

**Research Article****Deteksi Turnip mosaic virus (TuMV) pada Tanaman Brokoli di Boyolali, Indonesia*****Detection of Turnip mosaic virus (TuMV) on Broccoli Plant at Boyolali, Indonesia*****Wiwit Probowati^{1*}, Pilar Rosatria Firyalunfah¹, Tsania Taskia Nabila¹**¹*Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta 55592*

Received: August 18, 2023 /Received in revised : July 10, 2025/ Accepted: October 14, 2025

ABSTRACT

Turnip mosaic virus (TuMV) is one of the emerging viruses that causes serious yield losses of brassica vegetables, including Indonesia. Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) is a potential horticultural commodity in Indonesia because of its many benefits. The objective of this study was to detect TuMV-infecting broccoli using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. Field survey has been conducted to determine disease symptoms in broccoli field Boyolali, Central Java. This study was conducted through several phases, which are: leaves sample collection on the field, virus RNA isolation, RT-PCR, and TuMV detection using coat protein (CP) specific primer. The result of field observed broccoli plant with several symptom of TuMV infection, such as: mosaic symptom leaf, blister leaf, vein banding, vein clearing, and yellowing of leaf spot. The detection of TuMV by RT-PCR showed that broccoli with those symptoms observed is positively infected by TuMV. Specific DNA band was amplified from infected plant on 800 bp. This study is report of naturally infection of TuMV on broccoli with those symptoms at Boyolali, Central Java, Indonesia.

Keywords: Broccoli; Detection; TuMV.**ABSTRAK**

Turnip mosaic virus (TuMV) adalah salah satu virus tanaman yang menyebabkan kerugian panen pada tanaman sayuran jenis brassica, termasuk di Indonesia. Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) yang merupakan komoditas penting sayuran di daerah dataran tinggi Jawa Tengah memiliki masalah terkait produktivitas menurun dikarenakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi TuMV yang menginfeksi brokoli dengan menggunakan teknik reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Survei lapangan telah dilakukan untuk mengetahui gejala penyakit di kebun brokoli di Boyolali, Jawa Tengah. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu: pengambilan sampel daun di lapangan, isolasi RNA virus, RT-PCR, dan deteksi dengan menggunakan primer spesifik coat protein (CP). Hasil pengamatan di lapangan ditemukan tanaman brokoli yang menunjukkan beberapa gejala infeksi TuMV, seperti: gejala mosaik daun, daun melepuh, urat daun melebar, urat daun terbuka, dan bercak daun menguning. Deteksi TuMV dengan RT-PCR menunjukkan bahwa brokoli dengan gejala-gejala tersebut positif terinfeksi TuMV. Pita DNA spesifik teramplifikasi dari tanaman terinfeksi terdeteksi pada 800 bp. Penelitian ini melaporkan adanya infeksi TuMV secara alami pada tanaman brokoli dengan gejala-gejala tersebut di Boyolali, Jawa Tengah, Indonesia.

Kata kunci: Brokoli; Deteksi; TuMV.

*Korespondensi Penulis.

E-mail: wiwitprobo@unisayogya.ac.id (W Probowati)DOI: <https://doi.org/10.33019/e80fdb13>

1. Pendahuluan

Tanaman brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) merupakan salah satu tanaman hortikultura penting yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Tanaman brokoli berpotensi tinggi untuk dikembangkan mengingat tingkat konsumsinya yang tinggi di masyarakat. Bunga brokoli banyak dikonsumsi karena memiliki kandungan gizi yang sangat lengkap yaitu glukosinat, antioksidan, mineral, dan serat. Kandungan gizi tersebut lebih tinggi dibandingkan sayuran lain seperti wortel, kubis, dan bayam (Sari *et al.*, 2014). Tanaman brokoli dapat dibudidayakan di daerah dataran tinggi pada ketinggian 1.000-2.000 meter di atas permukaan laut. Tanah yang memiliki kandungan humus tinggi dan pH (tingkat keasaman) tanah 6-7 dapat menjadi tempat tumbuh yang optimal bagi tanaman brokoli (Hafifah, 2017). Namun dalam budidaya tanaman brokoli banyak kendala yang dihadapi oleh petani yaitu adanya gangguan hama dan penyakit tanaman yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun jamur. Salah satu virus yang dapat menyerang tanaman hortikultura terutama Brassica adalah *Turnip mosaic virus* (TuMV) yang patut diwaspadai (Gibbs *et al.*, 2015).

TuMV merupakan virus yang berasal dari genus *Potyvirus* (Moreno & Fereres, 2012). *Potyvirus* adalah genus terbesar dari *family* Potyviridae yang merupakan famili terbesar dari virus RNA tanaman (Gibbs & Ohshima, 2010; Gibbs *et al.*, 2020; Inoue-Nagata *et al.*, 2022). *Potyvirus* memiliki genome RNA untai positif berukuran sekitar 9.000-12.000 nukleotida. Setidaknya ada 10 poliprotein fungsional pada genomnya antara lain protein N-terminal (P1), *helper component-proteinase* (HC-Pro), *nuclear inclusion a protein* (NIa-pro), protein ke-tiga (P3), 6kDa 1 (6K1), *cylindrical inclusion protein* (CI), 6kDa 2 (6K2), *genome-linked protein* (VPg), *nuclear inclusion protein a* (NIa-Pro), *nuclear inclusion b* (NIb), *coat protein* (CP) dan PIPO yang berada di daerah P3 (Chung *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2014). Beberapa protein seperti P1, HC-Pro, CI, NIa-Pro, NIb, dan CP berperan dalam replikasi RNA virus dan dapat dijadikan penanda molekuler untuk deteksi TuMV (Revers & Garcia, 2015).

TuMV adalah salah satu virus yang paling luas persebarannya dan memiliki kisaran inang paling luas meliputi tanaman dikotil dan monokotil (Walsh & Jenner, 2002). Virus dari genus *Potyvirus* ini menyebabkan gagal panen yang serius pada tanaman brassica dan juga tanaman hias di seluruh dunia (Ohshima *et al.*, 2002; Walsh & Jenner, 2002; Nellist *et al.*, 2022, Probowati *et al.*, 2023). Dilaporkan bahwa TuMV telah menginfeksi tanaman brokoli di Asia seperti India (Singh *et al.*, 2020) dan Turkey (Sevik, 2019). TuMV dapat

ditularkan dengan cara yang tidak peristen oleh arthropoda serangga dari ordo Hemiptera, Aphididae family sebanyak kurang lebih 40-50 spesies terutama *Myzus persicae* dan *Brevicoryne brassicae* (Lefkowitz *et al.*, 2018). Di Indonesia virus ini juga diketahui dapat ditransmisikan melalui benih (Adiputra *et al.*, 2012).

Kerugian yang sangat besar akibat infeksi TuMV dilaporkan pernah terjadi di desa Methuk, Boyolali, Jawa Tengah pada tahun 2005 yang telah mengakibatkan gagal panen pada lahan budidaya caisin (*Brassica juncea* L.), dengan kejadian penyakit mencapai 100% (Kartiningtyas dan Hidayat, 2006). Sejauh ini dilaporkan bahwa penyakit akibat infeksi TuMV di Indonesia telah terjadi pada berbagai tanaman hortikultura seperti tanaman lobak, kembang kol, sawi putih, selada, caisin dan kailan (Rusli *et al.*, 2007; Adiputra *et al.*, 2012; Moreno & Fereres, 2012; Sa'idah, Martosudiro, dan Hadiastono, 2013; Choliq *et al.*, 2019). Namun di Indonesia belum ada laporan bahwa TuMV terdeteksi menginfeksi tanaman brokoli yang juga tergolong brassica. Tanaman yang terinfeksi TuMV memperlihatkan gejala yang bervariasi tergantung pada jenis tanaman yang diserang dan juga faktor lingkungan (Chung *et al.*, 2015). Dengan keragaman gejala infeksi pada tanaman tersebut meliputi munculnya bercak mosaik pada daun, lamina daun sering mengalami nekrotik, bercak daun menguning, dan tanaman cenderung kerdil (Wu *et al.*, 2024).

Berdasarkan latar belakang di atas maka terdapat kemungkinan infeksi TuMV dapat terjadi pada tanaman brassica yang lain termasuk brokoli, sehingga memiliki potensi menimbulkan kerugian pada budidaya brokoli. Menurut Chung *et al.* (2015), identifikasi virus yang mengakibatkan penyakit pada tanaman memerlukan pemantauan kejadian penyakit untuk mengidentifikasi sumber virus sehingga dapat direkomendasikan tindakan pengendalian yang cepat.

Mengingat pentingnya penyakit tersebut, pengetahuan tentang keragaman gejala dan cara mendeteksinya sangat diperlukan agar usaha untuk pengendalian TuMV dapat dilakukan lebih akurat. Saat ini studi mengenai deteksi terhadap infeksi TuMV pada tanaman brokoli di Indonesia belum ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi ada tidaknya infeksi yang disebabkan oleh TuMV pada tanaman brokoli di Boyolali, Jawa Tengah sebagai salah satu sentra produksi brokoli di Indonesia.

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2021 sampai Oktober 2022. Studi lapangan dilakukan di

kebuduran brokoli di Desa Tlogolele, Kecamatan Selo, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah (-7.516550, 110.421442). Penelitian molekuler dilakukan di laboratorium Biokimia, Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Pengamatan Gejala dan Pengambilan Sampel Daun Brokoli Isolat Boyolali

Pengamatan dan pengambilan sampel daun brokoli dilakukan pada bulan Juli 2021. Sampel yang diambil adalah tanaman dengan kriteria daun dari tanaman brokoli yang bergejala mosaik dan tanaman tumbuh kerdil sebanyak 4 tanaman (satu sampel satu tanaman). Selain itu diambil juga 1 sampel tanaman yang tidak menunjukkan gejala (sebagai kontrol). Tanaman sampel dari lahan dipindahkan ke dalam media tanam (polybag) untuk dibawa ke laboratorium untuk dianalisis lebih lanjut. Kutu daun yang banyak ditemukan pada tanaman kemudian diambil untuk diamati lebih detail di laboratorium.

Ekstraksi RNA Total dari Tanaman Brokoli

Ekstraksi RNA total kelima sampel tanaman dilakukan menggunakan menggunakan kit komersial *Plant virus RNA kit* (Geneaid Biotech Ltd-Taiwan) dan *RNase-Free DNase I Set* (Geneaid Biotech Ltd-Taiwan). Masing-masing sebanyak 100 mg sampel daun digerus pada mortar sampai halus dengan penambahan nitrogen cair. Selanjutnya proses ekstraksi dilakukan dengan mengikuti cara kerja protokol kit tersebut. Proses ekstraksi RNA menggunakan kit tersebut secara garis besar terdiri dari tahap *RNA binding*, *DNA removal*, *RNA washing*, dan *RNA elution*. Hasil ekstraksi RNA dibagi menjadi dua bagian untuk analisis kuantitatif dan kualitatif (masing-masing *tube* 25 μ L) dan ditempatkan dalam *microcentrifuge tube* baru 1,5 mL. Sehingga didapatkan 10 *tube*, 5 *tube* sampel untuk analisis kuantitatif dan 5 *tube* lainnya untuk analisis kualitatif. Masing-masing *tube* dilabeli (tanaman A, B, C, D dan E) untuk membedakan sampel tanaman satu dengan yang lainnya. Hasil ekstraksi tanaman disimpan di dalam *freezer* -20 °C sebelum dilakukan analisis lebih lanjut.

Uji kuantitas hasil ekstraksi RNA

Kemurnian dan konsentrasi RNA total diukur menggunakan nanodrop MN-913A (Maestrogen Pro). Pengukuran kuantitas RNA diukur pada Panjang gelombang yang berbeda, yaitu 230 nm (penyerapan kontaminan), 260 nm (penyerapan maksimum asam nukleat), dan 280 nm (penyerapan maksimum protein) (Becker *et al.*, 2010). Sebanyak 2 μ L *RNase free water* dilekattan di atas *bottom glass* kemudian ukur sebagai larutan

blank. Setelah itu, sebanyak 2 μ L sampel A, B, C, dan D diletakkan secara berurutan di atas *bottom glass* kemudian dilakukan pengukuran sebagai sampel. Pengukuran konsentrasi RNA dilakukan pada absorbansi 260 nm dengan perhitungan 1 nilai absorbansi sama dengan 40 μ L⁻¹. Kemurnian RNA diukur pada nisbah A260/A280 karena protein diserap pada panjang gelombang 280 nm (Rapley & Heptinstall, 1998).

Sintesis dan Amplifikasi cDNA dengan RT-PCR

Program amplifikasi terdiri atas dua proses yaitu reaksi *reverse transcript* (RT) yang mengubah RNA menjadi *complementary DNA* (cDNA) dan siklus PCR (amplifikasi cDNA). RNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai cetakan untuk proses sintesis cDNA dalam total volume untuk setiap sampel. Komposisi bahan untuk sintesis cDNA terdiri atas 1 μ L 10 \times *buffer* untuk M-MuLLV (New England Biolabs Inc., Beverly, MA), 0.2 μ L 10 mM dNTP(s) (Novagen), 0.75 μ L 10 μ M Oligo s(T), 0.32 μ L RNase OUT (400 μ L⁻¹) (Invitrogen), 0.32 μ L M-MuLV *reverse transcriptase* (200 U μ L⁻¹) (New England Biolabs Inc., Beverly, MA), 4.41 μ L *RNase free water* dan 3 μ L total RNA. Tahapan sintesis cDNA dilakukan dalam *thermal cyclor* (Thermo hybrid) dengan program 25 °C selama 5 menit, 37 °C selama 90 menit. Tahapan amplifikasi cDNA dilakukan menggunakan Go Taq Green Master Mix (Promega) dengan total volume 25 μ L dan komposisi premix PCR sesuai petunjuk produsen (Promega).

Primer yang digunakan adalah Primer Forward TuMV yaitu CP-F (5'-GCAGGTGAAACGCTTGATGC-3') dan Primer Reverse TuMV yaitu CP-R (5'-CAACCCCTTAACGCCAAGTAAGT-3') mengamplifikasi pada posisi fragmen 9753nt-9616nt (Li *et al.*, 2022). Amplifikasi cDNA dilakukan dalam *thermal cyclor* (Thermo hybrid) dengan 1 siklus pada suhu 95 °C selama 5 menit, 30 siklus pada suhu 95 °C selama 30 detik, suhu 50 °C selama 90 detik, dan sintesis DNA pada suhu 72 °C selama 60 detik. Terakhir adalah tahap ekstensi pada suhu 72 °C selama 10 menit.

Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi dengan RT-PCR

Produk RT-PCR (cDNA) dari tiap sampel kemudian divisualisasi dengan elektroforesis gel agarose (1.5%) pada 1 \times bufer TAE (Tris-Acetate EDTA buffer). Sebanyak 5 μ L produk RT-PCR dari masing-masing sampel ditambahkan dengan 2 μ L *loading dye* dan dicampur sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel (satu sampel satu sumuran). Untuk menentukan ukuran dari produk RT-PCR disertakan juga DNA standar/marker (FastGene 100 bp DNA marker) sebagai pembanding.

Gel agarose tersebut dielektroforesis pada voltase 75 Volt selama 65 menit. Setelah itu gel diwarnai dengan cara direndam di dalam larutan pewarna *ethidium bromide* 1% selama 5 menit. Gel agarosa tersebut divisualisasi di atas UV *transilluminator* dan pita-pita DNA yang tampak didokumentasikan untuk dianalisis amplifikasi target PCR yang didapatkan.

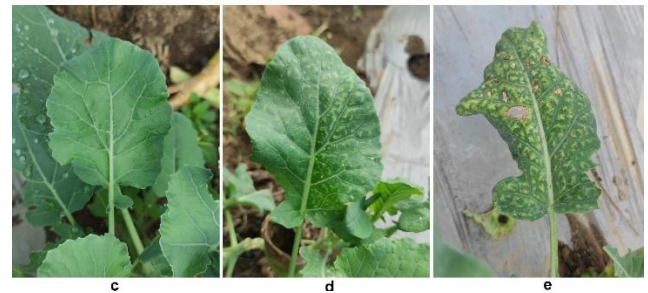
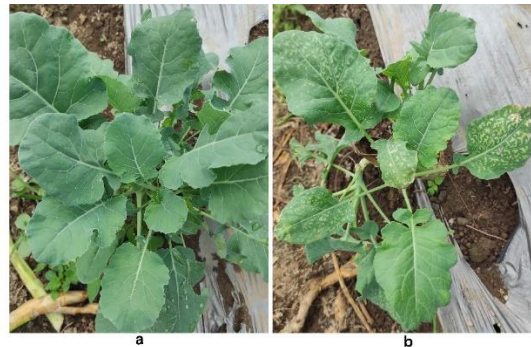
3. Hasil

Gejala Daun pada Tanaman Brokoli

Hasil survei dan pengamatan gejala pada daun tanaman brokoli di lahan Boyolali, Jawa Tengah menunjukkan bahwa tanaman brokoli tersebut diduga terinfeksi virus dengan gejala infeksi yang parah yaitu meliputi; gejala mosaik daun, daun melepuh, urat daun melebar, urat daun terbuka, dan bercak daun menguning, serta pertumbuhan tanaman yang terhambat (Gambar 1). Pada tanaman brokoli berumur 90 Hari Setelah Tanam (HST) ditemukan adanya gejala berupa bercak mosaik pada bagian daun yang diduga terinfeksi TuMV. Gejala seperti ini ditemukan hampir di seluruh tanaman pada lahan brokoli. Namun pada lahan yang sama juga ditemukan tanaman brokoli sehat atau tidak menunjukkan gejala terinfeksi TuMV.

Perbedaan antara tanaman brokoli yang bergejala dan tidak bergejala dapat dilihat pada Gambar 1a dan 1b. Tanaman tidak bergejala menunjukkan perawakan yang lebih rimbun dengan banyak cabang dan daun tampak sehat. Tanaman bergejala menunjukkan perawakan yang lebih jarang dan daun tampak bergejala. Sementara itu, tanaman tidak bergejala memiliki daun berwarna hijau segar (Gambar 1c), sedangkan daun yang diduga terinfeksi TuMV menunjukkan gejala mosaik yang tampak seperti bercak kecil tidak beraturan berwarna hijau muda (Gambar 1d). Bercak-bercak tersebut berkembang sambung menyambung membentuk alur di seluruh daun yang pada tingkat lanjut bercak menjadi berwarna kuning, nekrosis, hingga daun mengering atau tampak melepuh (Gambar 1e). Secara keseluruhan tanaman yang diduga terinfeksi TuMV mengalami gangguan pertumbuhan sehingga tampak lebih kecil dibandingkan dengan yang tampak sehat.

Hasil pengamatan tanaman ditemukan adanya serangga kutu daun atau aphid yang tersebar di seluruh lahan tanaman brokoli. Kutu daun yang ditemukan memiliki warna tubuh berwarna kuning kehijauan dan hidup secara berkelompok di permukaan bagian bawah daun (Gambar 2).



Gambar 1. Pengamatan tanaman brokoli tidak bergejala dan bergejala yang diduga terinfeksi TuMV; a. Tanaman brokoli tidak tampak gejala (sehat), b. Tanaman brokoli dengan gejala diduga terinfeksi TuMV, c. daun tidak bergejala mosaik, d. daun memiliki gejala mosaik ringan, e. daun tampak bergejala mosaik lanjut.



Gambar 2. Kutu daun pada permukaan bawah daun tanaman brokoli.

Deteksi TuMV dengan metode RT-PCR

Setelah dilakukan pengamatan gejala di lapangan, selanjutnya deteksi penyebab gejala mosaik pada daun tanaman brokoli dideteksi melalui teknik *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Deteksi TuMV pada sampel daun bergejala mosaik diawali dengan tahap ekstraksi RNA. Dalam penelitian ini, isolasi RNA dilakukan dengan kit yang dapat mengekstraksi RNA virus dan RNA total tanaman dari sampel daun brokoli tersebut. Total RNA yang diisolasi dari masing-masing sampel diuji secara

kuantitatif melalui pengukuran konsentrasi dan kemurnian RNA.

Keberhasilan ekstraksi RNA dapat dilihat dari nilai konsentrasi dan kemurnian RNA yang diukur menggunakan alat Nanodrop Spektrofotometer. Berdasarkan hasil analisis perhitungan pada Tabel 1, nilai rata-rata konsentrasi RNA tertinggi terdapat pada sampel daun D ($9,05 \mu\text{g mL}^{-1}$), kemudian diikuti oleh sampel daun A ($89,3 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$), sampel daun B ($86,5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$), dan C ($83,0 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$). Sementara sampel daun E ($84,9 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$) yang merupakan sampel daun tidak bergejala. Menurut Aranda *et al.*, (2009), nilai konsentrasi RNA dengan kualitas yang baik memiliki rentang nilai sebesar 5-500 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$. Dari hasil yang didapatkan konsentrasi RNA yang didapatkan memiliki nilai sedang. Sementara itu kemurnian RNA dengan kualitas baik memiliki nilai absorbansi pada rasio 260 nm dan 280 nm (A_{260}/A_{280}) sama dengan 1,8 - 2,0 (Sambrook, Fritsh, & Maniatis, 1989). Semua sampel daun tanaman brokoli menunjukkan kemurnian yang relatif rendah karena nilai rata-rata absorbansinya dibawah 1,8. Berdasarkan Tabel 1, kemurnian sampel daun berkisar antara 1,17 - 1,55. Namun, nilai strandar deviasi yang lebih kecil dari nilai rata-rata menandakan bahwa hasil data baik, penyebaran data menunjukkan hasil yang normal dan tidak menyebabkan bias. Semua sampel daun tanaman brokoli memiliki nilai standar deviasi yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai rata-rata konsentrasi dan kemurniannya, sehingga semua data sampel dapat dikatakan baik dan sudah sepenuhnya mampu menjelaskan keseluruhan data.

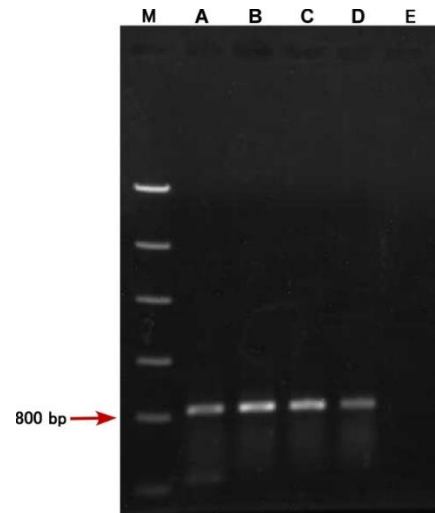
Tabel 1. Konsentrasi dan Kemurnian RNA Sampel Daun Tanaman Brokoli

Sampel Daun	Konsentrasi ($\bar{X} \pm \text{SD}$) ^a	Kemurnian ($\bar{X} \pm \text{SD}$) ^b
A	$8,93 \pm 0,14$	$1,30 \pm 0,06$
B	$8,65 \pm 0,13$	$1,17 \pm 0,01$
C	$8,30 \pm 0,57$	$1,55 \pm 0,14$
D	$9,05 \pm 0,41$	$1,25 \pm 0,04$
E	$8,49 \pm 0,22$	$1,51 \pm 0,11$

Keterangan: a = Rata-rata rasio absorbansi pada panjang gelombang 260 nm x $40 \mu\text{g mL}^{-1} \pm \text{SD}$; b = Rata-rata rasio absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm $\pm \text{SD}$; SD = Standar deviasi.

Proses RT-PCR merubah RNA hasil menjadi cDNA (reverse transcription) yang kemudian diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kemudian hasil RT-PCR divisualisasikan pada gel elektroforesis dengan konsentrasi 1,5%. Hasil deteksi TuMV menggunakan sepasang primer pada sampel bergejala mosaik menunjukkan hasil positif terinfeksi TuMV. Pita cDNA TuMV berhasil

teramplifikasi dari empat sampel daun tanaman brokoli (sampel daun A, B, C, dan D) yang memiliki gejala mosaik yaitu teramplifikasi pada *band* berukuran kurang lebih 800 bp, sedangkan hasil visualisasi sampel daun tidak bergejala (sampel daun E) tidak menunjukkan adanya band (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil deteksi TuMV pada tanaman brokoli bergejala daun mosaik dengan RT-PCR, divisualisasi dengan gel agarose 1,5% (A-D: sampel tanaman brokoli bergejala, E: sampel tanaman brokoli sehat, M: marker 100 bp DNA ladder).

4. Pembahasan

Gejala mosaik pada tanaman brokoli

Penyakit pada tumbuhan sangat ditentukan oleh interaksi antara tiga faktor atau yang biasa disebut dengan segitiga penyakit. Segitiga penyakit terdiri dari patogen, tumbuhan atau inang dan lingkungan. Penyakit akibat virus sering menyerang tanaman melalui vektor seperti serangga (Sutarman, 2017). Hasil pengamatan lapangan ditemukan jenis serangga vektor berupa kutu daun atau aphid yang tersebar diseluruh kebun tanaman brokoli.

Proses infeksi penyakit pada tanaman satu dengan yang lain berbeda-beda, pada tanaman brokoli proses infeksi bersifat laten dikarenakan gejala mosaik baru muncul pada usia 90 HST dimana tanaman brokoli siap dipanen. Menurut Sopalena (2017) beberapa tanaman bersifat laten saat terinfeksi penyakit, artinya gejala penyakit tidak akan tampak oleh mata meskipun tanaman telah terinfeksi suatu penyakit. Namun, gejala akan muncul pada saat lingkungan mendukung pertumbuhan patogen. Faktor lingkungan yang berpengaruh seperti berkurangnya nutrisi seiring dengan pertumbuhan sampai masa panen. Pemupukan yang dilakukan

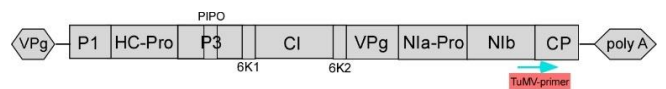
petani dilakukan sekali pada saat satu bulan pertama setelah penanaman. Selanjutnya apabila tidak ada gejala penyakit yang berarti petani tidak memupuk ulang lahan maupun tanaman. Kurangnya pupuk pada tanah menjadikan tanaman menjadi lemah dan mudah terserang virus. Gejala mosaik pada daun yang muncul pada tanaman berusia 90 HST menunjukkan bahwa tanaman sudah berusia tua sejak penanaman dan brokoli siap panen. Sehingga faktor kesuburan tanah yang semakin berkurang dan adanya vektor serangga pada tanaman memungkinkan kondisi tanaman yang mudah terinfeksi penyakit.

Adanya populasi kutu daun (aphid) pada tanaman brokoli menjadi perhatian tersendiri. Survei lapangan dalam penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-Agustus yang merupakan musim kemarau mengamati populasi kutu daun yang sangat melimpah. Keberadaan kutu daun di lahan tanaman brokoli tersebut dimungkinkan sangat berkaitan dengan penyebaran infeksi virus. Menurut Chung *et al.* (2015) serangga vektor banyak berkembang dengan baik di daerah tropika dan sangat melimpah pada suhu tinggi. Sehingga penyakit yang disebabkan karena infeksi potyvirus di Indonesia yang beriklim tropis dapat sangat tinggi. Adanya infeksi potyvirus pada tanaman brokoli dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh aphid yang telah membawa virus tersebut. Kondisi lingkungan sekitar lahan tanaman brokoli yang diamati dalam penelitian ini diduga ikut berpengaruh terhadap penyebaran potyvirus di lingkungan tersebut (Rusli *et al.*, 2007). Beberapa tanaman yang ditanam di sekitar lahan tanaman brokoli yang diamati dalam penelitian ini, meliputi tanaman sawi dan caisin merupakan jenis tanaman yang termasuk dalam kisaran kutu daun (aphid) sebagai vektor potyvirus, sehingga dimungkinkan adanya penyebaran infeksi potyvirus dari tanaman-tanaman tersebut (Rusli *et al.*, 2007, Lefkowitz *et al.*, 2018). Sebagaimana telah dilaporkan sebelumnya bahwa tanaman sawi dan kubis telah menjadi host infeksi TuMV (Adiputra *et al.*, 2012, Sa'idah *et al.*, 2013).

Deteksi TuMV dengan teknik RT-PCR

Deteksi TuMV pada sampel brokoli diawali dengan tahap ekstraksi RNA virus dan RNA total tanaman. Dalam penelitian ini, ekstraksi RNA dilakukan dengan kit yang dapat mengekstraksi RNA virus dan RNA total tanaman dari sampel daun brokoli tersebut. Deteksi TuMV dengan target gen yang berada pada daerah *coat protein* (CP) merupakan hal yang penting berkaitan dengan perannya dalam perpindahan virus pada sel tanaman dan daerah CP merupakan *conserved gene* dari beberapa spesies anggota potyvirus

dikarenakan sekuensnya yang tidak banyak berubah (Dai *et al.*, 2020).



Gambar 4. Posisi primer TuMV CP-F dan TuMV CP-R pada genome potyvirus.

Selain itu Li *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa deteksi TuMV melalui teknik RT-PCR menggunakan primer spesifik berhasil mengamplifikasi RNA virus dari sampel tanaman kacang. Pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi TuMV pada tanaman kacang berdasarkan sekuens selubung protein (*Coat Protein-CP*) dan sebagian daerah *Nuclear Inclusion body-b* (NIb) yang dapat menghasilkan produk amplifikasi RT-PCR berukuran kurang lebih 800 bp (Gambar 4). Sehingga primer tersebut dapat digunakan untuk identifikasi awal virus tersebut. Terdeteksinya TuMV menginfeksi tanaman brokoli di daerah Boyolali ini merupakan laporan pertama, sehingga hal ini brokoli merupakan host tanaman yang baru khususnya pada tanaman *family Brassicaceae*.

5. Kesimpulan

Berdasarkan studi lapangan dan pengujian molekuler yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa gejala mosaik pada tanaman brokoli di Desa Tlogolele, Kecamatan Selo, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah disebabkan oleh infeksi TuMV. Melalui penelitian ini, maka keberadaan TuMV yang menginfeksi tanaman brokoli perlu diwaspadai karena beresiko menurunkan produksi brokoli. Selain itu TuMV juga dikhawatirkan dapat menginfeksi penyakit ke tanaman lain di sekitarnya. Teknik RT-PCR merupakan metode yang tepat untuk deteksi virus yang mempunyai material genetik berupa RNA. Penelitian perlu dilakukan ke tingkat lanjut dengan deteksi dan *sequence genome* TuMV isolat Indonesia untuk melihat diversitas genetik dan pengembangan metode pengendaliannya.

6. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta (UNISA) atas dukungan dana penelitian melalui program hibah internal No. 21/LPPM/UNISA/I/2021. Terima kasih juga kami sampaikan kepada petani brokoli di desa Tlogolele, Kecamatan Selo, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah atas izin melakukan survey dan pengambilan sampel tanaman

7. Pernyataan Konflik Kepentingan (*Declaration of Conflicting Interests*)

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi dari artikel ini (*The authors have declared no potential conflicts of interest concerning the study, authorship, and/or publication of this article*).

8. Daftar Pustaka

- Adiputra J, Hidayat SH, Damayanti TA. 2012. Evaluasi tiga metode preparasi RNA total untuk deteksi *Turnip mosaic potyvirus* dari benih *Brassica rappa* dengan reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8 (2): 44-49.
- Aranda R, Dineen SM, Craig RL, Guerrieri RA, Robertson JM. 2009. Comparison and evaluation of RNA quantification methods using viral, prokaryotic, and eukaryotic RNA over a 10⁴ concentration range. *Analytical Biochemistry*. 387 (1): 122-127.
- Becker C, Hammerle-Fickinger A, Riedmaier I, Pfaffl MW. 2010. mRNA and microRNA quality control for RT-qPCR analysis. *Methods*. 50: 237-243.
- Choliq FA, Martosudiro M, Apriliana QA, Istiqomah. 2019. Pengaruh pemberian urin kelinci terhadap serangan *Turnip mosaic virus* (TuMV) pada tanaman kailan (*Brassica oleracea* var. Alboglabra) yang dibudidayakan secara organik. *Agroradix*. 2 (2): 18-30.
- Chung BY, Miller WA, Atkins JF, Firth AE. 2008. An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*. 105: 5897-5902.
- Chung BN, Choi KS, Ahn JJ, Joa JH, Do KS, Park KS. 2015. Effects of temperature on systemic infection and symptom expression of Turnip mosaic virus in Chinese cabbage (*Brassica campestris*). *Plant Pathol. J.* 31 (4): 363-370.
- Dai Z, He R, Bernards MA, Wang A. 2020. The cis-expression of the coat protein of turnip mosaic virus is essential for viral intercellular movement in plants. *Mol. Plant Pathol.* 21: 1194-1211.
- Gibbs AJ, Ohshima K. 2010. Potyvirus and the digital revolution. *Ann. Rev. Phytopathology*. 48: 205-223.
- Gibbs AJ, Nguyen HD, Ohshima K. 2015. The 'emergence' of turnip mosaic virus was probably a 'gene-for-quasi-gene' event. *Current Opinion in Virology*. 10:20-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2014.12.004>
- Gibbs AJ, Hajizadeh M, Ohshima K, Jones RAC. 2020. The potyviruses: an evolutionary synthesis is emerging. *Viruses*. 12: 132.
- Hafifah. 2017. Budidaya brokoli dengan bahan organik *Chromolaena odorata*. SEFA. Bumi Persada, Aceh Utara.
- Inoue-Nagata AK, Jordan R, Kreuze J, Li F, Lopez-Moya J, Makinen K, Ohshima K, Wylie SJ. 2022. ICTV report concertium 2022, ICTV virus taxonomy profile: *Potyviridae*. *Journal of General Virology*. 103: 001738.
- Kartiningtyas, dan Hidayat SH. 2006. Deteksi *Turnip mosaic virus* jaringan benih dan daun. *Jurnal HPT Tropika*. 6 (1): 32-40.
- Lefkowitz EJ, Dempsey DM, Hendrickson RC, Orton RJ, Siddell SG, Smith DB. 2018. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Virus (ICTV). *Nucleic Acid Res*. 46: D708-D717.
- Li M, Lin Q, Chen Y, Xu F, Peng J, Zheng H, Wu G, Rao S, Chen J, Lu Y, Yan F. 2022. First report of Turnip mosaic virus in peanut (*Arachis hypogaea*) in China. *Plant Disease*. 106 (3): 1077.
- Nellist CF, Ohshima K, Ponz F, Walsh JA. 2022. Turnip mosaic virus, a virus for all seasons. *Annals of Applied Biology*. 180: 312-327.
- Ohshima K, Yamaguchi Y, Hirota R, Hamamoto T, Tomimura K, et al. 2002. Molecular evolution of *Turnip mosaic virus*: evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread. *Journal of General Virology*. 83: 1511-1521.
- Moreno A, Fereres A. 2012. Virus disease in lettuce in the Mediterranean basin. *Adv. Virus Res.* 84: 247-288.
- Probowati W, Kawakubo S, Ohshima K. 2022. *Narcissus* plants: a melting pot of potyviruses. *Viruses*. 14: 582.
- Rapley R, Heptinstall J. 1988. Protocol RNA isolation and characterization protocols volume 86 of the series methods in molecular biology. In Rapley R, Manning DL (eds). *Methods in molecular biology*. Humana Press Inc. New Jersey, USA. p. 65-68.
- Revers F, Garcia JA. 2015. Molecular biology of potyviruses. *Adv. Virus Res.* 92: 101-199.
- Rusli ES, Hidayat SH, Suastika G, Kartosuwondo U. 2007. Kisaran inang dan keragaman gejala infeksi *Turnip mosaic virus*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 13 (1): 22-34.
- Sa'idah EY, Martosudiro M, Hadiastono T. 2013. Ketahanan lima varietas tanaman sawi hijau (*Brassica juncea* L.) terhadap infeksi *Turnip mosaic virus* (TuMV). *Jurnal HPT*. 1 (3): 9-18.
- Sambrook J, Fritsh EF, & Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: A Laboratory Manual* 2nd

- Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90210-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90210-6).
- Sari KN, Ayustaningwarno F. 2014. Kandungan serat, vitamin C, aktivitas antioksidan dan organoleptik keripik ampas brokoli (*Brassica oleracea* var *Italica*) panggang. *Journal of Nutrition College*. 3 (3): 378-385.
- Sevik MA. 2019. Viruses infecting cool season crops in the Northern Turkey. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3), e20180224. doi.org/10.1590/00013765201920180224
- Sharma P, Sahu AK, Verma RK, Mishra R, Choudharya DK, Gaur RK. 2014. Current status of Potyvirus in India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47: 906-918.
- Singh R, Banerjee A, Sharma SK, Kangjam V. 2020. Occurrence, Molecular Characterization and Physiological Study of Broccoli Infected with Turnip mosaic virus (TuMV) in Arunachal Pradesh, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 9(8): 1035-1042
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.908.113>
- Sopialena. 2017. Segitiga penyakit tanaman. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Sutarman. 2017. Dasar-dasar ilmu penyakit tanaman. Umisida Pres. Sidoarjo.
- Walsh J, Jenner CE. 2002. Turnip mosaic virus and the quest for durable resistance. *Molecular Plant Pathology*. 3: 289-300.
- Wu G, Fanga X, Yua T, Chena J, Yan F. 2024. Turnip mosaic virus pathogenesis and host resistance mechanisms in Brassica. *Horticultural Plant Journal*, 10 (4): 947e960.
<https://doi.org/10.1016/j.hpj.2024.03.001>.