber mosaic virus* Populations Infecting Pepper Suggests Unique Patterns of Evolution in Korea. *Phytopathology.*

- 104 (9), 993-1000. doi : 10.1094/PHYTO-10-13-0275-R.
- Liu, S., He, X., Park, G., Josefsson, C. & Perry, K.L. (2002). A Conserved Capsid Protein Surface Domain of *Cucumber mosaic virus* is Essential for Efficient Aphid Vector Transmission. *Journal of Virology*. 76 (19), 9756-9762. doi : 10.1128/jvi.76.19.9756-9762.2002.
- Miftakhurohmah, Mariana, M. & Wahyuno, D. (2017)a. Molecular Characterization of *Cucumber mosaic virus* Infecting Wild Betel (*Piper sarmentosum*). *Current Science*. 112 (12), 2369-2371. doi : 10.1002/asl2.513.14.
- Miftakhurohmah, Nyana, I.D.N., Damayanti, T.A. & Noveriza, R. (2017)b. Identifikasi Molekuler *Cucumber mosaic virus* (CMV) asal Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin*). *Jurnal Littri*. 23 (1), 11-17.
- Moya, A., Holmes, E.C. & Gonzalez-Candelas, F. (2004). The Population Genetics and Evolutionary Epidemiology of RNA Viruses. *Nature Reviews Microbiology*. 2 (4), 279-288. doi : 10.1038/nrmicro863.
- Nouri, S., Arevalo, R., Falk, B.W. & Groves, R.L. (2014). Genetic Structure and Molecular Variability of *Cucumber mosaic virus* Isolates in the United States. *Plos One*. 9 (5), 1-12. doi : 10.1371/journal.pone.0096582.
- Roossinck, M.J. (2002). Evolutionary History of *Cucumber mosaic virus* Deduced by Phylogenetic Analyses. *Journal of Virology*. 76 (7), 3382-3387. doi: 10.1128/JVI.76.7.3382.
- Roossinck, M.J. & Zhang, L.E.E. (1999). Rearrangements in the 5' Nontranslated Region and Phylogenetic Analyses of *Cucumber mosaic virus* RNA 3 Indicate Radial Evolution of Three Subgroups. *Journal of Virology*. 73 (8), 6752-6758.
- Sukarman, Darwati, I. & Rusmin, D. (2000). Karakter Morfologi dan Fisiologi Tapak Dara (*Vinca rosea*) pada Beberapa Cekaman Air. *Jurnal Littri*. 6 (2), 50-54.
- Syahid, S. (2008). Tanaman Karuk (*Piper sarmentosum*) untuk Mengobati Asma. *Warta Littri*. 14 (4), 8-10.
- Wibawani, L., Wahyuni, E.S. & Utami, Y.W. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Melati (*Jasminum sambac* L. Ait) secara Topikal terhadap Peningkatan Kontraksi Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2 (4), 196-206.
- Zhang, L., Hanada, K. & Palukaitis, P. (1994). Mapping Local and Systemic Symptom Determinants of *Cucumber mosaic cucumovirus* in Tobacco. *Journal of General Virology*. 75, 3185-3191.
- Zhao, J., Zhang, X., Hong, Y. & Liu, Y. (2016). Chloroplast in Plant-Virus Interaction. *Frontiers in Microbiology*. 7 (10), 1-20. doi : 10.3389/fmicb.2016.01565.
- Zitter, T.A. & Murphy, F. (2009). The plant Health Instructor: *Cucumber mosaic virus*. *American Phytopathological Society*.