

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penelitian-penelitian buatan virus yang banyak dilakukan pada saat ini sering menggunakan buffer fosfat sebagai larutan penyangga dalam penularan mekanis pada tanaman. Pada dasarnya banyak buffer yang berpotensi sebagai alternatif yang berperan untuk menunjang keberhasilan penularan mekanis virus tanaman disamping buffer fosfat, khususnya untuk virus-virus tanaman yang dapat menyebabkan gejala mosaik.

Virus penyebab penyakit mosaik merupakan salah satu di antara virus-virus tumbuhan yang memegang peranan penting sehubungan dengan pengurangan hasil biji (Sinclair and Dhingra, 1977). Dikemukakan oleh Evikyochong Bong Jo Chung dan Song Hyung Lee (1977) dalam Hadiastono (1997) bahwa strain Soy-MV-N dapat menginfeksi *Chenopodium amaranticolor*, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba* dan *Gomphrena globosa*. Soybean Mosaic Virus (SMV) merupakan virus kedelai yang mempunyai daerah sebaran yang luas. Virus ini dapat menginfeksi tanaman buncis dan menimbulkan gejala yang mirip dengan kedelai. SMV dapat ditularkan baik secara mekanis maupun melalui vektor.

Gejala infeksi dapat terjadi pada sel epidermis atau jaringan dibawah sel mesofil. Ketika sel epidermis terluka, kutikula dan dinding epidermis terpenetrasi dan membiarkan virus untuk masuk. Jika dibandingkan dengan mekanisme penyebaran virus lain (vektor, vegetatif, dsb), penyebaran mekanis biasanya tidak begitu berperan pada kondisi dilapang.

Penularan mekanis pada virus tumbuhan merupakan salah satu jenis penularan yang banyak dilakukan untuk penelitian di laboratorium maupun di rumah kaca. Hull (2002) mengemukakan bahwa teknik ini dapat digunakan untuk memperbanyak virus tanaman, penentuan infektivitas, uji kisaran inang, dan mengevaluasi ketahanan tanaman inang. Keberhasilan penularan ini tergantung pada kualitas sumber inokulum virus, kondisi fisiologis tanaman inang yang akan diinokulasi, persiapan inokulum, dan proses pelukaan permukaan bagian tanaman.

Infektivitas virus pada penularan mekanis akan bertambah dengan adanya penambahan buffer pada sap.

Tahap awal suatu penularan mekanis adalah pembuatan sap tanaman sakit sebagai inokulum virus. Tahap ini dilakukan dengan cara menghancurkan bagian tanaman yang terinfeksi virus. Proses ini akan menyebabkan perubahan pH yang dapat mengganggu stabilitas virus. Untuk mencegah perubahan pH yang terlalu tinggi maka perlu ditambahkan buffer ke dalam sap. Buffer–buffer seperti Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl dan Fosfat dapat pula digunakan dalam penularan mekanis virus tumbuhan. Namun demikian penggunaan buffer tersebut belum pernah diuji untuk penularan virus mosaik kedelai (SMV) pada tanaman buncis.

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian pengaruh penggunaan buffer Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl dan Fosfat terhadap efektivitas inokulasi penularan mekanis SMV secara mekanis pada tanaman buncis.

1.2. Permasalahan

1. Masih terdapat kemungkinan buffer lain selain Fosfat yang bisa digunakan sebagai penunjang penularan mekanis SMV pada tanaman buncis.
2. Bagaimana pengaruh berbagai jenis buffer terhadap efektifitas SMV.

1.3. Hipotesis

1. Terdapat jenis buffer yang efektif dan pengaruhnya terhadap persistensi SMV pada tanaman buncis selain Fosfat.

1.4. Tujuan

1. Untuk mengetahui jenis buffer yang efektif dan pengaruhnya terhadap persistensi SMV pada tanaman buncis.

1.5. Manfaat

1. Dapat diketahui jenis buffer yang efektif dan pengaruhnya terhadap persistensi SMV pada tanaman buncis.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Deskripsi Tanaman Buncis.

2.1.1. Klasifikasi Tanaman Buncis.

Kacang Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) adalah tanaman sayuran penghasil biji, termasuk famili leguminoceae yang merupakan tanaman semusim (Samsudin, 1985). Menurut Benson (1957), tanaman buncis dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Rosales
Suku	: Leguminosae
Sub-suku	: Papilionoideae
Marga	: Phaseolus
Jenis	: <i>Phaseolus vulgaris</i> L.

2.1.2. Morfologi Tanaman Buncis.

Tipe pertumbuhan tanaman buncis dibedakan atas 2 tipe: yaitu tipe merambat yang umumnya berbatang memanjang setinggi 2-3 m dan tipe tegak yang mempunyai ketinggian batang mencapai 50-60 cm. Tanaman buncis memiliki akar tunggang yang dapat menembus tanah pada kedalaman kurang lebih 1 m. Sebagian akar-akarnya membentuk bintil-bintil (nodula) yang merupakan unsur nitrogen yang berfungsi antara lain menyerap air dan unsur hara (Rukmana, 1994). Batang tanaman buncis berbentuk segiempat atau hampir silinder, daunnya berselang-seling, beranak daun tiga dengan bentuk jorong segitiga (Somaatmaja, 1993).

2.2. Soybean Mosaic Virus.

2.2.1. Deskripsi *Soybean Mosaic Virus*.

Deskripsi SMV berdasarkan sifat fisik, kimia dan biologinya mengacu pada CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses oleh Bos (1972) dapat dilihat pada Lampiran 3.

Menurut sistem klasifikasi yang diusulkan oleh Lindbo and Dougherty (1994) dalam Kado (1972), SMV merupakan anggota dari famili Potyviridae, genus Potyvirus. Genus ini mempunyai rumus kriptogram [R/1; 3.5/5; E/E; S/Ap]. Genus Potyvirus merupakan genus terbesar dan secara ekonomi anggota ini sangat penting dalam kelompok virus tumbuhan dan mempunyai kisaran infeksi yang luas (Matthews, 1991).

Bos (1990), menyatakan mosaik merupakan kelompok gejala yang terjadi pada daun dengan penampakan perubahan warna dari bagian yang normal, biasanya terjadi di sepanjang ujung tulang daun dan terkadang membentuk pola yang tidak teratur. Pada kejadian lain perubahan warna hanya terjadi sepanjang tulang daun atau menyebar di beberapa tempat, penampakan tersebut dapat bersifat halus.

Dalam Anonymous (1990) dinyatakan tanaman kedelai yang terserang SMV daunnya mengecil dan menyempit, setelah itu tepi daun agak melengkung ke dalam, warna menjadi hijau tua, mengkerut dan rapuh. Tanaman yang terserang menghasilkan sedikit polong dan bentuknya tidak normal. Sebagian biji terdapat bercak coklat, tergantung pada varietas kedelai, strain virus dan waktu infeksi. Virus ini dapat ditularkan melalui cairan daun (sap) dan biji kedelai. Virus ini hanya menyerang tanaman kedelai dan beberapa kacang buncis.

Gejala mosaik ini menurut Sastrahidayat (1990), disebabkan oleh penurunan laju fotosintesa oleh virus dengan cara mengurangi jumlah klorofil per daun atau efisiensi klorofil per luas daun. Mosaik juga dikarenakan karena adanya penurunan jumlah karbohidrat pada jaringan tumbuhan. Hal ini disebabkan karena selama masa sintesa protein virus, sebagian asam nukleat juga membentuk protein lain. Beberapa diantara protein ini adalah berupa enzim, baik enzim yang sudah

ada dalam sel inangnya maupun enzim yang baru. Enzim ini dapat mempengaruhi reaksi kimia pada sel inang sehingga mempengaruhi fungsi fisiologis sel.

Bos (1990), mengemukakan SMV adalah anggota dari Potato Virus Y, kelompok virus tumbuhan terbesar yang sekarang telah diketahui. Bentuk batang lentur panjang, badan kandungan karakteristik terdapat dalam sitoplasma mengandung struktur cakera atau silindris. Sedangkan menurut Hadiastono (1994), SMV merupakan sebuah partikel berbentuk benang lentur dengan ukuran panjang 700-800 nm, pada jaringan daun yang terinfeksi virus ditemukan badan inklusi berbentuk cakera.

Walker (1957) menjelaskan bahwa sebagian besar virus mosaik ditularkan melalui benih. Walaupun penularan melalui cara mekanis memungkinkan, tetapi cara penularan ini jarang ditemukan di lapang. Pada suhu dibawah 16 °C atau diatas 28 °C, gejala mosaik yang terlihat pada tanaman relatif rendah. Gejala menunjukkan intensitas yang tinggi pada suhu antara 20-28 °C. Dalam hal ini, Semangun (1993) menambahkan titik pemanasan inaktivasi virus ini adalah pada temperatur 65-70 °C selama 10 menit.

2.2.2. Gejala pada Tanaman Kacang-kacangan.

Semangun (1991), mengemukakan bahwa gejala SMV pada kedelai terlihat mula-mula tulang daun pada anak daun yang masih muda menjadi kuning jernih. Setelah itu daun menjadi tidak rata (berkerut) dan mempunyai gambaran mosaik dengan warna hijau gelap di sepanjang tulang daun. Tepi daun sering mengalami klorosis, pada beberapa varietas terjadi gejala nekrotik disertai warna coklat pada tulang daun, daun menguning kerdil, batang (tulang daun coklat), tunas-tunas penuh bercak, daun rontok dan akhirnya mati. Tanaman sakit membentuk polong kecil rata, kurang berbatu dan lebih melengkung, ukuran biji lebih kecil dan daya kecambah rendah. Sebagian biji dari tanaman sakit berbecak coklat tetapi ini tergantung dari kultivar kedelai, strain virus dan umur tanaman pada waktu terjadi infeksi. Sedangkan untuk tanaman buncis, Rismunandar (1995) menambahkan bahwa Tanaman buncis dapat diserang oleh virus "mosaik biasa" dan dapat pula oleh "mosaik kuning". "Mosaik biasa" gejalanya tampak pada

daun, yaitu belang-belang hijau kuning, bentuknya tak normal dan pertumbuhan tanaman terhambat (kerdil). Warna hijau tampil lebih banyak didekat tulang-tulang daun. Jenis-jenis buncis yang tidak tahan terhadap serangan mosaik ini, daunnya akan mengkerut atau melengkung cekung ke bawah.

“Mosaik kuning” mengakibatkan kontras antara warna kuning dan hijau daun lebih jelas daripada “mosaik biasa”. Biji buncis yang diserang mosaik berwarna belang-belang, berubah bentuk dan kulitnya kasar.

Hadiastono (1997) mengemukakan bahwa gejala SMV pada legume (kacang-kacangan) khususnya kedelai adalah: daun tidak dapat berkembang biak dengan baik, ukuran daun menjadi lebih kecil dan menyempit, jaringan sepanjang tulang daun mengkerut, menyerupai cacar, bagian tepi daun melengkung ke bawah, biji yang terinfeksi menunjukkan pola belang sepanjang garis radial.

Pertumbuhan tanaman yang terserang lebih dini menjadi lebih kerdil, daun mengecil dan tidak berbentuk, keriput, warna daun menjadi gelap sepanjang tulang daun. Serangan SMV pada varietas yang peka dapat menimbulkan gejala nekrotik, daun menguning, tanaman menjadi kerdil, tunas penuh bercak dan daun cepat rontok (Sudjono. *et al*, 1985)

Gejala SMV pada umumnya terjadi gejala nekrosis dan mosaik pada daun-daunnya. Gejala lama-kelamaan daun berubah menjadi hijau gelap, daun mengkerut, tepi daun agak melengkung ke dalam dan ukuran daun lebih kecil (Anonymous, 1992).

2.2.3. Kisaran Inang.

Kisaran inang *Soybean Mosaic Virus* relatif sempit, terbatas pada tanaman kacang-kacangan, yaitu: *Glycine max* dan *Phaseolus vulgaris* (buncis). Tanaman bukan kacang-kacangan yang berpotensi sebagai inang alternatif adalah *Amaranthus* sp., *Chenopodium* sp., *Setaria* sp., *Physalis virginana*, *P. longifolia* dan *Solanum carolinense* serta *Spinacea oleracea*, *Gomphrena globosa*, *Tetragonia expansa*, *Lupinus luteus*, *Petunia hybrida* dan isp. (Hadiastono, 1998) menambahkan bahwa tanaman inang lain dari beberapa jenis legum adalah *P. vulgaris* (mosaik) dan *Polichus lab-lab* (lokal).

2.2.4. Sifat Fisik dan Morfologi SMV.

SMV termasuk dalam kelompok virus kentang Y (Potato Virus Y). Virus berbentuk batang lentur dengan panjang sekitar 750 nm dan lebar 15-18 nm. Ukuran partikel sangat erat kaitannya dengan infektivitas, partikel berukuran lebih dari 656 nm sangat infeksius.

Komposisi partikel terdiri atas 6-7 % asam ribonukleat (RNA) dengan berat molekul $3,25 \times 10^6$. Suhu inaktivasi adalah 50-60 °C (selama 10 menit). Titik pengenceran terakhir adalah 10^{-3} - 10^{-6} . Virus dapat bertahan in vitro dalam keadaan berupa cairan perasan tanaman sakit selama 1-4 hari pada suhu kamar. Daya tahan in-vitro sekitar 14-15 hari pada suhu 4 °C (Sastrahidayat, 1990).

Menurut Bos (1972), komponen fisik SMV diantaranya: SMV merupakan partikel yang fleksius dengan panjang sekitar 750 nm, TIP (Thermal Inactivation Point) berkisar 55-60 °C dalam 10 menitnya. DEP (Dilution End-Point)-nya berkisar 10^{-3} . Infektivitas dalam sap daun umumnya 2-3 hari pada suhu kamar (Bos, 1972). LIV (Longevity In-Vitro) virus yaitu: 14-15 hari dalam sap tanaman dan disimpan pada suhu 4 °C (Galvez, 1963).

2.2.5. Infeksi Virus pada Tanaman.

Virus tumbuhan hanya dapat memperbanyak diri dalam sel-sel inangnya. Proses perbanyakannya sering mengacaukan fisiologi inang dan dapat menyebabkan penyakit (Bos, 1990).

Hadiastono (1998) bagian yang aktif dari virus adalah asam nukleatnya oleh karena itu untuk dapat menginfeksi maka asam nukleat harus lepas dari pembungkusnya sehingga virus tersebut dapat bermultiplikasi dalam jaringan inangnya.

Perbanyakan diri virus yang menginfeksi sel tanaman dilakukan sebelum bergerak dan menyebar keseluruh bagian tanaman. Sedangkan laju penyebaran virus menurut Sastrahidayat (1987) dalam Sastrahidayat (1990), adalah laju penyebaran virus dari sel ke sel berbeda-beda tergantung pada jenis dan umur sel tumbuhan yang terinfeksi. Dan kecepatan infeksi lebih tinggi terjadi pada sel-sel muda dibandingkan pada sel-sel tua.

Akibat dari infeksi virus dapat menurunkan laju fotosintesis dengan mengurangi jumlah klorofil per daun serta efisiensi klorofil sehingga mempengaruhi pembentukan fotosintat (Agrios, 1996).

2.2.6. Faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan Virus.

Perkembangan virus dipengaruhi oleh banyak faktor. Faktor utama adalah tanaman inang. Hal ini disebabkan virus hanya mampu memperbanyak dalam jaringan yang hidup. Faktor lain yang juga mempengaruhi adalah: sinar, suhu dan unsur hara. Sinar dan suhu sering bersifat menentukan terhadap sifat dan beratnya gejala. Tumbuhan yang biasanya menghasilkan gejala setelah infeksi virus tertentu mungkin tetap tanpa gejala dibawah keadaan lingkungan tertentu (suhu rendah atau tinggi).

Tumbuhan mungkin menunjukkan gejala akut atau berat segera setelah inokulasi serta mungkin menyebabkan kematian inang. Jika inang dapat bertahan hidup pada permulaan fase serangan, maka gejala cenderung menjadi lebih lemah (gejala kronis) pada bagian tumbuhan yang berkembang kemudian, yang mungkin dapat sembuh sebagian atau secara total (Agrios, 1988)

Stevens (1974) menambahkan virus yang ada dalam sap mempunyai pengaruh yang beragam akibat suhu dan pH media. Sejumlah enzim atau komponen lain dari sap dapat menunjang ataupun menghambat efektifitas virus. Konsentrasi virus pada tanaman sakit bisa juga menunjang virus tersebut untuk menginfeksi bagian yang lain dan menjadikannya semakin parah dari berbagai kondisi.

Demikian juga unsur hara merupakan faktor yang diperlukan oleh tanaman untuk metabolismenya. Kebanyakan virus memerlukan metabolisme inang yang aktif untuk perbanyakannya. (Bos, 1990)

Menurut Agrios (1988), tumbuhan sebagai inang patogen pada umumnya tumbuh pada kisaran suhu 1-40 °C, kebanyakan jenis tumbuhan tumbuh sangat baik antara 15-30 °C. Pada suhu yang tinggi, transpirasi (penguapan) akan meningkat dan aktifitas dalam sel akan meningkat pula. Selanjutnya Sastrahidayat (1990) menambahkan bahwa pada suhu yang tinggi pergerakan virus menjadi

cepat, hal ini mungkin disebabkan oleh bertambahnya aliran protoplasma dan makin cepatnya aktifitas sel inang dalam suhu yang tinggi.

2.2.7. Pengendalian penyakit SMV.

Keberhasilan usaha pengendalian virus kacang-kacangan sangat berhubungan dengan pengetahuan kita tentang epidemi dan sifat-sifat virus, ekologi vektor, ekologi tanaman inang utama dan ekologi tanaman-tanaman lain baik yang dibudidayakan maupun liar yang dapat merupakan inang bagi virus maupun vektornya.

Menurut Bos (1990), sampai sejauh ini bagi tanaman sakit yang terinfeksi oleh virus dilapang masih belum ada penyembuhan langsung walaupun sudah ada hasil penelitian yang diharapkan dengan menggunakan zat agen kemoterapi. Pengaruh bahan kimia pada perbanyakan akan mempengaruhi metabolisme inangnya juga.

Penggunaan varietas tahan merupakan salah satu pengendalian penyakit yang sederhana, praktis, efektif dan ekonomis. Penanaman varietas tahan bukan saja melindungi tanaman dari penyakit tapi juga menghemat waktu, energi dan biaya yang digunakan untuk penyemprotan dan tindakan-tindakan lain untuk mengendalikan penyakit serta menghindari kontaminasi lingkungan dengan bahan kimia beracun yang biasa digunakan untuk mengendalikan penyakit (Agrios, 1996).

Usaha pengendalian terhadap SMV yang ditularkan oleh serangga vektor dilakukan dengan cara menanam varietas tahan, menekan serangga vektor dan menghilangkan sumber inokulum di lapangan (Semangun, 1991).

2.2.8. Penularan Virus secara Mekanis.

Virus tidak mempunyai mekanisme penyebaran dari satu inang ke inang yang lain kecuali ada agen luar yang berperan. Virus bisa saja ditularkan melalui penyambungan bagian tanaman, jembatan dodder (tali putri), dengan menularkan ekstrak murni dari tanaman sakit pada permukaan daun sehat atau melalui agen biologi. Dapat juga melalui perbanyakan vegetatif bagian tanaman, melalui benih,

efek aktifitas makan serangga atau melalui aktifitas nematoda maupun jamur seperti: *Olpidium*.

Penularan mekanis banyak digunakan dalam perbanyakan virus dengan cara menumbuk bagian tanaman sakit sampai terbentuk sap dan ditularkan pada permukaan daun tanaman sehat. Setelah itu bagian permukaan tanaman yang rusak akibat karborundum yang dicampurkan pada sap akan mengalami kerusakan sel karena masuknya virus dalam jaringan tanaman. (Stevens, 1974).

Menurut Sastrahidayat (2003), Untuk menularkan virus secara mekanis, diambil bagian tumbuhan yang mengandung konsentrasi virus yang tinggi seperti misalnya daun yang muda dan kelopak bunga, kemudian ditumbuk dengan mortar dan pestle atau dengan grinder. Hancurnya sel-sel tumbuhan tersebut menyebabkan lepasnya virus pada sap. Untuk menstabilkan virus maka biasanya dipakai larutan buffer fosfat, kemudian disaring dengan kain kasa, kemudian disentrifugasikan pada kecepatan rendah untuk melepaskan sisa-sisa dan jaringan tumbuhan.

Sap tersebut kemudian dioleskan pada daun tumbuhan muda yang sebelumnya sudah ditaburi karborundum 600 mesh. Cara pengolesan tersebut dapat dengan kain, jari, spatula, kuas atau dengan sprayer kecil. Bila inokulasi berhasil, maka virus akan masuk kedalam sel daun melalui luka yang ditimbulkan oleh karborundum tadi. Pada tumbuhan yang menunjukkan gejala lokal, gejala biasanya timbul 4-7 hari setelah inokulasi, dan jumlah dari lokal lesion yang ada sebanding dengan konsentrasi pada sap.

Pada inang yang menunjukkan gejala sistemik, gejala biasanya muncul 10-14 hari setelah inokulasi, kadang-kadang lebih. Kadang-kadang ada pula tumbuhan yang mula-mula menunjukkan gejala lokal lesion sesudah itu baru menunjukkan gejala sistemik. Untuk penyebaran secara mekanis ini hubungan kekerabatan antara tumbuhan yang menjadi donor virus dan tumbuhan penerima tidak penting. Karena virus dari suatu jenis tumbuhan dapat ditularkan pada berbagai jenis tumbuhan lain yang tak mempunyai kekerabatan sama sekali.

Hadiastono (2002) menambahkan penularan mekanis dapat dilakukan melalui kontak cairan perasan (ekstrak) tanaman yang mengandung virus, disebut sebagai inokulum. Inokulum ditularkan pada permukaan daun tanaman sehat.

Dalam hal penularan cara ini partikel virus berpenetrasi melalui lapisan kutikula dan epidermis daun tanaman sehat. Permukaan daun yang akan diinokulasi harus dilukai terlebih dahulu. Apabila tanaman cukup rentan terhadap infeksi virus, beberapa kemungkinan reaksi tanaman terhadap infeksi virus dapat terjadi,

1. Terjadi reaksi lokal pada bagian yang diinokulasi.
2. Terjadi reaksi sistemik (belang, mosaik, deformasi pada daun, lokal lesio, nekrosis, dan sebagainya. Gejala tersebut menyebar keseluruh bagian tanaman.
3. Tidak timbul gejala.
 - a. Walaupun virus menyebar dalam tanaman, akan tetapi tidak menampakkan gejala, artinya tanaman tidak bereaksi positif. Tanaman mungkin tahan atau toleran terhadap infeksi virus, atau gejala tidak nampak dengan jelas karena kondisi lingkungan kurang memungkinkan (symptomless carrier, masked symptom)
 - b. Walaupun virus sudah masuk ke dalam tanaman, namun tidak dapat bermultiplikasi dan berkembang ke bagian tanaman lain, sehingga tidak menampakkan gejala, mungkin tanaman tahan terhadap virus.
 - c. Virus tidak dapat menginfeksi tanaman, tanaman kebal terhadap virus.

Hadiastono (1997), menambahkan bahwa penularan SoyMV dapat dilakukan secara mekanik dengan karborundum 500 mesh.

2.3. Persistensi Virus dalam cairan perasan.

Setiap virus mempunyai stabilitas dalam cairan perasan yang berbeda-beda, banyak faktor yang juga berperan dalam penentuan sifat persistensi virus dalam cairan perasan, diantaranya yang penting adalah suhu ruangan.

Pengujian persistensi virus pada umumnya dilakukan terhadap infektivitas virus pada tanaman inang indikator. Tanaman indikator yang digunakan adalah

yang menunjukkan reaksi lokal, dengan demikian akan mudah dihitung infektivitasnya berdasarkan jumlah lesio yang terbentuk (Hadiastono, 1997).

Berdasarkan jumlah lesio lokal yang terbentuk dan gejala yang ditimbulkan oleh tanaman indikator, maka sifat suatu virus dapat diketahui dengan melihat karakterisasi fisik virus yang meliputi: DEP, TIP dan LIV.

Menurut Hadiastono (1997), kemampuan bertahan virus terhadap pemanasan dapat diuji selama 10 menit pada interfal pemanasan 10 sampai 100 °C. Pada beberapa jenis virus mampu bertahan sampai 100 °C, misalnya TMV, sedang jenis-jenis virus yang lain berkisar antara 45 sampai 60 °C.

2.4. Buffer (Larutan Penyangga).

Larutan yang dapat menunjukkan ketahanan tertentu baik terhadap asam maupun basa disebut dengan Larutan buffer atau larutan penyangga. Larutan buffer dapat juga dibuat dengan melarutkan suatu basa lemah dan garamnya bersama-sama. Umumnya, larutan buffer mengandung campuran dari suatu asam lemah dan garamnya atau suatu basa lemah dan garamnya. (Vogel, 1979).

Macam-macam jenis buffer sangat bervariasi, tetapi jenis-jenis yang sering digunakan dalam inokulasi mekanis virus yaitu dari golongan fosfat. Penambahan buffer seperti fosfat dapat mempengaruhi persistensi virus dalam cairan perasan (sap) sehingga berpengaruh juga terhadap infektivitas virus.

Menurut Hadiastono (1998) kadang-kadang penambahan buffer seperti fosfat sangat diperlukan untuk kestabilan virus dalam cairan perasan, khususnya terhadap pengaruh keasaman larutan yang dapat mempengaruhi persistensi virus dalam cairan perasan. Kadang-kadang ada beberapa virus yang dapat mengalami kemunduran sifat aktifasi (inaktif) apabila terjadi perubahan keasaman yang cukup drastis. Perubahan sifat keasaman cairan perasan berpengaruh terhadap inaktifasi virus dalam sap. Vinson dan Petri (1931) dalam Kado (1972), menambahkan buffer fosfat telah sering digunakan dan telah menjadi penunjang dalam meningkatkan infektivitas virus.

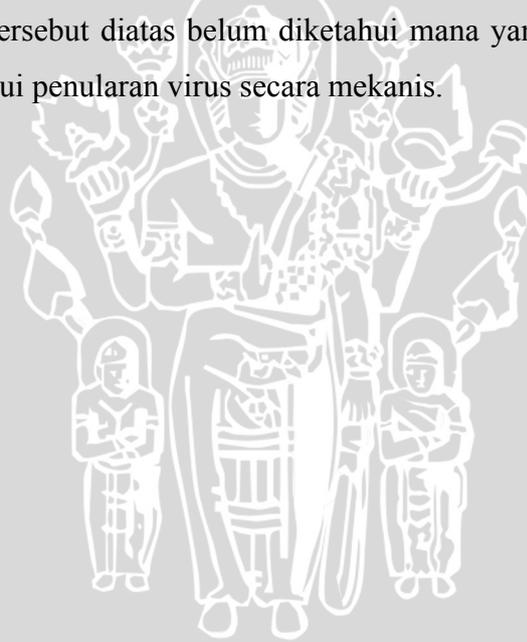
Konsentrasi optimum fosfat bervariasi; Yarwood (1952) dalam Kado (1972), menunjukkan bahwa 1% ekstrak dari dipotassium fosfat (0,057 M)

menghasilkan sejumlah lesio lokal TMV (Tobacco Mosaic Virus) pada daun kacang pinto, sedangkan Thornberry (1935) and Beraha et al. (1955) dalam Kado (1972), menemukan bahwa 0,1 M dipotassium fosfat optimum terhadap virus yang sama pada daun kacang Scotia.

Berikut merupakan nama-nama buffer beserta kisaran pH-nya yang akan diuji terhadap persistensi SMV:

1. Asam Asetat (CH_3COOH) 0,01M; pH = 1-2,2.
2. Asam Borat (H_3BO_3) 0,01 M; pH = 5-7,6.
3. Asam Sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) 0,01M; pH = 3-4.
4. Tris-HCl (HCl) 0,01M; pH = 1-2.
5. Asam Fosfat (KH_2PO_4) 0,01M pH = 6,8-7.

Buffer-buffer tersebut diatas belum diketahui mana yang efektif terhadap persistensi SMV melalui penularan virus secara mekanis.



BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan dan Rumah Kaca Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, mulai bulan Oktober sampai dengan Desember 2006.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: hand sprayer, penumbuk porselin, gelas ukur, kain kasa, kertas label, alat tulis, tissue, termometer dan pemanas.

Bahan-bahan yang diperlukan adalah benih buncis merah dan inokulum SMV berupa daun tanaman kedelai segar yang terserang SMV diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI), 5 macam jenis buffer yaitu: Fosfat 0,01M; Sitrat 0,01M; Borat 0,01M; Tris- HCl 0,01M dan Asetat 0,01M; kaborundum 600 mesh, aquades steril dan alkohol 70%.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan, masing-masing untuk mengetahui perlakuan buffer pada sap yang mengandung virus dalam berbagai suasana suhu, pengenceran dan lama penyimpanan sap yang berbeda.

3.3.1. Percobaan pengaruh perlakuan Buffer dan Suhu pada sap terhadap SMV.

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah buffer yang terdiri dari lima jenis, yaitu: buffer Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl dan Fosfat. Faktor kedua adalah macam suhu pemanasan sap yaitu: 30°C, 50°C dan 70°C. Dari perlakuan ini diperoleh kombinasi perlakuannya sebagai berikut:

Tabel 1. Kombinasi perlakuan Buffer dan Suhu pada sap kedelai yang mengandung virus.

Buffer	Perlakuan suhu		
	30°C	50°C	70°C
Asetat	A30	A50	A70
Borat	B30	B50	B70
Sitrat	C30	C50	C70
Tris-HCl	T30	T50	T70
Fosfat	P30	P50	P70

3.3.2. Percobaan pengaruh perlakuan Buffer dan Pengenceran sap terhadap SMV.

Percobaan kedua adalah perlakuan pengaruh buffer dengan tingkat pengenceran sap yang berbeda. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah jenis buffer yang terdiri dari lima jenis, yaitu: buffer Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl dan Fosfat. Faktor kedua yaitu macam pengenceran sap yaitu pengenceran 10^{-2} , 10^{-4} dan 10^{-6} . Dari perlakuan ini diperoleh kombinasi perlakuannya sebagai berikut:

Tabel 2. Kombinasi perlakuan Buffer dan Pengenceran pada sap kedelai yang mengandung virus.

Buffer	pengenceran		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Asetat	A2	A4	A6
Borat	B2	B4	B6
Sitrat	C2	C4	C6
Tris-HCl	T2	T4	T6
Fosfat	P2	P4	P6

3.3.1. Percobaan pengaruh perlakuan Buffer dan Lama penyimpanan sap terhadap SMV.

Percobaan ketiga adalah perlakuan pengaruh buffer dengan lama penyimpanan sap yang berbeda. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan tiga ulangan. Faktor pertama adalah jenis buffer

yang terdiri dari lima jenis, yaitu: buffer Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl dan Fosfat. Faktor kedua adalah macam lama penyimpanan sap yaitu: 24 dan 48 jam.

Dari perlakuan ini diperoleh kombinasi perlakuannya sebagai berikut:

Tabel 3. Kombinasi perlakuan Buffer dan Lama Penyimpanan pada sap kedelai yang mengandung virus.

Buffer	Lama penyimpanan sap	
	24 jam	48 jam
Asetat	A24	A48
Borat	B24	B48
Sitrat	C24	C48
Tris-HCl	T24	T48
Fosfat	P24	P48

Tiap perlakuan terdiri dari satu tanaman, tiap tanaman ditempatkan dalam satu polybag. Daun yang diinokulasi merupakan daun trifoliet kedua, jadi dalam satu tanaman terdapat tiga ulangan. Jumlah keseluruhan tanaman buncis untuk semua perlakuan dan kontrol adalah 80 tanaman yang terdiri dari: Uji Suhu (30 tanaman), Uji Pengenceran (30 tanaman) dan Uji Lama Penyimpanan sap (20 tanaman).

Sebagai kontrol digunakan semua perlakuan tanpa diinokulasi virus dengan ulangan sebanyak tiga kali. Data dianalisis menggunakan uji F (5%) dan untuk membedakan perlakuan satu dengan yang lain dilanjutkan dengan uji UJBD (5%).

3.4. Persiapan Penelitian

3.4.1. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan berupa campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Media tersebut terlebih dahulu disterilkan dengan menggunakan formalin 4%, kemudian ditutup dengan menggunakan plastik selama 7 hari. Selanjutnya plastik dibuka kemudian dikeringanginkan sampai formalin tidak berbau lagi. Setelah itu tanah dapat dimasukkan dalam polibag.

3.4.2. Persiapan Benih Tanaman Uji

Sebelum ditanam benih dimasukkan dalam larutan Dithane M-45 dengan konsentrasi 2 g/l selama 5 menit, setelah itu benih ditanam ke dalam media yang sudah disterilkan. Benih buncis ditanam ke dalam polibag dengan masing-masing polibag ditanam dua benih buncis agar didapatkan 3 ulangan pada tiap perlakuan setelah munculnya daun majemuk.

3.4.3. Persiapan Pupuk

Pupuk Urea, SP-36 dan KCL ditimbang sesuai dengan kebutuhan tanaman per polibag, masing-masing 100 kg/ha.

3.4.4. Persiapan Sap Tanaman Sakit

Daun kedelai yang terserang SMV sebanyak 10 gram dilumatkan dengan menggunakan penumbuk porselen (mortal dan pastle), kemudian ditambahkan lima macam buffer 0,01 M, 100 ml secara terpisah sesuai dengan perlakuan sehingga diperoleh lima macam sap berdasarkan buffer yang berbeda. Lumatan daun sakit yang telah dicampur dengan larutan buffer disaring dengan menggunakan kain kasa dan sap yang diperoleh ditampung dalam gelas ukur 100 ml. Sap kemudian diperlakukan dengan suhu, pengenceran dan lama penyimpanan sesuai dengan macam perlakuan dalam tempat yang terpisah.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Inokulasi Virus pada Tanaman Uji

Pelaksanaan inokulasi dilakukan secara mekanis. Tanaman kedelai yang telah berumur 7 hari (daun sudah membuka sempurna) diinokulasi dengan cara mengusap secara halus permukaan daun dengan menggunakan bubuk karborundum 600 mesh sampai terjadi luka. Kemudian cairan sap tanaman sakit dioleskan pada daun secara perlahan-lahan dengan menggunakan jari tangan. Setelah 10 menit daun dibilas dengan menggunakan air mengalir lalu diinkubasi sampai muncul gejala. Cara inokulasi pada masing-masing percobaan sebagai berikut:

1. Percobaan pengaruh buffer dan suhu sap yang berbeda.

Pada pengujian ini, sap dari masing-masing jenis buffer dipanaskan dengan menggunakan waterbath pada berbagai tingkat pemanasan yaitu: 30°, 50° dan 70° selama 10 menit, kemudian sap didinginkan dengan air mengalir.

Sap yang telah dingin kemudian diinokulasikan pada daun tanaman buncis yang telah digelapkan selama 2 hari. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

2. Percobaan pengaruh buffer dengan pengenceran sap yang berbeda.

Pada tahap pengujian ini, masing-masing sap diinokulasikan pada daun kacang buncis yang sebelumnya telah digelapkan selama 2 hari.

Sap dari masing-masing jenis buffer diencerkan pada berbagai tingkat pengenceran, yaitu: 10^{-2} , 10^{-4} dan 10^{-6} kemudian sap hasil dari masing-masing pengenceran diinokulasi pada tanaman buncis dan diulang sebanyak tiga kali.

3. Percobaan pengaruh buffer dengan lama penyimpanan sap.

Pada pengujian ini, sap dari masing-masing jenis buffer disimpan pada suhu kamar (24-25 °C) dengan umur waktu penyimpanan yang berbeda yaitu: 24, 48 jam. Kemudian sap diinokulasikan pada daun tanaman buncis yang telah digelapkan selama 2 hari. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

3.5.2. Pelaksanaan Pemupukan

Pupuk N (urea) diberikan bersamaan dengan pupuk KCL dan SP-36 pada awal penanaman.

3.5.3. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman buncis meliputi penyiraman, penyiangan gulma dan pengendalian hama dan penyakit. Penyiraman dilakukan setiap hari sekali untuk memenuhi kebutuhan air bagi tanaman. Penyiangan gulma dilakukan secara mekanik yaitu dengan mencabut gulma yang tumbuh di dalam polibag. Sedangkan untuk pengendalian hama digunakan insektisida dan menggunakan

penutup kasa untuk menghindarkan dari serangan hama. Untuk pengendalian penyakit dilakukan pencegahan dengan perendaman benih dengan menggunakan fungisida Dithane M-45.

3.6. Variabel Pengamatan

3.6.1. Masa Inkubasi dan Gejala.

Masa inkubasi adalah masa inokulasi sampai munculnya gejala SMV pada tanaman buncis. Pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari sejak hari pertama tanaman diinokulasi sampai munculnya gejala pertama.

3.6.2. Intensitas Serangan

Pengamatan Intensitas Serangan dilakukan berdasarkan nilai (skor) daun yang terserang. (Tabel 4.)

Tabel 4. Penilaian Skor daun Tanaman Sakit berdasarkan Gejala Mosaik dan Malformasi dihitung dengan menggunakan skoring menurut Windham dan Ross (Putro, 2005) yang telah dimodifikasi.

Skor	Katagori Serangan SMV pada Daun
0	Daun Sehat
1	Gejala mosaik ≤ 50 % dari luas daun
2	Gejala mosaik ≥ 50 % dari luas daun
3	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil
4	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil dan berkerut
5	Gejala mosaik, ukuran daun mengecil, berkerut serta daun menggulung ke bawah.

Intensitas Serangan tanaman yang terserang SMV dinilai berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$I = \frac{\sum(n \times v)}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan:

- I : Intensitas Serangan tiap tanaman
- n : Jumlah daun dari tiap katagori serangan
- Z : Nilai atau skor dari setiap katagori serangan tertinggi (5)
- v : Nilai atau skor dari setiap katagori serangan (0-5)
- N : Jumlah daun yang diamati tiap tanaman.

Pengamatan Intensitas Serangan diamati setiap tiga hari sekali.



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Masa Inkubasi dan Gejala

Masa inkubasi virus SMV pada tanaman uji dihitung mulai hari pertama pada saat tanaman diinokulasi sampai dengan munculnya gejala pertama. Dari analisis ragam terhadap masa inkubasi SMV menunjukkan bahwa terjadi pengaruh yang nyata pada perlakuan kombinasi antara buffer dan suhu yang berbeda, buffer dan pengenceran sap yang berbeda dan buffer dengan lama penyimpanan sap yang berbeda.

4.1.1. Percobaan Pengaruh Perlakuan Buffer dan Suhu sap.

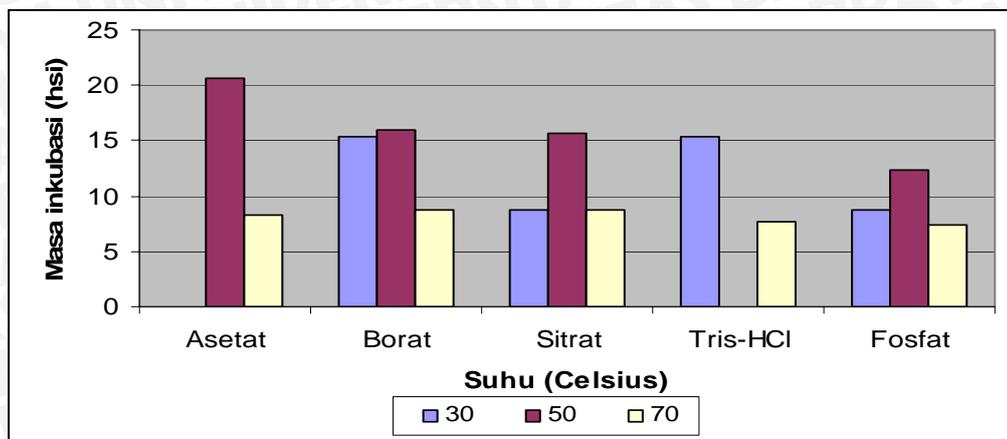
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan tingkat suhu pemanasan (Tabel 1. Lampiran 1.). Hasil analisis menggunakan UJBD (5%) terhadap masa inkubasi disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.

Buffer	Rerata Masa Inkubasi (hari)		
	30°C	50°C	70°C
Asetat	0.00g	20.67a	8.33f
Borat	15.33bc	16.00a	8.67d
Sitrat	8.67d	15.67b	8.67d
Tris-HCl	15.33cd	0.00g	7.67f
Fosfat	8.67e	12.33d	7.33f

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

Masa inkubasi tercepat adalah pada perlakuan buffer Fosfat (70°C) yaitu 7.33 hari yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan buffer Asetat (70°C) 8.33 hari, dan Tris-HCl (70°C) 7.67 hari. Sedangkan masa inkubasi terlama yaitu pada buffer Asetat (50°C) yaitu 20.67 hari yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan buffer Borat (50°C) yaitu 16 hari.



Gambar 1. Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.

Dari tabel 5. tampak bahwa mulai suhu pemanasan sap 30°C, 50°C dan 70°C, buffer yang mengalami masa inkubasi tercepat yaitu buffer Fosfat.

Grafik di atas juga menunjukkan bahwa urutan suhu jika dilihat dari masa inkubasi tercepat sampai terlama yaitu 70°C, 50°C dan 30°C. Semakin tinggi suhu pemanasan sap juga berpengaruh pada kondisi virus dalam sap tersebut, jadi kemungkinan virus tidak dapat bertahan pada suhu tertentu pula. Tetapi tidak semua virus dapat bertahan pada suhu berkisar rendah atau adapula virus yang masih dapat bertahan pada suhu tinggi seperti 70°C seperti pada penelitian ini, walaupun nantinya virus tersebut akan mengalami inaktivasi jika suhu ditingkatkan lebih lanjut jika mengalami pemanasan selama 10 menitnya. Nampak bahwa buffer pada Fosfat mempunyai pH yang sesuai sehingga virus dalam sap tidak mengalami perubahan keasaman yang mungkin dapat berpengaruh terhadap inaktivasinya.

Dalam hal ini, Stevens (1974) mengemukakan virus yang ada dalam sap mempunyai pengaruh yang beragam akibat suhu dan pH media. Sejumlah enzim atau komponen lain dari sap dapat menunjang ataupun menghambat efektifitas virus. Konsentrasi virus pada tanaman sakit bisa juga menunjang virus tersebut untuk menginfeksi bagian yang lain dan menjadikannya semakin parah dari berbagai kondisi. Hadiastono (1998) juga menambahkan kadang-kadang penambahan buffer seperti fosfat sangat diperlukan untuk kestabilan virus dalam cairan perasan, khususnya terhadap pengaruh keasaman larutan yang dapat

mempengaruhi persistensi virus dalam cairan perasan. Kadang-kadang ada beberapa virus yang dapat mengalami kemunduran sifat aktifasi (inaktif) apabila terjadi perubahan keasaman yang cukup drastis. Perubahan sifat keasaman cairan perasan berpengaruh terhadap inaktivasi virus dalam sap.

Dari hasil penelitian yang dilakukan tampak bahwa buffer Fosfat dengan suhu pemanasan 70°C masih dapat menunjang aktifasi SMV dengan baik dalam cairan perasan. Sehingga menunjang makin cepatnya masa inkubasi ketika virus sudah masuk dalam jaringan tanaman.

4.1.2. Percobaan Pengaruh Perlakuan Buffer dan Pengenceran sap.

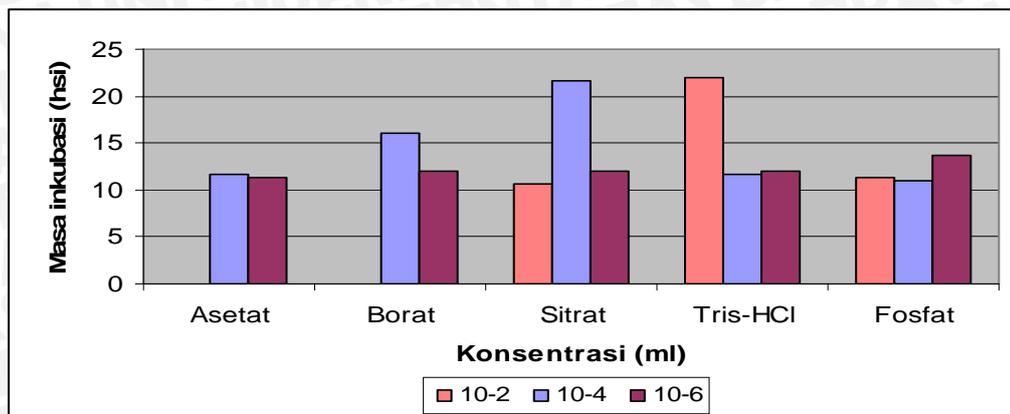
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan tingkat pengenceran sap (Tabel 2. Lampiran 1). Hasil pengamatan masa inkubasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada Berbagai Jenis Buffer terhadap Berbagai Tingkat Pengenceran sap.

Buffer	Rerata Masa Inkubasi (hari)		
	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶
Asetat	0.00f	11.67de	11.33de
Borat	0.00f	16.00b	12.00d
Sitrat	10.67e	21.67a	12.00d
Tris-HCl	22.00a	11.67de	12.00d
Fosfat	11.33de	11.00e	13.67c

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

Masa inkubasi tercepat adalah pada buffer Sitrat dengan konsentrasi 10⁻² yaitu 10.67 hari dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan buffer Fosfat yaitu 11.33 hari, sedangkan masa inkubasi terlama yaitu pada buffer Tris-HCl dengan konsentrasi 10⁻² yaitu 22 hari.



Gambar 2. Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Pengenceran sap.

Dari tabel 6. nampak bahwa urutan konsentrasi pengenceran sap yang sesuai untuk SMV jika menggunakan buffer Sitrat yaitu 10^{-2} , 10^{-6} dan 10^{-4} . Tampak bahwa pada konsentrasi 10^{-2} , buffer ini masih dapat mempertahankan stabilisasi SMV dalam cairan perasan dan masa inkubasi menjadi lebih lama ketika sap diturunkan konsentrasinya menjadi 10^{-4} . Tetapi pada konsentrasi 10^{-6} , masa inkubasi menjadi 2 hari lebih cepat dari konsentrasi 10^{-2} .

4.1.3. Percobaan Pengaruh Perlakuan Buffer dan Lama Simpan sap.

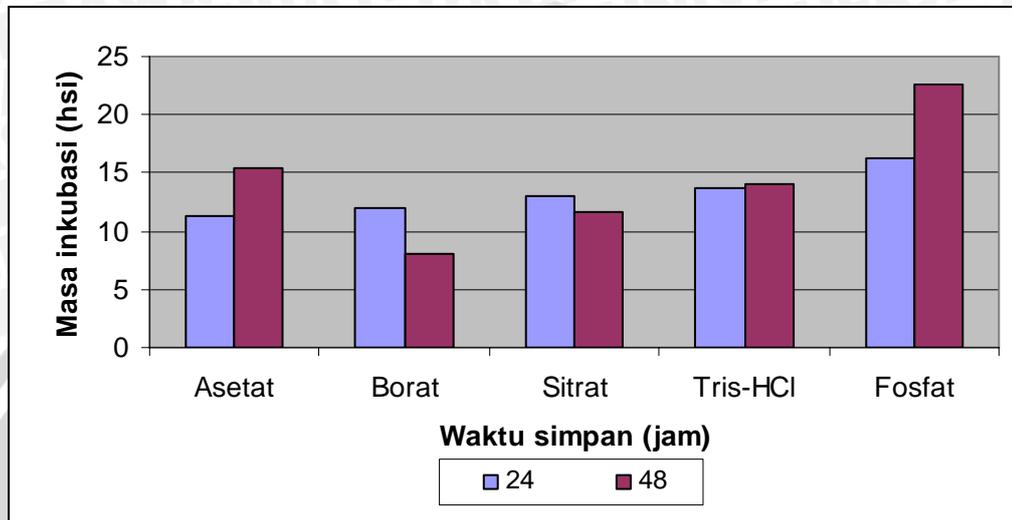
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan Lamanya waktu penyimpanan sap (Tabel 3. Lampiran 1.). Hasil pengamatan masa inkubasi dapat dilihat pada Tabel 7. berikut:

Tabel 7. Masa Inkubasi Virus SMV (HSI) pada Berbagai Jenis Buffer terhadap Berbagai Macam Waktu Penyimpanan sap.

Buffer	Rerata Masa Inkubasi (hari)	
	24 jam	48 jam
Asetat	11.33f	15.33c
Borat	12.00f	8.00g
Sitrat	13.00e	11.67f
Tris-HCl	13.67de	14.00d
Fosfat	16.33b	22.67a

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

Masa inkubasi tercepat adalah pada buffer Borat dengan lama waktu simpan sap 48 jam yaitu: 8 hari, sedangkan masa inkubasi terlama yaitu pada buffer Fosfat selama 48jam, yaitu: 22.67 hari.

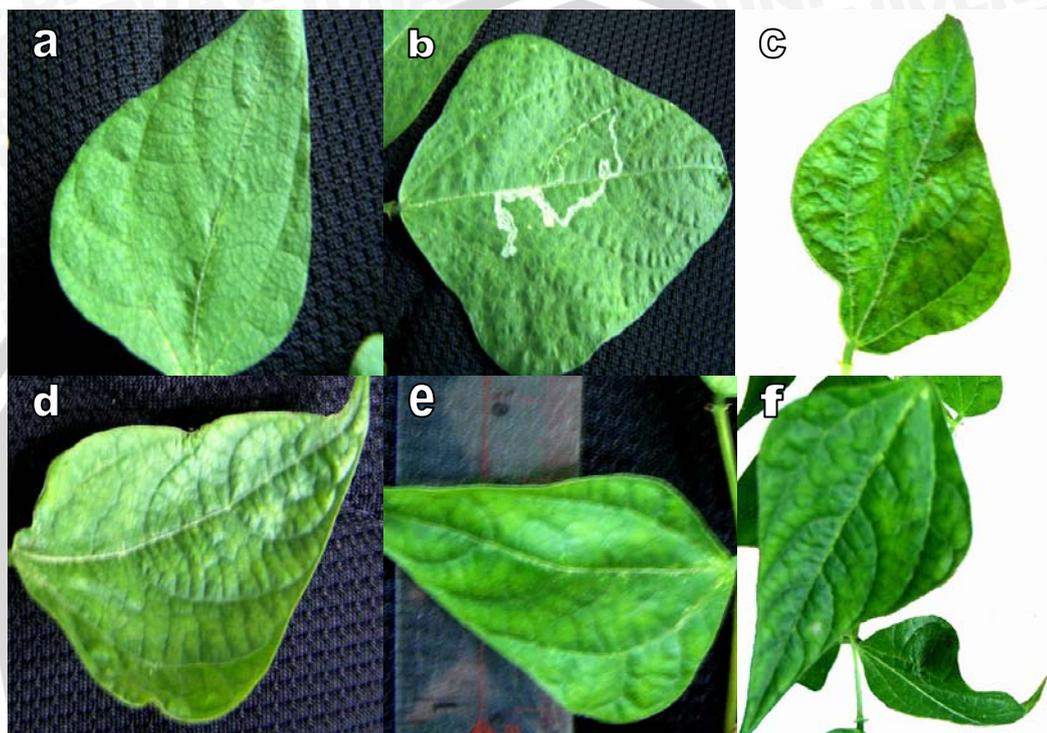


Gambar 3. Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Macam Penyimpanan sap.

Dari tabel 7. nampak bahwa buffer Borat masih dapat mempertahankan stabilisasi SMV dalam cairan perasan selain itu penyimpanan sap selama 48 jam masih belum bisa menurunkan infektivitasnya pada tanaman uji. Pada buffer Fosfat juga terjadi gejala meskipun masa inkubasinya relatif lebih lama dibandingkan yang lain jika melalui penyimpanan sap selama 48 jam. Ada beberapa buffer (Asetat, Tris-HCl dan Fosfat) menunjukkan masa inkubasi tercepat pada penyimpanan sap 24 jam, tetapi ada juga buffer yang lain seperti Borat dan Sitrat yang masih aktif pada cairan yang tersimpan selama 48 jam. Hal ini berarti bahwa pada kedua perlakuan waktu penyimpanan sap, virus masih dapat aktif dalam cairan sap.

Gejala akibat infeksi SMV yang timbul pada tanaman uji pada tiap perlakuan memiliki gejala yang sama yaitu mosaik. Gejala ini dicirikan dengan timbulnya klorosis pada tulang daun muda (Gambar 1.a.) dan pada gejala lebih lanjut akan nampak awal pengkerutan pada permukaan (Gambar 1.b.). Selanjutnya daun tersebut dicirikan dengan warna hijau kuning berselang-seling pada permukaan daun (Gambar 1.e.). Gejala berikutnya daun akan tampak

berkerut pada seluruh permukaan daun (Gambar 1.d.) disamping itu ukuran daun ada yang mengecil dari ukuran normal (Gambar 1.c.) jika serangan parah maka daun akan melengkung ke bawah dan berubah bentuk/ malformasi (Gambar 1.f.).



Gambar 4. Daun Tanaman Buncis: a. Gejala klorosis daun muda, b. Awal pengkerutan setelah klorosis, c. Ukuran daun berkerut dan mengecil dari normal, d. Daun berkerut diseluruh permukaan, e. Daun berwarna hijau kuning berselang-seling, f. Malformasi pada daun.

Semangun (1991), mengemukakan bahwa gejala SMV terlihat mula-mula tulang daun pada anak daun yang masih muda menjadi kuning jernih. Setelah itu daun menjadi tidak rata (berkerut) dan mempunyai gambaran mosaik dengan warna hijau gelap di sepanjang tulang daun. Tepi daun sering mengalami klorosis, pada beberapa varietas terjadi gejala nekrotik disertai warna coklat pada tulang daun, daun menguning kerdil, batang (tulang daun coklat), tunas-tunas penuh bercak, daun rontok dan akhirnya mati.

Gejala SMV pada umumnya terjadi gejala nekrosis dan mosaik pada daun-daunnya. Gejala lama-kelamaan daun berubah menjadi hijau gelap, daun mengkerut, tepi daun agak melengkung ke dalam dan ukuran daun lebih kecil

(Anonymous, 1992). Akibat dari infeksi virus dapat menurunkan laju fotosintesis dengan mengurangi jumlah klorofil per daun serta efisiensi klorofil sehingga mempengaruhi pembentukan fotosintat (Agrios, 1996).

4.2. Intensitas Serangan SMV pada Beberapa Jenis Buffer terhadap Suhu, Pengenceran dan Lama Penyimpanan sap.

Pengamatan intensitas serangan SMV tanaman buncis diamati 8 hari setelah inokulasi dengan selang waktu pengamatan 3 hari sekali (Lampiran 2). Dari analisis ragam terhadap masa inkubasi SMV menunjukkan bahwa terjadi pengaruh yang nyata pada ketiga percobaan. Data yang dianalisis merupakan data yang diambil pada pengamatan terakhir (Lampiran 2).

4.2.1. Percobaan Pengaruh Puffer dan Suhu sap terhadap intensitas serangan SMV.

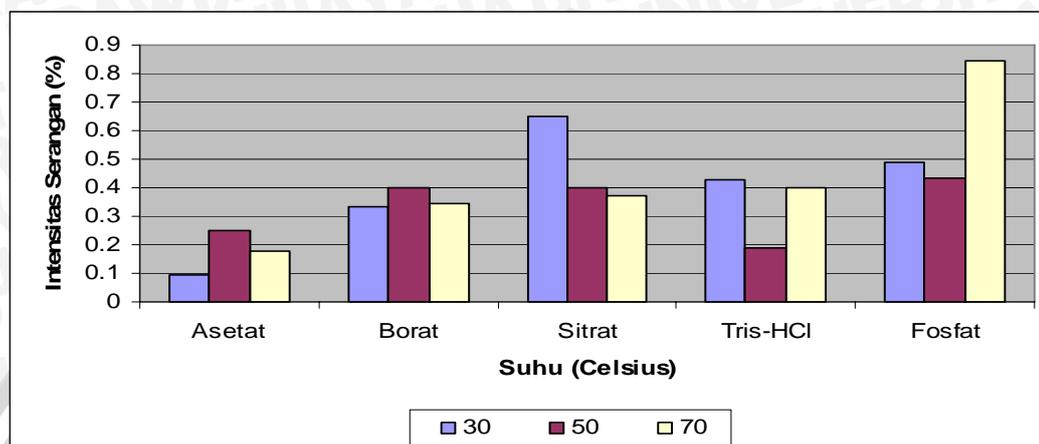
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan tingkat suhu pemanasan (Tabel 4. Lampiran 1.). Hasil pengamatan intensitas serangan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Intensitas Serangan Virus SMV (%) pada Berbagai Jenis Buffer terhadap Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.

Buffer	Rerata Intensitas Serangan (%)		
	30°C	50°C	70°C
Asetat	0.00j	22.22h	12.36i
Borat	22.36h	27.69g	27.73g
Sitrat	65.86b	26.92g	33.27f
Tris-HCl	63.52c	0.00j	32.50f
Fosfat	41.67e	56.00d	81.52a

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

Intensitas serangan tertinggi adalah pada buffer Fosfat dengan tingkat suhu pemanasan 70°C sebesar 81.52 %, sedangkan intensitas serangan terendah yaitu pada buffer Asetat dengan tingkat suhu pemanasan 30°C sebesar 7.91 %.



Gambar 5. Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.

Dari tabel 8. nampak bahwa buffer Fosfat sesuai sebagai penunjang stabilisasi virus dalam cairan perasan, jika dilihat dari makin naiknya suhu yang diperlakukan maka juga akan diikuti meningkatnya intensitas serangan, berbeda dengan buffer lain yang tidak menunjukkan kenaikan intensitas serupa. Hal ini berarti bahwa pada suhu 70°C virus justru masih dapat aktif dalam cairan perasan sampai menunjukkan gejala dan intensitas tinggi pada tanaman uji.

SMV mempunyai kisaran suhu inaktivasi antara 65-70°C, tetapi pada perlakuan ini belum bisa diketahui apakah perlakuan suhu diatas 70°C masih dapat menunjang atau menurunkan aktifasinya dalam cairan perasan. Dalam hal ini, Semangun (1993) menambahkan titik pemanasan inaktivasi virus ini adalah pada temperatur 65-70°C selama 10 menit. Akan tetapi batas aktifasi virus tidak lebih dari pemanasan pada suhu 100°C yang dapat mengakibatkan virus tersebut tidak mampu hidup. Menurut Hadiastono (1997), kemampuan bertahan virus terhadap pemanasan dapat diuji selama 10 menit pada interfal pemanasan 10 sampai 100 °C. Pada beberapa jenis virus mampu bertahan sampai 100 °C.

4.2.2. Percobaan Pengaruh Buffer dan Pengenceran sap terhadap Intensitas Serangan SMV.

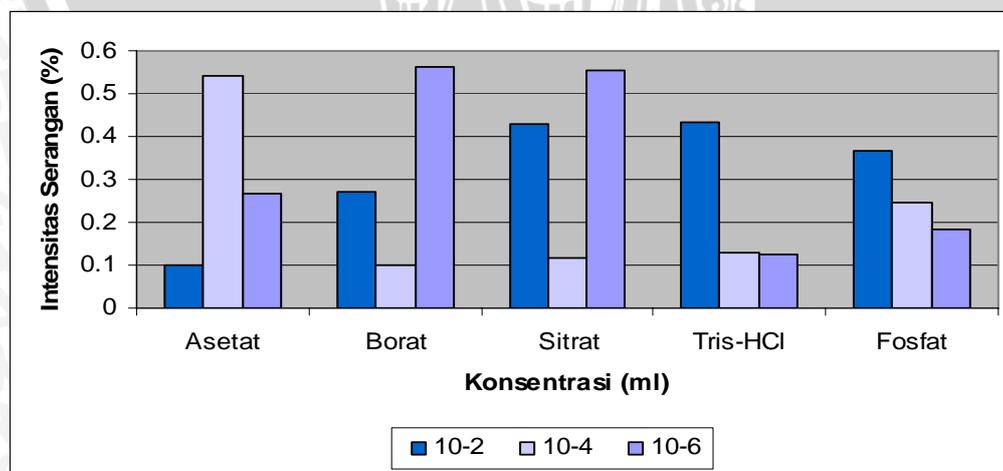
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan tingkat pengenceran sap (Tabel 5. Lampiran 1.). Hasil pengamatan intensitas serangan dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Rerata Intensitas Serangan Virus SMV pada Berbagai Jenis Buffer terhadap Berbagai Tingkat Pengenceran sap.

Buffer	Rerata Intensitas Serangan (%)		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Asetat	0.00l	50.37b	23.52g
Borat	0.00l	10.04j	58.73a
Sirat	30.51e	6.94k	34.35d
Tris-HCl	40.00c	11.41i	11.15i
Fosfat	34.18d	20.51h	23.08g

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

Intensitas serangan tertinggi adalah pada buffer Borat dengan konsentrasi 10^{-6} yaitu: 58.73 %, sedangkan intensitas serangan terendah yaitu pada buffer Sirat dengan konsentrasi 10^{-4} yaitu: 6.94 %.



Gambar 6. Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Pengenceran sap.

Pada tabel 9. diatas beberapa jenis buffer yang mulanya ber-intensitas serangan tinggi pada konsentrasi 10^{-2} , justru semakin rendah intensitasnya jika konsentrasi diturunkan seperti pada buffer Tris-HCl. Adapula yang menunjukkan peningkatan ketika sudah mencapai konsentrasi pengenceran 10^{-4} , seperti pada buffer Asetat yang mencapai 50.37%, tetapi adapula yang mencoba menjaga stabilisasi virus ketika konsentrasi lebih diturunkan lagi dari 10^{-4} menjadi 10^{-6} seperti pada Borat, Sitrat dan Fosfat. Hal ini dapat dipengaruhi oleh pH buffer yang mencoba mempertahankan stabilisasi larutannya ketika mengalami berbagai macam tingkat konsentrasi pengenceran. Pengaruh komponen dari sap selain pH buffer juga dapat mempengaruhi efektifitasnya. Dalam hal ini Stevens (1974) mengemukakan virus yang ada dalam sap mempunyai pengaruh yang beragam akibat suhu dan pH media. Sejumlah enzim atau komponen lain dari sap dapat menunjang ataupun menghambat efektifitas virus. Konsentrasi virus pada tanaman sakit bisa juga menunjang virus tersebut untuk menginfeksi bagian yang lain dan menjadikannya semakin parah dari berbagai kondisi.

4.2.3. Percobaan Pengaruh Buffer dan Lama Simpan sap terhadap intensitas serangan SMV.

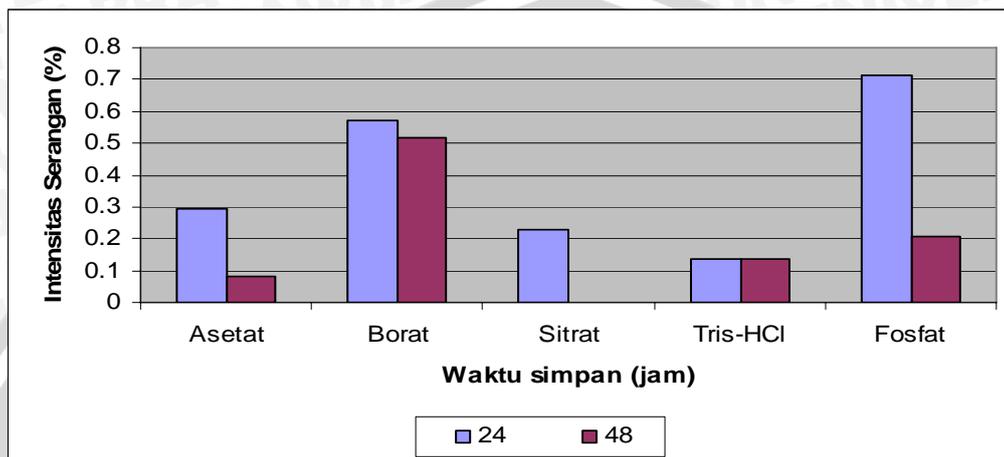
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada interaksi antara macam jenis buffer yang digunakan untuk inokulasi dan Lama waktu penyimpanan sap (Tabel 6. Lampiran 1). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rerata Intensitas Serangan Virus SMV pada Berbagai Jenis Buffer terhadap Berbagai Macam Waktu Penyimpanan sap.

Buffer	Rerata Intensitas Serangan (%)	
	24 jam	48 jam
Asetat	27.68d	7.92i
Borat	41.58c	55.51b
Sitrat	24.11e	0.00j
Tris-HCl	12.57g	9.78h
Fosfat	80.71a	16.68f

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan UJBD pada taraf 5%.

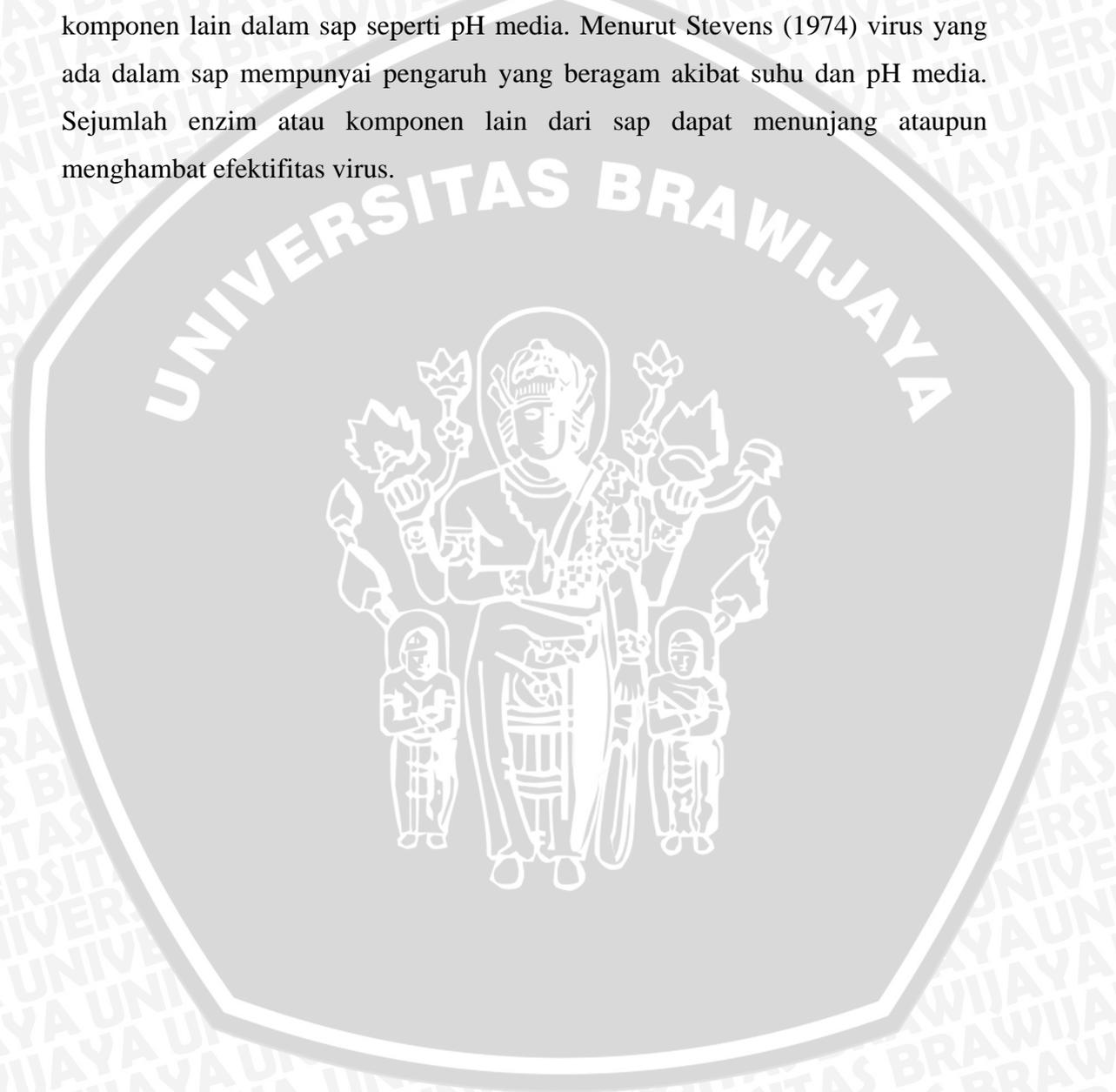
Intensitas serangan tertinggi adalah pada buffer Fosfat dengan lama waktu simpan sap 48 jam yaitu: 80.71 %, sedangkan intensitas serangan terendah yaitu pada buffer Asetat selama 48 jam, yaitu: 7.92 %.



Gambar 7. Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Macam Penyimpanan sap.

Pada penyimpanan sap selama 24 jam, urutan buffer dengan intensitas serangan tertinggi sampai terendah yaitu pada buffer Fosfat, Borat, Asetat, Sitrat dan Tris-HCl. Sedangkan pada penyimpanan 48 jam urutan buffernya adalah Borat, Fosfat, Tris-HCl, Asetat dan intensitas serangan terendah pada buffer Sitrat karena tidak menimbulkan gejala sampai pada akhir pengamatan. Pada tabel 10. tampak bahwa pada penyimpanan 24 jam, buffer Fosfat masih dapat mempertahankan stabilisasi virusnya walaupun pada penyimpanan 48 jam intensitas serangan menjadi turun. Tetapi pada penyimpanan selama 48 jam ini buffer Borat justru bisa mempertahankan stabilisasi virus dalam cairan perasan padahal pada penyimpanan 24 jam menunjukkan intensitas serangan yang lebih rendah, jadi kedua buffer ini sama-sama menunjukkan efektifitasnya terhadap masing-masing waktu penyimpanan hanya saja pada buffer Borat intensitas menjadi meningkat pada penyimpanan 48 jam, sedangkan buffer Fosfat justru sebaliknya seperti apa yang dialami oleh buffer lain. Pada buffer Fosfat, intensitasnya menjadi turun ketika sap disimpan lebih lama dari 24 jam. Sedangkan pada buffer Borat intensitas menjadi tinggi ketika sap disimpan selama

48 jam. Untuk virus ini daya tahan in-vitro berkisar antara 1-4 hari, dalam hal ini Sastrahidayat (1990) Virus dapat bertahan in vitro dalam keadaan berupa cairan perasan tanaman sakit selama 1-4 hari pada suhu kamar. Kesesuaian antara buffer yang digunakan dengan lama waktu penyimpanan sap juga tergantung dari komponen lain dalam sap seperti pH media. Menurut Stevens (1974) virus yang ada dalam sap mempunyai pengaruh yang beragam akibat suhu dan pH media. Sejumlah enzim atau komponen lain dari sap dapat menunjang ataupun menghambat efektifitas virus.



BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, hasil yang dapat disimpulkan adalah:

1. Jenis buffer yang paling efektif terhadap persistensi SMV adalah Fosfat bersuhu pemanasan sap 70°C, Sitrat di tingkat pengenceran 10⁻² Borat di tingkat pengenceran 10⁻⁶ dan Fosfat pada penyimpanan 48 jam.
2. Buffer-buffer ini mempunyai kisaran pH sesuai yang dapat menjaga stabilisasi virus dalam cairan sap sehingga dapat meningkatkan infektifitas virus pada tanaman. .

4.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kisaran suhu (TIP), tingkat pengenceran (DEP) dan lama waktu penyimpanan sap (LIV) yang tepat sebab melalui percobaan ini suhu, pengenceran dan lama penyimpanan sap sudah ditentukan.

**PENGARUH BEBERAPA JENIS BUFFER TERHADAP EFEKTIVITAS
PENULARAN DAN PERSISTENSI SMV (*Soybean Mosaic Virus*) PADA
TANAMAN BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Oleh

PUDJO RAHARDJO



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2007**

**PENGARUH BEBERAPA JENIS BUFFER TERHADAP EFEKTIVITAS
PENULARAN DAN PERSISTENSI SMV (*Soybean Mosaic Virus*) PADA
TANAMAN BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Oleh:

PUDJO RAHARDJO
0310469001-46

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



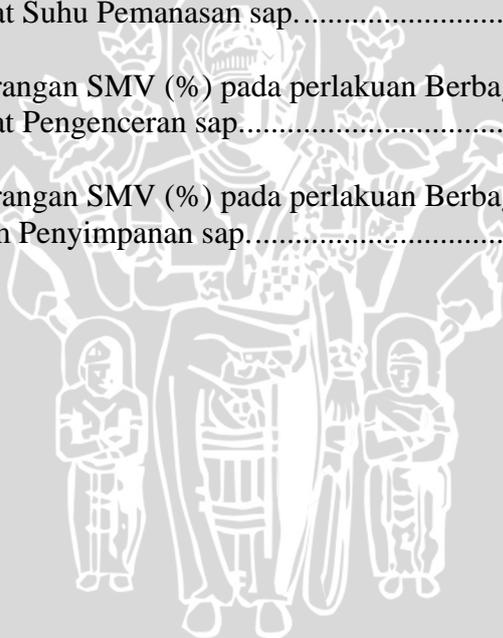
SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar
Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2007**

DAFTAR GAMBAR

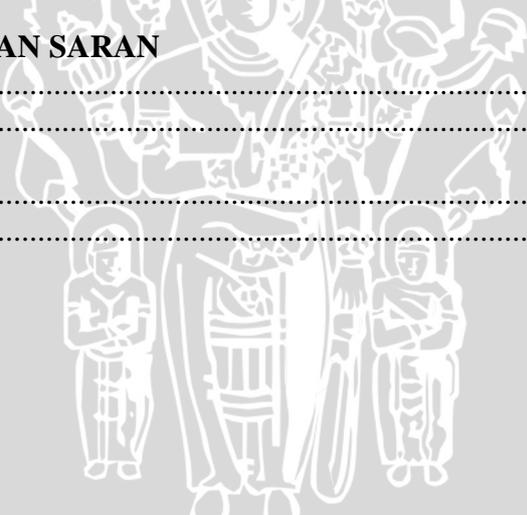
No.	Judul	Halaman
1.	Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.	22
2.	Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Pengenceran sap.	24
3.	Rerata Masa Inkubasi Virus SMV (hari) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Macam Penyimpanan sap.	25
4.	Daun Tanaman Buncis	26
5.	Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Suhu Pemanasan sap.	28
6.	Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Tingkat Pengenceran sap.	29
7.	Rerata Intensitas Serangan SMV (%) pada perlakuan Berbagai Jenis Buffer dan Berbagai Macam Penyimpanan sap.	31



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan	2
1.3. Hipotesis.....	2
1.4. Tujuan	2
1.5. Manfaat	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Deskripsi Tanaman Buncis	3
2.1.1. Klasifikasi	3
2.1.2. Morfologi	3
2.2. Soybean Mosaic Virus	4
2.2.1. Deskripsi Soybean Mosaic Virus	4
2.2.2. Gejala pada Tanaman Kacang-kacangan	5
2.2.3. Kisaran Inang	6
2.2.4. Sifat Fisik dan Morfologi SMV	7
2.2.5. Infeksi Virus pada Tanaman	7
2.2.6. Faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan Virus	8
2.2.7. Pengendalian penyakit SMV	9
2.2.8. Penularan Virus secara Mekanik	9
2.3. Persistensi Virus dalam cairan perasan	11
2.4. Buffer (Larutan Penyangga)	12
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu	14
3.2. Alat dan Bahan	14
3.3. Rancangan Penelitian	14
3.3.1. Percobaan Pengaruh Buffer dan Suhu Pemanasan sap SMV.	14
3.3.2. Percobaan Pengaruh Buffer dan Pengenceran sap SMV	15
3.3.3. Percobaan Pengaruh Buffer dan Lama Simpan sap SMV	15
3.4. Persiapan Penelitian	16
3.4.1. Media Tanam	16
3.4.2. Benih Tanaman Uji	17

3.4.3. Pupuk	17
3.4.4. Sap Tanaman Sakit	17
3.5. Pelaksanaan Penelitian	17
3.5.1. Inokulasi Virus pada Tanaman Uji	17
3.5.2. Pemupukan	18
3.5.3. Pemeliharaan	18
3.6. Variabel Pengamatan	19
3.6.1. Masa Inkubasi dan Gejala	19
3.6.2. Intensitas Serangan	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Masa Inkubasi dan Gejala	21
4.1.1. Pengaruh Buffer dan Suhu Pemanasan sap	21
4.1.2. Pengaruh Buffer dan Pengenceran sap	23
4.1.3. Pengaruh Buffer dan Lama Simpan sap	24
4.2. Intensitas Serangan	27
4.2.1. Pengaruh Buffer dan Suhu Pemanasan sap	27
4.2.2. Pengaruh Buffer dan Pengenceran sap	29
4.2.3. Pengaruh Buffer dan Lama Simpan sap	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	33
5.2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	36



DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology. Third Edition. Academic Press, Inc. San Diego. California. 699 p.
- _____. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Alih bahasa oleh Ir. Munzir Busma, Msi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 672 Hal.
- Anonymous. 1992. Kumpulan Kliping Kedelai I. Pusat Informasi Pertanian Trubus. Jakarta. 204 Hal.
- Benson, L. 1957. Plant Classification. The Heat Company. Boston. 640 Hal.
- Bos, L. 1972. *CMI/AAB Descr. Pl. Viruses*. No. 93, 4 pp.
- Bos, L. 1990. Pengantar Virologi Tumbuhan. UGM Press. Yogyakarta. 226 Hal.
- CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No. 57. Diakses online melalui: www.biology.anu.edu.au/research-groups/MES/vid/sppindex.com.
- Galvez, G.E. (1963). *Phytopathology* 53: 388.
- Gibbs, A. and Harrison, B. (1976). *Plant Virology: The Principles*. London: Academic Press.
- Goodman, R. N.; Z. Kiraly dan K. R. Wood. 1986. *The Biochemistry and Physiology of Plant Disease*. University of Missouri Press. Columbia.
- Hadiastono, T. 1997. *Virologi Tumbuhan, Biologi Virus Penyebab Penyakit Mosaik*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 46 Hal.
- _____. 1998. *Virologi Tumbuhan Dasar*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 46 Hal.
- _____. 2001. *Dasar-dasar Perlindungan Tanaman*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 23 Hal.
- _____. 2002. *Virologi Tumbuhan, Identifikasi dan Diagnosis Virus Tumbuhan*. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*, 4th ed. Academic Press, New York.
- Kado, C.I. and H.O. Agrawal (ed.) 1972. *Principles and Techniques in Plant Virology*. Von Nostrand Rienhold, New York.

Matthews, R.E.F. 1991. Plant Virology. 3rd ed. Academic Press, New York.

Putro, G. A. 2005. Pengaruh Pupuk Organik Cair (POC) Terhadap Intensitas Serangan Soybean Mosaic Virus (SMV), Pertumbuhan dan Produksi Beberapa Varietas Tanaman Kedelai [*Glycine max* (L) MERRIL]. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. 56 Hal.

Rukmana, R. 1996. Kedelai, Budidaya dan Pascapanen. Kanisius. Yogyakarta. 92 Hal.

Samsudin, S. U. 1985. Budidaya Sayuran Kacang-kacangan. Pustaka Buana. Bandung. 63 Hal.

—————. 2003. Fitopatologi (Ilmu Penyakit Tumbuhan). Usaha Nasional. Surabaya. Hal 153-190.

Semangun, H. 1991. Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. UGM Press. Yogyakarta. 192 Hal.

Sinclair, J.S. and D.D. Dhingra. 1977. An Annotated Bibliography of Soybean Diseases. INTSOY no. 7. Urbama Campaign. Pp 280.

Somaatmadja, S. 1993. Proses Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I Kacang-kacangan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Stevens, Russel B. 1974. Plant Disease. The Ronald Press Company. New York. 85-98 pp.

Sudjono, S. M., M. Amir dan M. Roechan. 1985. Kedelai. Badan Penelitian Tanaman Pangan. Bogor. 245 Hal.

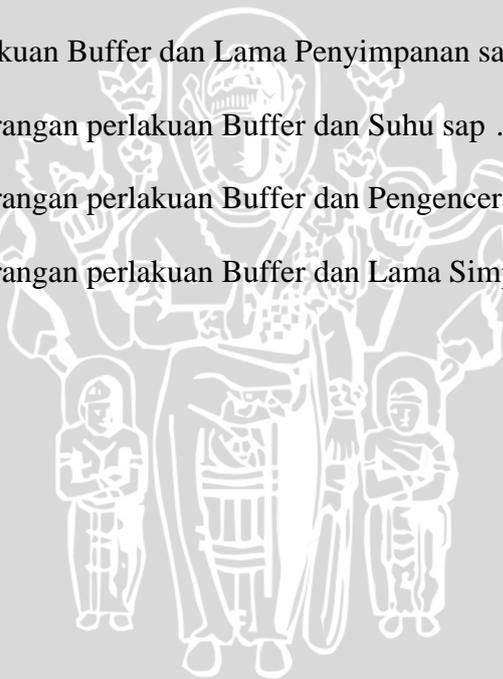
Rismunandar. 1995. Virus: Mengenal Penyakit Tumbuh-tumbuhan. Cetakan pertama 1995. PT. Trigenda Karya. Bandung. Hal 99-100.

Vogel. 1979. Text Book of Macro and Semi micro Qualitative An organic Analysis. Longmann Group Limited. London.

Walker, John Charles. 1957. Plant Pathology. Second Edition. McGraw Hill Book Company Inc. pp 473-500.

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Kombinasi Perlakuan Buffer dan Suhu sap	15
2.	Kombinasi Perlakuan Buffer dan Pengenceran sap	15
3.	Kombinasi Perlakuan Buffer dan Lama Penyimpanan sap	16
4.	Penilaian Skor Daun Tanaman Sakit berdasarkan Gejala Mosaik	19
5.	Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Suhu sap	21
6.	Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Pengenceran sap	23
7.	Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Lama Penyimpanan sap	24
8.	Rerata Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Suhu sap	27
9.	Rerata Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Pengenceran sap	29
10.	Rerata Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Lama Simpan sap	30



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T. atas berkah, rahmat serta inayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Beberapa Jenis Buffer Terhadap Efektivitas Persistensi SMV (*Soybean Mosaic Virus*) Pada Tanaman Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*)”**. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapat gelar S-1 di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS sebagai pembimbing utama,
2. Ir. Mintarto Martosudiro, MS sebagai pembimbing pendamping,
3. Semua dosen dan karyawan jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan,
4. Orang Tua dan saudaraku atas saran dan dorongannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini mungkin masih terdapat adanya kekurangan, saran dan kritik sangat kami harapkan.

Malang, Maret 2007

Penulis

Lampiran 1.

Tabel 1. Analisa Sidik Ragam Masa Inkubasi Tanaman Buncis pada Suhu yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	1397.78	99.84	374.40	3.43
Buffer	4	159.56	39.89	149.58	2.69
Suhu	2	181.51	90.76	340.33	3.32
Interaksi BXS	8	1056.71	132.09	495.33	2.27
Galat	30	8.00	0.27		
Total	44	1405.78	31.95		

KK = 1.68

Tabel 2. Analisa Sidik Ragam Masa Inkubasi Tanaman Buncis pada Pengenceran yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	1397.78	99.84	374.40	3.43
Buffer	4	159.56	39.89	149.58	2.69
Pengenceran	2	181.51	90.76	340.33	3.32
Interaksi BXE	8	1056.71	132.09	495.33	2.27
Galat	30	8.00	0.27		
Total	44	1405.78	31.95		

KK = 2.23

Tabel 3. Analisa Sidik Ragam Masa Inkubasi Tanaman Buncis pada Waktu Penyimpanan sap yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	2311.20	165.09	619.07	3.43
Buffer	4	30.53	7.63	28.63	2.69
Waktu	1	1632.93	1632.93	6123.50	3.32
Interaksi BXW	8	647.73	80.97	303.63	2.27
Galat	30	8.00	0.27		
Total	43	2319.20	53.93		

KK = 1.25

Tabel 4. Analisa Sidik Ragam Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Suhu yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	1.46	0.10	19.54	3.43
Buffer	4	0.87	0.22	40.74	2.69
Suhu	2	0.07	0.04	6.95	3.32
Interaksi BXS	8	0.51	0.06	12.09	2.27
Galat	30	0.16	0.01		
Total	44	1.61	0.04		

KK = 8.7

Tabel 5. Analisa Sidik Ragam Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Pengenceran yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	1.26	0.09	62.26	3.43
Buffer	4	0.12	0.03	21.53	2.69
Pengenceran	2	0.13	0.07	46.29	3.32
Interaksi BXE	8	1.00	0.12	86.62	2.27
Galat	30	0.04	0.00		
Total	44	1.30	0.03		

KK = 12.66

Tabel 6. Analisa Sidik Ragam Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Waktu Penyimpanan sap yang berbeda.

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel
Perlakuan	14	2.32	0.17	193.56	3.43
Buffer	4	0.63	0.16	183.88	2.69
Waktu	1	1.14	1.14	1327.01	3.32
Interaksi BXW	8	0.55	0.07	80.92	2.27
Galat	30	0.03	0.00		
Total	43	2.34	0.05		

KK = 10.33

Lampiran 2.

Tabel 7. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Suhu yang berbeda.

Buffer	Suhu	Ulangan			Rata-rata
		I	II	III	
A	30	18	15	18	17.00
	50	9	9	9	9.00
	70	11	14	11	12.00
B	30	11	9	11	10.33
	50	13	13	13	13.00
	70	11	9	11	10.33
C	30	11	14	11	12.00
	50	16	15	16	15.67
	70	17	20	17	18.00
T	30	12	12	12	12.00
	50	6	6	6	6.00
	70	16	16	16	16.00
P	30	12	12	12	12.00
	50	11	11	11	11.00
	70	6	6	6	6.00

Tabel 8. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Pengenceran yang berbeda.

Buffer	Konsentrasi	Ulangan			Rata-rata
		I	II	III	
A	2	14	18	20	17.33
	4	14	14	14	14.00
	6	14	14	17	15.00
B	2	12	12	12	12.00
	4	14	12	15	13.67
	6	6	6	6	6.00
C	2	10	14	12	12.00
	4	16	13	16	15.00
	6	14	11	10	11.67
T	2	16	15	14	15.00
	4	12	15	15	14.00
	6	12	12	15	13.00
P	2	11	11	11	11.00
	4	14	14	14	14.00
	6	13	13	13	13.00

Tabel 9. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Waktu Penyimpanan sap yang berbeda.

Buffer	Waktu (jam)	Ulangan			Rata-rata
		I	II	III	
A	24	14	15	15	14.67
	48	16	18	18	17.33
B	24	10	10	10	10.00
	48	12	12	15	13.00
C	24	22	23	22	22.33
	48	12	12	11	11.67
T	24	14	14	20	16.00
	48	12	12	10	11.33
P	24	11	12	14	12.33
	48	20	19	18	19.00

Tabel 10. Kelompok Virus Berbentuk Memanjang (Berbentuk taung helik atau benang pipih) menurut Brandes & Wetter (1959).

Kelompok Virus	Kriptogram	Ukuran
Tobavirus	[R/1; 2.3/5+0.6-1.3/5; E/E; S/Ne]	197 & 52
Tobamovirus	[R/1; 2/5; E/E; S/O]	300
Potexvirus	[R/1; 2.2/6; E/E; S/O]	480-580
Carlavirus	[R/1; */6; E/E; S/Ap]	650
Potyvirus	[R/1; 3.5/5; E/E; S/Ap]	730-790
Soil Borne WheatMV	[R/1; 2/5; E/E; S/Fu]	100-160
Potato-Mop-Top-V	[R/1; */*; S/Fu]	160-300
Beet Yellow-V	[R/1; 4.3/5; E/E; S/Ap]	1200
Citrus Tristeza	[R/1; */*; E/E; S/Ap]	2000

Pengertian Penggunaan Simbol dalam Kriptogram menurut Gibbs dan Harrison (1976) untuk kelompok Potyvirus:

Pasangan Pertama:

Tipe asam nukleat/ Rantai Asam Nukleat.

Simbol tipe Asam Nukleat:

R- RNA ; D- DNA

Simbol Rantai Asam Nukleat:

1: Rantai tunggal; 2: Rantai ganda.

Pasangan Kedua:

Bobot Molekul Asam Nukleat (dalam juta)/ Persentase Asam Nukleat pada partikel infeksius 1).

E 16/22; 3.5/5.

Pasangan Ketiga:

Bentuk partikel/ Bentuk Nukleokapsid.

Simbol untuk kedua sifat tersebut adalah:

S: Sferikal (Bulat)

E: Memanjang dengan kedua sisi paralel.



Lampiran 3.

Descriptions of Plant Viruses



93

June 1972

Family: *Potyviridae*
 Genus: *Potyvirus*
 Species: *Soybean mosaic virus*
 Acronym: SMV

Soybean mosaic virus

L. Bos

Institute of Phytopathological Research, Wageningen, The Netherlands

Introduction

Described by Gardner & Kendrick (1921).

Selected synonyms

Soybean virus 1 (*Rev. appl. Mycol.* 15: 418)

Soja virus 1 (Rev. appl. Mycol. 17: 52)

A virus with flexuous particles *c.* 750 nm long, transmitted readily by inoculation of sap, by many aphid species in the non-persistent manner, and through seed of soybean (*Glycine max*), its only known natural host. The virus is probably common wherever this crop is grown.

Main Diseases

Causes mosaic of soybean.

Geographical Distribution

In most countries where soybeans have been tested for viruses.

Host Range and Symptomatology

Long thought to be restricted to soybean, even when transmitted experimentally, but now known to be transmissible to about 30 plant species, in about 10 of these causing only local reactions or none at all (Quantz, 1961; Galvez, 1963; De Vasconcelos, 1964). *Chenopodium quinoa* and *C. album* are the only non-legume hosts. Readily transmissible by inoculation of sap or by aphid vectors to the following:

Diagnostic species

Glycine max (soybean). Most varieties develop transient systemic vein-clearing followed by a rolling or distorting mosaic in the younger leaves with dark green, later puffed areas along the main veins and chlorosis between the dark-coloured areas (Fig.1); plants are usually slightly stunted, pods are fewer, sometimes malformed, glabrous and seedless. Some varieties develop progressive necrosis (Gardner & Kendrick, 1921). Primary leaves of plants grown from infected seed may show mottling and downward curling (Fig.2). In Japan only 27 cultivars out of 110 tested (Koshimizu & Iizuka, 1963) were resistant or immune. Symptoms are more severe at 18-20°C than at 27-30°C (Conover, 1948; Walters, 1963).

Phaseolus vulgaris (French bean). Latent local infection in some cultivars, followed by latent systemic infection in a few of these. Systemic symptoms,



somewhat reminiscent of bean common mosaic virus, are produced only in Double White Princess (Quantz, 1961; Galvez, 1963; Debrot & De Rojas, 1967). *Phaseolus lathyroides*. Systemic chlorotic mottling or mosaic and leaf curling (Quantz, 1961; Galvez, 1963).

Chenopodium album. Local lesions, but virus could not be recovered from them (Galvez, 1963).

Chenopodium quinoa. Weak and diffuse chlorotic local lesions (Quantz, 1961).

Propagation species

Glycine max (soybean). Various cultivars have been used. Lincoln plants were harvested 15 days after inoculation (Galvez, 1963). In Bansei, virus infectivity was highest in inoculated leaves 25 days after inoculation and decreased sharply after 31 days; in systemically infected leaves infectivity was correlated with the intensity of mosaic symptoms and remained high from 3 to at least 6 weeks after inoculation (Quiniones & Dunleavy, 1970).

Assay species

Glycine max (soybean). Most cultivars react with characteristic systemic symptoms (Fig.1).

Phaseolus vulgaris (French bean). Necrotic local lesions develop on inoculated attached primary leaves of Kentucky Wonder waxpole bean (Ross, 1967). Eight varieties including Processor and Topcrop, produce necrotic local lesions when detached leaves are incubated on moist filter paper in closed Petri dishes under artificial light at 30-32°C (Fig.3; Quantz, 1961).

Other local-lesion hosts sometimes used are *Cyamopsis tetragonoloba*, *Dolichos biflorus* and *D. lablab* (Dunleavy, Quiniones & Krass, 1970; Quiniones & Dunleavy, 1970; Ross, 1967).

Strains

Some minor strains have been distinguished on the basis of differences in pathogenicity and virulence towards soybean selections, *Lespedeza stipulacea* and Japanese soybean cultivars (Quiniones & Dunleavy, 1970; Ross, 1968, 1969).

Transmission by Vectors

Some 16 aphid species, including *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae* and *Myzus persicae*, have been reported to transmit the virus in the non-persistent manner (Heinze & Köhler, 1940; Conover, 1948; Koshimizu & Iizuka, 1963; De Vasconcelos, 1964).

Transmission through Seed

Common and probably the most important source of initial crop infection. Up to 30% or sometimes more of the seeds of diseased plants are infected, depending on cultivar and duration of infection before flowering (Gardner & Kendrick, 1921; Kendrick & Gardner, 1924; Koshimizu & Iizuka, 1963). Plants infected after flowering do not produce infected seeds. The virus is present in seed-coat and embryo, and green seeds contain more virus than mature ones (Koshimizu & Iizuka, 1963). Seed-coat mottling is stimulated by virus infection, but there is no direct correlation between this mottling and the presence of virus in particular seeds (Koshimizu & Iizuka, 1963; Kennedy & Cooper, 1967; Ross, 1970). Distribution of infected seeds in pods and on plants is erratic (De Vasconcelos, 1964).

Transmission by Dodder

Not reported.

Serology

So far little information is available. Antisera prepared by Ross (1967) and Quiniones & Dunleavy (1970) using purified virus had a titre of 1/2048 when tested against

purified antigen. The titre of Ross's antiserum was 1/4096 when tested with virus-containing clarified sap. Microprecipitin tests were used because intact virus particles do not diffuse in agar gel.

Relationships

Working with two strains, Quiniones & Dunleavy (1970) found homologous antiserum titres of 1/2048 and titres of 1/256 after cross absorption with heterologous antigens. Bercks (quoted by Quantz, 1961) found serological relationships between soybean mosaic, bean yellow mosaic and bean common mosaic viruses, but this preliminary finding has not been confirmed.

In particle morphology and size, mode of transmission and other biological and biophysical properties, soybean mosaic virus resembles members of the potato virus Y group (potyviruses), especially those closely related to bean yellow mosaic virus (Bos, 1970b). This is particularly true of the seed-transmitted viruses of bean common mosaic (Bos, 1971), cowpea aphid-borne mosaic (Lovisolo & Conti, 1966) and pea leafroll mosaic (Bos, 1970a), and the incompletely described viruses of adzuki bean (*Phaseolus angularis*) mosaic (Matsumoto, 1922), asparagus bean (*Vigna sesquipedalis*) mosaic (Snyder, 1942; Inouye, 1969) and mung bean (*Phaseolus aureus*) mosaic (Kaiser et al., 1968). They all seem to have a rather limited natural host range, possibly because seed transmission makes alternative hosts superfluous.

In cross-protection tests, Quantz (1961) found that soybean mosaic and bean yellow mosaic viruses produced a striking but varying protection against bean common mosaic virus. Similarly, the number of local lesions produced by soybean mosaic and bean common mosaic viruses in detached Topcrop bean leaves in Petri dishes was considerably decreased when the leaves were systemically infected with bean yellow mosaic virus. Quantz (1961) also found that using detached leaves of 23 bean cultivars, the same cultivars were hypersensitive to both soybean mosaic virus and bean common mosaic virus. However, of ten other varieties systemically susceptible to bean common mosaic virus, only one contracted systemic infection by the soybean virus. Moreover, soybean was found to be only locally susceptible to bean common mosaic virus.

Stability in Sap

The thermal inactivation point (10 min) is usually 55-60°C, but sometimes a few degrees higher; the dilution end-point is usually around 10⁻³ but values of 10⁻⁵-10⁻⁶ have also been published; sap commonly loses infectivity after 2-3 days at room temperature but sometimes retains it as long as 4 days. In expressed sap the virus was most stable at pH 6.0 (Galvez, 1963).

Purification

Like other viruses of the potato virus Y group, soybean mosaic virus easily aggregates and sediments during initial low-speed centrifugation. Thus much virus is lost when organic solvents are used to denature colloidal plant constituents (Galvez, 1963; Quiniones & Dunleavy, 1970). For good results, according to Ross (1967), grind each 100 g cooled leaves in 200 ml cold 0.5 M sodium citrate buffer containing 1% mercaptoethanol, and strain the extract through cheesecloth. Slowly add *n*-butanol (7 ml/100 ml extract) while slowly stirring. Refrigerate overnight. Clarify and sediment by two cycles of differential centrifugation, resuspending the sediments obtained at

high speed in borate buffer (0.01 M, pH 8.3). Then further purify by centrifugation in sucrose density gradients.

Properties of Particles

No data.

Particle Structure

Particles are flexuous filaments (Fig.5) c. 746 nm long (Quantz, 1961; De Vasconcelos 1964), sometimes shorter in purified preparations.

Particle Composition

Nucleic acid content (based on A_{260}/A_{280}) is 6-7% (Ross, 1967).

Relations with Cells and Tissues

Koshimizu & Iizuka (1963) and Quiniones & Dunleavy (1970) found a single amorphous globular inclusion in each epidermis cell of young soybean plants (Fig.4). In ultrathin sections of soybean, Dunleavy *et al.* (1970) found circular membrane-bound and pinwheel micro-inclusions.

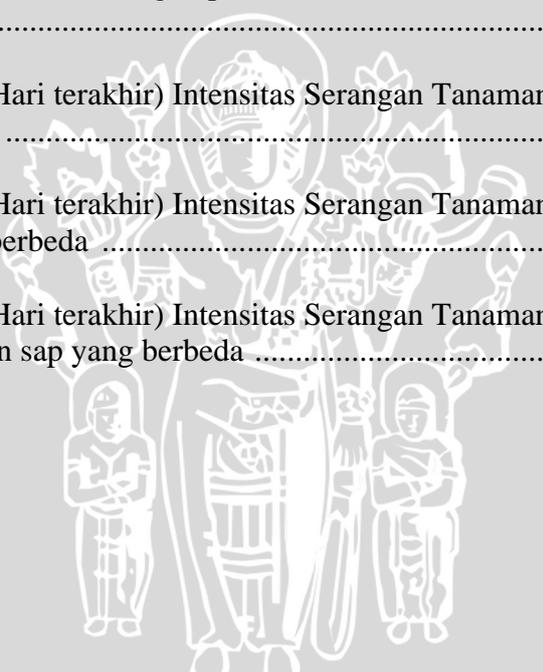
Notes

Soybean mosaic virus differs from bean yellow mosaic and bean common mosaic viruses in that (i) it fails to cause systemic symptoms in *Phaseolus vulgaris* cultivars (excepting Double White Princess), (ii) bean common mosaic virus does not infect soybean systemically, and (iii) bean yellow mosaic virus infects *Vicia faba*.



DAFTAR LAMPIRAN

1. Analisa Ragam Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Suhu sap	36
2. Analisa Ragam Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Pengenceran sap ..	36
3. Analisa Ragam Masa Inkubasi perlakuan Buffer dan Lama Penyimpanan sap	36
4. Analisa Ragam Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Suhu sap	36
5. Analisa Ragam Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Pengenceran sap	37
6. Analisa Ragam Intensitas Serangan perlakuan Buffer dan Lama Simpan sap	37
7. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Suhu yang berbeda	38
8. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Pengenceran yang berbeda	38
9. Data Pengamatan (Hari terakhir) Intensitas Serangan Tanaman Buncis pada Waktu Penyimpanan sap yang berbeda	39



Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU.
Ketua

Penguji II

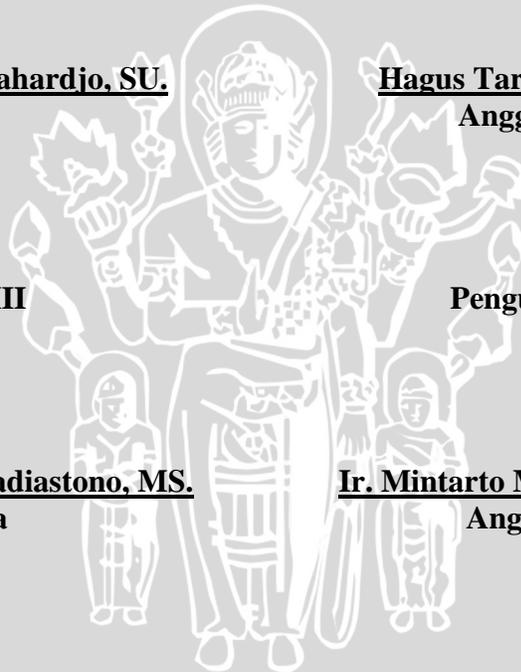
Hagus Tarno, SP. MP.
Anggota

Penguji III

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.
Anggota

Penguji IV

Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
Anggota



Tanggal Lulus: 15 Mei 2007.



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : **PENGARUH BEBERAPA JENIS BUFFER TERHADAP EFEKTIVITAS PERSISTENSI SMV (*Soybean Mosaic Virus*) PADA TANAMAN BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Nama : **PUDJO RAHARDJO**

NIM : **0310469001**

Jurusan : **HAMA dan PENYAKIT TUMBUHAN**

Menyetujui : **Dosen Pembimbing**

Utama

Pendamping

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.

NIP. 131 574 872

Ir. Mintarto Martosudiro, MS.

NIP. 130 704 148

Mengetahui

Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.

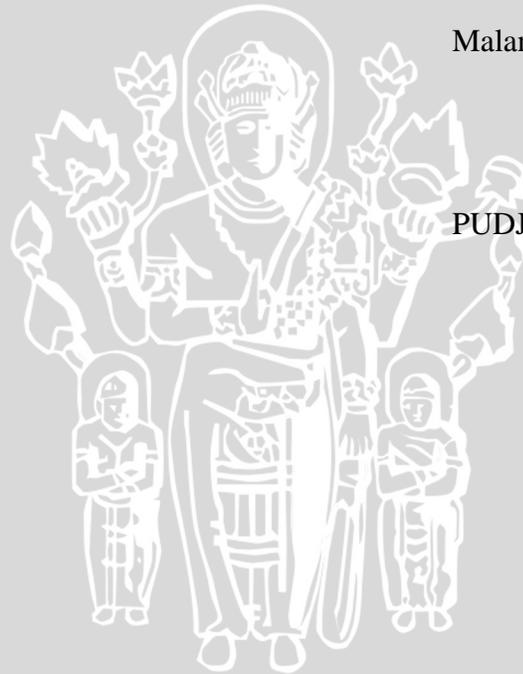
NIP. 130 936 225

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Mei 2007

PUDJO RAHARDJO



RINGKASAN

PUDJO RAHARDJO. PENGARUH BEBERAPA JENIS BUFFER TERHADAP EFEKTIVITAS PERSISTENSI SMV PADA TANAMAN BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.). Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS dan Ir. Mintarto Martosudiro, MS.

Soybean Mosaic Virus (SMV) merupakan virus kedelai yang mempunyai daerah sebaran yang sangat luas. SMV dapat menyebabkan gejala yang mirip dengan kedelai jika ditularkan secara mekanis pada tanaman buncis.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis buffer yang efektif dari kelima jenis buffer yang dapat menunjang infektifitas virus. Percobaan dilakukan dengan pemanasan sap, pengenceran sap dan lama penyimpanan sap yang berbeda. Masing-masing percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Untuk percobaan pemanasan sap faktor pertama adalah lima jenis buffer, yaitu: Asetat, Borat, Sitrat, Tris-HCl, Fosfat dan faktor kedua adalah suhu pemanasan sap, yaitu: 30°C, 50°C dan 70°C. Pada percobaan pengenceran sap, faktor pertama adalah lima jenis buffer tersebut diatas dan faktor keduanya adalah macam pengenceran sap yaitu: 10⁻², 10⁻⁴ dan 10⁻⁶. Sedangkan pada percobaan lama penyimpanan sap, faktor pertama adalah lima jenis buffer dan faktor keduanya adalah lama penyimpanan sap yaitu: 24 dan 48 jam. Sehingga masing-masing percobaan diperoleh 15 kombinasi pada percobaan pertama, 15 kombinasi pada percobaan kedua dan 10 kombinasi pada percobaan ketiga. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data dianalisis dengan menggunakan Uji F taraf 5% dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan taraf 5%.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa kombinasi antara beberapa jenis buffer pada ketiga percobaan berpengaruh nyata terhadap masa inkubasi dan intensitas serangan tanaman buncis. Jenis buffer yang efektif terhadap persistensi SMV berbeda tergantung seberapa besar masa inkubasi dan intensitas serangan yang ditimbulkan pada tiap percobaan. Buffer-buffer yang dapat mempercepat masa inkubasi adalah: Fosfat bersuhu pemanasan sap 70°C, Sitrat di tingkat pengenceran 10⁻² dan Borat pada penyimpanan 48 jam. Dan buffer-buffer yang dapat meningkatkan intensitas serangan SMV adalah: Fosfat bersuhu pemanasan 70°C, Borat di tingkat pengenceran 10⁻⁶ dan Fosfat pada penyimpanan 48 jam. Menurut percobaan ini, buffer-buffer tersebut masih berperan aktif dalam mempertahankan stabilisasi virus dalam sap.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 19 Oktober 1981 di Pasuruan dengan ayah bernama Mohammad Ramelan Rahardjo dan ibu Sri Hartati.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Kidul Dalem I/II pada tahun 1994, lulus SLTP Negeri I Bangil pada tahun 1997 dan menyelesaikan pendidikan di SMU Negeri I Gondangwetan Pasuruan pada tahun 2000. Pada tahun yang sama penulis diterima di Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana melalui jalur UMPTN, dan pada tahun 2003 melanjutkan studi di Universitas Brawijaya dengan jurusan yang sama.



SUMMARY

PUDJO RAHARDJO. THE EFFECT OF BUFFERS ON TRANSMISSION AFFECTIVITY AND PERSISTENCE OF SMV (*Soybean Mosaic Virus*) ON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.). Supervisor by Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS and Ir. Mintarto Martosudiro, MS.

Soybean Mosaic Virus was a one of the beans viruses which have a wide spreading all over the country. SMV has the same symptom if infected beans through by mechanical inoculation.

This research is aimed to know how the buffer was affectivity could increase virus infectivity in the sap through three kinds of virus experiment such as: thermal degrees, dilution and storage period. Each experiment had used a Factorial Randomize Complete Design with three repetitions. The first experiment is use fifth buffer for the major factor (such as: Acetate, Borate, Citrate, Tris-HCl and Phosphate) and thermal degrees (such as: 30°C, 50°C and 70°C) as a minor factor. The second experiment is use kind of dilutions (such as: 10⁻², 10⁻⁴ and 10⁻⁶) as a minor factor and the last experiment use a kind of storage periods one, such as: 24 and 48 hours. So that each experiment has fifteen combinations treatment for thermal and dilution experiment and tenth combinations for the storage periods experiment. The resulted data had to analyze with F test 5% and it would be continued with Duncan test 5%.

These experiment have resulted the combinations within buffers in each experiment has effected significantly to incubation period and disease intensity of beans. A buffer which effective trough SMV persistently depends to how highly was the incubation period and disease intensity caused by the virus in each experiment. The buffers which could have increased the incubation periods are: Fosfat in 70°C thermal degrees, Sitrat in 10⁻² dilution and Borat if has a 48 hours storage periods. Then, the buffers which could have increased the disease intensity are: Fosfat in 70°C thermal degrees, Borat in 10⁻² dilution and it still Fosfat which has 48 hours storage periods. According to the research, those are the buffers which still could stabilize the virus in the sap so that it could be increase infectivity to the beans.