

KAJIAN PEMANFAATAN KULTUR JARINGAN DALAM PERBANYAKAN TANAMAN BEBAS VIRUS

Arie Hapsani Hasan Basri

Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Medan

ABSTRACT

Provision of plant seeds to production processes is a very important aspect. The production process for large-scale such farms and plantations, needed of seeds in large quantities. The resulting seedlings are expected to have improved varieties, uniform, free of pests and pathogens as well as continuous provision.

Tissue culture is one technique that can be applied to produce virus-free seed in large quantities and a relatively short time. Apical meristem culture and callus culture method as an potential to eliminate virus that infects systemically because of the proliferation of cells of the apical meristem faster than the spread of the virus. In addition, the cells of the apical meristem havenot plasmodesmata. Utilization of tissue culture propagation as seedlings of virus-free plants is an alternative effective control and should be applied to a large scale.

Keywords : tissue culture, propagation of virus-free plants

PENDAHULUAN

Penyediaan bibit sebagai upaya pengembangan suatu tanaman dalam suatu proses produksi merupakan aspek yang sangat penting. Proses produksi untuk skala besar seperti pertanian dan perkebunan, membutuhkan bibit dalam jumlah banyak seperti varietas unggul, seragam, bebas hama dan patogen serta penyediaan yang kontinyu. Pada umumnya perbanyakan tanaman biasanya dilakukan secara konvensional yaitu menanam dari biji, stek, cangkok dan lain sebagainya. Metode-metode tersebut seperti diketahui adalah metode perbanyakan tanaman yang membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memperoleh bibit dalam jumlah banyak. Teknik perbanyakan secara konvensional menghadapi banyak kendala, baik teknis di lapangan, waktu, maupun kualitas. Oleh sebab itu, teknik kultur jaringan menjadi pilihan dalam upaya penyediaan bibit suatu tanaman.

Bioteknologi tanaman adalah budidaya jaringan tanaman secara *in vitro* yang memiliki kesejajaran dengan budidaya tanaman secara konvensional (Watimena *et al.*, 1992). Kultur jaringan tanaman diusahakan untuk menanam eksplan berupa bagian tanaman, jaringan sel, sub selular secara *in vitro* untuk tujuan tertentu. Teknik kultur jaringan adalah suatu teknik untuk

mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan dan organ yang ditumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang utuh lagi. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan ialah perbanyakan tanaman menggunakan bagian vegetatif tanaman pada media buatan yang dilakukan pada tempat steril.

Metode kultur jaringan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Metode ini selain digunakan untuk perbanyakan tanaman, juga digunakan untuk mengeliminasi virus. Parmessur *et al.*, (2002) dalam penelitiannya melaporkan bahwa metode *in vitro* kultur kalus mampu mengeliminasi virus penyebab penyakit garis kuning (*Sugarcane yellow leaf virus*) mencapai 100% dan kultur meristem apikal mampu mengeliminasi virus tersebut sebesar 64%. Balamuralikrishnan *et al.*, (2002) melaporkan bahwa eliminasi virus mosaik tebu (*Sugarcane mosaic virus*) menggunakan kultur meristem tip yang dikombinasikan dengan khemoterapi *ribavirin* pada 50 ppm mampu mengeliminasi virus tersebut sebesar 95% dibandingkan kultur meristem tanpa kombinasi.

Aplikasi teknik kultur jaringan bertujuan untuk eliminasi suatu penyakit atau produksi bibit bebas penyakit, kelestarian plasma nutfah, memperoleh varietas unggul dan produksi senyawa metabolit sekunder. Oleh karena itu, teknik kultur jaringan sangat penting di terapkan dalam perbanyakan tanaman baik untuk tanaman pertanian maupun tanaman perkebunan.

KULTUR JARINGAN

Kultur *in-vitro* adalah suatu teknik mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan dan organ, yang kemudian menumbuhkannya dalam media buatan dengan kondisi aseptik dan terkendali (Gunawan, 1988). Teknik ini pada awalnya digunakan dalam usaha perbanyakan tanaman secara cepat, namun saat ini telah berkembang menjadi sarana pendukung program perbaikan sifat tanaman (Mashudi, 1998). Teknik ini dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang besar tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Kultur *in vitro* selain digunakan untuk perbanyakan tanaman, juga digunakan untuk mengeliminasi virus.

Tahapan-Tahapan dalam Kultur Jaringan

1. Pembuatan media

Media merupakan faktor terpenting dalam pelaksanaan kultur jaringan. Media yang digunakan biasanya mengandung bahan-bahan pendukung seperti agar, hormon, garam mineral, vitamin, gula dan zat-zat yang diperlukan tanaman untuk tumbuh dan berkembang (zat pengatur tumbuh).

2. Inisiasi

Kontaminasi sering terjadi pada proses inisiasi, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor yaitu :

a. Keadaan eksplan

Eksplan yang akan ditanam harus bebas dari hama, penyakit maupun mikroorganisme lain yang kurang menguntungkan untuk tanaman. Umur tanaman juga mempengaruhi dalam pertumbuhan tanaman. Tanaman atau eksplan yang digunakan untuk kultur jaringan sebaiknya berada pada umur rata-rata dimana tanaman tersebut tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua. Hal ini disebabkan apabila tanaman berumur terlalu muda maka kemungkinan untuk tumbuh dan berkembang

sangat sulit karena tanaman yang masih muda mengandung senyawa fenol yang sangat tinggi sehingga akan mengakibatkan *browning* dan pada akhirnya eksplan akan mati. Sedangkan apabila tanaman yang akan digunakan untuk eksplan berumur tua akan sulit untuk tumbuh. Hal itu disebabkan karena tanaman berada pada masa matur/pertumbuhan yang lanjut sehingga sifat totipotensi pada sel tersebut sangat sedikit sekali atau bahkan tidak ada. Contohnya pada tanaman tebu, eksplan yang digunakan sebaiknya berumur sekitar 4–5 bulan (Basri, 2009).

b. Aseptisitas pekerja

Kebersihan pekerja juga perlu diperhatikan didalam perkembangbiakan secara kultur *in vitro*. Apabila pekerja dalam kondisi yang aseptis maka akan memperkecil kemungkinan terjadinya kontaminasi. Keadaan pekerja yang kurang aseptik akan memungkinkan terjadinya kontaminasi. Jadi didalam perkembangbiakan secara kultur *in vitro*, kesterilan pekerja juga sangat diperlukan untuk menunjang keberhasilan penanaman (Basri, 2009).

c. Sterilisasi alat dan bahan

Peralatan yang harus steril adalah *laminar air flow*, alat-alat, tabung kultur. Pada laminar sudah dilengkapi dengan *blower*, lampu UV sehingga dapat mensterilkan ruangan dalam laminar. Akan tetapi sebelum menggunakan laminar sebaiknya disemprot menggunakan alkohol 70 %. Alat-alat diseksi juga perlu disterilisasi, apabila alat-alat tersebut tidak disterilisasi kemungkinan terjadinya kontaminasi akan besar karena bekas-bekas eksplan ataupun media yang tersisa pada alat-alat diseksi akan menjadi sumber kontaminan. Oleh karena itu alat-alat diseksi juga perlu disterilisasi. Sterilisasi tabung dilakukan menggunakan oven atau *autoclave*.

3. Sterilisasi

Sterilisasi yang dimaksud dalam kegiatan ini adalah bahwa semua alat, bahan, kondisi laboratorium, eksplan, tempat inisiasi dan pekerja harus dalam kondisi aseptis.

4. Multiplikasi

Tahapan multiplikasi dilakukan untuk mendapatkan jumlah planlet yang lebih banyak.

5. Pengakaran

Pengakaran adalah proses yang dilakukan pada tanaman yang bertujuan untuk membentuk akar pada tanaman yang dikulturkan.

6. Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses pemindahan planlet dari botol kultur ke lapangan. Biasanya planlet terlebih dahulu di tanam di dalam polybag agar planlet beradaptasi dengan lingkungan sebelum di pindahkan ke lapangan.

Faktor-Faktor yang Mendukung Keberhasilan Kultur Jaringan

Kultur jaringan dalam pelaksanaannya tidak terlepas dari faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilannya. Faktor-faktor tersebut berperan penting dalam mendukung pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik kultur *in vitro*, antara lain: sumber bahan tanam yang digunakan sebagai eksplan, genotip tanaman, lingkungan tumbuh eksplan, unsur-unsur hara yang diperlukan bagi pertumbuhan eksplan, dan pelaksanaan kerja (Sofia, 2007).

1. Genotip Tanaman

Salah satu faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in-vitro* adalah genotip tanaman asal eksplan diisolasi. Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa respon masing-masing eksplan tanaman sangat bervariasi tergantung dari spesies, bahkan varietas, tanaman asal eksplan tersebut. Pengaruh genotip ini umumnya berhubungan erat dengan faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti kebutuhan nutrisi, zat pengatur tumbuh, lingkungan kultur, dll. Oleh karena itu, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan lingkungan pertumbuhan yang dibutuhkan oleh masing-masing varietas tanaman bervariasi meskipun teknik kultur jaringan yang digunakan sama.

Perbedaan respon genotip tanaman tersebut dapat diamati pada perbedaan eksplan masing-masing varietas untuk tumbuh dan beregenerasi. Masing-masing varietas tanaman berbeda kemampuannya dalam merangsang pertumbuhan tunas aksilar, baik jumlah tunas maupun kecepatan pertumbuhan tunas aksilarnya. Hal serupa juga terjadi pada pembentukan kalus, laju pertumbuhan kalus serta regenerasi kalus menjadi tanaman lengkap baik melalui pembentukan organ-organ adventif maupun embrio somatik. Regenerasi dan perkembangan organ adventif dan somatic embrio juga sangat ditentukan oleh varietas tanaman induk. Perbedaan pengaruh genetik ini disebabkan

karena perbedaan kontrol genetik dari masing-masing varietas serta jenis kelamin tanaman induk.

2. Media Kultur

Perbedaan komposisi media, komposisi zat pengatur tumbuh dan jenis media yang digunakan akan sangat mempengaruhi pertumbuhan dan regenerasi eksplan yang dikulturkan.

a. Komposisi Media

Perbedaan komposisi media, seperti jenis dan komposisi garam-garam anorganik, senyawa organik, zat pengatur tumbuh sangat mempengaruhi respon eksplan saat dikulturkan. Perbedaan komposisi media biasanya sangat mempengaruhi arah pertumbuhan dan regenerasi eksplan. Meskipun demikian, media yang telah diformulasikan tidak hanya berlaku untuk satu jenis eksplan dan tanaman saja. Beberapa jenis formulasi media bahkan digunakan secara umum untuk berbagai jenis eksplan dan varietas tanaman, seperti media MS. Namun ada juga beberapa jenis media yang diformulasikan untuk tanaman-tanaman tertentu misalnya WPM, VW dll. Media-media tersebut dapat digunakan untuk berbagai tujuan seperti perkecambahan biji, kultur pucuk, kultur kalus, regenerasi kalus melalui organogenesis dan embriogenesis. Media yang dibutuhkan untuk perkecambahan biji, perangsangan tunas-tunas aksilar umumnya lebih sederhana dibandingkan dengan media untuk regenerasi kalus baik melalui organogenesis maupun embriogenesis.

b. Komposisi Hormon Pertumbuhan

Komposisi dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang ditambahkan dalam media sangat mempengaruhi arah pertumbuhan dan regenerasi eksplan yang dikulturkan. Hormon pertumbuhan yang digunakan untuk perbanyak secara *in-vitro* adalah golongan auksin, sitokinin, giberelin, dan *growth retardan*. Auksin yang umum dipakai adalah IAA (Indole Acetic Acid), IBA (Indole Butyric Acid), NAA (Naphtalena Acetic Acid dan 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy Acetic Acid). Selain itu beberapa peneliti pada beberapa tanaman menggunakan juga CPA (Chlorophenoxy Acetic Acid). Sitokinin yang banyak dipakai adalah Kinetin (Furfuryl Amino Purine), BAP/BA (Benzyl Amino Purine/Benzyl Adenine), 2i-P (2-isopentenyl Adenin). Beberapa sitokinin lainnya yang juga digunakan adalah Zeatin, Thidiazuron dan PBA (6(benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranil)-9H-purine). Hormon

pertumbuhan golongan giberellin yang paling umum digunakan adalah GA₃, selain itu ada beberapa peneliti yang menggunakan GA₄ dan GA₇, sedangkan growth retardant yang sering digunakan adalah Ancymidol, Paraclobutrazol dan TIBA, AbA dan CCC.

c. Keadaan Fisik Media

Media yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah medium padat, medium semi padat dan medium cair. Keadaan fisik media akan mempengaruhi pertumbuhan kultur, kecepatan pertumbuhan dan diferensiasinya. Keadaan fisik media ini mempengaruhi pertumbuhan antara lain karena efeknya terhadap osmolaritas larutan dalam media serta ketersediaan oksigen bagi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan.

Media yang umum digunakan dalam mikropropagasi adalah semi-solid (semi padat) media dengan cara menambahkan agar. Media semi padat ini digunakan karena beberapa alasan antara lain 1) eksplan yang kecil mudah terlihat dalam media padat, 2) selama kultur eksplan tetap berada pada orientasi yang sama, 3) eksplan berada di atas permukaan media sehingga tidak diperlukan teknik aerasi tambahan pada kultur, 4) orientasi pertumbuhan tunas dan akar tetap, dan 5) kalus tidak pecah seperti jika ditempatkan pada media cair. Namun penambahan agar dalam beberapa kasus dapat menghambat pertumbuhan karena 1) agar mungkin mengandung senyawa penghambat yang dapat menghambat morfogenesis beberapa kultur atau memperlambat pertumbuhan kultur, 2) eksudasi fenolik dari eksplan terserap oleh media yang menempel dengan eksplan sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan eksplan, 3) agar harus dicuci bersih dari akar sebelum diaklimatisasi, dan 4) perlu waktu yang lebih banyak untuk mencuci gelas kultur misalnya botol-botol harus diautoclave untuk melarutkan agar sebelum dicuci.

3. Lingkungan Tumbuh

a. Suhu

Tanaman umumnya tumbuh pada lingkungan dengan suhu yang tidak sama setiap saat, misalnya pada siang dan malam hari tanaman mengalami kondisi dengan perbedaan suhu yang cukup besar. Keadaan demikian bisa dilakukan dalam kultur in vitro dengan mengatur suhu siang dan malam di ruang kultur, namun laboratorium kultur jaringan selama ini mengatur suhu ruang kultur yang konstant baik pada siang maupun malam hari. Umumnya temperatur yang digunakan dalam

kultur in vitro lebih tinggi dari kondisi suhu in vivo. Tujuannya adalah untuk mempercepat pertumbuhan dan morfogenesis eksplan.

Pada sebagian besar laboratorium, suhu yang digunakan adalah konstan, yaitu 25°C (kisaran suhu 17 - 32°C). Tanaman tropis umumnya dikulturkan pada suhu yang sedikit lebih tinggi dari tanaman empat musim, yaitu 27°C (kisaran suhu 24 - 32°C). Bila suhu siang dan malam diatur berbeda, maka perbedaannya umumnya adalah 4 - 8°C, variasi yang biasa dilakukan adalah 25°C siang dan 20°C malam, atau 28°C siang dan 24°C malam. Meskipun hampir semua tanaman dapat tumbuh pada kisaran suhu tersebut, namun kebutuhan suhu untuk masing-masing jenis tanaman umumnya berbeda-beda. Tanaman dapat tumbuh dengan baik pada suhu optimumnya. Pada suhu ruang kultur dibawah optimum, pertumbuhan eksplan lebih lambat, namun pada suhu diatas optimum pertumbuhan tanaman juga terhambat akibat tingginya laju respirasi eksplan.

b. Kelembaban Relatif

Kelembaban relatif dalam botol kultur dengan mulut botol yang ditutup umumnya cukup tinggi, yaitu berkisar antara 80 - 99%. Jika mulut botol ditutup agak longgar maka kelembaban relatif dalam botol kultur dapat lebih rendah dari 80%. Sedangkan kelembaban relatif di ruang kultur umumnya adalah sekitar 70%. Jika kelembaban relatif ruang kultur berada dibawah 70% maka akan mengakibatkan media dalam botol kultur (yang tidak tertutup rapat) akan cepat menguap dan kering sehingga eksplan dan plantlet yang dikulturkan akan cepat kehabisan media. Namun kelembaban udara dalam botol kultur yang terlalu tinggi menyebabkan tanaman tumbuh abnormal yaitu daun lemah, mudah patah, tanaman kecil-kecil namun terlampaui sukulen. Kondisi tanaman demikian disebut "vitriifikasi" atau "hiperhidrociti". Sub-kultur ke media lain atau menempatkan plantlet kecil ini dalam botol dengan tutup yang agak longgar, tutup dengan filter, atau menempatkan silica gel dalam botol kultur dapat membantu mengatasi masalah ini.

c. Cahaya

Seperti halnya pertumbuhan tanaman dalam kondisi in-vivo, kuantitas dan kualitas cahaya, yaitu intensitas, lama penyinaran dan panjang gelombang cahaya mempengaruhi pertumbuhan eksplan dalam kultur in-vitro. Pertumbuhan organ atau jaringan tanaman dalam kultur in-vitro

umumnya tidak dihambat oleh cahaya, namun pertumbuhan kalus umumnya dihambat oleh cahaya.

Pada perbanyakan tanaman secara in-vitro, kultur umumnya diinkubasikan pada ruang penyimpanan dengan penyinaran. Tunas-tunas umumnya dirangsang pertumbuhannya dengan penyinaran, kecuali pada teknik perbanyakan yang diawali dengan pertumbuhan kalus. Sumber cahaya pada ruang kultur ini umumnya adalah lampu fluorescent (TL). Hal ini disebabkan karena lampu TL menghasilkan cahaya warna putih, selain itu sinar lampu TL tidak meningkatkan suhu ruang kultur secara drastis (hanya meningkat sedikit). Intensitas cahaya yang digunakan pada ruang kultur umumnya jauh lebih rendah (1/10) dari intensitas cahaya yang dibutuhkan tanaman dalam keadaan normal. Intensitas cahaya dalam ruang kultur untuk pertumbuhan tunas umumnya berkisar antara 600 - 1000 lux. Perkecambahan dan inisiasi akar umumnya dilakukan pada intensitas cahaya lebih rendah.

Selain intensitas cahaya, lama penyinaran atau photoperiodisitas juga mempengaruhi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan. Lama penyinaran umumnya diatur sesuai dengan kebutuhan tanaman sesuai dengan kondisi alamiahnya. Periode terang dan gelap umumnya diatur pada kisaran 8 - 16 jam terang dan 16 - 8 jam gelap tergantung varietas tanaman dan eksplan yang dikulturkan. Periode siang/malam (terang/gelap) ini diatur secara otomatis menggunakan timer yang ditempatkan pada skaklar lampu pada ruang kultur. Dengan teknik ini penyinaran dapat diatur konstan sesuai kebutuhan tanaman.

4. Kondisi Eksplan

Pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh keadaan jaringan tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Selain faktor genetik eksplan yang telah disebutkan di atas, kondisi eksplan yang mempengaruhi keberhasilan kultur adalah jenis eksplan, ukuran, umur dan fase fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan.

Meskipun masing-masing sel tanaman memiliki kemampuan totipotensi, namun masing-masing jaringan memiliki kemampuan yang berbeda-beda untuk tumbuh dan beregenerasi dalam kultur jaringan. Oleh karena itu, jenis eksplan yang digunakan untuk masing-masing

kultur berbeda-beda tergantung tujuan pengkulturannya.

Umur eksplan sangat berpengaruh terhadap kemampuan eksplan tersebut untuk tumbuh dan beregenerasi. Umumnya eksplan yang berasal dari jaringan tanaman yang masih muda (juvenil) lebih mudah tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan jaringan yang telah terdiferensiasi lanjut. Jaringan muda umumnya memiliki sel-sel yang aktif membelah dengan dinding sel yang belum kompleks sehingga lebih mudah dimodifikasi dalam kultur dibandingkan jaringan tua. Oleh karena itu, inisiasi kultur biasanya dilakukan dengan menggunakan pucuk-pucuk muda, kuncup-kuncup muda, hipokotil, inflorescence yang belum dewasa, dll. Jika eksplan diambil dari tanaman dewasa, rejuvenilisasi tanaman induk melalui pemangkasan atau pemupukan dapat membantu untuk memperoleh eksplan muda agar kultur lebih berhasil.

Ukuran eksplan juga mempengaruhi keberhasilan kultur. Eksplan dengan ukuran kecil lebih mudah disterilisasi dan tidak membutuhkan ruang serta media yang banyak, namun kemampuannya untuk beregenerasi juga lebih kecil sehingga dibutuhkan media yang lebih kompleks untuk pertumbuhan dan regenerasinya. Sebaliknya semakin besar eksplan, maka semakin besar kemungkinannya untuk membawa penyakit dan makin sulit untuk disterilkan, membutuhkan ruang dan media kultur yang lebih banyak. Ukuran eksplan yang sesuai sangat tergantung dari jenis tanaman yang dikulturkan, teknik dan tujuan pengkulturannya.

VIRUS TANAMAN

Virus adalah suatu nukleoprotein yang dapat memperbanyak diri hanya dalam sel yang hidup dan memiliki kemampuan menyebabkan penyakit. Virus berukuran sangat kecil dengan diameter yang bervariasi dari 20–300nm dan membutuhkan bantuan mikroskop elektron untuk mengamatinya (Agrios, 2005). Virus tersusun atas asam nukleat dan protein (kapsid). Protein tersebut berfungsi sebagai pelindung yang berada disekelilingi asam nukleat (Yuwono, 2005).

Virus memiliki perbedaan dibandingkan dengan semua patogen tanaman, tidak hanya dalam ukuran dan bentuk tetapi juga pada susunan kimia dan struktur fisik, cara penularan, perbanyakan,

translokasi dalam jaringan inang, penyebaran dan gejala yang disebabkan pada tanaman inang. Ekspresi genetik virus juga dilakukan dengan menggunakan sistem enzim yang terdapat dalam tubuh inangnya (Agrios, 2005).

Virus tanaman pada umumnya terdiri dari asam nukleat dan protein. Akan tetapi, beberapa virus ada yang tersusun atas lebih dari satu ukuran asam nukleat dan protein, dan lainnya mengandung enzim dan lapisan lipid. Asam nukleat yang terkandung pada virus dapat mencapai 5–40 % dan 60–95 % sisanya adalah protein. Persentase asam nukleat tertinggi terdapat pada virus yang berbentuk bulat dan yang terendah terdapat pada virus yang berbentuk panjang (Agrios, 2005). Infeksi virus pada suatu tanaman bergantung kepada sintesa virus karena infeksi tidak akan terjadi bila virus tak dapat bermultiplikasi dalam inang.

Ciri-Ciri Serangan Virus Pada Tanaman

Tanaman yang terserang virus menunjukkan adanya perubahan bentuk atau morfologi tanaman dan nekrosis (kerusakan jaringan). Keadaan fisiologis tanaman juga terganggu ikut terganggu seperti berkurangnya kegiatan fotosintesa, kecepatan respirasi bertambah, terjadinya akumulasi senyawa nitrogen seperti senyawa amida, dan penurunan aktivitas zat pengatur pertumbuhan dan sebagainya. Gejala serangan virus dapat dibedakan ke dalam dua kelompok yaitu gejala eksternal dan gejala internal.

1. Gejala Eksternal (Luar)

Gejala eksternal merupakan gejala penyakit yang tampak yang terjadi pada daun, batang, bunga, buah, biji, akar dengan berbagai tipe gejala penyakit tergantung dari macam virus yang menyerang dan tanaman inangnya. Gejala penyakit yang umum dari infeksi virus ialah terhambatnya pertumbuhan yang mengakibatkan menurunnya hasil dan tanaman lebih cepat mati. Gejala penyakit yang ditimbulkannya dapat sangat berat atau sangat ringan sekali sehingga tidak tampak jelas. Gejala yang paling jelas biasanya terdapat pada daun seperti timbulnya mozaik. Tetapi ada sejumlah virus yang dapat menimbulkan gejala penyakit pada batang, buah, akar dan sebagainya tapi tidak terlihat pada daun.

Kebanyakan penyakit virus tanaman bersifat sistematis dan virus terdapat diseluruh bagian

tanaman. Gejala yang ditimbulkannya disebut gejala sistematis. Tapi untuk virus tertentu dan pada tanaman tertentu, gejala serangnya bersifat lokal dengan timbulnya gejala nekrosis ditempat terjadinya infeksi oleh virus. Gejala semacam ini disebut gejala lokal.

Tipe gejala penyakit virus yang banyak terdapat pada tanaman ialah mozaik, kuning dan bercak bercincin atau bercak bergaris. Gejala lainnya ialah penghambatan pertumbuhan, kerdil, daun menggulung, mengkerut atau berubah seperti tali sepatu, roset, nekrosis, floem batang berlekuk-lekuk, buah berlekuk-lekuk, tumor, inesiasi, percabangan berbentuk sapu dan sebagainya.

2. Gejala Internal (Dalam)

Selain gejala yang tampak dari luar, serangan virus juga dapat menimbulkan gejala internal. Gejala internal yang ditimbulkan oleh berbagai virus akan berbeda tergantung dari penyebaran virus tersebut dalam tanaman, virus dari kelompok mosaik tidak terbatas pada jaringan tanaman tertentu tapi tersebar dalam tubuh tanaman. Pada penyakit tersebut bagian yang berwarna hijau berkembang dengan cepat sedangkan bagian yang berwarna kuning tertahan pertumbuhannya. Dengan terjadinya pertumbuhan yang tidak merata, permukaan daun bergelombang atau menggulung.

Faktor Yang Mempengaruhi Gejala Penyakit Pada Tanaman

Keadaan tumbuhan berpengaruh pada perkembangan gejala penyakit. Pada umumnya gejala penyakit virus jelas sekali terlihat pada bagian tanaman yang pertumbuhannya cepat. Jika terjadi infeksi pada bagian tanaman yang sudah tua biasanya perkembangan penyakit tidak begitu sempurna, kecuali pada bagian-bagian tanaman yang masih muda yang tumbuh kemudian. Tanaman yang terkena infeksi virus ada yang menunjukkan gejala penyakit ringan atau sama sekali tidak menampakkan gejala penyakit. Tanaman tersebut dinamakan pembawa yang tidak menimbulkan gejala dan virus tersebut disebut virus laten.

Tanaman yang biasanya memperlihatkan gejala penyakit jika terinfeksi oleh suatu virus tertentu tetapi pada keadaan lingkungan tertentu (temperatur tinggi atau rendah) gejala penyakitnya untuk sementara tidak tampak, maka gejala semacam ini disebut gejala tersamar. Jika keadaan

lingkungannya berubah kembali maka gejala penyakitnya terlihat lagi. Dengan adanya gejala yang tersamar ini dapat menimbulkan banyak kesulitan dalam melakukan eradikasi terhadap tanaman yang telah terkena infeksi.

Dalam hubungan dengan keadaan lingkungan, gejala penyakit virus tidak begitu jelas, jika tanaman yang terinfeksi berada di lingkungan gelap, dibawah peneduh atau pada tanaman tanah yang lebih kering seperti terjadi pada penyakit mosaik dan penyakit bergaris pada tebu. Pada umumnya keadaan hara tanah yang baik untuk pertumbuhan tanaman akan baik pula untuk perkembangan virus dan timbulnya gejala penyakit. Peningkatan dosis nitrogen dan fosfor baik untuk perkembangan gejala penyakit virus sedangkan kalium memberikan akibat yang sebaliknya.

Diantaranya faktor lingkungan, efek temperatur telah banyak dipelajari. Temperatur yang optimum untuk perkembangan gejala penyakit biasanya lebih rendah daripada temperatur optimum untuk pertumbuhan tanaman. Temperatur yang sama seringkali mempunyai efek yang berlainan untuk berbagai virus. Adakalanya temperatur tertentu menyamakan gejala virus yang satu, tapi untuk virus yang lainnya malah memberikan gejala yang lebih jelas tampaknya. Walaupun gejala penyakit virus tidak tampak, tetapi hal ini tidak selalu berarti telah terjadi penyembuhan pada tanaman sakit.

PEMBAHASAN

Penyediaan bibit sebagai upaya pengembangan suatu tanaman dalam suatu proses produksi merupakan aspek yang sangat penting. Proses produksi untuk skala besar seperti pertanian dan perkebunan, membutuhkan bibit dalam jumlah banyak. Bibit yang dihasilkan diharapkan memiliki varietas unggul, seragam, bebas hama dan patogen serta penyediaan yang kontinyu. Akan tetapi, bibit yang beredar di lapangan sering terinfeksi virus.

Virus adalah mikroorganisme yang terdiri dari RNA atau DNA saja. Virus adalah suatu nukleoprotein yang dapat memperbanyak diri hanya dalam sel yang hidup dan memiliki kemampuan menyebabkan penyakit (Yuwono, 2005). Dalam budidaya tanaman, virus serang

menginfeksi tanaman dengan beberapa cara yaitu dengan kontak antara tanaman sakit, melalui luka mekanis, dan melalui bibit tanaman. Virus yang terbawa oleh bibit tanaman biasanya sulit dikendalikan karena virus sudah terbawa ke dalam DNA atau RNA tanaman. Hal ini terjadi karena virus memanfaatkan asam amino, ribosom dan transfer RNA dari inang untuk digunakan sebagai *blueprint* (*messenger RNA*) virus. Protein yang dibentuk kemudian digunakan sebagai selubung virus. Ekspresi genetik virus juga dilakukan dengan menggunakan sistem enzim yang terdapat dalam tubuh inangnya (Agrios, 2005). Oleh sebab itu, pengendalian pada bibit tanaman yang telah terinfeksi penyakit virus sangat susah dikendalikan.

Cara pengendalian yang dianggap mampu mengurangi bahkan menghilangkan virus dari bibit tanaman adalah dengan teknik kultur jaringan. Teknik-teknik kultur jaringan baik kultur kalus, meristem tip, dan meristem apikal serta kultur jaringan yang dikombinasikan dengan beberapa pemanasan dan bahan kimia tertentu telah diteliti yang semuanya bertujuan untuk mengeliminasi atau mengeradikasi virus pada proses pembibitan.

Teknik ini pada awalnya digunakan dalam usaha perbanyak tanaman secara cepat, namun saat ini telah berkembang menjadi sarana pendukung program perbaikan sifat tanaman (Mashudi, 1998). Metode kultur jaringan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Metode ini selain digunakan untuk perbanyak tanaman, juga digunakan untuk mengeliminasi virus. Penelitian yang dilakukan Parmessur *et al.*, (2002) melaporkan bahwa metode *in vitro* kultur kalus mampu mengeliminasi virus penyebab penyakit garis kuning (*Sugarcane yellow leaf virus*) mencapai 100% dan kultur meristem apikal mampu mengeliminasi virus tersebut sebesar 64%. Hal ini juga didukung dengan penelitian Balamuralikrishnan *et al.*, (2002) melaporkan bahwa eliminasi virus mosaik tebu (*Sugarcane mosaic virus*) menggunakan kultur meristem tip yang dikombinasikan dengan kemoterapi *ribavirin* pada 50 ppm mampu mengeliminasi virus tersebut sebesar 95% dibandingkan kultur meristem tanpa kombinasi.

Pengestuti (2013) melaporkan bahwa eliminasi virus pada bawang merah menggunakan kombinasi kultur meristem batang dan

elektroterapi 5 mA selama 10 menit menghasilkan nilai efisiensi terapi tertinggi sebesar 28,57 %. Meristem batang merupakan sumber eksplan terbaik untuk perlakuan eliminasi virus baik dari kemampuan eliminasi virusnya maupun pertumbuhan eksplan pasca perlakuan eliminasi virus. Penggunaan elektroterapi dapat meningkatkan persentasi eksplan bebas virus tanpa menyebabkan kemunduran pertumbuhan eksplan.

Penelitian lain yang mendukung keberhasilan kultur jaringan dalam mengeliminasi atau mengeradikasi virus dilakukan oleh Noveriza dan kawan-kawan. Noveriza *et al.*, (2012) melaporkan bahwa kultur jaringan dengan teknik meristem apikal pada tanaman nilam berpotensi untuk menghasilkan stek yang bebas virus. Tanaman nilam yang diperbanyak dari kultur meristem apikal dengan ukuran eksplan 0,5 – 1 mm menghasilkan 33,3 – 99,9 % tanaman bebas virus (*Potyvirus*). Perlakuan stek batang nilam yang direndam dalam air panas dengan suhu 50 – 60⁰ C selama 10 – 30 menit tidak dapat mengeliminasi *Potyvirus* yang menginfeksi ketiga varietas nilam (varietas nilam Sidikalang, Lhokseumawe, dan Tapak tuan) yang diuji.

Pengujian dengan perendaman tanaman yang terserang virus kedalam air panas (*Hot Water Treatment*) pada suhu tertentu ataupun perlakuan udara panas pada suhu tertentusudah lama dilakukan untuk mengendalikan penyakit. Menurut Copes dan Blythe (2009), perendaman setek batang azalea (*Rhododendron*) pada air panas suhu 50⁰C selama 21 menit efektif untuk mengeliminasi *Rhizoctonia* AG P (*anastomosisgroup P*). Selain itu, Hot Water Treatment (HWT) pada suhu 50⁰C selama 30 menit efektif mengeliminasi cendawan patogen dan endofit pada jaringan setek anggur (Crouset *al.*, 2001). Akan tetapi pengendalian dengan cara ini di rasa kurang efektif karena hanya berfungsi meningkatkan ketahanan tanaman dibandingkan menghilangkan atau memusnahkan virus dari tubuh tanaman.

Ketahanan tanaman yang baik akan mengurangi gejala penyerangan virus pada tubuh tanaman. Hal ini sesuai dengan penelitian Noveriza *et al.*, (2012), melaporkan bahwa Perlakuan perendaman setek batang nilam varietas Sidikalang, Lhokseumawe, dan Tapak Tuan, yang terinfeksi oleh *Potyvirus* pada suhu 50^oC selama 10 menit, belum mampu mengeliminasi virus, tetapi dapat mempertahankan daya tumbuh (viabilitas) setek nilam 63,6-90,9%. Hal tersebut

ditunjukkan dengan munculnya gejala mosaik pada daun setek batang nilam sampai tanaman berumur 2 bulan setelah persemaian. Munculnya gejala mosaik lebih lamadibandingkan setek batang pada tanpa HWT. Hal inimenunjukkan bahwa HWT mampu memperlambat munculnya gejala mosaik pada tanaman nilam. Hal ini juga di dukung dengan penelitian Damayanti *et al.* (2010) melaporkan bahwa titik inaktivasi suhu untuk *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) adalah antara 55 sampai 60⁰C dan lebih tinggi dari titik suhu kematian tanaman tebu. Semua perlakuan panas tidak sepenuhnya menghilangkan SCSMV, namun HWT pada suhu 53⁰C selama 10 menit secara drastis mengurangi keparahan penyakit dan tetap menjaga viabilitas tanaman 100%.

Berdasarkan penelitian diatas dapat dipastikan bahwa salah satu cara pengendalian virus yang paling efektif adalah dengan menggunakan kultur jaringan baik dengan teknik kultur kalus maupun dengan meristem apikal. Seperti yang diketahui virus yang telah masuk ke dalam sel inang, kemudian akan berpindah dari satu sel ke sel lainnya dan memperbanyak diri. Perpindahan virus dari sel yang satu ke sel yang lain melalui plasmodesmata. Plasmodesmata berfungsi sebagai penghubung sel yang berdekatan. Virus yang mencapai jaringan pengangkut akan bersama-sama dengan asimilat masuk ke dalam floem atau buluh ayak dan menyebar secara pasif ke bagian tumbuhan yang menggunakan asimilat seperti akar, bagian tumbuhan yang muda dan sedang berkembang serta buah. Virus kemudian kembali memasuki jaringan parenkim dan bergerak perlahan-lahan dari sel ke sel. Proses memperbanyak diri virus terjadi pada setiap sel parenkim. Virus berkembang sekitar 1 milimeter atau 8 – 10sel perhari dalam sel parenkim daun. Virus membutuhkan 2 – 5 hari atau lebih untuk berpindah dari daun yang terinfeksi. Virus menyebar secara sistemik diseluruh tanaman dan masuk kembali ke sel parenkim yang berbatasan dengan floem dan terus ke plasmodesmata (Bos, 1990; Agrios, 2005).

Penggunaan metode kultur meristem apikal sangat potensial sebagai upaya untuk mengeliminasi virus yang menginfeksi secara sistemik karena proliferasi sel-sel meristem apikal lebih cepat dibandingkan penyebaran virus. Selain itu, pada sel-sel meristem apikal belum ada plasmodesmata. Hal ini sesuai dengan pernyataan Barahima (2003), regenerasi tunas meristem apikal menghasilkan plantlet bebas virus dapat terjadi

karena proliferasi sel-sel meristem tunas apikal lebihcepat dibandingkan dengan penyebaran partikel virussehingga setiap saat terdapat sel-sel yang belum terinvasivirus. Plantlet yang dihasilkan dari sel-sel yang tidakterinfeksi virus menghasilkan plantlet bebas virus. Sehingga dapat dinyatakan bahwa pemanfaatan kultur jaringan sebagai perbanyakkan bibit tanaman bebas virus merupakan salah satu alternatif pengendalian yang efektif dan harus di terapkan untuk skala besar.

KESIMPULAN

Penyediaan bibit tanaman dalam suatu proses produksi merupakan aspek yang sangat penting. Proses produksi untuk skala besar seperti pertanian dan perkebunan, membutuhkan bibit dalam jumlah banyak. Bibit yang dihasilkan diharapkan memiliki varietas unggul, seragam, bebas hama dan patogen serta penyediaan yang kontinyu.

Kultur Jaringan merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk menghasilkan bibit bebas virus dalam jumlah banyak dan waktu yang relatif singkat. Penggunaan metode kultur meristem apikal dan kultur kalus sangat potensial sebagai upaya untuk mengeliminasi virus yang menginfeksi secara sistemik karena proliferasi sel-sel meristem apikal lebih cepat dibandingkan penyebaran virus. Selain itu, pada sel-sel meristem apikal belum ada plasmodesmata. Pemanfaatan kultur jaringan sebagai perbanyakkan bibit tanaman bebas virus merupakan salah satu alternatif pengendalian yang efektif dan harus di terapkan untuk skala besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. London. 948 p.
- Balamuralikrishnan, M., S. Doraisamy, T. Ganapathy, dan R. Viswanathan. 2002. Combined Effect of Chemotherapy and Meristem Culture on *Sugarcane Mosaic Virus* Elimination in Sugarcane. *Sugar Tech* Vol. 4 (1&2): 19-25. www.springerlink.com. Tanggal akses 11 November 2008.
- Balamuralikrishnan, M., S. Doraisamy, T. Ganapathy, dan R. Viswanathan. 2003. Impact of serial thermotherapy on *Sugarcane mosaic virus* and regeneration in sugarcane. *Arch. Phytopathol. And Plant Protect.* 36: 173-178.
- Barahima, W.P. 2003. Eliminasi *Sweet Potato Feathery Mottle Virus* (SPFMV) pada empat kultivar ubi jalar unggul lokal asal Papua melalui teknik kultur meristem. *Bul. Agron.* 31(3): 81-88.
- Basri, A. H. H. 2009. Eliminasi Virus Mosaik Bergaris Tebu (*Sugarcane Streak Mosaic Virus*) Melalui Teknik Kultur *In Vitro*. Tesis. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.
- Basri, A. H. H. 2015. Bioekologi Virus Mosaik Bergaris Tebu (*Sugarcane Streak Mosaic Virus*) dan Cara Pengendaliannya. *Agrica Ekstensia* Volume 9 (1) : 50-57 ISSN 1978 – 5054. Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Medan. Medan.
- Boss, L. 1990. Pengantar Virologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 226 p.
- Copes, W.E. and E.K. Blythe. 2009. Chemical and Hot Water Treatments to Control *Rhizoctonia* AG P infesting Stem Cuttings of Azalea. *HortScience.* 44(5): 1370-1376.
- Crous, P.W., L. Swart, and S. Coertze. 2001. The Effect of Hot Water Treatment on Fungi Occurring in Apparently Healthy Grapevine Cuttings. *Phytopathol. Mediterr.* 40(S): 464-466.
- Damayanti, T.A., L.K. Putra, and Giyanto. 2010. Hot water Treatment of Cutting Cane Infected With *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV). *J. ISSAAS* 16(2): 17-25.
- Gunawan, L. W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Pusat Antar Universitas (PAU). Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 304 Hal.
- Hadiastono, T. 2001. Dasar-dasar Perlindungan Tanaman. Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. 86 Hal.

- Mashudi, M. F. dan A.D. Ambarwati, 1998. Seleksi *In vitro* Tanaman Padi Tahan kekeringan dengan Teknik Kultur Jaringan. *Buletin Pertanian*, **Volume 13** (1) : 10-14.
- Noveriza, R., G. Suastika, S. H. Hidayat, U. Kartosuwondo. 2012. Eliminasi Potyvirus Penyebab Penyakit Mosaik Pada Tanaman Nilam Dengan Kultur Meristem Apikal Dan Perlakuan Air Panas Pada Setek Batang. *Jurnal Litri* 18(3) : 107-114 ISSN 0853 – 8212.
- Pangestuti, R. 2013. Eliminasi Virus Pada Bawang Merah Dengan Elektroterapi Secara In Vitro. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. http://etd.repository.ugm.ac.id/index.php?mod=penelitian_detail&sub=PenelitianDetail&act=view&typ=html&buku_id=60911 Tanggal akses 26 Februari 2016
- Parmessur, Y., S. Aljanabi, S. Saumtally dan A. Dookun-Saumtally. 2002. *Sugarcane yellow leaf virus and Sugarcane yellows phytoplasma: Elimination by Tissue Culture*. Mauritius sugar Industry Research Institute. Mauritius. CD-ROM Perpustakaan Brawijaya. *Plant Pathology* 51,561-566. Tanggal akses 3 september 2008.
- Sastrahidayat, I. R. 1984. Epidemiologi Penyakit Tumbuhan. Laboratorium Fitopatologi Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 336 Hal
- Sofia, D. 2007. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzyl Amino Purine dan Cycocel terhadap Pertumbuhan Embrio Kedelai (*Glicine max. L Merr*) secara In Vitro. Karya Tulis. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Wattimena, G. A., L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman. Deparemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 307 Hal.
- Yuwono, T. 2005. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Penerbit Andi. Yogyakarta. 239 Hal.