

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman jeruk purut (*Citrus histryx*) merupakan tanaman kelompok jeruk (*Citrus* spp.) yang saat ini mulai banyak dibudidayakan dan merupakan berpohon rendah, tingginya antara 2 – 5 meter. Buah berkulit tebal, berkerut – kerut, warnanya hijau, dan mengandung minyak atsiri. Daging buah warnanya hijau kekuning – kuningan, rasanya sangat masam dan kadang – kadang agak pahit. Biasanya dipergunakan untuk membumbui ikan, agar tidak terlalu amis. Sedang kulit buahnya diparut, dipakai untuk bahan pencuci rambut (Sarwono 1993). Beberapa jenis jeruk yang rentan di Indonesia adalah jeruk purut (*Citrus histryx*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan pamelon (*Citrus maxima* Merr.) terutama yang tumbuh pada suhu 20 – 35°C atau pada agroklimat yang agak panas (Triwiratno 2003 dalam Triwiratno 2014).

Jeruk purut termasuk suku Rutaceae yang berasal dari Asia Tenggara yang banyak ditanam di beberapa Negara termasuk Indonesia. Tanaman ini berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel dan menghambat pertumbuhan serta mematikan bakteri dengan mengganggu terbentuknya dinding sel (Yuliani *et al.* 2011 dalam Miftahendarwati 2014). Daun jeruk purut mengandung sabinena dan limonena yang berguna untuk kosmetik, aromaterapi, pencuci rambut, antelmintik, obat sakit kepala, nyeri lambung dan biopestisida. Daunnya juga sering digunakan sebagai rempah yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan (Munawarah & Handayani 2010). Berdasarkan komunikasi pribadi Dwiastuti (2015), daerah sentra budidaya jeruk purut antara lain Ngantru (Tulungagung), Blitar, Rejotangan, Ngunut, Sumbergempol, Kedungwaru, Umbulsari (Jember), Bayan (Purworejo). Nilai ekonomis yang cukup besar dengan harga Rp 9000,- sampai Rp 27000,- per kg.

Salah satu kendala pengembangan budidaya jeruk adalah adanya serangan penyakit virus yang sulit disembuhkan. Penyakit virus tersebut antara lain *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV). CTV dan CVEV menyebabkan produksi tanaman menurun dan tidak berumur panjang. Penyakit ini ditularkan oleh serangga vektor yang sama yaitu *Toxoptera citricida*. Serangga vektor tersebut selain sebagai vektor juga berperan sebagai hama tanaman jeruk. Gejala

serangan hama tersebut menyebabkan daun mengkerut dan mengeriting (Dwiastuti *et al.* 2004 dalam Heru *et al.* 2013).

Tanaman jeruk juga diperbanyak secara vegetatif dan rentan terinfeksi penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*), *Citrus Tristeza Virus* (CTV), *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV), *Citrus Exocortis Viroid* (CEV), *Citrus Psorosis Virus* (CPsV), *Citrus Cachexia Viroid* (CCaV) dan *Citrus Tatter Leaf Virus* (CTLV) (Deptan 2005).

CTV adalah virus yang menyebar luas didunia dan merupakan penyakit yang dapat merusak jeruk. CTV berbeda dalam patogenisitas dengan beberapa strain yaitu strain kuat dan strain lemah yang menyebabkan penurunan secara ekonomi, sementara yang relatif rendah tingkat patogenisitasnya tidak menimbulkan gejala. *Stem pitting* pada CTV dapat menurunkan pertumbuhan pohon yang mengarah ke penurunan ukuran buah, kualitas dan hasil. Di Florida, penyakit yang dapat menurunkan produktivitas yaitu CTV yang menyerang tanaman jeruk dan anggur pada batang bawah jeruk asam. Untuk menguji keberadaan CTV pada tanaman jeruk dapat menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (Hilf & Garnsey 2002). Di *mexican lime* sering muncul gejala *vein clearing* dan termasuk varietas yang rentan terhadap semua strain CTV (Limette 2000). *Tristeza* terjadi di hampir semua daerah jeruk yang tumbuh dari dunia. Ini mempengaruhi hampir semua jenis tanaman jeruk tapi terutama *orange*, *grapefruit*, dan *lime*. Strain parah virus *tristeza* dapat menyebabkan kerugian parah kuantitas buah dan kualitas. Kebanyakan strain virus *tristeza* adalah ringan dan tidak menghasilkan gejala terlihat pada komersial varietas jeruk, dapat dideteksi hanya dengan *indexing* pada tanaman indikator yang sensitif atau oleh uji serologis dan tes asam nukleat (Agrios 2005). Di Indonesia, CTV yang umum dijumpai di lapangan adalah lekuk atau celah batang (*stem pitting*). Penyakit ini banyak menyerang pertanaman jeruk manis, jeruk nipis, jeruk besar, batang bawah *japanese citroen* (JC), dan jeruk siem varietas Pontianak. Pada daun biasanya terjadi gejala pemucatan tulang daun (*vein clearing*) berupa garis – garis putus atau memanjang pada tulang daun yang tembus cahaya 2 – 3 bulan setelah ditulari. Daun – daun biasanya menjadi agak kaku (Soelarso 1996).

CVEV dapat menyebabkan *woody gall* pada batang bawah *rough lemon*, *vein enation* pada *rough lemon*, *mexican lime* dan *sour orange*. Di Amerika Selatan menyebabkan batang bawah *rough lemon* yang masih muda terganggu pertumbuhannya

(Bazan de Segura & Ferrand 1969 dalam da Graça *et al.* 2007). Penyakit ini ditekankan pada suhu tinggi dan jarang ditemukan di daerah panas di California (Graca *et al.* 2007). CVEV pada tanaman jeruk nipis menyebabkan munculnya tonjolan atau puru kecil (*enation*) yang tersebar tidak teratur pada tulang daun di permukaan bawah daun. Gejala ini berukuran kecil, mulai tampak pada daun – daun muda pada 2 – 3 bulan sejak penularan. Gejala tersebut semakin jelas bila daun menjadi tua. Pada tanaman terinfeksi, gejala tonjolan – tonjolan ini biasanya terjadi pada sebagian atau seluruh daun (Dwiastuti & Triwiratno^a 2014).

Penelitian tentang infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV belum pernah dilakukan pada tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*) biasanya pengujian CTV dan CVEV menggunakan tanaman indikator jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruhnya terhadap keparahan gejala dan pertumbuhannya.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan yang diajukan pada penelitian ini adalah:

- Bagaimana gejala yang ditimbulkan dari infeksi CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut?
- Apakah infeksi ganda CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut dapat menimbulkan gejala yang lebih parah dan mempengaruhi pertumbuhan tanaman?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan dan gejala yang ditimbulkan oleh infeksi CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut.

1.4 Hipotesis

Infeksi ganda antara CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut akan menimbulkan kerusakan yang lebih tinggi dibandingkan infeksi tunggal antara CTV dan CVEV.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV terhadap gejala dan pertumbuhan tanaman jeruk purut. Serta diharapkan mampu memberikan wawasan mengenai gejala dini infeksi CTV dan CVEV.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Purut

2.1.1 Daerah Asal dan Penyebaran

Plasma nutfah aneka jeruk (*Citrus* spp.) berasal dari dataran Cina. Nikolai Ivanovich Vavilov, ahli botani Soviet, memastikan bahwa tanaman jeruk purut berasal dari kawasan Indo – Malaya yang mencakup Indo – Cina, Malaysia, Indonesia, dan Filipina (Asia Tenggara). Walaupun asal tanaman jeruk adalah Asia Tenggara, namun kenyataannya sentrum – sentrum produksi jeruk yang luas dan terkenal adalah di daerah – daerah subtropik, seperti California, Florida, Australia, dan lainnya. Penyebaran tanaman jeruk purut ke berbagai negara di dunia telah berlangsung ratusan tahun yang lalu. Di Indonesia, tanaman jeruk purut banyak ditanam di berbagai daerah, baik sebagai tanaman pengisi lahan kebun (tegalan) maupun di halaman rumah (pekarangan) (Rukmana 2003).

2.1.2 Taksonomi dan Morfologi Jeruk Purut

Kedudukan tanaman jeruk purut dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Sub – divisi	: Angiospermae (berbiji tertutup)
Kelas	: Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Ordo	: Rutales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Spesies	: <i>Citrus hystrix</i> Aug D.C (Rukmana 2003).

Morfologi tanaman jeruk purut hampir sama dengan jenis jeruk lainnya. Karakteristik yang khas dari jeruk purut dapat diamati secara visual dari struktur tanamannya. Pohonnya rendah atau perdu, namun bila dibiarkan tumbuh alami dapat mencapai ketinggian 12 m. Batang yang tua berwarna hijau tua, berbentuk bulat, berwarna hijau tua, polos, atau berbintik – bintik. Tata letak tajuk tanaman tidak beraturan dan cabang – cabangnya rapat. Dahan dan ranting – rantingnya bersudut tajam,

berwarna hijau tua, berbintik – bintik, dan berduri di ketiak daun. Duri – durinya pendek, kaku, hitam, ujungnya coklat, dan panjangnya 0,2 cm – 1,0 cm (Rukmana 2003).

Letak daun jeruk purut terpenjar atau silih berganti dan bertangkai agak panjang serta bersayap lebar. Bentuk daun bulat telur, ujungnya tumpul, berbau sedap, mengkilap, dan berwarna hijau kekuning – kuning. Tanaman jeruk purut berbunga majemuk. Bunganya terletak di ketiak daun atau di ujung tangkai, tajuk bunga berjumlah 4 – 5 lembar, dan benang sari berjumlah 24 – 30 helai. Buah jeruk purut berbentuk bulat sampai bundar, ukurannya kecil, kulit buah tidak rata, rasanya asam, dan berbau sedap. Buah jeruk purut cocok sebagai jeruk peras (Rukmana 2003).



Gambar 1. Tanaman jeruk purut (Anonymous 2015 a)

2.1.3 Pemilihan Batang Bawah untuk Jeruk Purut

Sifat – sifat penting dari jeruk *Japanese Citroen* (JC) yang digunakan untuk batang bawah jeruk purut adalah sebagai berikut:

1. Batangnya kekar (kuat) dan secara alami dapat mencapai ketinggian antara 4 – 6 meter.
2. Cabang – cabangnya banyak yang tata letaknya menyebar dan merunduk dengan duri kecil dan sedikit.
3. Tunas yang baru tumbuh berwarna ungu.
4. Daunnya berwarna hijau gelap dan mengkilap.
5. Bungannya berukuran kecil dengan putik dan kelopak bunga berwarna ungu tua.
6. Kulit buah yang masak berwarna kuning sampai jingga.

7. Buahnya membentuk biji yang kecil dan banyak, berisi antara 8 – 10 butir biji. Setiap 100 kg buah diperoleh biji sekitar 8.000 – 10.000 butir, dengan sifat poliembrional 40% – 60%.
8. Pengaruh pada batang atas adalah produksi buahnya seragam dan banyak mengandung air.
9. Kelemahan jeruk JC adalah peka terhadap penyakit *Phytophthora*, virus *Exocortis* dan *Xyloporosis*, serta batang dan akarnya rentan terhadap cendawan *Diploida*.
10. Mudah diokulasi dan daya adaptasinya luas terhadap berbagai jenis tanah.
11. Tahan terhadap kekeringan dan mampu merangsang pertumbuhan batang atas dengan cepat, sehingga cocok untuk dikembangkan di Indonesia bagian Timur (Rukmana 2003).

2.2 Citrus Tristeza Virus (CTV)

2.2.1 Deskripsi dan Morfologi Citrus Tristeza Virus (CTV)

CTV adalah virus tanaman yang berfilamen dengan prion yang fleksibel terdiri dari satu molekul RNA tunggal yang beruntai (Karasev *et al.* 1994). CTV adalah spesies dari genus *Closterovirus*. CTV virion memiliki morfologi yang berserabut *flexuous* dan genom tunggal beruntai (Hilf *et al.* 2005). CTV adalah anggota dari genus *Closterovirus* dalam famili *Closteroviridae* dan limited phloem (Berlansky *et al.* 1988 dalam Abbas 2008). Virus memiliki partikel *flexuous* dengan panjang sekitar 2.000 nm (Bar-Joseph *et al.* 1989 dalam Abbas 2008). Virion yang terdiri dari untaian tunggal RNA positif – sense molekul *encapsidated* (tempat asam nukleat virus dalam kapsid) dengan dua protein kapsid (CPs). CP utama 25 kDa mencakup sekitar 95% dari genom (Pappu *et al.* 1993 dalam Abbas, 2008) dan sisanya dari genom ditutupi oleh CP kecil 27 kDa pada salah satu ujung virion (Pappu *et al.* 1994; Febres *et al.* 1994 dalam Abbas 2008). Fungsi utama CP adalah sebagai protein struktural komponen partikel virus, dan fungsi yang lainnya adalah membantu pergerakan virus dari sel ke sel inang, mempengaruhi ekspresi gejala, dan penularan virus serangga vektor (Atreya *et al.* 1990).

2.2.2 Penularan Citrus Tristeza Virus (CTV)

CTV ditransmisikan dengan bantuan aphid yang bersifat semi persisten dan memiliki kisaran inang yang sangat terbatas pada spesies *Rutaceae* yang terbatas sampai

floem (Karasev *et al.* 1994). CTV ditularkan secara semi – persisten oleh empat spesies kutu, *Toxoptera citricida* Kirkaldy, *T. Aurantii* (Boyer de Fonscolombe), *Aphis gossypii* Glover dan *A. spiraecola* Pagenstecher (da Graça *et al.* 2007). CTV awalnya diidentifikasi dengan gejala penyakit yang berkembang di lapangan dan diinokulasi ke tanaman indikator yaitu jeruk dengan *grafting* (Hilf *et al.* 2005). CTV juga dapat menular melalui bahan perbanyak vegetatif atau bibit (Pappu *et al.* 1994). CTV ditularkan dengan *grafting* dan beberapa spesies kutu yang semi persisten, vektor tersebut memerlukan waktu makan setidaknya 30 sampai 60 menit untuk memperoleh virus dan kemudian tetap *viruliferous* selama sekitar 24 jam. Berbagai spesies kutu sangat bervariasi dalam kemampuan untuk mengirimkan CTV. Vektor yang efisien yaitu *Toxoptera citricida* yang berkoloni dan hanya mempengaruhi jeruk. *Toxoptera citricida* dapat menularkan strain CTV yang menyebabkan penurunan dan *stem pitting* (Agrios 2005). *Viruliferous* adalah vektor yang membawa dan mengandung virus (Akin 2006).

2.2.3 Gejala *Citrus Tristeza Virus* (CTV)

CTV memiliki patogen utama yaitu *Citrus* spp., sering terjadi penurunan produksi dan kematian pada tanaman yang diserang, akan menimbulkan *stem pitting* dan mengurangi daya tumbuh pada varietas yang rentan serta dianggap sebagai ancaman serius bagi industri jeruk seluruh dunia (Karasev *et al.* 1994). Dua pengaruh CTV terhadap produksi jeruk adalah: (a) penurunan yang cepat dan nekrosis dihubungkan dari sel floem tepat di bawah tunas pohon jeruk asam (*Citrus aurantium* L.), lemon (*Citrus limon* (L.) Burn. f.) dan grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) batang bawah (b) *stem pitting* yang parah dari berbagai kultivar tanpa memperhatikan batang bawah dan berhubungan dengan penurunan pohon, penurunan hasil dan kualitas buruk buah adanya *stem pitting* (Roistacher 1992; Mehta *et al.* 1997 dalam Abbas 2008).

Penyakit utama yang disebabkan oleh CTV adalah penurunan pada tanaman yang diserang, virus diinduksi dengan cara *grafting* akan terjadi ketidakcocokan antara jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) OSB.) yang dicangkokkan ke batang bawah jeruk asam (*C. aurantium* L.). Ketidakcocokan ini dapat menyebabkan penurunan yang cepat atau bertahap dalam produktivitas pohon, sering mengakibatkan kematian. Merusak CTV adalah *stem pitting*, yang melemahkan fungsi pohon dan mengurangi ukuran buah serta produksinya (Hilf *et al.* 2005). CTV dapat menyebabkan *stem pitting* dan *syndrome decline*, serta secara ekonomi sangat merugikan (Bar-Joseph *et al.* 1979). *Syndrome*

decline terjadi karena virus menginduksi ketidaksesuaian sambungan sehingga perkembangan floem dan xilem menjadi abnormal. Akibatnya, tanaman menjadi kerdil, vigor berkurang, ukuran buahnya kecil tetapi tanaman tidak mati. Gejala yang timbul pada tanaman yang terinfeksi bergantung pada ketahanan inang dan virulensi patogen (Ardiana 2008). Variabilitas gejala digunakan untuk membedakan isolat atau strain. Isolat ringan menyebabkan hanya gejala ringan atau tidak ada di inang indikator jeruk dan biasanya mengakibatkan tidak ada kerugian ekonomi. Isolat yang berat dapat menyebabkan penurunan, *stem pitting*, atau keduanya, dan dapat bervariasi dalam intensitas (Garnsey *et al.* 1987 dalam Hilf *et al.* 2005).

CTV strain yang ringan dapat menurunkan rangsangan untuk pertumbuhan dan *stem pitting*. Strain ctv ringan tidak berpengaruh pada jeruk sementara strain yang lain parah dapat menyebabkan penurunan dan atau kematian (Niblett *et al.* 2000 dalam Abbas 2008). Pohon sering terinfeksi dengan lebih dari satu strain. Strain tertentu mencegah infeksi atau ekspresi gejala jenis lainnya. Pohon yang terinfeksi bisa mengidap beberapa strain dan hasilnya mungkin sangat berbeda dari pengaruh infeksi strain tunggal (Kallsen 2002 dalam Abbas 2008). Tingkat keparahan penyakit juga bervariasi tergantung dengan varietas dan batang bawah (Abbas 2008).

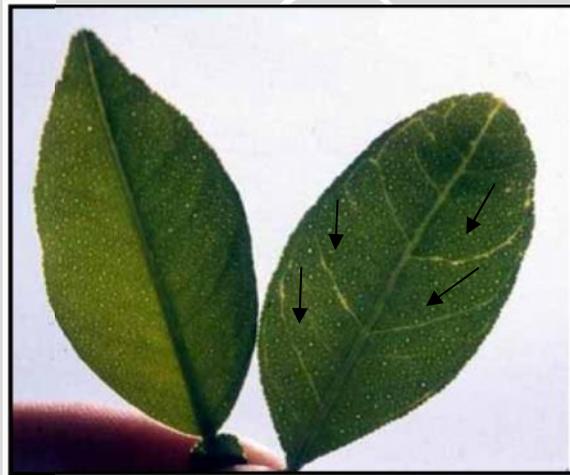
Gejala infeksi pada tanaman berupa kerusakan pada jaringan pembuluh tapis (floem), terlihat adanya lekukan atau celah – celah memanjang pada jaringan kayu pada batang, cabang atau ranting (*stem pitting*) dan gejala pemucatan tulang daun (*vein clearing*) berupa garis-garis putus atau memanjang pada tulang daun yang tembus cahaya, 2 minggu sampai 2 bulan setelah terinfeksi. Pertumbuhan tanaman menjadi merana, kerdil dan daun kecil – kecil. Kadang – kadang muncul gejala daun kecil kaku serta tepinya melengkung keatas (*cupping*). Gejala lain yang dapat muncul adalah “*vein crocking*” (Dwiastuti & Triwiratno^b 2014).

Gejala *vein clearing* pada daun *mexican lime* dapat segera dideteksi pada tanaman yang diinokulasi dengan isolat CTV. Namun, gejala *vein clearing* yang disebabkan oleh isolat yang ringan mungkin sulit untuk melihatnya. Hanya beberapa daun dapat menunjukkan sesekali bintik – bintik ringan (Gambar 2 dan 3). *Vein clearing* dengan gejala yang ringan biasanya tidak bertahan dalam daun yang dewasa. Tanaman harus sering diamati ketika baru berkembang (Roistacher 1991).

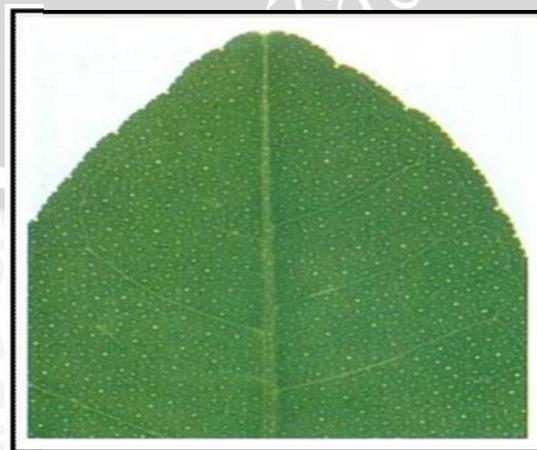
Gejala *leaf cupping* biasanya muncul ketika tanaman ditanam pada suhu dingin (maksimal 24 - 27°C pagi hari atau minimal 18 - 21°C pada malam hari) dan dalam

kondisi pertumbuhan yang baik, tetapi hal tersebut mungkin tidak selalu ada. Namun, *leaf cupping* merupakan gejala yang diinduksi pada daun jeruk *mexican lime* oleh *vein enation* virus tanpa adanya *tristeza*. Oleh karena itu, tanpa adanya gejala lain, *leaf cupping* mungkin saja tidak diagnosis untuk *tristeza*. *Leaf cupping* biasanya tetap setelah daun dewasa atau mengeras (Gambar 4). Hal tersebut mungkin ketika tanaman terinfeksi isolat CTV yang parah (Roistacher 1991).

Gejala *stem pitting* dapat diamati setelah sekitar 8 minggu dengan mengupas kembali kulit dan mengamati batang yang dikupas (Gambar 5). Namun, *pitting* yang terbaik dievaluasi pada akhir uji indeks sekitar 4 – 6 bulan setelah inokulasi ketika kulit tunas tunggal yang besar dapat benar – benar dikupas dan batang diamati dengan teliti. Jika kulit tidak megelupas dengan mudah, maka *autoclave* dapat membantunya untuk melonggarkan kulitnya (Roistacher 1991).



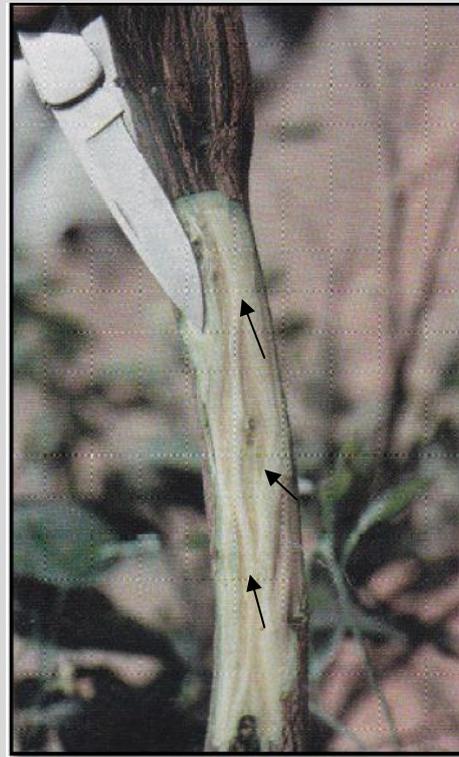
Gambar 2. Gejala *vein clearing* pada *Mexican lime* (kanan) dan kontrol (kiri) yang dilihat dari bagian belakang daun ke sinar matahari secara langsung (Roistacher 1991).



Gambar 3. Gejala bintik – bintik *vein clearing* ringan pada *Mexican lime* oleh isolat ringan *tristeza* (Roistacher 1991).



Gambar 4. *Cupping* pada daun *mexican lime* diinokulasi dengan virus *tristeza* (Roistacher 1991).



Gambar 5. Gejala *stem pitting* pada cabang atau ranting (Garnsey 2000).

2.2.4 Pengendalian *Citrus Tristeza Virus* (CTV)

Untuk strategi manajemen terbaik yaitu dilakukan dengan merusak setiap pohon yang tidak bebas dari CTV (Agrios 2005). Hal ini harus dilakukan karena seberapa cepat *Toxoptera citricida* dapat menyebarkan virus. Jika ditemukan CTV di suatu daerah, maka menghindari *grafting* batang bawah sour orange dan sebagai gantinya *grafting* dengan batang bawah yang toleran terhadap CTV. Menggunakan varietas entris yang toleran untuk meminimalkan gejala *stem pitting*. Produksi pohon bebas virus *shoot – tip*

grafting atau perlakuan suhu panas sangatlah penting. Apabila sulit menemukan daerah yang bebas virus, maka prainokulasi dengan strain CTV ringan dapat melindungi pohon terhadap infeksi strain parah CTV. Tunas pohon harus diinokulasikan dengan strain ringan CTV setidaknya 4 – 6 bulan sebelum propagasi. Kemudian harus disimpan dalam rumah kaca dan kondisi bebas dari vektor. Hal tersebut juga dianjurkan untuk pembibitan tanaman muda harus dijaga bebas dari vektor. *Top grafting* dan prainokulasi pada tunas pohon yang terinfeksi CTV parah maka tidak akan efektif, karena pohon tersebut memiliki sedikit perlindungan terhadap penyakit. Perlu dilakukannya penyemprotan pada saat pembibitan dan tanaman muda sesekali dengan insektisida, untuk mengendalikan vektor (Stanley 1994).

2.3 Citrus Vein Enation Virus (CVEV)

2.3.1 Deskripsi dan Morfologi Citrus Vein Enation Virus (CVEV)

CVEV merupakan famili dari *Luteoviridae* karena paling erat terkait serologis untuk *Cereal Yellow Dwarf* (CYDV) – RMV dan RPV, kemudian diklasifikasikan sebagai *poleroviruses*. Reaksi positif dengan CYDV – RMV dan CYDV – RPV, yang sebelumnya memberikan hasil absorbansi yang lebih tinggi pada penelitian yang sudah dilakukan. Partikel mirip virus isometrik telah diamati dengan mikroskop elektron yaitu gejala *vein enation* dalam floem dan vektor yang viruliferous dan sejumlah kecil partikel isometrik telah diisolasi dari *enation*, maka CVEV merupakan anggota dari *Luteoviridae* (Clark & da Graça 2000).

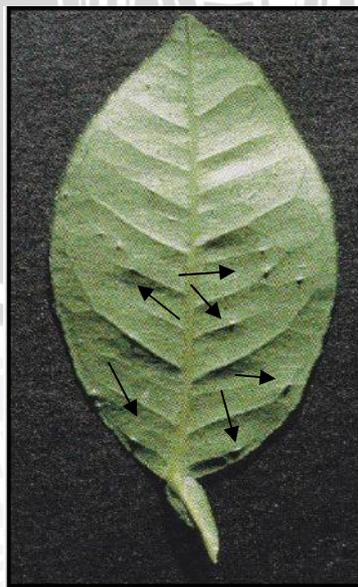
2.3.2 Penularan Citrus Vein Enation Virus (CVEV)

CVEV secara persisten ditularkan oleh spesies kutu *Toxoptera citricida* (Maharaj & da Graça 1989 dalam Clark & da Graça 2000), *Aphis gossypii* dan *Myzus persicae* (Mendoza *et al.* 1993 dalam Clark & da Graça 2000). CVEV ditransmisikan oleh virus persisten, dengan periode laten 2 – 3 hari. Sifat ini adalah karakteristik umum dari kelompok *luteovirus* (da Graça & Maharaj 1991). Virus ini juga mudah menular dengan *grafting*, namun 100 persen infeksi tidak selalu diperoleh dengan cara tersebut dari pohon yang dilapangan, karena virus ini tidak merata di seluruh pohon (Reuther *et al.* 1978).

2.3.3 Gejala *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV)

CVEV dapat menyebabkan *woody galls* pada batang bawah *rough lemon*, dan *vein enation* pada *rough lemon*, *mexican lime* dan *sour orange* (da Graça *et al.* 2007). *Vein enation* menunjukkan gejala yang menonjol pada pembuluh secara lateral dibagian bawah daun dan cekungan pada permukaan atas (Gambar 6). Untuk ukuran bervariasi hanya sedikit terjadi pembengkakan seperti struktur memanjang sekitar satu mm dari permukaan daun. Bila disentuh, pembengkakan ini biasanya tampak jelas, tetapi di bagian bawah membentuk menangkup. *Enation* dapat terjadi sedikit atau banyak secara individu daun. Terdapat beberapa jenis jeruk yang tak tampak gejala tersebut. *Vein enation* lebih mencolok gejalanya pada *mexican lime* dan *sour orange* dari pada *rough lemon*, *sweet orange*, *mandarin*, *grapefruit*. Dalam kondisi lapang, hanya *sour orange* dan *mexican lime* yang berkembang *vein enation* yang kuat (Reuther *et al.* 1978).

Pada saat pembibitan *rough lemon* dan *lime*, terdapat kemungkinan untuk mendeteksi tahap visual dari awal perkembangan *gall*. Gejala awal yaitu sedikit pembengkakan dan sering berdekatan dengan pangkal ranting kecil. Namun, terkadang muncul pada kulit kayu selama *gall* masih kecil yaitu mulai kasar permukaannya. *Gall* dapat memperbesar perlahan dan membentuk agak tidak teratur. *Gall* individu terkadang tumbuh secara bersamaan untuk membentuk apa yang tampaknya menjadi *gall* tunggal yang membesar mencakup sepertiga sampai setengah dari lingkaran pohon yang terkena. *Gall* juga berkembang di akar yang mempengaruhi *lime* dan *rough lemon* (Reuther *et al.* 1978).



Gambar 6. *Vein enations* dibagian bawah daun *mexican lime* (Garnsey 2000).

2.3.4 Pengendalian *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV)

Penyakit yang disebabkan oleh CVEV muncul maka harus ditekan pada suhu tinggi dan jarang ditemukan di daerah panas dari California dan gejala muda pada pohon dipindahkan dari rumah kaca ke lapangan di California dengan beberapa *galls* yang baru berkembang, dan *galls* akan berhenti memperbesar atau surut (Wallace 1981 dalam da Graça *et al.* 2007). Panas suhu Texas selatan dapat menekan CVEV dengan baik (da Graça *et al.* 2007). Pencegahan yang mempunyai langkah paling aman yaitu dengan menggunakan mata tempel atau bibit bebas penyakit serta pengendalian serangga penular seperti pada kutu daun (Dwiastuti & Triwiratno^a 2014).

2.4 Pemeriksaan Patogen Virus

Menurut Deptan (2005), bahwa indeksing atau pemeriksaan patogen virus digunakan untuk menguji adanya patogen tertentu dalam organ tanaman. Jika sumber tanaman yang dilakukan indeksing menunjukkan positif, maka material bersangkutan positif tertulari penyakit, begitu sebaliknya jika negatif maka sumber tanaman bersangkutan bebas penyakit. indeksing dapat dilakukan dengan metode tanaman indikator, serologi maupun biomolekuler yang masing – masing mempunyai tingkat akurasi dan efisiensi yang berbeda.

a. Uji tanaman indikator

Indeksing dapat dilaksanakan dengan menggunakan tanaman indikator, yaitu tanaman jeruk varietas tertentu yang peka dan menimbulkan gejala ekspresif khas penyakit tertentu pada lingkungan yang khusus. Menurut Brlansky & Lee, bahwa tanaman yang rentan terhadap CTV yaitu *C. aurantifolia*, *C. excels*, *C. hystrix* dan *C. sinensis*. Sedangkan CVEV dengan gejala *vein enation* pada *citrons*, *lemons*, *mandarins*, *rough lemon*, *sour orange*, *sweet oranges*, *west Indian lime* (Fao 2013). Tanaman jeruk purut terserang CTV dapat menunjukkan gejala *vein clearing*, *cupping*, *stem pitting* sedangkan CVEV menunjukkan gejala *vein enation* (pengamatan tanaman di Tlekung). Cara ini menuntut kejelian pelaksana indeksing dalam memahami gejala masing – masing penyakit. Dalam pelaksanaan, indeksing satu jenis penyakit diperlukan 3 tanaman indikator yaitu untuk kontrol positif, negatif dan uji tanaman contoh. Karena diulang 4x maka diperlukan sebanyak 12 tanaman indikator untuk setiap indeksing satu macam penyakit. Tanaman indikator diperoleh dari semaian batang bawah JC (*Japanese citroen*) yang ditumbuhkan dalam polybag 10 x 25 cm berisi media campuran peat moss

+ sekam + pasir (2:1:1) yang diperkaya dengan unsur makro dan mikro baik sebagai pupuk basal maupun pupuk cair untuk pemeliharaan yang diokulasi dengan mata tempel tanaman indikator sehat. Kemudian untuk kontrol positif diokulasikan dengan jaringan kulit tanaman terinfeksi penyakit tersebut sedangkan yang untuk pengujian dilakukan dengan jaringan tanaman contoh. Indeksing dengan tanaman indikator diakhiri setelah kontrol positifnya menunjukkan gejala yang jelas biasanya setelah masa inkubasi terlewati. Masa inkubasi adalah waktu dari patogen menyerang tanaman sampai memunculkan gejala penyakit pada suatu tanaman (Deptan 2005).

b. Uji serologi

Uji serologi dapat dilakukan dengan menggunakan ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*) (Deptan, 2005). Teknik ini mampu mendeteksi partikel virus dengan konsentrasi yang rendah di dalam tanaman dan dapat digunakan dengan virus yang memiliki morfologi partikel virus yang berbeda. Selain itu teknik ini memiliki kelebihan seperti kesesuaian dan sensitivitas yang cukup tinggi, ekonomis dalam penggunaan alat dan bahan, mampu mendeteksi sampel dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat, serta hasil deteksi ELISA dapat diukur secara kuantitatif. Ciri utama ELISA adalah digunakannya enzim (alkalin fosfatase atau peroksidase) untuk reaksi imunologi. ELISA dibedakan menjadi 2 jenis yaitu double antibody sandwich (DAS) – ELISA dan indirect ELISA (I – ELISA). DAS – ELISA baik digunakan untuk deteksi virus skala besar, tetapi memiliki spesifikasi yang rendah, sedangkan I – ELISA memiliki kespesifikan yang lebih tinggi dan memiliki hubungan serologi antar virus lebih stabil. Metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi virus dengan jumlah virus yang lebih sedikit pada satu benih (individu) atau serangga vektor. Hal ini untuk membuktikan tingkat sensitivitas metode ELISA (Dijkstra & De Jager 1998 dalam Adnyani 2012).

Menurut Devy *et al.* (2015) menyatakan bahwa protokol pengujian CTV dengan menggunakan direct DAS-ELISA menggunakan kit antibodi CTV dengan substrat Polynitrophenyl phosphat (PNP). Interpretasi hasil dilakukan dengan 2 cara yaitu:

1. Pembacaan hasil secara kualitatif dengan mengamati hasil reaksi secara visual terhadap perubahan warna kuning. Warna kuning pada kontrol positif dibandingkan dengan warna bening pada kontrol negatif.

2. Pembacaan hasil secara kuantitatif, yaitu pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan *Elisa Reader* pada filter 405 nm yang berfungsi juga untuk mengetahui konsentrasi CTV dalam jaringan tanaman

c. Biologi molekuler

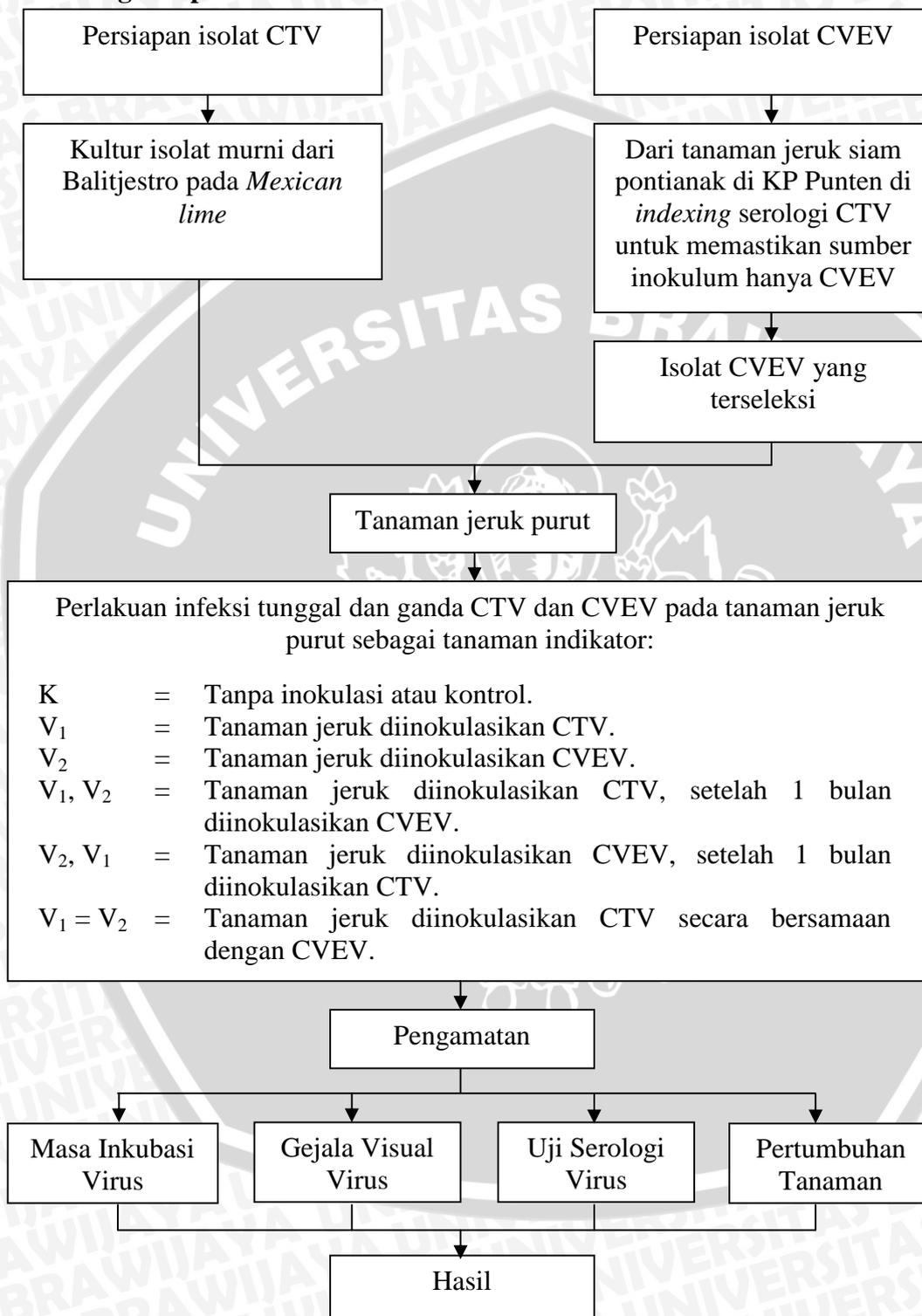
Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang memungkinkan deteksi DNA patogen sistemiknya sehingga hasilnya lebih akurat (Deptan 2005). PCR merupakan teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik ini digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dengan waktu yang singkat. Metode PCR dilakukan melalui tahapan ekstraksi DNA amplifikasi DNA, dan visualisasi hasil PCR dengan gel agarosa (Kintasari 2013).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



III. METODOLOGI

3.1 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 7. Kerangka operasional penelitian



3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di *screen house* dan laboratorium Balitjestro (Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika), Batu dan Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Jatikerto Universitas Brawijaya. Pelaksanaan penelitian pada bulan Oktober 2014 sampai April 2015.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah polybag, pisau okulasi, plastik, penggaris atau meteran, hand counter, mikro plate ELISA, tissue, kain kassa, tissue, mortar, pastle, aluminium foil, pH meter, timbangan digital, pipet tetes, gelas ukur, mikropipet, tip, botol semprot, hotplate stirrer, Elisa reader, sprayer, spatula, mikroskop cahaya, object glass, cover glass, silet, kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah batang atas jeruk purut dan batang bawah JC (*Japanese citroen*), pupuk daun, pupuk anorganik, sumber inokulum berupa isolat murni CTV dari Balitjestro Tlekung dan CVEV dari KP Punten, buffer ekstrak (grinding), coating buffer, conyugate buffer, larutan PBST, Substrat (PNP Buffer), Coating buffer, aquades, alkohol 70%, safranin.

3.4 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dengan 5 ulangan, masing – masing perlakuan dan ulangan terdiri dari 2 tanaman sehingga diperoleh 60 tanaman. Inokulasi dengan penempelan bagian kulit tanaman yang terinfeksi virus. Perlakuan disusun sebagai berikut:

- K = Tanpa inokulasi atau kontrol.
- V1 = Tanaman jeruk diinokulasi CTV.
- V2 = Tanaman jeruk diinokulasi CVEV.
- V1V2 = Tanaman jeruk diinokulasi CTV, 1 bulan diboster CVEV.
- V2V1 = Tanaman jeruk diinokulasi CVEV, 1 bulan diboster CTV.
- V1 = V2 = Tanamann jeruk diinokulasi CTV dan CVEV secara bersamaan.

Dari perlakuan diatas kemudian diacak sebagai berikut:

Tabel 1. Tabel perlakuan dan ulangan

Perlakuan	Ulangan				
	IV	II	III	I	V
1	K	V1	V2V1	V1=V2	V2
2	V2	V1=V2	K	V1V2	V2V1
3	V1=V2	V2	V1	K	V1V2
4	V1V2	K	V2	V2V1	V1
5	V1	V2V1	V1V2	V2	V1=V2
6	V2V1	V1V2	V1=V2	V1	K

Keterangan : Dalam satu perlakuan terdapat dua unit tanaman

3.5 Persiapan Penelitian

3.5.1 Persiapan Benih

Menyediakan benih jeruk purut yang sudah disambung dengan batang bawah JC dan diletakkan di *screen house* Balitjestro serta ditata menurut perlakuan. Tanaman yang digunakan dipilih yang seragam. Bibit ditanam di polybag dengan ukuran 30 x 30 per tanaman.

3.5.2 Seleksi Sumber Inokulum CTV dan CVEV

Sumber inokulum CTV dan CVEV dipilih dari tanaman jeruk yang menunjukkan sebagian atau seluruhnya dari gejala CTV yaitu *vein clearing*, *cupping*, *stem pitting* dan sebagian atau seluruh gejala CVEV yaitu *vein enation* dan *woody gall*. Tanaman dipilih dari lapang dan tanaman koleksi jeruk di pot besar Balitjestro.

3.5.3 Preparasi Buffer pada Uji Serologi ELISA untuk Deteksi CTV

a. Larutan PBST (Phosphate Buffer Saline Tween)

Bahan yang digunakan untuk pembuatan 1000 ml. Larutan PBST yaitu Sodium chloride (NaCl) 8,0 gram; Sodium phosphate 1,15 gram; Potasium phosphate 0,2 gram; Potasium chloride 0,2 gram; Tween-20 0,5 ml (500 μ l). Semua bahan dicampur sampai larut dengan H₂O kemudian di pH 7,4 lalu ditambahkan H₂O sampai volume 1 L. Larutan disimpan di suhu ruangan.

b. Substrat (PNP Buffer)

Bahan yang digunakan untuk pembuatan 250 ml. Larutan substrat yaitu MgCl₂ 0,025 gram; Sodium azide 0,05 gram; Diethanolamine 24,25 ml. Semua bahan dicampur sampai larut dengan H₂O kemudian di pH 9,8 lalu ditambahkan H₂O sampai volume 250 ml. Larutan disimpan pada suhu 4°C pada botol gelap.

b. Coating buffer

Bahan yang digunakan untuk coating buffer yaitu Sodium carbonate 1,59 gram; Sodium bicarbonate 2,93 gram; Sodium azide 0,2 gram. Semua bahan dicampur sampai larut dengan H₂O kemudian di pH 9,6 lalu ditambahkan H₂O sampai volume 1000 ml. Larutan disimpan pada suhu 4°C.

3.5.4 Pembuatan Larutan Stok**a. Buffer Ekstrak (grinding)**

Untuk pembuatan larutan grinding digunakan PBST 250 ml yang ditambahkan Tween 20 sebanyak 1,25 ml dan susu non lemak atau susu skim sebanyak 1,0 gram. Kemudian aduk hingga semua bahan larut atau stirer selama 30 menit kemudian pH 7,4 ditambahkan PBST sampai mencapai volume 250 ml.

b. Coating Antibodi CTV

Pembuatan coating antibodi yaitu dengan mencampurkan antibody dengan coating buffer dengan perbandingan 1 : 200 yang masing – masing plate diisi 100 µl. Keperluan coating disesuaikan dengan jumlah sampel yang dianalisis.

c. Conyugate Buffer CTV

Conyugate buffer yang dibutuhkan disesuaikan dengan kebutuhan sampel yang dianalisis, dengan perhitungan menggunakan rumus $ECL = 1 \times (ECL\ 5X) + 4\ H_2O$. Kemudian larutan tersebut ditambahkan Enzym conyugate yang terdiri dari dua botol yaitu masing – masing botol A dan botol B disesuaikan dengan jumlah sampel dikali 100 µl lalu dibagi 200.

3.6 Pelaksanaan Penelitian**3.6.1 Inokulasi**

Inokulasi virus CTV dan CVEV sesuai dengan perlakuan penelitian yang akan dilaksanakan. Inokulasi dilakukan dengan penempelan jaringan kulit tanaman di batang

atas jeruk purut. Perlakuan kombinasi antara CTV dan CVEV dapat dilakukan 1 bulan setelah terinfeksi oleh CTV ataupun CVEV.

3.6.2 Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi penyiraman, penyiangan gulma, pupuk daun, pengendalian OPT. Penyiraman dilakukan 2 – 3 hari sekali pada pagi atau sore hari dengan kondisi tanah di polybag. Penyiangan gulma yaitu dengan mencabut tanaman selain tanaman yang dibudidayakan seperti rumput. Pupuk daun digunakan agar pertumbuhan tunas dan daun dapat optimal, dikarenakan pengamatan akan dilakukan dibagian daun yang bergejala dan tidak bergejala pada perlakuan kontrol untuk perbandingan. Pupuk daun disemprotkan dibagian batang atas jeruk purut. Penambahan pupuk daun dan pupuk anorganik dilakukan setiap 2 minggu sekali.

Pengendalian OPT secara kimia dengan menggunakan pestisida. Pestisida yang digunakan adalah abamektin 18,5 g/l. Abamektin 18,5 g/l digunakan untuk mengendalikan ulat peliang daun (*Phyllocnistis citrella*).

3.7 Parameter Pengamatan

3.7.1 Pengamatan Gejala

a. Masa inkubasi

Pengamatan masa inkubasi dilakukan tiap minggu yaitu dimulai 2 minggu setelah inokulasi sampai munculnya gejala pertama.

b. Pengamatan gejala CTV yang ditimbulkan pada tanaman jeruk purut yang terinfeksi adalah:

- *Vein clearing, cupping* diamati setiap 2 minggu sekali dan dilakukan 8 kali dengan memberikan skor pada bagian tanaman yang terinfeksi. Pengamatan dimulai 4 minggu setelah inokulasi dilakukan. Pengamatan dilakukan 2 minggu sekali dikarenakan pertumbuhan tanaman jeruk cukup lambat.
- *Stem pitting*, dilakukan pada saat pengamatan terakhir yaitu dilakukan pada saat pengamatan terakhir. Pengamatan dengan mengelupas kulit cabang tanaman jeruk purut yang terinfeksi.

- c. Pengamatan gejala CVEV yang ditimbulkan pada tanaman jeruk purut yang terinfeksi adalah:
 - *Vein enation*, diamati setiap 2 minggu sekali dan dilakukan 8 kali dengan memberikan skor pada bagian tanaman yang terinfeksi. Pengamatan dimulai 4 minggu setelah inokulasi dilakukan. Pengamatan dilakukan 2 minggu sekali dikarenakan pertumbuhan tanaman jeruk cukup lambat.
- d. Pengamatan kerusakan jaringan dengan cara sebagai berikut:
 - Membuat irisan tipis pada daun yang bergejala *vein clearing*, *cupping*, *vein enation*. Pengamatan dilakukan pada pengamatan minggu ke-8 masing – masing perlakuan.
- e. Uji serologi dengan ELISA, dilakukan 3 kali yaitu pada awal, pertengahan, akhir pengamatan dengan mengambil daun tanaman yang bergejala sesuai perlakuan dan kontrol sebagai pembandingnya.

3.7.2 Tingkat Pertumbuhan Tanaman

a. Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman ditentukan dengan cara mengukur tinggi tanaman dengan penggaris dari ujung bagian tanaman tertinggi sampai permukaan tanah. Pengamatan tinggi tanaman dilakukan 2 minggu sekali dengan 8 kali pengamatan.

b. Jumlah daun

Jumlah daun yaitu dengan menghitung semua daun yang telah membuka sempurna pada setiap cabang tanaman uji.

c. Luas daun

Metode *leaf area meter*, pengukuran luas daun menggunakan alat *leaf area meter* yang memiliki akurasi tinggi namun ukuran alat kecil sehingga tidak dapat digunakan untuk pengukuran daun dengan ukuran besar tanpa perlakuan pemotongan (Nugroho dan Yuliasmara 2012). Pengamatan luas daun *vein clearing*, *cupping*, *vein enation* dilakukan pada saat pengamatan terakhir dengan membandingkan luas daun masing – masing perlakuan tanaman jeruk purut dengan perlakuan kontrol.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Serologi

4.1.1 Seleksi Sumber Inokulum *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV)

Seleksi sumber inokulum CTV dan CVEV dilakukan berdasarkan gejala visual dan uji serologi ELISA yaitu pada tabel 2.

Tabel 2. Seleksi sumber inokulum CTV dan CVEV dengan DAS-ELISA

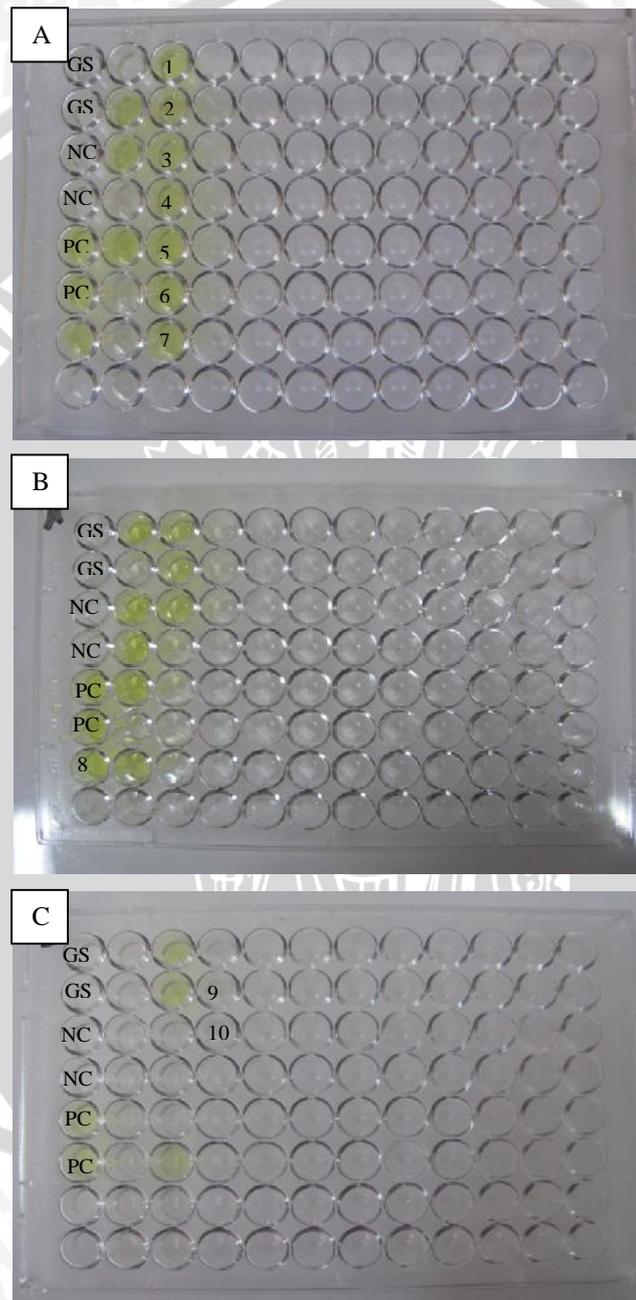
Asal Inokulum	Gejala lapang	Gejala dari hasil inokulasi penyambungan	Kode sampel	Hasil ELISA
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall, cupping, subur	Woody gall, cupping	1	0,117 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall, meranggas	Woody gall	2	0,115 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall ringan, clearing	Woody gall, vein clearing	3	0,115 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall, meranggas	Woody gall	4	0,119 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall, vein clearing, kerdil, meranggas	Woody gall, vein clearing	5	0,115 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall	Woody gall	6	0,114 (+)
Jeruk groveri (lapang)	Woody gall, vein clearing, cupping, subur	Woody gall, vein clearing, cupping	7	0,123 (+)
Jeruk nipis (screen balitjestro)	Vein clearing	Vein clearing	8	0,103 (+)
Jeruk siam pontianak (screen punten)	Vein enation	Vein enation	9	-0,044 (-)
			10	-0,036 (-)

Keterangan : Diukur dengan ELISA reader 405 nm, ambang batas untuk reaksi positif pada plate baru > 2x kontrol negative (Lamka, 1990). Negatif (-) tidak mengandung CTV dan positif (+) mengandung CTV.

Penentuan sumber inokulum CTV dan CVEV dilakukan dengan mengamati gejala yang nampak dan dilakukan uji serologi DAS-ELISA dengan mengambil sampel daun tanaman yang bergejala. Asal inokulum dari lapang dan screen Balitjestro, serta screen KP Punten. Tanaman berasal dari sambungan batang bawah JC (*Japanese citroen*). Untuk sumber inokulum CTV diambil dari jeruk nipis dengan gejala *vein clearing* dan

hasil uji ELISA yaitu positif CTV, sedangkan CVEEV diambil dari jeruk siam Pontianak dengan gejala *vein enation* dan hasil uji ELISA yaitu negatif CTV, sedangkan semua jeruk groveri menunjukkan hasil positif CTV hal ini kemungkinan dikarenakan benih awal dari KP Punten yang batang bawah JC diduga terinfeksi CVEEV dan saat dilapang terdapat vektor *Toxoptera citricida* yang dapat menularkan.

Plate hasil uji ELISA untuk sumber inokulum CTV dan CVEEV:



Gambar 8. Hasil ELISA pada tanaman sumber inokulum CTV dan CVEEV. 1-7 sampel jeruk groveri, 8 sampel jeruk nipis, 9-10 sampel jeruk siam pontianak. GS (Grinding Solution), PC (Positive Control), NC (Negative Control)

4.2 Masa Inkubasi *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV) pada Tanaman Jeruk Purut

Hasil analisis pengamatan masa inkubasi pada umur tanaman yang sama menunjukkan hasil yang berbeda pada hari munculnya gejala tanaman yang terinfeksi CTV dan CVEV. Untuk gejala CTV yaitu *vein clearing* dan *cupping* sedangkan CVEV yaitu *vein enation*.

Tabel 3. Masa inkubasi gejala infeksi CTV dan CVEV

Perlakuan	Masa inkubasi (hari)		
	<i>Vein clearing</i>	<i>Cupping</i>	<i>Vein enation</i>
K	0	0	0
V1	128	0	0
V2	0	0	86
V1V2	128	0	0
V2V1	128	142	0
V1=V2	86	0	0

Keterangan: Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Masa inkubasi *vein clearing* tercepat terjadi pada infeksi ganda CTV diboster yaitu 86 hari setelah inokulasi, sedangkan *cupping* hanya muncul di infeksi ganda CVEV diboster CTV yaitu 142 hari setelah inokulasi, untuk *vein enation* hanya terjadi pada infeksi tunggal CVEV yaitu 86 hari setelah inokulasi. Tanaman jeruk purut yang terinfeksi ganda CTV dan CVEV secara bersamaan lebih cepat terinfeksi *vein clearing* hal ini diduga kedua virus yang menginfeksi akan mempengaruhi perkembangan antar virus yang menginfeksi. Menurut Hadiastono (2005) menyatakan bahwa di alam umumnya dapat terjadi adanya serangan beberapa virus pada satu tanaman dan masing – masing virus tersebut tidak saling mempengaruhi satu sama lainnya, sehingga masing – masing menghasilkan gejala sendiri – sendiri. Pada umumnya keberadaan virus pertama akan menghambat perbanyakan virus lain sehingga konsentrasi virus yang lain tersebut rendah.

4.3 Gejala Visual *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV) pada Tanaman Jeruk Purut

4.3.1 Gejala serangan

Berdasarkan hasil pengamatan gejala serangan CTV dan CVEV pada Tanaman jeruk purut secara infeksi tunggal dan ganda menunjukkan gejala serangan seperti *vein clearing*, *cupping*, *vein enation*, *stem pitting*.

Tabel 4. Gejala serangan CTV dan CVEV pada jeruk purut pada 142 hari setelah inokulasi

Perlakuan	Gejala Serangan
K	Tidak terjadi serangan
V1	<i>Vein clearing</i>
V2	<i>Vein enation</i>
V1V2	<i>Vein clearing</i>
V2V1	<i>Vein clearing</i> dan <i>cupping</i>
V1=V2	<i>Vein clearing</i> dan <i>stem pitting</i>

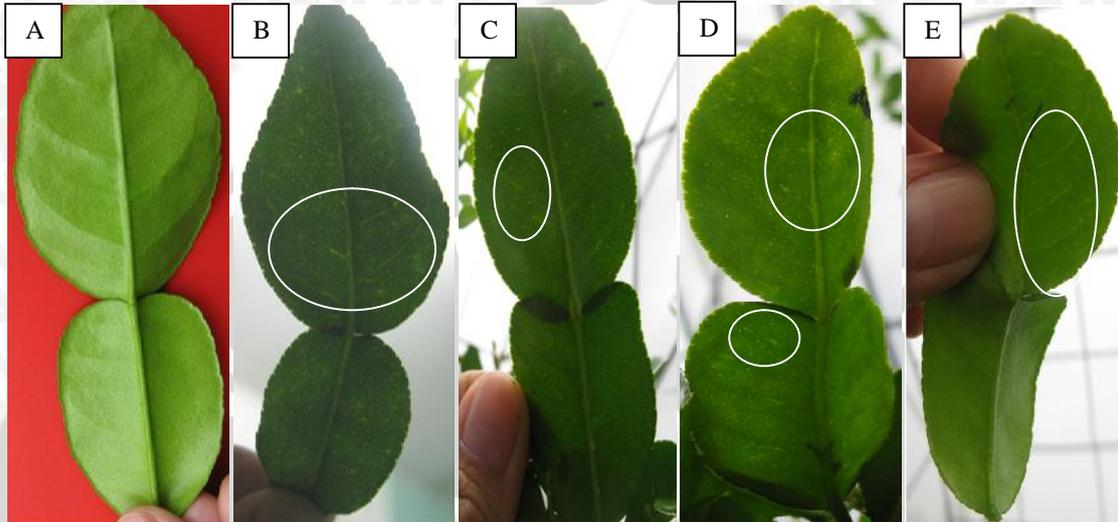
Keterangan: Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Gejala serangan CTV pada jeruk purut meliputi *vein clearing* dan *cupping* pada daun serta *stem pitting* pada ranting. Sedangkan untuk gejala serangan CVEV meliputi *vein enation*. Gejala serangan awal muncul pada daun muda. Variasi gejala yang terbanyak diperoleh pada infeksi ganda CVEV diboster CTV yaitu *vein clearing* dan *cupping* sedang pada perlakuan infeksi ganda CTV dan CVEV secara bersamaan yaitu *vein clearing* dan *stem pitting*. Penyebaran CTV dan CVEV bersifat sistemik karena dapat menyebar seluruh bagian daun tanaman. Gejala *stem pitting* hanya muncul pada infeksi ganda CTV dan CVEV secara bersamaan. Menurut Hadiastono (2005), bahwa kecepatan penyebaran akan lebih tinggi pada sel – sel muda daripada sel – sel tua. Penyebaran virus secara sistemik dari beberapa jenis virus dapat berlangsung secara menyeluruh, dan menginfeksi semua sel atau semua jaringan yang hidup.

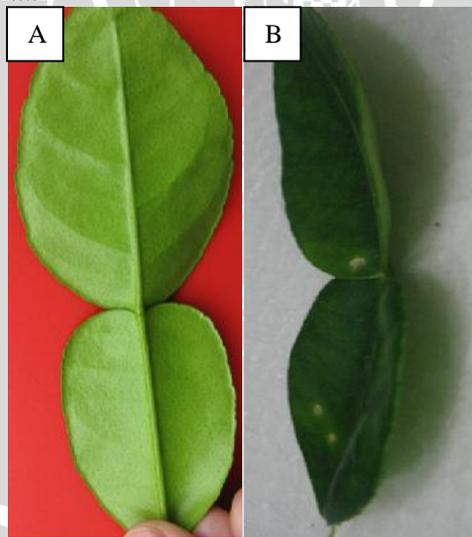
Suatu tanaman yang diinfeksi dengan dua virus yang berbeda akan menghasilkan gejala yang lebih parah. Peristiwa ini dapat dikatakan sebagai peristiwa sinergisme. Bila gejala yang ditimbulkan lebih ringan, disebut interferensi atau antagonisme (Hadiastono 2005). Pada tanaman yang terinfeksi ganda terjadi interaksi antara kedua virus yang bersifat meningkatkan kemampuan salah satu atau kedua virus dalam proses perkembangan dan penyebarannya di dalam sel tanaman terinfeksi (Subekti *et al.* 2006). Agrios (1996), menyatakan bahwa beberapa tumbuhan yang mengandung konsentrasi

virus yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan lain dapat saja memperlihatkan gejala yang lebih lemah dibandingkan dengan tumbuhan yang berkonsentrasi virus sedikit atau mungkin tumbuhan tersebut tidak memperlihatkan gejala sama sekali.

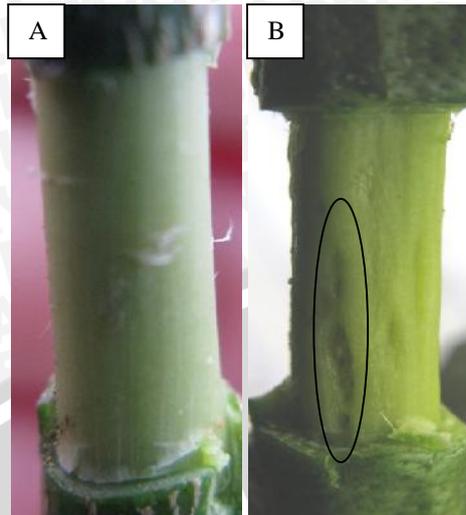
Gejala serangan *vein clearing* (gambar 9), *cupping* (gambar 10), *stem pitting* (gambar 11), *vein enation* (gambar 12) secara makroskopis.



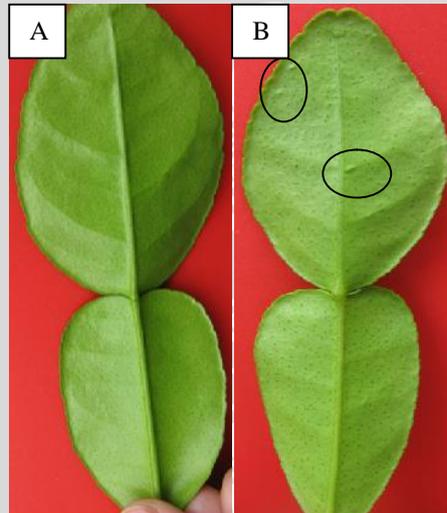
Gambar 9. Gejala *vein clearing* pada daun tanaman uji jeruk purut pada perlakuan: a) kontrol sehat, b) infeksi CTV tunggal, c) infeksi ganda CTV diboster CVEEV, d) infeksi ganda CVEEV diboster CTV, e) infeksi ganda CTV dan CVEEV bersamaan



Gambar 10. Gejala *cupping* pada daun tanaman uji jeruk purut pada perlakuan: a) kontrol sehat, b) infeksi ganda CVEEV diboster CTV



Gambar 11. Gejala *stem pitting* pada batang tanaman uji jeruk purut pada perlakuan: a) kontrol sehat, b) infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan



Gambar 12. Gejala *vein enation* pada daun tanaman uji jeruk purut pada perlakuan: a) kontrol sehat, b) infeksi CVEV tunggal

Gejala serangan awal CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut terjadi pada bagian daun yang muda. Semakin cepat proses perkembangan dan penyebaran virus di dalam sel tanaman, maka gejala sistemik muncul semakin cepat dan tingkat keparahannya semakin tinggi (Subekti *et al.* 2006). Menurut Agrios (1996), bahwa untuk terjadi dan berkembangnya penyakit secara optimal, maka harus terdapat kombinasi ketiga faktor, tumbuhan inang yang rentan, pathogen yang infeksiif dan kondisi lingkungan yang menguntungkan. Wahyuni (2005), menyatakan bahwa pada daun yang menunjukkan *vein clearing*, sel – sel palisade yang berdekatan dengan vena menjadi panjang (hyperplasia), dan bagian di sekitar vena menjadi lebih hijau. Bila bagian kulit kayu yang terkena *stem pitting* diangkat dari sekitar celah atau lubang yang terbentuk

pada bagian berkayu, sel – sel kambiumnya gagal mengadakan diferensiasi sehingga terbentuk celah sempit yang memanjang. Jaringan di sekitar luka mengalami pembelahan sel lebih cepat dan terbentuk kanker.

4.3.2 Persentase Tanaman yang Terserang *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV) pada Tanaman Jeruk Purut

Pengamatan persentase tanaman yang terserang oleh infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV pada tanaman jeruk purut diamati dengan menghitung tanaman yang bergejala yang ditimbulkan oleh masing – masing virus. Gejala serangan CTV berupa *vein clearing* dan *cupping* sedangkan gejala serangan CVEV berupa *vein enation*. Persentase tanaman yang terserang *vein clearing* pada jeruk purut dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi sebagai berikut:

Tabel 5. Persentase tanaman yang terserang *vein clearing* pada jeruk purut

Perlakuan	Persentase (%) (hari setelah inokulasi)									
	86		100		114		128		142	
K	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	20 %	a	80 %	b
V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	30 %	a	50 %	ab
V2V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	30 %	a	80 %	b
V1=V2	10 %	a	30 %	a	40 %	b	50 %	a	70 %	a
Koefisien variasi	23,2 %		58,4 %		72,12 %		51,58 %		60,31 %	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Pengamatan 142 hari setelah inokulasi berbeda nyata. Persentase tanaman terserang oleh *vein clearing* yang tertinggi yaitu pada infeksi tunggal CTV dan infeksi ganda CVEV diboster CTV. *Vein clearing* muncul ditandai dengan tulang daun yang memucat untuk lebih jelas gejala maka dapat dilihat dengan bantuan sinar matahari. Pengamatan gejala baik dilakukan pada siang hari. Gejala pemucatan tulang daun (*vein clearing*) berupa garis-garis putus atau memanjang pada tulang daun yang tembus cahaya (Dwiastuti & Triwiratno^b 2014). Gejala serangan *vein clearing* membutuhkan masa inkubasi yang cukup lama. Menurut Agrios (1996), menyatakan bahwa *tristeza* pada jeruk merupakan patogen polietik. Pada beberapa jenis penyakit pepohonan,

sebagai contoh jamur layu vaskular, mikloplasma penyebab penyakit menguning, dan infeksi virus, patogen yang menginfeksi tersebut mungkin tidak dapat menyelesaikan daun penyakitnya dalam satu tahun, tetapi membutuhkan beberapa tahun sebelum inokulum tersebut dapat dipencarkan dan memulai infeksi baru. Walaupun mungkin patogen polietik tidak banyak menyebabkan infeksi baru pada areal yang ada dalam satu tahun, dan jumlah inokulumnya tidak banyak meningkat dalam satu tahun, karena patogen polietik bertahan hidup pada inang tahunan, maka jumlahnya hampir sebanyak akhir tahun sebelumnya. Oleh karena itu, inokulumnya mungkin meningkat secara terus menerus (cara eksponensial) dari tahun ke tahun dan mungkin menyebabkan epidemik yang hebat setelah beberapa tahun.

Persentase tanaman yang terserang *cupping* pada jeruk purut dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi sebagai berikut:

Tabel 6. Persentase tanaman yang terserang *cupping* pada jeruk purut

Perlakuan	Persentase (%) (hari setelah inokulasi)									
	86		100		114		128		142	
K	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V2V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	10 %	a
V1=V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
Koefisien variasi	0 %		0 %		0 %		0 %		23,12 %	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Untuk persentase tanaman yang terserang *cupping* pada jeruk purut muncul pada infeksi ganda CVEV diboster CTV. Gejala *cupping* tidak berbeda nyata pada semua perlakuan. Gejala *cupping* pada jeruk purut terbilang kecil karena morfologi daun yang susun dua maka untuk melengkung ke atas mengalami kesulitan. Menurut Sarwono (1993), menyatakan letak daun berpencaran dan silih berganti. Daun berbentuk bulat telur, ujungnya tumpul, dan bertangkai satu. Tangkai daun bersayap lebar, dan bentuknya hamper menyerupai daun. Hadiastono (2005), menyatakan bahwa laju penyebaran dari sel ke sel sangat tergantung dari jenis dan umur sel tanaman yang terinfeksi. Penyebaran virus dalam tubuh tanaman sangat bervariasi, bergantung pada:

jenis virus, tanaman inang, dan interaksi antara keduanya. Persentase tanaman yang terserang *vein enation* pada jeruk purut dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi sebagai berikut:

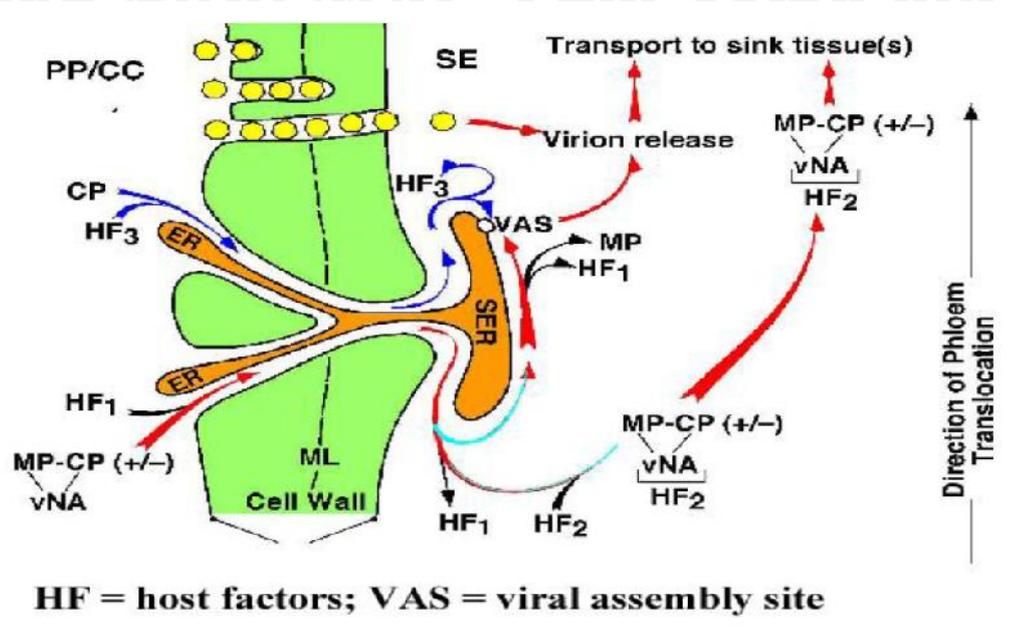
Tabel 7. Persentase tanaman yang terserang *vein enation* pada jeruk purut

Perlakuan	Persentase (%) (hari setelah inokulasi)									
	86		100		114		128		142	
K	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V2	20 %	a	20 %	a	30 %	b	30 %	b	50 %	b
V1V2	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V2V1	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a	0 %	a
V1=V2	0 %	a	0 %	a	0 %	b	0 %	a	0 %	a
Koefisien variasi	42,25 %		42,25 %		58,34 %		58,34 %		83,96 %	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Gejala *vein enation* yang merupakan gejala dari CVEV muncul infeksi tunggal CVEV dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Gejala *vein enation* terdapat tonjolan pada permukaan bawah daun. *Vein enation* menunjukkan gejala yang menonjol pada pembuluh secara lateral dibagian bawah daun dan cekungan pada permukaan atas (Reuther *et al.* 1978). Bos (1990), menyatakan bahwa keganasan virus tergantung kemampuannya menginfeksi serta memperbanyak diri dalam jaringan inangnya.

Masuknya virus ke dalam tanaman dapat terlihat pada gambar 14 menunjukkan bahwa tidak hanya virion dari hasil replikasi yang bergerak dari sel ke sel dan masuk ke dalam floem, namun juga *coat protein* (CP) dan *movement protein* (MP) berperan dalam penyebaran virus ke dalam tubuh tanaman. *Coat protein* dan *movement protein* bergerak melalui retikulum endoplasma menuju ke *viral assembly site* (VAS) sebelum masuk ke dalam floem dan bergerak bersama aliran di dalam floem ke seluruh tubuh tumbuhan. Fase selanjutnya virus bergerak dari sel ke sel yang lain hingga mencapai floem melalui *vascular system*, sehingga dapat bergerak cepat ke dalam daun-daun muda yang masih berkembang. Untuk dapat menginfeksi tanaman secara sistematis, virus harus dapat (1) masuk ke dalam jaringan yang sesuai; (2) melakukan replikasi; (3) bergerak ke sel-sel terdekat/sel tetangga; (4) memasuki sel tersebut; (5) dapat pindah ke dalam floem dan kemudian mengulangi langkah (2) dan (3) (Dawson 1999 dalam Ariyanti 2012).

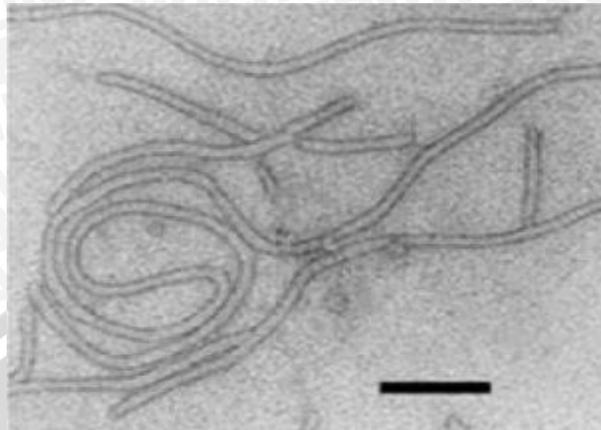


Gambar 13. Mekanisme masuknya virus ke tanaman (Dawson 1999 dalam Ariyanti 2012).

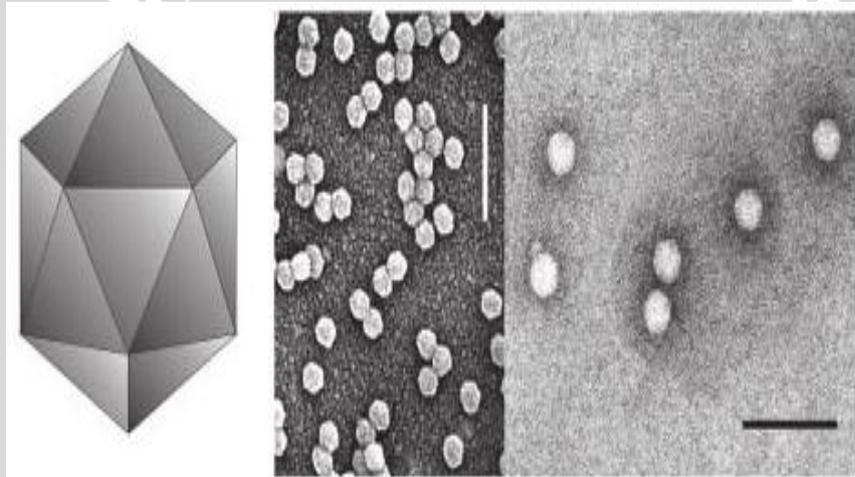
Menurut Hadiastono (2005), bahwa terdapat beberapa virus yang tampaknya hanya bergerak pada sel – sel parenkhim, tetapi beberapa virus diketahui menyebar melalui pembuluh floem, dan ada beberapa melalui xylem. Transportasi virus melalui floem berlangsung lebih cepat bila dibandingkan dengan melalui sel parenkhim. Pada enam menit pertama, virus dapat ditransportasikan sepanjang 15 cm, tergantung ukuran partikel virus. Tetapi sebelum virus masuk ke dalam floem, virus harus dapat menembus lebih dulu sel parenkhim. Pergerakan menembus sel parenkhim membutuhkan waktu yang lebih lama yaitu kurang lebih dua sampai lima hari. Setelah virus masuk ke dalam floem, maka segera bergerak dengan cepat ke titik tumbuh (apikal meristem) atau menuju ke tempat penimbunan bahan makanan, seperti umbi atau rizome. Setelah berada dalam floem, virus menyebar secara sistematis ke seluruh bagian tanaman dan akan masuk kembali ke dalam sel parenkhim yang bersebelahan dengan floem melalui plasmodesmata.

Virus yang menginfeksi tanaman tergantung pada ukuran virus. Gejala yang ditimbulkan oleh CTV lebih nampak dibandingkan dengan tanaman yang terinfeksi CVEV. Hal ini kemungkinan ukuran CTV yang lebih panjang dibandingkan dengan CVEV maka untuk menembus sel parenkhim menuju floem lebih cepat CTV. CTV adalah virus yang memiliki RNA berantai tunggal Closterovirus dan salah satu virus yang memiliki rantai terpanjang seperti benang dengan panjang sekitar 2000 nm dan diameter

12 nm (Sastry 2013). CVEV merupakan virus yang memiliki RNA berantai tunggal dan memiliki ukuran diameter 22 – 24 nm (Rogers & da Graca 1986 dalam Naqvi 2004).



Gambar 14. CTV dilihat dengan mikroskop elektron (Sastry 2013).

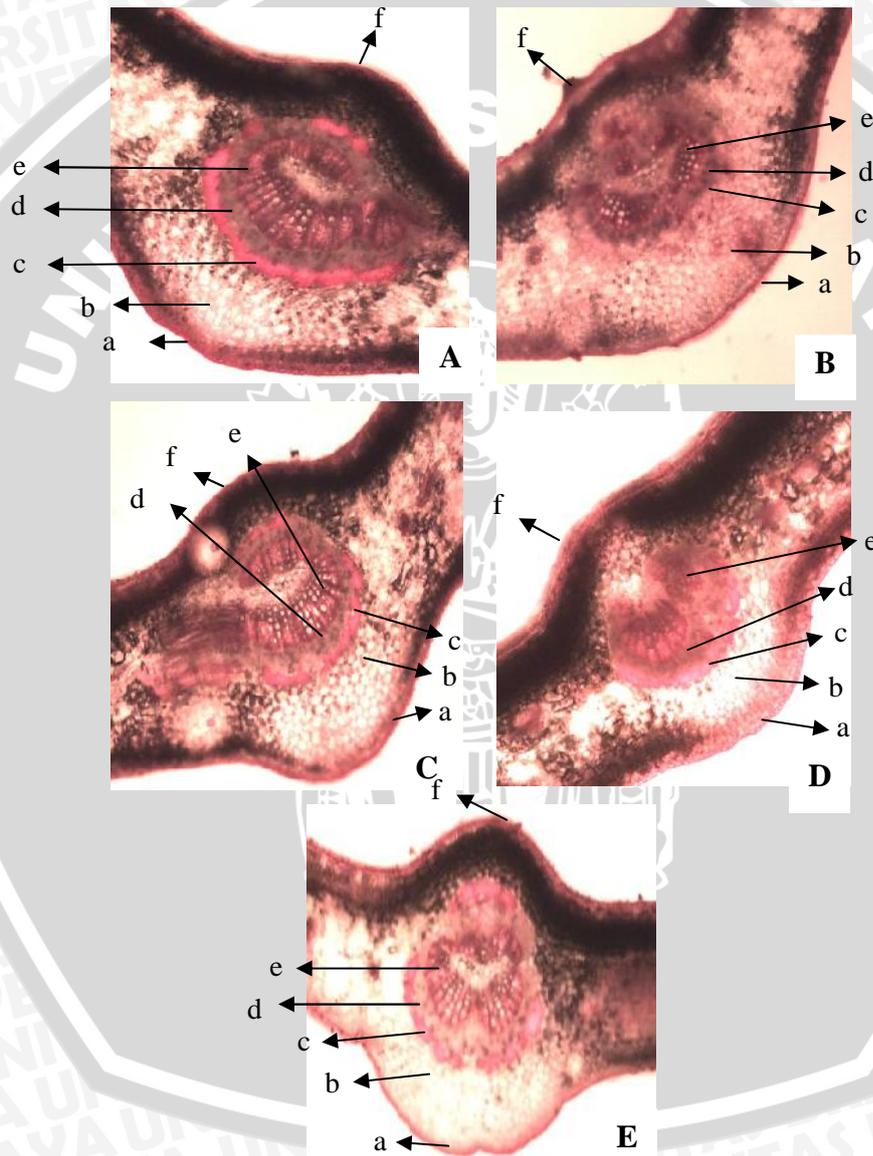


Gambar 15. Luteoviridae dengan mikroskop elektron (Andrew *et al.* 2011)

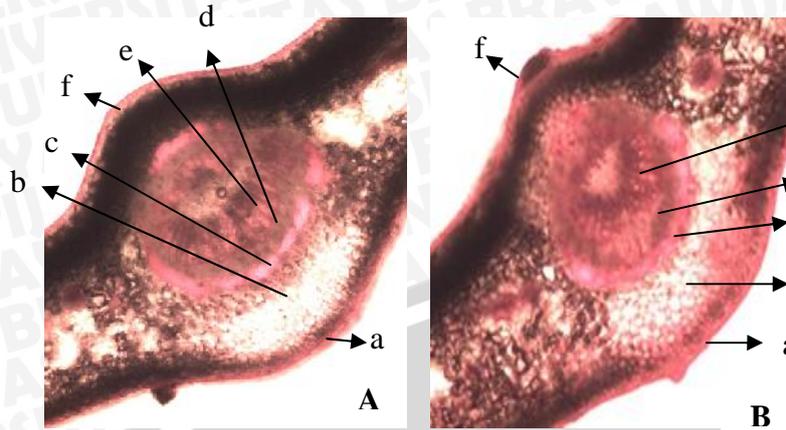
4.3.3 Kerusakan Jaringan

Pengamatan kerusakan jaringan infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEEV pada tanaman jeruk purut diamati dengan membuat irisan melintang pada daun bergejala yang ditimbulkan oleh masing – masing virus. Gejala serangan CTV berupa *vein clearing* dan *cupping* sedangkan gejala serangan CVEEV berupa *vein enation*.

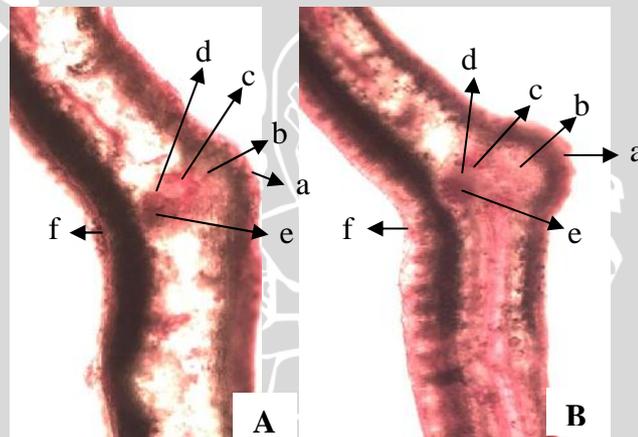
Irisan melintang pada daun yang bergejala dan diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 40 x dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 16. Irisan melintang tulang daun utama jeruk purut pada tanaman bergejala *vein clearing* hasil inokulasi: kontrol sehat (A), infeksi tunggal CTV (B), infeksi ganda CTV diboster CVEEV (C), infeksi ganda CVEEV diboster CTV (D), infeksi ganda CTV dan CVEEV secara bersamaan (E). a) bawah epidermis, b) korteks, c) fibers, d) floem, e) xylem, f) atas epidermis



Gambar 17. Irisan melintang tulang daun utama jeruk purut pada tanaman bergejala *cupping* hasil inokulasi: kontrol (A) infeksi tunggal CVEV (B). a) bawah epidermis, b) korteks, c) fibers, d) floem, e) xylem, f) atas epidermis



Gambar 18. Irisan melintang tulang daun sekunder jeruk purut kontrol pada tanaman bergejala *vein enation* hasil inokulasi (A) infeksi tunggal CVEV (B). a) bawah epidermis, b) korteks, c) fibers, d) floem, e) xylem, f) atas epidermis

Pada irisan melintang terdapat perbedaan gejala *vein clearing* dan *cupping* dibandingkan kontrol yaitu dengan susunan floem yang tidak beraturan dibandingkan dengan kontrol (Gambar 14 dan 15). Sedangkan *vein enation* bagian fibers menjadi tidak beraturan dan bagian korteks lebih luas dibandingkan dengan kontrol (Gambar 16). Bagian bawah epidermis yang bergejala *vein enation* menjadi lebih menonjol dan atas epidermis menjadi lebih cekung. Hal ini sesuai dengan gejala makroskopis (Gambar 12). Kerusakan pada floem akan mengganggu laju translokasi hasil fotosintesis ke seluruh bagian tanaman.

Gejala infeksi ganda lebih memunculkan gejala yang parah dibandingkan dengan infeksi tunggal. CTV dan CVEV adalah virus yang berbeda dan tidak mungkin untuk

perlindungan silang, karena kedua virus tersebut *limited floem*. Infeksi ganda CVEV dan CTV memunculkan gejala *vein clearing* dan *cupping* sedangkan CTV diboster CVEV gejala *vein clearing*. Hal ini sesuai dengan penelitian ketika infeksi CVEV atau CG (*Concave gum*) dipastikan oleh perlakuan pra-inokulasi, penindasan oleh CTV ekspresi CVEV berkurang dan CPsV (*Citrus psorosis virus*) serta CG tidak nampak. Hal ini menunjukkan bahwa variabilitas ekspresi gejala mungkin juga dipengaruhi oleh waktu dalam inisiasi infeksi (Vidalakis *et al.* 2004).

4.4 Uji Serologi Infeksi *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV)

Uji infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV dilakukan tiga kali pengujian menggunakan DAS-ELISA.

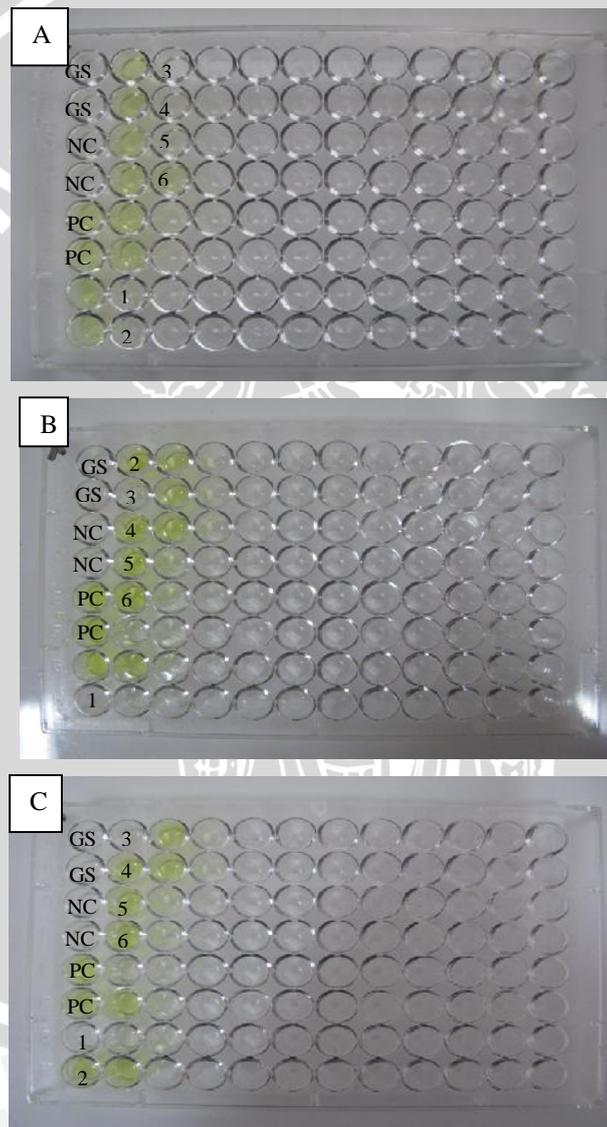
Tabel 8. Hasil pengamatan uji ELISA pada tanaman uji jeruk purut

Perlakuan	Nilai Absorbansi ELISA (hari setelah inokulasi)		
	I (44)	II (86)	III (142)
K	-0,001 (-)	0,001 (-)	-0,001 (-)
V1	-0,002 (-)	0,099 (+)	0,105 (+)
V2	0,007 (-)	0,000 (-)	-0,002 (-)
V1V2	-0,001 (-)	0,100 (+)	0,111 (+)
V2V1	0,032 (+)	0,101 (+)	0,097 (+)
V1=V2	0,107 (+)	0,099 (+)	0,096 (+)
Grinding	blank	blank	blank
	blank	blank	blank
NC ELISA	-0,001	0,002	-0,007
	-0,02	0,000	-0,009
PC ELISA	0,116	0,114	0,103
	0,120	0,106	0,101

Keterangan : Diukur dengan ELISA reader 405 nm, ambang batas untuk reaksi positif pada plate baru > 2x kontrol negatif (Lamka, 1990). Negatif (-) tidak mengandung CTV dan positif (+) mengandung CTV

Berdasarkan hasil uji DAS-ELISA analisa CTV untuk menguji nilai absorbansi kontrol, infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV dari pengujian awal, pertengahan, akhir pengamatan mengalami fluktuasi hal ini kemungkinan dikarenakan saat pengambilan sampel terdapat perbedaan konsentrasi antigen pada masing – masing tanaman sampel yang diuji. Rerata hasil uji DAS-ELISA menunjukkan infeksi ganda memiliki nilai absorbansi tertinggi maka semakin tinggi pula konsentrasi antigen. Hasil uji DAS-ELISA pada sampel yang dinyatakan positif jika nilai absorbansi lebih tinggi dibandingkan nilai absorbansi kontrol negatif. Menurut Hadiastono (2005), tujuan utama

pengetahuan tentang serologi adalah untuk mendeteksi virus berdasarkan kesamaan sifat antibodi. Reaksi positif atau negatif dari kedua zat tersebut yaitu antigen dan anibodi adalah adanya reaksi pengendapan. Ardiana (2008), menyatakan bahwa konsentrasi virus dalam contoh tanaman berkorelasi positif dengan tingkat serangan. Hal ini berarti makin tinggi nilai absorbansi makin parah tingkat serangannya. Hasil uji dinyatakan positif jika nilai absorbansi 405 nm lebih tinggi dibanding kontrol negatif. Untuk hasil seleksi sumber inokulum CVEEV perubahan warna positif CTV dengan warna kuning dan negatif CTV berwarna bening pada *plate* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 19. Hasil ELISA tanaman jeruk purut hasil inokulasi pada : 44 hari setelah inokulasi (A), 86 hari setelah inokulasi (B), 142 hari setelah inokulasi (C). GS (Grinding Solution), PC (Positive Control), NC (Negative Control), kontrol (1), infeksi CTV tunggal (2), Infeksi CVEEV tunggal (3), infeksi ganda CTV diboster CVEEV (4), infeksi ganda CVEEV diboster CTV (5), infeksi ganda CTV dan CVEEV bersamaan (6)

Berdasarkan warna pada plate DAS-ELISA apabila berwarna kuning maka menunjukkan positif CTV. Pada virus, biasanya antibodi akan mengenali virus melalui proteinnya yaitu protein selubung (*coat protein*). Antibodi akan menempel pada permukaan sumur dari *microtitre plate* dan ekstrak cairan tumbuhan akan dimasukkan ke dalam sumur tersebut. Jika virus yang ingin dideteksi terdapat di tumbuhan tersebut, maka virus akan berikatan dengan antibodi, sisa ekstrak yang tidak berikatan akan dicuci, sebelum antibodi yang kedua ditambahkan. Pada antibodi kedua terikat enzim yang akan mengenali antibodi pertama, dan menyebabkan perubahan warna yang merupakan indikator keberadaan virus. Perubahan warna ini bisa dideteksi secara visual dengan menggunakan *microtitre plate spectrophotometer* (Webster *et al.* 2004).

4.5 Pertumbuhan Tanaman yang Terserang *Citrus Tristeza Virus* (CTV) dan *Citrus Vein Enation Virus* (CVEV) pada Tanaman Jeruk Purut

4.5.1 Tinggi tanaman

Pengamatan tinggi tanaman jeruk purut dilakukan setiap 2 minggu sekali saat pengamatan gejala dilakukan. Pengamatan tinggi dilakukan pada semua tanaman kontrol dan tanaman yang terinfeksi tunggal maupun ganda CTV dan CVEV. Pengukuran tinggi tanaman dimulai dari pangkal batang yang bawah atau dasar sampai ujung titik tumbuh tertinggi. Satuan pengukuran tinggi yang digunakan adalah centimeter (cm).

Tinggi tanaman jeruk purut dari pengamatan 44 sampai 142 hari setelah inokulasi dapat dilihat pada tabel berikut:

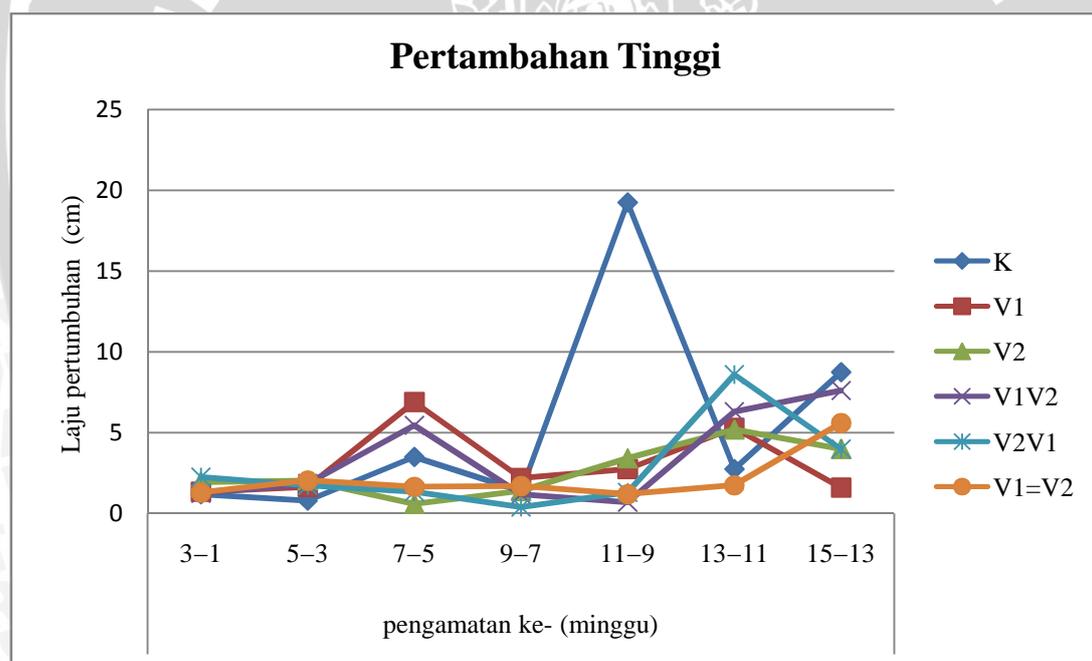
Tabel 9. Tinggi tanaman jeruk purut (cm)

Perlakuan	Waktu (hari ke-)							
	44	58	72	86	100	114	128	142
K	44,10 c	45,30 c	46,10 d	49,60 d	51,00 cd	70,25 d	73,00 d	81,75 d
V1	39,10 abc	40,45 b	42,10 b	49,00 cd	51,20 d	54,70 c	60,00 c	61,60 bc
V2	27,00 a	28,95 a	31,00 a	31,60 a	33,00 a	35,80 a	41,00 a	45,00 a
V1V2	39,65 b	40,90 b	42,75 bc	48,20 bcd	49,40 bcd	50,10 b	56,40 bc	64,00 c
V2V1	41,75 bc	44,00 c	45,75 cd	47,10 bc	47,50 b	48,80 b	57,40 c	61,40 bc
V1=V2	41,75 bc	43,05 bc	45,10 bcd	46,75 b	48,45 bc	49,65 b	51,40 b	57,00 b
Koefisien variasi	15,66	14,64	13,51	15,06	14,74	21,62	18,58	19,26

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Hasil analisis pengamatan tinggi tanaman jeruk purut dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi terdapat perlakuan yang berbeda nyata antar beberapa perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5 %. Tanaman jeruk purut tanpa inokulasi atau kontrol pertumbuhannya lebih tinggi dibandingkan dengan inokulasi CTV dan CVEV. Sedangkan perbedaan tinggi tanaman antara infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV tidak berbeda jauh. Antara kontrol dan terinfeksi CTV dan CVEV terdapat perbedaan tinggi tanaman dan penambahan tinggi. Menurut Agrios (1996), menyatakan bahwa patogen sering menyebabkan tidak seimbang sistem hormon tumbuhan dan sering menyebabkan respon pertumbuhan hormonal yang tidak sesuai dengan pertumbuhan tanaman sehat. Hadiastono (2005), Penyebaran virus dalam tubuh tanaman sangat bervariasi, bergantung pada: jenis virus, tanaman inang, dan interaksi antara keduanya.

Pertambahan tinggi tanaman jeruk purut dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi dapat dilihat pada grafik berikut (Gambar 20).



Gambar 20. Laju pertumbuhan tanaman jeruk purut. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Laju pertumbuhan tanaman diamati 2 minggu sekali dengan 8 kali pengamatan yaitu awal pengamatan 44 hari setelah inokulasi dan berakhir pada 142 hari setelah inokulasi. Antara infeksi tunggal dan ganda masih belum menampilkan hasil yang berbeda jauh untuk laju pertumbuhan tanaman. Namun, pertumbuhannya apabila

dibandingkan dengan kontrol berbeda. Untuk kontrol pertumbuhannya lebih baik dibandingkan dengan yang diinfeksi oleh CTV dan CVEV.

Tinggi tanaman pada minggu 9 ke 11 atau 100 hari setelah inokulasi ke 114 hari setelah inokulasi sudah mengalami perbedaan dibandingkan dengan minggu sebelumnya. Hal ini dimungkinkan virus sudah menginfeksi tanaman dan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Menurut Soelarso (1996); Dwiastuti & Triwiratno^a (2014) bahwa gejala yang ditimbulkan CTV dan CVEV mulai nampak pada 2-3 bulan sejak penularan.

4.5.2 Jumlah daun

Pengamatan jumlah daun merupakan salah satu pengamatan pendukung untuk pengamatan gejala secara makroskopis, mikroskopis, serta digunakan untuk uji DAS-ELISA. Dari hasil pengamatan jumlah daun dari 44 sampai 142 hari setelah inokulasi menyatakan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji BNJ 5%. Hasil pengamatan jumlah daun yaitu daun bertambah tiap kali pengamatan dan dapat terjadi penurunan karena faktor lingkungan misalnya hujan yang lebat mengakibatkan tunas daun muda yang baru membuka sempurna menjadi rontok. Jumlah daun jeruk purut dari pengamatan 44 sampai 142 hari setelah inokulasi dapat dilihat pada tabel berikut:

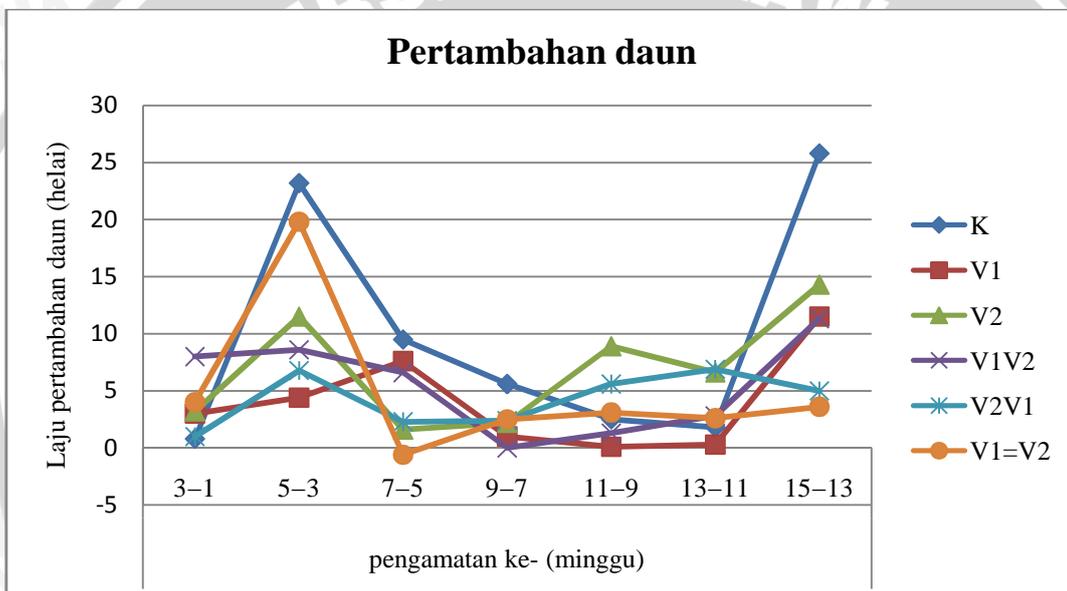
Tabel 10. Jumlah daun tanaman jeruk purut (helai) per tanaman

Perlakuan	Waktu (hari ke-)							
	44	58	72	86	100	114	128	142
K	22,50 d	23,30 d	46,50 d	56,00 c	61,60 c	64,10 d	65,90 d	91,70 d
V1	14,60 b	17,60 a	22,00 a	29,60 a	30,60 a	30,70 a	31,00 a	42,50 a
V2	14,00 b	17,20 a	28,70 b	30,30 a	32,50 a	41,40 bc	48,00 c	62,30 c
V1V2	12,00 a	20,00 bc	28,60 b	35,20 ab	35,20 ab	36,50 ab	39,30 b	50,60 b
V2V1	20,60 c	21,60 cd	28,40 ab	30,70 a	33,10 ab	38,70 bc	45,60 c	50,60 b
V1=V2	15,00 b	19,00 ab	38,80 c	38,20 b	40,70 b	43,80 c	46,40 c	50,00 b
Koefisien variasi	25,09	11,91	27,52	27,39	29,85	26,99	26,99	24,94

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Pengamatan jumlah daun dengan menghitung semua daun yang telah membuka sempurna pada tanaman kontrol dan tanaman yang diinfeksi virus. Jumlah daun antara kontrol dengan yang diinfeksi virus berbeda karena tanaman yang sehat dapat tumbuh dengan normal tanpa gangguan patogen. Infeksi ganda lebih rendah jumlah daunnya dibandingkan dengan infeksi ganda. Agrios (1996), umumnya virus menyebabkan penurunan fotosintesis melalui penurunan jumlah klorofil luas perdaun, penurunan efisien klorofil, dan penurunan daun pertumbuhan. Abadi (2000), menyatakan bahwa serangan virus dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tanaman termasuk pembentukan daun.

Pertambahan helai daun tiap pengamatan dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 21. Laju pertumbuhan daun tanaman jeruk purut. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEEV (V1V2), infeksi ganda CVEEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEEV bersamaan (V1=V2)

Laju pertumbuhan tanaman jeruk purut diamati 2 minggu sekali dengan 8 kali pengamatan yaitu awal pengamatan 44 hari setelah inokulasi dan berakhir pada 142 hari setelah inokulasi. Pada akhir pengamatan menunjukkan infeksi ganda lebih rendah dibandingkan dengan infeksi tunggal. Pada saat pengamatan terdapat faktor lingkungan seperti curah hujan yang tinggi dan organisme pengganggu tanaman seperti ulat peliang daun (*Phylocnistis citrella*). Faktor tersebut juga mempengaruhi laju pertumbuhan tanaman.

4.5.3 Luas Daun

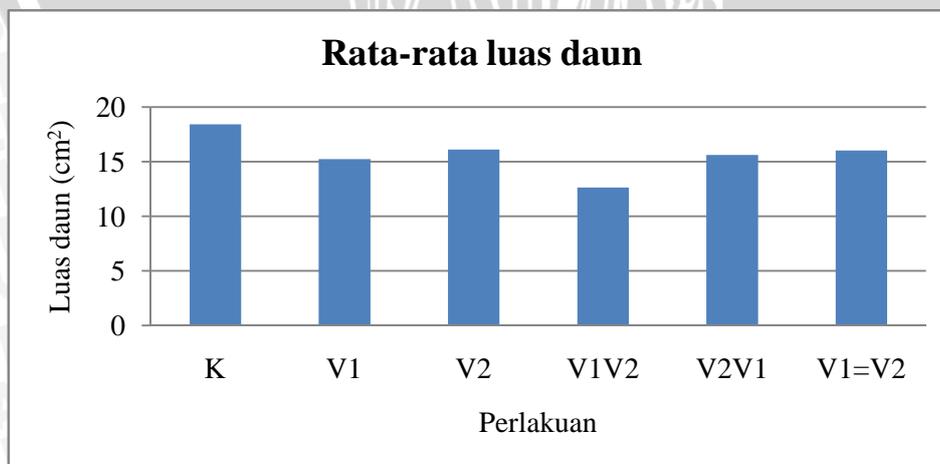
Pengamatan luas daun dilakukan pada pengamatan 142 hari setelah inokulasi atau akhir pengamatan gejala dan pertumbuhan tanaman jeruk purut. Dari hasil pengamatan luas daun dari pengamatan 142 hari setelah inokulasi menyatakan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji BNJ 5%.

Tabel 11. Luas daun tanaman jeruk purut pada pengamatan 142 hari setelah inokulasi (cm²)

Perlakuan	Luasan daun (cm ²)
K	18,43 b
V1	15,24 ab
V2	16,12 b
V1V2	12,63 a
V2V1	15,60 ab
V1=V2	16,02 ab

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dibelakangnya menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ 5%. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

Luas daun jeruk purut yang terinfeksi virus dibandingkan dengan kontrol berbeda. Luasan daun juga akan berpengaruh pada fotosintesis. Menurut Hadiastono (2005), pada umumnya penyakit virus berpengaruh terhadap fungsi fisiologis tanaman, salah satunya adalah fotosintesis. Pengaruh infeksi virus terhadap fotosintesis adalah terjadinya penurunan laju reaksi akibat penurunan jumlah klorofil, dan juga luasan daun yang semakin berkurang. Luasan daun per perlakuan dapat dilihat pada grafik berikut (Gambar 22).



Gambar 22. Rerata luas daun tanaman jeruk. Kontrol (K), infeksi CTV tunggal (V1), infeksi CVEV tunggal (V2), infeksi ganda CTV diboster CVEV (V1V2), infeksi ganda CVEV diboster CTV (V2V1), infeksi ganda CTV dan CVEV bersamaan (V1=V2)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Infeksi tunggal CTV dan CVEV serta infeksi ganda mempengaruhi terhadap masa inkubasi dan variasi gejala yang nampak
2. Masa inkubasi CTV terhadap gejala *vein clearing* paling cepat diperoleh pada perlakuan infeksi ganda CTV diboster CVEV, gejala *cupping* terjadi pada perlakuan infeksi ganda CVEV diboster CTV, gejala *vein enation* terjadi pada perlakuan infeksi tunggal CVEV
3. Gejala terbanyak diperoleh pada perlakuan infeksi ganda CVEV diboster CTV yaitu *vein clearing* dan *cupping*, infeksi ganda CTV dan CVEV secara bersamaan yaitu *vein clearing* dan *stem pitting*
4. Uji serologi dengan DAS ELISA pada 3 kali pengamatan (44 hari setelah inokulasi, 86 hari setelah inokulasi, 142 hari setelah inokulasi) menunjukkan hasil infeksi ganda lebih besar nilai absorbansinya dibandingkan infeksi tunggal
5. Infeksi tunggal dan ganda CTV dan CVEV belum menunjukkan perbedaan yang signifikan. Namun, untuk jumlah daun dan luas daun antara infeksi ganda lebih rendah dibandingkan dengan infeksi tunggal

5.2 Saran

Saran yang disampaikan dalam penelitian ini adalah :

Hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa tanaman yang terinfeksi tunggal dan ganda belum spesifik mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan gejala maka dibutuhkan waktu yang lama untuk mengetahui perbedaannya serta diperlukan penularan infeksi tunggal dan ganda pada umur tanaman yang berbeda dengan menggunakan penularan mekanik atau vektor

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A. L. 2000. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Dasar-Dasar dan Penerapannya Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 284 Hal.
- Abbas, R. M. 2008. Citrus Tristeza Virus Strain Identification and Elimination Through Shoot-Tip Grafting. University of Agriculture. Faisalabad, Pakistan.
- Adnyani, Ni N. P. 2012. Uji Serologi *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) pada Tanaman Tomat. Institut Pertanian Bogor.
- Agrios, G. N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Edisi Ketiga. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Akin, H. M. 2006. Virologi Tumbuhan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Andrew et al. 2011. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier. p. 1046
- Anonymous. 2015 a. Tanaman Jeruk Purut. ekowahyudisp.blogspot.com. Diakses pada tanggal 28 April 2015.
- Ardiana, D. W. 2008. Teknik Deteksi *Citrus Tristeza Virus* Strain Indonesia pada Kultivar Jeruk dengan Metode DAS – Compound Direct ELISA. Buletin Teknik Pertanian Vol. 13 No. 2.
- Ariyanti, N. A. 2012. Mekanisme Infeksi Virus Kuning Cabai (*Pepper Yellow Leaf Curl Virus*) dan Pengaruhnya terhadap Proses Fisiologi Tanaman Cabai. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Atreya, C.D. 1990. A Point Mutation in the Coat Protein Abolishes Aphid Transmissibility of a Potyvirus. *Virology* 178: 161-165.
- Bar-Joseph, M.; Garnsey, S. M.; Gonsalves, D.; Moscovitz, Mira; Purcifull, D. E.; Clark, M. F. and Loebentein, G. 1979. The Use of Enzyme – Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Citrus Tristeza Virus*. *Phytopathology*. p. 190 – 194.
- Bos, L. 1990. Pengantar Virologi Tumbuhan. Gajah Mada University Press.
- Brlansky, R. H. and Lee, R. F. 1990. Number of Inclusion Bodies Produced by Mild and Severe Strains of Citrus Tristeza in Seven Citrus Hosts. University of Florida, IFAS, Citrus Research and Education Center. p. 297 – 299.
- Clark, C. C. and da Graça J. V. 2000. Detection of *Citrus Vein Enation Virus* Using Cereal Yellow Dwarf Virus ELISA Kits. Fourteenth IOVC Conference. p. 357 – 359.
- Da Graça, John V. and Maharaj, S. B. 1991. *Citrus Vein Enation Virus*, a Probable Luteovirus. Eleventh IOCV Conference. p. 391 – 394.
- _____; Sétamou M.; Skaria, M. and French J. V. 2007. Arthropod Vectors of Exotic Citrus Diseases: A Risk Assessment for the Texas Citrus Industry. *Subtropical Plant Science*. Texas. p. 64 – 74.

- Deptan. 2005. Teknologi Pembibitan Jeruk Bebas Penyakit (Online). hortikultura.litbang.deptan.go.id/IPTEK/24_292005.pdf.
- Devy, N. F., Hardiyanto, Dwiastuti, M. E. 2015. Teknologi Shootip Grafting (STG) dan Indeksing pada Pembibitan Jeruk Bebas Penyakit. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. IAARD Press.
- Dwiastuti, M. E. dan Triwiratno, A. 2014. Gejala dan Pengendalian Penyakit Puru Berkayu (Online). <http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/gejala-dan-pengendalian-penyakit-puru-berkayu.html>. Diakses pada tanggal 20 Juli 2014.
- _____. Gejala dan Pengendalian Tristeza pada Jeruk (Online). <http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/gejala-dan-pengendalian-penyakit-tristeza-pada-jeruk.html>. Diakses pada tanggal 20 Juli 2014.
- Fao 2013. Virus and virus-like diseases of citrus in the Near East region (Online). <http://www.fao.org/docrep/u5000e/u5000e0y.htm>. Diakses 7 Juni 2015.
- Garnsey, S. M. 2000. Compendium of Citrus Diseases. Second Edition. APS Press. The American Phytopathological Society, USA.
- Hadiastono, Tutung. 2005. Virologi Tumbuhan Dasar. Universitas Brawijaya. Malang.
- Heru; Ramadhan T. H.; Syahputra, Edy. 2013. Keragaman Parasitoid pada Kutu Daun *Toxoptera citricidus* di Pertanaman Jeruk. Fakultas Pertanian UNTAN Pontianak.
- Hilf, M. E. and Garnsey, S. M. 2002. *Citrus Tristeza Virus* in Florida: A Synthesis of Historical and Contemporary Biological, Serological, and Genetic Data. Fifteenth IOCV Conference. p. 13 – 20.
- Karasev, A. V.; Boyko, V. P.; Gowda, S.; Nikolaeva, O. V.; Hilf, M. E.; Koonin, E. V.; Niblett, C. L.; Cline, K.; Gumpf, D. J.; Lee, R. F.; Garnsey, S. M.; Lewandowski, D. J. and Dawson, W. O. 1994. Complete Sequence of the Citrus Tristeza Virus RNA Genome. *Virology* 208. p. 511 – 520.
- Kintasari, Tega. 2013. Deteksi Geminivirus yang Menginfeksi Tanaman Terung (*Solanum melongena* L.) dengan Teknik Polymerase Chain Reaction. Institut Pertanian Bogor.
- Lamka, G. L. 1990. Development of an immunosorbent assay for seed-borne *Erwinia stewartii* in corn seed. Iowa State University.
- Limette. 2000. Citrus Tristeza Virus. Newsletter Citrus Friends Europe. Issue 4.
- Miftahendarwati. 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Munawaroh, S. dan Handayani, P. A. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. Universitas Negeri Semarang. Vol.2, No. 1.
- Naviq, S. A. M. H. 2004. Diseases of Fruits and Vegetables. Diagnosis and Management. Kluwer Academic Publishers. New York. Vol. 1. pp. 690.

- Nugroho K. W. dan Yuliasmara F., 2012. Penggunaan Metode Scanning untuk Pengukuran Luas Daun Kakao. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Pappu, H. R.; Pappu, S. S.; Lee, R. F.; Cambra, M.; Moreno, P.; Garnsey, S. M. And Niblett, C. L. 1994. The Molecular Basis for The Antigenic Diversity of Citrus Tristeza Virus: Implications for Virus Detection. p. 8 – 12.
- Reuther, Walter; Calavan, E. C.; Carman, G. E. 1978. The Citrus Industry. University of California.
- Roistacher, Chester N. 1991. Graft – transmissible Diseases of Citrus: Handbook for Detection and Diagnosis. Food and Agriculture Org. California, USA.
- _____. 2014. *Citrus Vein Enation Virus*. The Food and Environment Research Agency.
- Rukmana, Rahmat. 2003. Usaha Tani Jeruk Purut dalam Pot dan di Kebun. Kanisius. Yogyakarta.
- Sarwono, B. 1993. Jeruk dan Kerabatnya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- _____. 2001. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Agromedia. Jakarta.
- Sastrahidayat, I. R. 2013. Epidemiologi Teoritis Penyakit Tumbuhan. UB Press. Malang.
- Sastry, K. S. 2013. Plant Virus and Virois Diseases in the Tropics. Springer Science Business Media. Vol. 1. p. 11-97.
- Soelarso, B. 1996. Budidaya Jeruk Bebas Penyakit. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Subekti, D.; Hidayat, S. H.; Nurhayati, E.; Sujiprihati, S. 2006. Infeksi *Cucumber Mosaic Virus* dan *Chili Veinal Mottle Virus* terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Cabai. Institut Pertanian Bogor.
- Stanley, Doris. 1994. A Dual Citrus Threat. Agricultural Research.
- Triwitano, A. 2014. Penyakit Kanker Jeruk (*Xanthomonas axonopodis* pv. Citri). [http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/penyakit-kanker-jeruk-\(xanthomonas-axonopodis-pv.-citri\).html](http://balitjestro.litbang.deptan.go.id/id/penyakit-kanker-jeruk-(xanthomonas-axonopodis-pv.-citri).html). Diakses pada tanggal 20 Juli 2014.
- Vidalakis, G. et al 2004. Efficacy of Bioindexing for Graft-Transmissible Citrus Pathogens in Mixed Infections. Department of Plant Pathology, University of California, USA. Vol.8. No. 12
- Wahyuni. 2005. Dasar-dasar Virologi Tumbuhan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Webster, C. G.; Wylie, S. J.; Jones, M. G. K. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. Current Science, Vol. 86, No. 12. Australi.

Lampiran 1 . Hasil Analisis ragam

Tabel 12. Persentase tanaman yang terserang *vein clearing*
ANOVA 86 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	1,02	5,00	0,20	1,00	2,62
Galat	4,88	24,00	0,20		
Total	5,90	29,00			

ANOVA 100 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	9,18	5,00	1,84	2,25	2,62
Galat	19,59	24,00	0,82		
Total	28,77	29,00			

ANOVA 114 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	16,30	5,00	3,26	4,56	2,62
Galat	17,14	24,00	0,71		
Total	33,44	29,00			

ANOVA 128 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	23,05	5,00	4,61	1,56	2,62
Galat	71,01	24,00	2,96		
Total	94,06	29,00			

ANOVA 142 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	87,31	5,00	17,46	8,99	2,62
Galat	46,62	24,00	1,94		
Total	133,93	29,00			

Tabel 13. Persentase tanaman yang terserang *cupping*

ANOVA 86 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	0	5,00	0	-	-
Galat	0	24,00	0		
Total	0	29,00			

ANOVA 100 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	0	5,00	0	-	-
Galat	0	24,00	0		
Total	0	29,00			

ANOVA 114 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	0	5,00	0	-	-
Galat	0	24,00	0		
Total	0	29,00			

ANOVA 128 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	0	5,00	0	-	-
Galat	0	24,00	0		
Total	0	29,00			

ANOVA 142 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	1,02	5,00	0,20	1,00	2,62
Galat	4,88	24,00	0,20		
Total	5,90	29,00			

Tabel 14. Persentase tanaman yang terserang *vein enation*

ANOVA 86 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	4,07	5,00	0,81	2,67	2,62
Galat	7,32	24,00	0,31		
Total	11,39	29,00			

ANOVA 100 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	4,07	5,00	0,81	2,67	2,62
Galat	7,32	24,00	0,31		
Total	11,39	29,00			

ANOVA 114 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	9,15	5,00	1,83	6,00	2,62
Galat	7,32	24,00	0,31		
Total	16,47	29,00			

ANOVA 128 hari setelah inoculasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	9,15	5,00	1,83	6,00	2,62
Galat	7,32	24,00	0,31		
Total	16,47	29,00			

ANOVA 142 hari setelah inokulasi

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	25,46	5,00	5,09	9,98	2,62
Galat	12,25	24,00	0,51		
Total	37,71	29,00			

Tabel 15. Annova Tinggi Tanaman
ANOVA minggu ke-1

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	927,49	5,00	185,50	73,46	2,62
Galat	60,60	24,00	2,53		
Total	988,09	29,00			

ANOVA minggu ke-2

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	876,69	5,00	175,34	85,18	2,62
Galat	49,40	24,00	2,06		
Total	926,09	29,00			

ANOVA minggu ke-3

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	809,74	5,00	161,95	61,23	2,62
Galat	63,48	24,00	2,64		
Total	873,22	29,00			

ANOVA minggu ke-4

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	1167,94	5,00	233,59	185,94	2,62
Galat	30,15	24,00	1,26		
Total	1198,09	29,00			

ANOVA minggu ke-5

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	1235,59	5,00	247,12	100,44	2,62
Galat	59,05	24,00	2,46		
Total	1294,64	29,00			

ANOVA minggu ke-6

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3104,75	5,00	620,95	320,15	2,62
Galat	46,55	24,00	1,94		
Total	3151,30	29,00			

ANOVA minggu ke-7

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	2757,87	5,00	551,57	92,83	2,62
Galat	142,60	24,00	5,94		
Total	2900,47	29,00			

ANOVA minggu ke-8

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3541,61	5,00	708,32	107,24	2,62
Galat	158,53	24,00	6,61		
Total	3700,14	29,00			

Tabel 16. Annova Jumlah Daun

ANOVA minggu ke-1

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	425,78	5,00	85,16	93,32	2,62
Galat	21,90	24,00	0,91		
Total	447,68	29,00			

ANOVA minggu ke-2

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	138,84	5,00	27,77	32,51	2,62
Galat	20,50	24,00	0,85		
Total	159,34	29,00			

ANOVA minggu ke-3

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	1958,67	5,00	391,73	35,68	2,62
Galat	263,50	24,00	10,98		
Total	2222,17	29,00			

ANOVA minggu ke-4

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	2521,77	5,00	504,35	47,96	2,62
Galat	252,40	24,00	10,52		
Total	2774,17	29,00			

ANOVA minggu ke-5

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3378,48	5,00	675,70	39,78	2,62
Galat	407,70	24,00	16,99		
Total	3786,18	29,00			

ANOVA minggu ke-6

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3295,67	5,00	659,13	57,15	2,62
Galat	276,80	24,00	11,53		
Total	3572,47	29,00			

ANOVA minggu ke-7

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3351,07	5,00	670,21	69,36	2,62
Galat	231,90	24,00	9,66		
Total	3582,97	29,00			

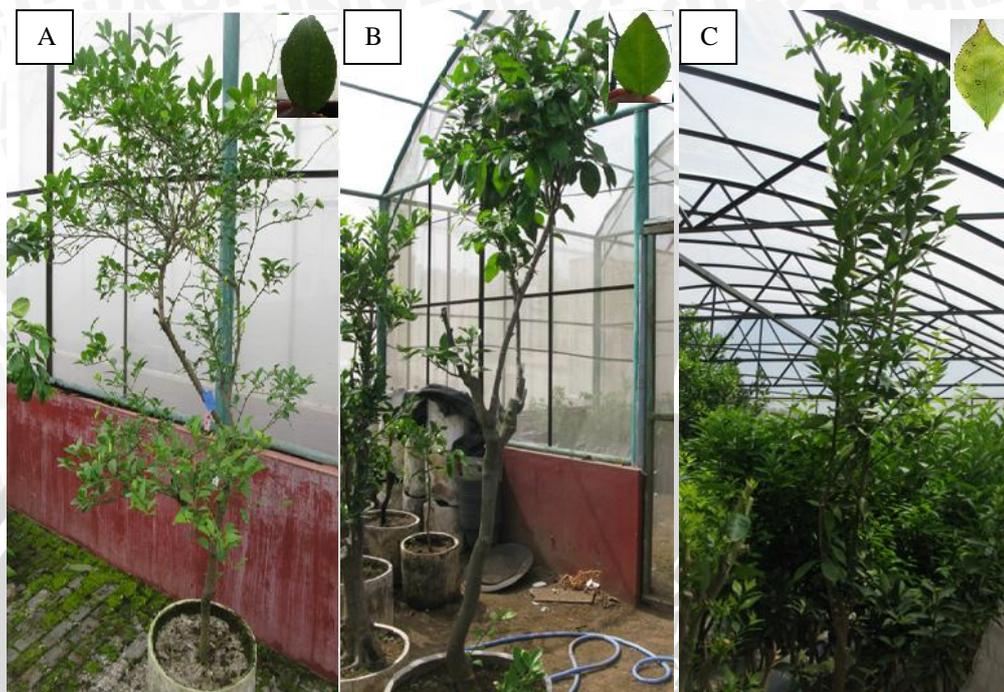
ANOVA minggu ke-8

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	7838,68	5,00	1567,94	127,34	2,62
Galat	295,50	24,00	12,31		
Total	8135,18	29,00			

Tabel 17. Luas Daun

Sumber keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	86,79	5,00	17,36	5,51	2,62
Galat	75,60	24,00	3,15		
Total	162,39	29,00			

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Gambar 23. Sumber inokulum tanaman. a) NC, b) CTV dan PC (*Mexican lime*), c) CVEV (siam pontianak)



Gambar 24. Plot tanaman uji jeruk purut a) rak 1, b) rak 2



Gambar 25. Pelaksanaan perlakuan. a) persiapan kulit untuk sumber inokulum, b) mengelupas kulit ranting sumber inokulum, c) mengelupas kulit tanaman uji jeruk purut, d) menempelkan kulit sumber inokulum ke bekas sayatan tanaman uji jeruk purut, e) mengikat dengan tali plastik yang telah diokulasi



Gambar 26. Proses uji serologi ELISA. a). coating antibodi, b). persiapan sampel, c). inkubasi, d). pengeringan setelah pencucian PBST, e). PNP tablet, f). PNP buffer, g). pembacaan ELISA dengan ELISA reader



Gambar 27. Pemeliharaan tanaman uji jeruk purut. a) pupuk NPK, b) insektisida untuk ulat peliang daun (*Phyllocnistis citrella*), c) pupuk daun

