

**IDENTIFIKASI PENYAKIT YANG DISEBABKAN OLEH
VIRUS PADA TANAMAN ANGGREK *Cattleya* sp.
DI MALANG, JAWA TIMUR**

Oleh
ERLINA EKA PUTRI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2016**

**IDENTIFIKASI PENYAKIT YANG DISEBABKAN OLEH
VIRUS PADA TANAMAN ANGGREK *Cattleya* sp.
DI MALANG, JAWA TIMUR**

OLEH

ERLINA EKA PUTRI

125040201111076

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**



SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2016

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, September 2016

Erlina Eka Putri

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Identifikasi Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Tanaman Anggrek *Cattleya* sp. di Malang, Jawa Timur

Nama Mahasiswa : Erlina Eka Putri

NIM : 125040201111076

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS
NIP. 19521028 197903 1 003

Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc.
NIK. 201503 860523 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Panjita Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 19590705 198601 1 003

Penguji II

Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc.
NIK. 201503 860523 1 001

Penguji III

Dr. Akhmad Rizali, SP., M.Si.
NIK. 201405 770415 1 001

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.
NIP. 19521028 197903 1 003

Tanggal Lulus :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Skripsi ini kupersembahkan untuk

*Kedua orang tua ku tercinta serta
adik-adik ku tersayang*

RINGKASAN

ERLINA EKA PUTRI. 125040201111076. Identifikasi Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Tanaman Anggrek *Cattleya* sp. di Malang, Jawa Timur. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS. sebagai Pembimbing Utama dan Fery Abdul Choliq, SP., MP., MSc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Kota Malang, merupakan salah satu sentra budidaya tanaman hias jenis anggrek di Jawa Timur. Salah satu anggrek yang dibudidayakan adalah jenis anggrek *Cattleya* sp. Anggrek *Cattleya* sp. memiliki julukan sebagai *The Queen of Orchid* karena ukuran serta keindahan bunganya. Anggrek jenis ini adalah tanaman hias yang memiliki potensi untuk dikembangkan dari segi produktivitasnya. Adanya kendala budidaya tanaman anggrek *Cattleya* sp. di Malang diduga disebabkan oleh virus. Sampai saat ini belum diketahui virus penyebab penyakit yang menginfeksi anggrek *Cattleya* sp. Identifikasi penyakit adalah salah satu langkah awal untuk mengetahui jenis virus penyebab penyakit sehingga dapat digunakan untuk mencegah atau mengurangi intensitas serangan penyakit. Identifikasi penyakit yang disebabkan oleh virus dengan menggunakan metode pengujian sifat fisik virus dalam sap dan pengujian kisaran inang dapat menjadi salah satu solusi untuk mengetahui virus penyebab penyakit pada anggrek *Cattleya* sp. Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang akan memberikan informasi terkait identifikasi virus penyebab penyakit pada Anggrek *Cattleya* sp. di Malang Jawa Timur dengan menggunakan pengujian sifat fisik virus dalam sap.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juli 2016 di *Green House* yang berlokasi di Ds. Karang Widoro, Kec. Dau, Kab. Malang dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Sumber inokulum virus diperoleh dari daun anggrek *Cattleya* sp. yang diduga bergejala virus. Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksploratif untuk mengetahui jenis virus yang menyerang tanaman anggrek melalui pengujian kisaran inang dan pengujian sifat fisik virus.

Beberapa hasil pengujian sifat fisik virus yang dilakukan diketahui bahwa virus yang menginfeksi anggrek *Cattleya* sp. adalah *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV). Anggrek *Cattleya* sp. yang terserang ORSV menunjukkan gejala klorosis beserta nekrosis berwarna coklat kehitaman yang hampir menutupi seluruh bagian daun. Pada pengujian kisaran inang hasilnya menunjukkan bahwa ORSV dapat menginfeksi *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *N. tabacum*, *G. globosa*, *Z. elegans*, *Dendrobium* sp., dan *Phalaenopsis* sp. Hasil kisaran inang juga menunjukkan bahwa ORSV tidak dapat menginfeksi *C. sativus* dan *C. vulgaris*. Hasil pengamatan partikel virus diketahui bahwa partikel ORSV memiliki bentuk batang kaku dengan ukuran kurang lebih 300 x 18 nm.

SUMMARY

ERLINA EKA PUTRI. 125040201111076. Identification of Disease Caused by Virus on *Cattleya* sp. in Malang, East Java. Supervised by Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS. and Fery Abdul Choliq, SP., MP., MSc.

Malang is one of the cultivation places of orchid in East Java. A kind of orchid that can be cultivated is *Cattleya* sp. *Cattleya* sp. called as the queen of orchid because it has big size and it is a beautiful flower. This kind of orchid is one of the ornamental plants that has potential to be developed as seen from productivity. The constraint at Malang in cultivating *Cattleya* sp. was suspected to be caused by a virus. The virus which caused the infection on *Cattleya* sp. was not identified yet. Identification of the disease is one of the first steps to determine the kind of virus that causes the disease so that it can be used to prevent or reduce the intensity of the disease. The identification of the disease that caused by a virus by using virus physical-characteristic test in the sap and using virus host range test can be one of the solutions to find out the virus that cause disease in *Cattleya* sp. This was the first research that would give the information about the identification of disease which was caused by virus in *Cattleya* sp. in Malang, East Java by using virus physical-characteristic test in the sap.

The reasearch was conducted on March until July, 2016 in the Green House located in Village Karang Widoro, Subdistrict Dau, Regency Malang and in the Laboratory of Disease in Department of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. The virus inoculum source was obtained from symptomatic leave of *Cattleya* sp. The research method used was exploratory research in determining the kind of virus that infected *Cattleya* sp. by using host range test and virus physical-characteristics test.

The results of virus physical-characteristics test in the sap showed that the virus which infected *Cattleya* sp. was *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV). The *Cattleya* sp. which was infected by ORSV showed the chlorotic and necrotic symptoms with dark brown-black that covered almost all parts of the leave. The host range test showed that the ORSV could infect *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *N. tabacum*, *G. globosa*, *Z. elegans*, *Dendrobium*, and *Phalaenopsis*. The ORSV could not infect the *C. sativus* and *C. vulgaris*. The observation on virus particles showed that ORSV particles have rod-shape with a measure 300 x 18 nm

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jayapura pada tanggal 31 Mei 1994 dari pasangan bapak Moh. Solikin dan ibu Lestari Widiastuti. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara.

Penulis menempuh pendidikan dasar pada tahun 2000 dan selesai pada tahun 2006 di SD Negeri Kedungbendo 03, Kecamatan Tanggulangin, Sidoarjo. Pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan penulis di SMP Negeri 1 Sampang pada tahun 2009 dan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 3 Sampang pada tahun 2012. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya melalui jalur SNMPTN Undangan pada tahun 2012.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif dalam kepanitiaan PROTEKSI 2015 sebagai sekretaris pelaksana II. Penulis juga pernah melaksanakan magang kerja di PT. BASF Indonesia wilayah kerja Malang pada tahun 2015.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi Penyakit yang Disebabkan Oleh Virus Pada Tanaman Anggrek *Cattleya* sp. di Malang, Jawa Timur”.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada yang terhormat Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS. selaku dosen pembimbing utama dan Fery Abdul Choliq, SP., MP., M.Sc. selaku dosen pendamping yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.



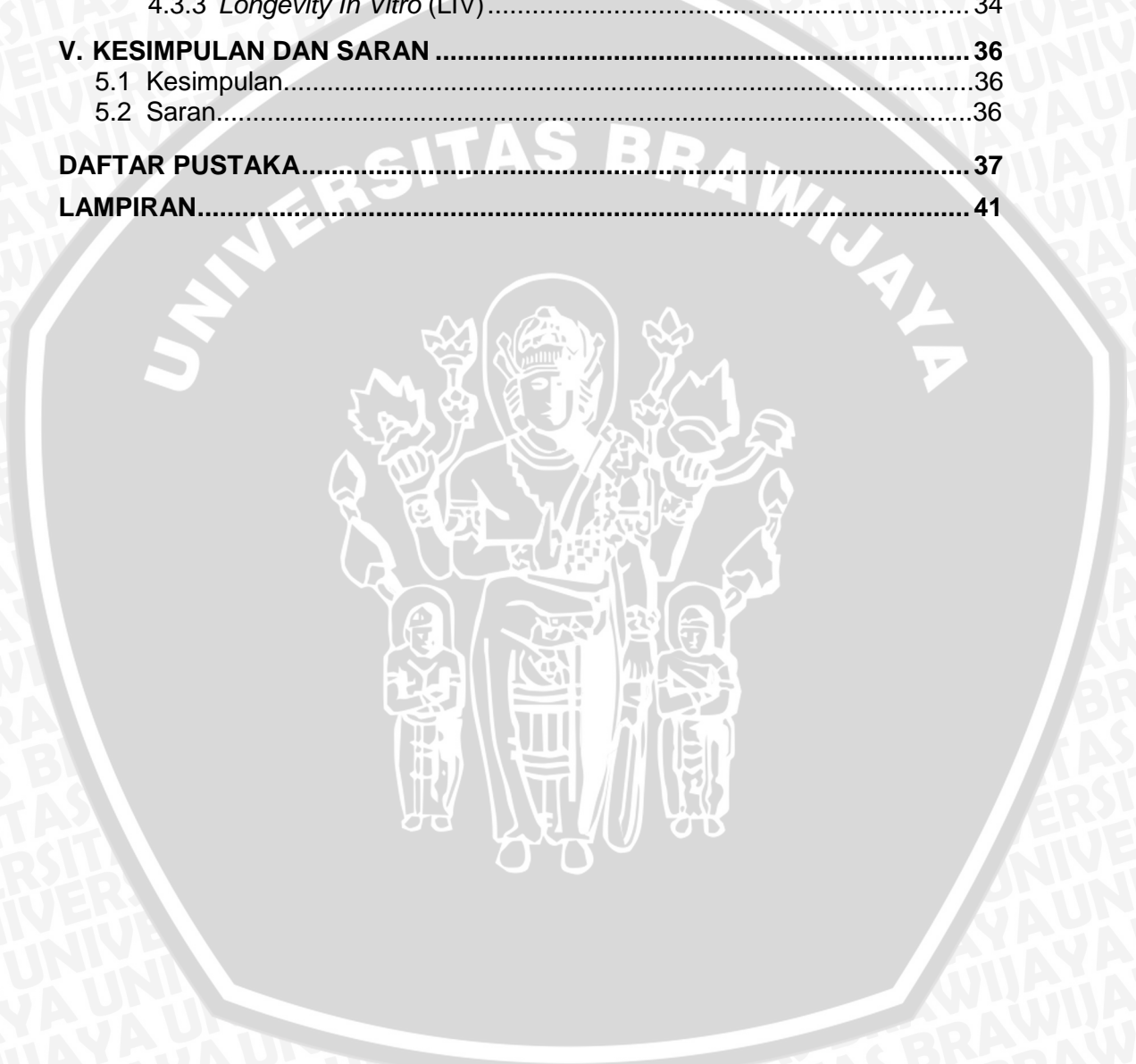
Malang, September 2016

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Anggrek <i>Cattleya</i> sp.	4
2.1.1 Daerah Asal dan Penyebaran	4
2.1.2 Taksonomi dan Morfologi Anggrek <i>Cattleya</i> sp.	4
2.2 Virus Penyebab Penyakit pada Anggrek <i>Cattleya</i> sp.	6
2.2.1 <i>Odontoglossum Ringspot Virus</i> (ORSV)	7
2.2.2 <i>Cymbidium Mosaic Virus</i> (CymMV)	8
2.3 Cara Identifikasi Virus	10
2.3.1 Postulat Koch	10
2.3.2 Pengujian Kisaran Inang	11
2.3.3 Penentuan Sifat Fisik Virus	12
2.3.4 Mikroskop Elektron	14
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Operasional Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu	18
3.3 Alat dan Bahan	18
3.4 Metode Penelitian	18
3.5 Persiapan Penelitian	18
3.5.1 Sumber Inokulum	18
3.5.2 Perbanyak Inokulum	19
3.6 Pelaksanaan Penelitian	19
3.6.1 Penanaman Tanaman Indikator	19
3.6.2 Pembuatan Cairan Perasan (sap)	19
3.6.3 Inokulasi pada Tanaman Uji	20
3.6.4 Pengujian Kisaran Inang	20
3.6.5 Pengujian Sifat Fisik Virus	20
3.6.6 Pembuatan sap untuk Identifikasi Menggunakan Mikroskop Elektron	21
3.7 Variabel Pengamatan	22
3.7.1 Pengamatan Masa Inkubasi Virus	22
3.7.2 Pengamatan Gejala dan Variasi Gejala	22
3.7.3 Pengamatan Sifat Fisik Virus	22

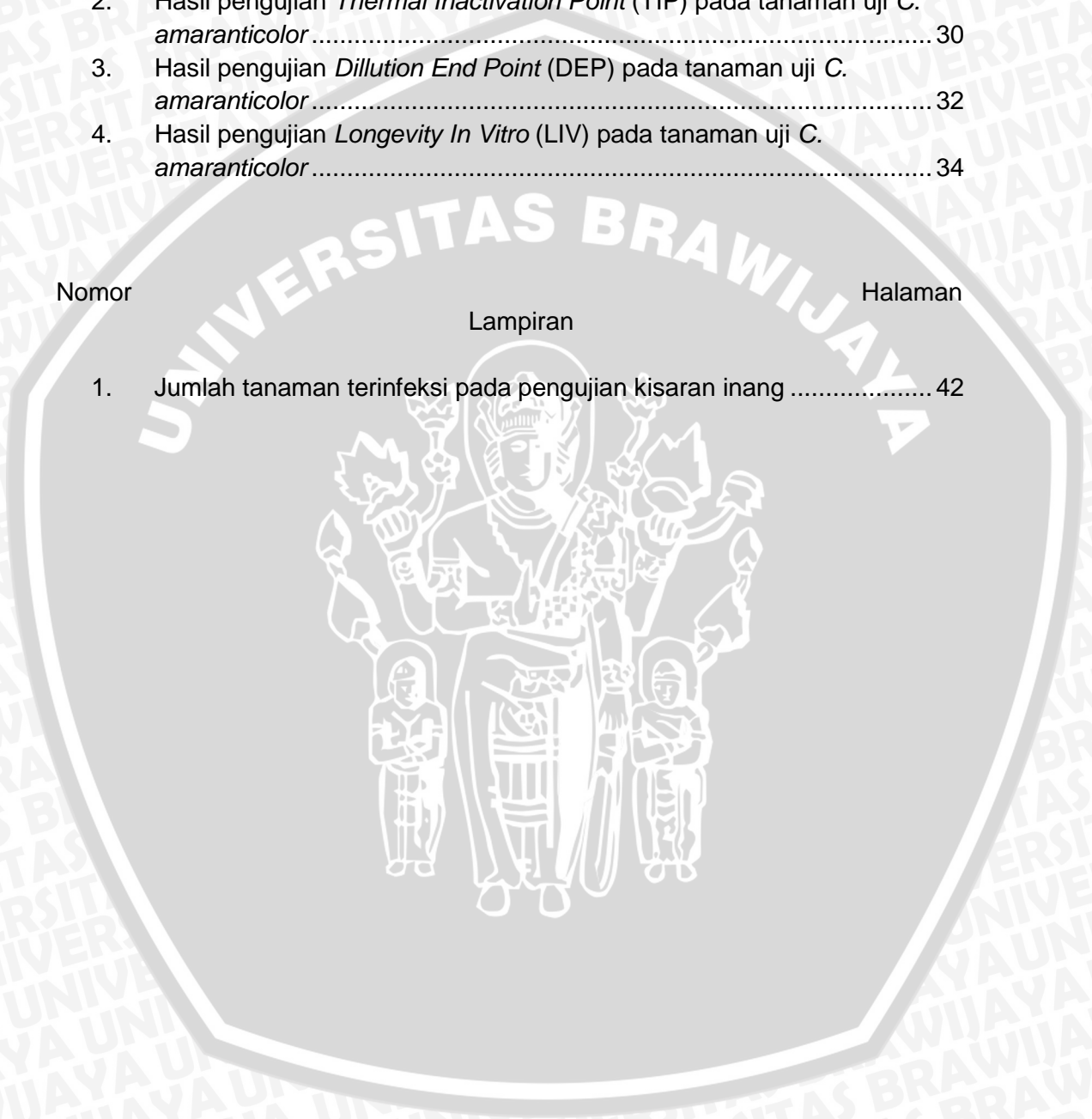
3.7.4 Pengamatan Morfologi Partikel Virus.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Gejala Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Anggrek <i>Cattleya</i> sp.	24
4.2 Morfologi Partikel Virus	25
4.3 Pengujian Kisaran Inang.....	27
4.4 Pengujian Sifat Fisik Virus	30
4.3.1 <i>Thermal Inactivation Point</i> (TIP)	30
4.3.2 <i>Dilution End Point</i> (DEP)	32
4.3.3 <i>Longevity In Vitro</i> (LIV).....	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	41



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil uji kisaran inang melalui penularan secara mekanis.....	27
2.	Hasil pengujian <i>Thermal Inactivation Point</i> (TIP) pada tanaman uji C. <i>amaranticolor</i>	30
3.	Hasil pengujian <i>Dillution End Point</i> (DEP) pada tanaman uji C. <i>amaranticolor</i>	32
4.	Hasil pengujian <i>Longevity In Vitro</i> (LIV) pada tanaman uji C. <i>amaranticolor</i>	34

Nomor	Lampiran	Halaman
1.	Jumlah tanaman terinfeksi pada pengujian kisaran inang	42



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Bunga anggrek <i>Cattleya</i> sp.	5
2.	Daun anggrek <i>Cattleya</i> sp. yang terinfeksi virus.....	6
3.	Morfologi partikel virus ORSV menggunakan <i>Transmission Electron Microscope</i> (TEM).....	7
4.	Gejala <i>Odontoglossum Ringspot Virus</i> (ORSV) pada daun anggrek.....	8
5.	Morfologi partikel virus CymMV menggunakan <i>Transmission Electron Microscope</i> (TEM).....	9
6.	Gejala <i>Cymbidium Mosaic Virus</i> (CymMV) pada daun anggrek	9
7.	Kerangka operasional penelitian	17
8.	Gejala penyakit pada daun anggrek <i>Cattleya</i> sp. yang diamati	24
9.	Daun tanaman indikator <i>C. amaranticolor</i>	25
10.	Morfologi partikel virus hasil tangkapan <i>Transmission Electron Microscope</i> (TEM).....	26
11.	Perbandingan hasil tangkapan TEM berdasarkan literatur	26
12.	Gejala infeksi virus pada berbagai tanaman inang setelah diinokulasi	29
13.	Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan <i>Thermal Inactivation Point</i> (TIP)	31
14.	Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan <i>Dilution End Point</i> (DEP).....	33
15.	Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan <i>Longevity In Vitro</i> (LIV)	35

Nomor	Lampiran	Halaman
1.	Lokasi pengambilan sumber inokulum virus untuk identifikasi.....	41
2.	Sap yang digunakan untuk identifikasi virus menggunakan <i>Transmission Electron Microscope</i> (TEM).....	41

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kota Malang merupakan salah satu sentra budidaya tanaman hias di Jawa Timur. Tanaman hias yang dibudidayakan salah satunya adalah anggrek. Tanaman anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Salah satu jenis anggrek yang cukup potensial untuk dikembangkan dari segi produktivitasnya dan memiliki nilai ekonomi tinggi adalah jenis anggrek *Cattleya* sp. (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2005).

Anggrek *Cattleya* sp. merupakan jenis anggrek berbunga tunggal yang memiliki julukan sebagai *The Queen of Orchid* karena ukuran bunganya yang umumnya besar dan warna bunganya yang indah (Sarwono, 2002). Anggrek *Cattleya* sp. menjadi salah satu tanaman hias jenis anggrek yang banyak diminati oleh sebagian besar masyarakat, baik masyarakat yang berada di wilayah Malang maupun di luar wilayah Malang. Anggrek jenis *Cattleya* sp. ini juga dikenal dengan harganya yang cukup mahal (Andri *et al.*, 2015). Seiring berjalannya waktu permintaan pasar akan anggrek tersebut juga semakin meningkat sesuai dengan kebutuhan. Hal ini menyebabkan sentra budidaya anggrek dituntut untuk memelihara tanaman anggrek yang sehat agar tidak mengurangi nilai jualnya (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2005).

Masalah Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) menjadi salah satu kendala yang dihadapi dalam proses budidaya anggrek *Cattleya* sp. Serangan OPT khususnya penyakit dapat menyebabkan rusaknya tanaman anggrek baik pada bunga maupun daun. Rusaknya bagian tanaman pada anggrek tersebut dapat mempengaruhi kualitas bunga dan mengakibatkan penurunan hasil ekonomi. Serangan OPT yang menjadi masalah dalam proses budidaya anggrek *Cattleya* sp. diduga diakibatkan oleh virus. Tanaman anggrek dapat terinfeksi kurang lebih 50 jenis virus tanaman (Navalienskiene *et al.*, 2005). Terdapat dua jenis virus penting yang menyerang tanaman anggrek dan menyebar luas di dunia, virus tersebut adalah *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV) dan *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV) (Grisoni *et al.*, 2004). Anggrek *Cattleya* sp. adalah salah satu jenis anggrek yang berpotensi terserang kedua virus tersebut dengan daerah penyebaran yang cukup luas di Jawa, Ujung Pandang, dan Bali (Inouye, 1996). Kejadian penyakit oleh ORSV pada sentra produksi anggrek ditemukan di

beberapa daerah yaitu Bogor, Bandung, Magelang, Surabaya, dan Malang dengan kisaran kejadian penyakit antara 40-100% sedangkan pada CymMV antara 30-65% (Lakani, 2012).

Sampai saat ini, belum diketahui virus penyebab penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. Identifikasi penyakit adalah salah satu langkah awal untuk mengetahui jenis virus penyebab penyakit yang nantinya dapat digunakan dalam mencegah maupun mengurangi intensitas serangan penyakit. Identifikasi penyakit yang disebabkan oleh virus dengan menggunakan metode pengujian sifat fisik virus dalam sap dan pengujian kisaran inang dapat menjadi salah satu solusi untuk mengetahui virus penyebab penyakit pada anggrek *Cattleya* sp.

Sejauh ini, penelitian mengenai identifikasi penyakit yang disebabkan oleh virus pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. dengan menggunakan pengujian sifat fisik virus dan kajian kisaran inang di Malang, Jawa Timur belum pernah dilakukan. Oleh karena itu identifikasi penyakit yang diakibatkan oleh virus pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. perlu dilakukan, mengingat Kota Malang merupakan salah satu sentra budidaya tanaman hias khususnya anggrek di Jawa Timur. Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang akan memberikan informasi terkait identifikasi virus penyebab penyakit pada anggrek *Cattleya* sp. di Malang, Jawa Timur dengan menggunakan pengujian sifat fisik virus dalam sap.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Virus apakah yang menyebabkan penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. di Malang ?
2. Bagaimana reaksi berbagai inang, sifat fisik virus, dan morfologi virus yang menyebabkan penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. di Malang ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah untuk :

1. Mengetahui virus penyebab penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. di Malang.
2. Mengetahui reaksi berbagai inang, sifat fisik, dan morfologi virus yang menyebabkan penyakit pada anggrek *Cattleya* sp. di Malang.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai virus penyebab penyakit yang menyerang tanaman anggrek *Cattleya* sp. sehingga dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam menentukan teknik pengendaliannya.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anggrek *Cattleya* sp.

2.1.1 Daerah Asal dan Penyebaran

Anggrek *Cattleya* sp. adalah salah satu anggrek yang bervariasi dan kurang lebih memiliki 113 spesies, varietas, dan forma yang tidak terhitung jumlahnya (Ginting, 2012). Habitat asli anggrek *Cattleya* sp. berasal dari daerah Amerika Tengah dan Selatan, termasuk Venezuela, Brazil, Peru, Meksiko, Guyana dan Argentina (Ginting, 2012). *Cattleya* diambil dari nama William Cattley, seorang hortikulturis dari Inggris yang mengimpor tanaman dari Brazil. Pada saat pengiriman tanaman, di antara daun-daun yang digunakan sebagai pengemas terdapat semacam umbi (*bulb*) yang tidak dikenal, kemudian Cattley menanam umbi tersebut di dalam pot dan menyimpannya di tempat yang panas. Pada bulan November 1818, umbi tersebut tumbuh dan berbunga sangat indah. Sejak saat itu umbi yang berbunga indah tersebut dikenal dengan nama anggrek *Cattleya* (Ginting, 2012).

2.1.2 Taksonomi dan Morfologi Anggrek *Cattleya* sp.

Kedudukan tanaman anggrek *Cattleya* sp. dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan menurut USDA Plants (2016) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Orchidales
Family	: Orchidaceae
Genus	: <i>Cattleya</i> Lindl.

Morfologi tanaman anggrek *Cattleya* sp. tidak berbeda dengan jenis tanaman anggrek pada umumnya yang terdiri atas akar, batang, daun, dan bunga. Anggrek *Cattleya* sp. memiliki akar lekat dan akar udara. Akar lekat berfungsi sebagai penahan agar tanaman tetap pada posisinya. Akar udara berperan dalam proses perkembangan dan pertumbuhan tanaman karena akar ini mampu menyerap unsur-unsur hara (Ginting, 2012).

Anggrek *Cattleya* sp. merupakan jenis anggrek yang termasuk dalam tipe simpodial yakni memiliki batang yang berumbi semu (*pseudobulb*) dengan pertumbuhan ujung batang terbatas, dimana tangkai bunga keluar dari ujung *pseudobulb*. Pertumbuhan batang dapat terhenti apabila telah maksimal, kemudian pertumbuhan baru dapat dilanjutkan kembali oleh tunas anakan yang tumbuh di sampingnya. Tunas anakan tersebut tumbuh dari rhizoma atau batang di bawah media yang berhubungan dengan tanaman induk (Widiastoety, 2005).

Anggrek *Cattleya* sp. memiliki bunga yang indah (Gambar 1). Struktur bunga pada anggrek *Cattleya* sp. pada dasarnya cukup sederhana yaitu mekar secara khusus, sepal lebar, petal yang menjuntai di atas bibir (*labellum*) yang besar, indah dan biasanya *labellum* memiliki warna yang berbeda (Ginting, 2012).



Gambar 1. Bunga anggrek *Cattleya* sp. (Reimer, 2007)

Anggrek *Cattleya* sp. merupakan golongan *evergreen* yakni daun tetap hijau atau segar dan tidak gugur secara serentak. Daun anggrek *Cattleya* sp. berbentuk lanset atau lebar, tebal, dan berdaging (Widiastoety, 2005).

Buah anggrek berbentuk kapsul yang berwarna hijau dan jika masak mengering dan terbuka dari samping. Bijinya sangat kecil dan ringan, sehingga mudah terbawa angin. Biji anggrek tidak memiliki jaringan penyimpan cadangan makanan, bahkan embrionya belum mencapai kematangan sempurna. Perkecambahan baru terjadi jika biji jatuh pada medium yang sesuai dan melanjutkan perkembangannya hingga kemasakan (Darmono, 2003). Bentuk buah anggrek umumnya berbeda-beda, bergantung pada jenisnya. Biasanya, setelah bunga diserbuki dan dibuahi, 3-9 bulan kemudian muncul buah yang sudah tua. Kematangan

buah sangat bergantung pada jenis anggreknya. Buah pada anggrek *Cattleya* sp. baru matang setelah 9 bulan. Bagian awal yang terbuka adalah tengahnya bukan di ujung atau pangkal buah (Iswanto, 2010).

2.2 Virus Penyebab Penyakit pada Anggrek *Cattleya* sp.

Faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan anggrek meliputi cahaya matahari, suhu udara, kelembaban udara, penyiraman, pemupukan, sirkulasi udara, media tanam, *repotting*, serta hama dan penyakit. Tanaman yang terserang penyakit akibat infeksi patogen dapat menyebabkan penghambatan atau gangguan dari aktivitas fisiologis atau perubahan struktural yang dapat menghambat pertumbuhan dan menyebabkan bentuk tanaman yang abnormal. Selain itu infeksi patogen juga menyebabkan susunan bagian tanaman yang berbeda serta menyebabkan kematian bagian tanaman atau seluruh tanaman sebelum waktunya (Syahierah, 2010). Bottom (2012) mengungkapkan bahwa anggrek *Cattleya* sp. yang terserang virus menunjukkan gejala nekrotik yang diawali dengan munculnya gejala di bagian daun tua kemudian berpindah ke daun yang lebih muda (Gambar 2).



Gambar 2. Daun anggrek *Cattleya* sp. yang terinfeksi virus (Bottom, 2012)

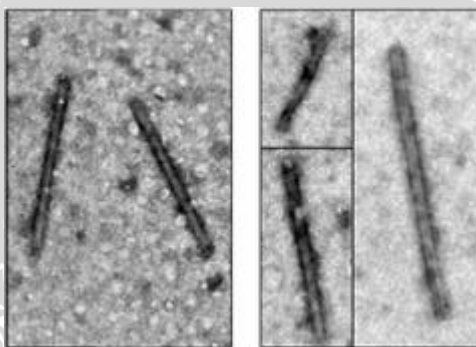
Burnet (1974) dalam Syahierah (2010) mengemukakan bahwa virus dapat menyerang genera anggrek dalam kisaran yang luas. Ditemukan penyakit yang disebabkan oleh virus paling sedikit pada 55 genera anggrek, tetapi ini bukan berarti bahwa terdapat 55 jenis virus yang berbeda, karena virus yang sama sering dapat menginfeksi genera yang berlainan. Gejala yang dihasilkan bermacam-macam tergantung pada virus, spesies, atau hibrida anggrek yang diinfeksi, dan kondisi lingkungan.

Virus yang dapat menginfeksi tanaman anggrek diantaranya adalah *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV), *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV),

Cymbidium Ringspot Virus (CRSV), *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), *Orchid Fleck Virus* (OFV) (Kondo *et al.*, 2006). CymMV dan ORSV adalah virus yang paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi (Matthews, 1992).

2.2.1 *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV)

ORSV merupakan spesies dari genus *Tobamovirus*. Partikel ORSV berbentuk batang kaku memanjang, tidak diselubungi *enveloped*, dan terdiri atas molekul ssRNA berukuran 6 kb. Ukuran partikel virus ini 300 x 18 nm, sama seperti *Tobacco Mosaic Virus* (Gambar 3). ORSV telah diketahui dapat menulari 31 genus anggrek lainnya (Lawson dan Brannigan 1986 dalam Lakani, 2012).



Gambar 3. Morfologi partikel virus ORSV menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) (Chun Lin *et al.*, 2015).

ORSV diketahui memiliki stabilitas yang tinggi dalam sap. Virus ini dapat bertahan pada suhu yang tinggi dengan nilai TIP lebih dari 90°C. Nilai DEP dari ORSV berkisar antara 10^{-6} sampai 10^{-7} (*International Commitee of Taxonomy Viruses* (ICTV), 2006). ORSV memiliki nilai LIV yang cukup lama yaitu kurang dari 10 tahun penyimpanan dalam suhu ruang (Arditti *et al.*, 2002).

ORSV dapat menyerang berbagai macam anggrek diantaranya *Aranda sp.*, *Dendrobium sp.*, *Odontoglossum sp.*, *Phalaenopsis sp.* dan *Grammatophyllum sp.* (Suseno 1979 dalam Isnawati, 2009). Biasanya pada daun timbul lingkaran, garis-garis, serta bercak hijau kekuningan atau cokelat (Gambar 4). Umumnya virus ini tidak menimbulkan gejala pada bunga anggrek (Isnawati, 2009).

ORSV tidak dapat ditularkan oleh vektor serangga, namun dapat ditularkan secara mekanis (Ajikuttira *et al.*, 2002). Penularan secara

mekanis pada tanaman indikator *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, dan *Gomphrena globosa* menyebabkan gejala lesio lokal sedangkan pada *Tetragonia expansa* gejala awalnya lesio lokal kemudian berkembang menjadi menguning (Navalienskiene *et al.*, 2005).

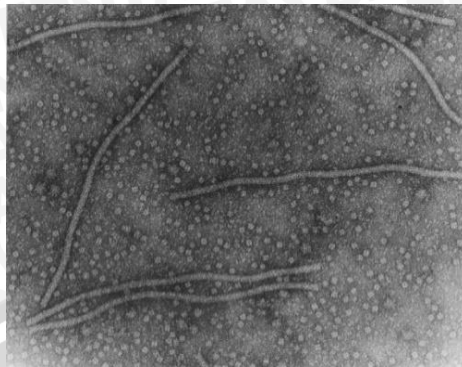


Gambar 4. Gejala *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV) pada daun anggrek (Isnawati, 2009).

Pada jenis anggrek *Cattleya* sp. gejala infeksi ini bervariasi yaitu berupa garis-garis klorotik dan mosaik pada daun muda, bercak klorotik sampai nekrotik atau bercak berbentuk cincin (Syahierah, 2010). Selain itu ORSV pada anggrek *Cattleya* sp. dapat menyebabkan nekrosis cokelat bergaris dan malformasi serta distorsi (McMillan dan Vendrame 2005). Pengendalian ORSV dapat dilakukan dengan berbagai cara, yakni dengan penggunaan benih sehat, desinfeksi peralatan, dan penggunaan zat antiviral (Muharam *et al.*, 2013).

2.2.2 *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV)

CymMV merupakan spesies dari genus *Potexvirus* dan famili *Flexiviridae*. Bentuk partikel virus adalah memanjang, lentur dan panjangnya rata-rata 448 nm hingga 488 nm (Gambar 5), tidak memiliki *enveloped* dan memiliki RNA berukuran ± 600 bp (Lee dan Chang 2006). CymMV memiliki stabilitas virus dalam sap yakni TIP 60° sampai 70°C, kemudian nilai DEP 10^{-6} hingga 10^{-7} . Nilai LIV virus ini adalah 25 hari pada penyimpanan suhu ruang (*Plant Virus Online*, 2016).



Gambar 5. Morfologi partikel virus CymMV menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) (*Plant Virus Online*, 2016)

CymMV dapat ditularkan secara mekanis dan melalui bahan perbanyak vegetatif tanaman, tetapi tidak dapat ditularkan melalui biji dan oleh serangga (Ryu *et al.*, 1995 dalam Lakani, 2012). CymMV dapat ditularkan melalui kontak langsung antara tanaman sakit dengan tanaman sehat, kontaminasi peralatan potong dan pot yang digunakan selama perawatan dan panen bunga di lapangan (Lawson dan Hsu, 1995 dalam Lakani, 2012).

Tanaman anggrek yang terinfeksi CymMV selalu memperlihatkan gejala ukuran bunga lebih kecil dan bentuk bunga yang cacat (kualitas jelek) sebagaimana gejala pada daun, sehingga menyebabkan kehilangan nilai ekonomi yang tinggi (Seoh *et al.*, 1998). Gejala infeksi CymMV lain di lapangan berupa mosaik, klorosis dan nekrosis pada daun (Gambar 6) (Sherpa *et al.*, 2003).



Gambar 6. Gejala *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV) pada daun anggrek (Lakani, 2012).

CymMV banyak menyerang spesies tanaman dalam famili Orchidaceae dan hanya beberapa spesies pada famili lainnya. Pada famili

Orchidaceae virus ini dijumpai pada 8 genera, yaitu *Aranthera* sp., *Calanthe* sp., *Cattleya* sp., *Cymbidium* sp., *Grammatophyllum* sp., *Phalaenopsis* sp., *Oncidium* sp., dan *Vanda* sp. (Jensen, 1951 dalam Syahierah, 2010)

Gejala mosaik akan tampak lebih jelas pada daun-daun muda berupa garis-garis klorotik memanjang searah serat daun. Bunga pada tanaman *Cattleya* sp. yang terinfeksi biasanya memperlihatkan gejala bercak-bercak cokelat nekrosis pada petal dan sepal. Bunga biasanya berukuran lebih kecil dan mudah rontok dibandingkan dengan bunga tanaman sehat (Jensen 1951 dalam Syahierah, 2010).

Pengendalian CymMV tidak berbeda dengan pengendalian yang dilakukan pada ORSV. Pengendalian yang dapat dilakukan adalah penggunaan benih sehat, desinfeksi peralatan, dan penggunaan zat antiviral (Muharam *et al.*, 2013).

2.3 Cara Identifikasi Virus

2.3.1 Postulat Koch

Postulat Koch merupakan teknik pendeteksian virus dan agen-agen mikrobiologi yang lain serta merupakan teknik yang telah populer karena sejak tahun 1880 tetap dianggap esensial untuk menentukan diagnosis yang handal mengenai penyakit infeksi (Akin, 2006). Menurut Agrios (2004) postulat koch menyatakan bahwa untuk meyakinkan bahwa mikroorganisme sebagai penyakit, maka :

- a. Mikroorganisme tertentu ditemukan berasosiasi dengan penyakit yang ditimbulkan pada tanaman inangnya.
- b. Mikroorganisme dapat diisolasi dan ditumbuhkan sebagai biakan murni di laboratorium. Oleh karena patogen virus merupakan patogen obligat, maka virus diisolasi dengan tanaman inang spesifik dan dipurifikasi.
- c. Hasil purifikasi tersebut bila diinokulasi pada tanaman inangnya dapat menimbulkan penyakit dengan membentuk gejala yang sama dengan inang yang pertama.
- d. Mikroorganisme tersebut dapat diisolasi kembali dari tanaman uji yang telah terinfeksi tersebut dan jika diinfeksi pada tanaman inang spesifik menimbulkan gejala yang serupa pula.

2.3.2 Pengujian Kisaran Inang

Pengujian kisaran inang dilakukan dengan 3 tujuan, yang pertama yaitu untuk melihat reaksi tanaman terhadap jenis virus yang belum diketahui. Hasil penelitian ini dapat menunjukkan identitas virus secara langsung atau paling tidak mempersempit arah penelitian. Tujuan pengujian kisaran inang yang kedua adalah untuk mendapatkan tanaman indikator yang baik untuk identifikasi seperti untuk menentukan keberadaan dan gejala yang ditimbulkan virus, sifat fisik virus dan lainnya. Tujuan pengujian kisaran inang yang terakhir adalah untuk mendapatkan spesies yang baik sebagai sumber virus atau untuk pemurnian dan pemeliharaan virus (Nurhayati, 2012).

Beberapa tanaman yang dapat dijadikan tanaman indikator virus antara lain: *Beta vulgaris* L., *Brassica oleracea* L., *Cassia occidentalis*, *Chenopodium amaranticolor* L., *Cucumis sativus* L., *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana tabacum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Physalis* sp., *Nicandra* sp., *Pisum sativum* L., *Solanum inelungina* L., *Solanum tuberosum* L., *Vicia faba* L., *Vigna sinensis* Endl., *Zinnia elegans* Jacq. (Nurhayati, 2012).

Pada pengujian kisaran inang sering terjadi variasi yang luas dari kombinasi antara inang dengan virus, akan tetapi karena pengetahuan awal tentang kisaran inang virus sangat terbatas maka perlu diperhatikan beberapa hal, yang pertama adalah untuk memperoleh hasil yang baik, percobaan kisaran inang sebaiknya dilakukan pada satu macam kondisi lingkungan. Hal kedua yang perlu diperhatikan adalah virus yang berbeda sering menghasilkan gejala yang sama pada inang tertentu. Hal yang selanjutnya perlu diperhatikan adalah seringkali studi kisaran inang hanya mempelajari reaksi dari sedikit strain saja, akan tetapi strain-strain virus lainnya yang kemungkinan memiliki kerabat dekat dapat mempunyai inang lain yang spesifik dengan reaksi yang berbeda pula. Oleh karena kendala-kendala tersebut, tidak dianjurkan untuk mendiagnosis atau mengidentifikasi virus hanya dengan pengujian kisaran inang saja (Wahyuni, 2005).

2.3.3 Penentuan Sifat Fisik Virus

Sifat virus dalam cairan perasan (sap) dapat digunakan sebagai salah satu kelengkapan dalam identifikasi virus. Untuk itu diperlukan tumbuhan indikator yang mudah ditularkan virus secara mekanik. Pengujian sifat fisik virus ini adalah termasuk dalam uji infektivitas virus. Tumbuhan uji yang digunakan dapat bereaksi sistemik atau hipersensitif. Pada umumnya digunakan tumbuhan yang bereaksi hipersensitif, dan infektivitas virus setelah diperlakukan dinyatakan dalam jumlah lesio lokal yang terbentuk atau tidaknya gejala pada tumbuhan uji. Sifat-sifat fisik virus dalam sap juga ditujukan untuk mengetahui stabilitasnya dalam sap (Wahyuni, 2005). Pengujian sifat fisik virus dalam sap meliputi *Thermal Inactivation Point* (TIP), *Dilution End Point* (DEP), dan *Longevity In Vitro* (LIV).

a. *Thermal Inactivation Point* (TIP)

TIP atau Titik Suhu Inaktivasi adalah suhu yang diperlukan untuk sepenuhnya menonaktifkan virus dalam cairan sap selama 10 menit. Kestabilan virus diketahui dengan menghomogenkan jaringan yang terinfeksi dengan buffer atau larutan penyangga (Nurhayati, 2012).

Beberapa penelitian diketahui bahwa virus mempunyai ketahanan struktur protein pada suhu pemanasan yang berbeda. *Tomato Spotted Wilt Virus* memiliki nilai TIP 45°C. Strain virus juga dapat memiliki TIP yang berbeda. TNV strain B mempunyai TIP 80-85°C, dan strain A memiliki TIP 90°C. Demikian pula dengan strain-strain TMV mempunyai TIP yang bervariasi dari 55°C, 70°C, dan bahkan ada yang mencapai 95°C (Wahyuni, 2005). Pemanasan pada suhu tertentu mempunyai pengaruh terhadap struktur protein virus sehingga terjadi denaturasi protein yang menyebabkan rusaknya partikel virus dan akan menghilangkan infektivitas virus atau menyebabkan virus tersebut inaktif (Priatni *et al.*, 2006).

Pengujian TIP memiliki metode yang dilakukan, yaitu dengan cara menghancurkan jaringan tanaman terinfeksi daun, akar, atau ranting dengan menggunakan buffer fosfat pada mortar. Sap disaring melalui dua lapis saringan kasa, kemudian dengan menggunakan pipet, dituangkan 2 ml sap ke dalam tabung reaksi dan tutup masing-masing tabung dengan hati-hati. Setiap tabung dipanaskan dalam air panas menggunakan *water*

bath selama 10 menit. Pengujian dilakukan dengan interval pemanasan 10 menit yaitu 30 – 100°C, setelah pemanasan tabung reaksi segera didinginkan dalam air es. Tanaman uji di uji cobakan untuk mengetahui infektivitas virus yaitu dengan cara menghitung jumlah lesio lokal pada bagian daun yang diinokulasikan (Hadiastono, 2012).

b. *Dillution End Point (DEP)*

DEP atau Titik Batas Pengenceran adalah pengenceran tertinggi sap tanaman dimana virus masih dapat menular (Nurhayati, 2012). Pengujian DEP menggunakan tanaman indikator yang sama dengan pengujian TIP yaitu bergejala lesio lokal. Pada tumbuhan indikator yang bergejala lesio lokal dapat dibuat kurva standar dari jumlah lesio lokal yang dihasilkan dari daun-daun yang bergejala. Apabila dihipotesiskan bahwa satu lesio lokal yang terbentuk mengandung satu atau lebih partikel virus, maka dapat diketahui bahwa semakin rendah seri pengenceran yang dilakukan, jumlah lesio lokal yang terbentuk semakin sedikit. Untuk keperluan identifikasi virus maka dapat dibandingkan bentuk kurva serial pengenceran sap dengan jumlah lesio yang terbentuk pada daun yang telah diinokulasi sebelumnya (Wahyuni, 2005).

Metode yang dilakukan adalah menghancurkan jaringan tanaman terifeksi dalam buffer fosfat pada mortar. Beberapa pengenceran dipersiapkan mulai dari tanpa pengenceran hingga pengenceran 10^{-8} (Hadiastono, 2012). Pengenceran 10^{-1} berarti setiap 1 ml sap ditambahkan dengan 9 ml *aquadest* atau buffer yang kemudian dihomogenkan. Setiap pengenceran selanjutnya diinokulasikan pada tanaman indikator. (Nurhayati, 2012). Kebanyakan virus memiliki nilai DEP antara 10^{-3} sampai 10^{-7} (Wahyuni, 2005).

c. *Longevity In Vitro (LIV)*

LIV atau Ketahanan In Vitro adalah panjang waktu virus infeksi dalam sap yang disimpan pada suhu kamar (berkisar antara 20°C sampai 24°C). Metode yang dilakukan dalam pengujian LIV ini adalah menggunakan ekstrak sap serupa dengan yang digunakan untuk pengujian TIP. Tabung reaksi yang bertutup masing-masing diisi dengan 2 ml sap tanaman sakit. Sap yang telah disimpan ke dalam masing-masing tabung reaksi bertutup

kemudian diinokulasikan pada tanaman indikator dengan beberapa interval waktu setelah penyimpanan (misalnya 1, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 60, 90, dan 150 hari). Inokulasi dilakukan dengan cara mengoleskan karborundum pada daun tanaman uji dan kemudian mengoleskan sap yang telah di simpan sebelumnya pada beberapa interval waktu. Jika gejala muncul pada tanaman yang diinokulasikan dengan sap yang disimpan pada suhu ruang 60 hari tetapi tidak menunjukkan gejala pada hari ke-90, maka LIV virus tersebut adalah antara 60 dan 90 hari (Nurhayati, 2012).

2.3.4 Mikroskop Elektron

Mikroskop elektron pada dasarnya memiliki 2 macam yaitu *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan mikroskop elektron transmisi (*Transmission Electron Microscope*, TEM). Ketika menggunakan kedua mikroskop ini, ukuran asli preparat (spesimen) dapat diperbesar menjadi ratusan sampai ribuan kali dengan struktur virus yang detail (Wahyuni, 2005).

a. *Transmission Electron Microscope* (TEM)

Pengamatan dengan menggunakan Mikroskop Elektron dilakukan untuk menentukan ukuran dan bentuk virus (Nurhayati, 2012). Prinsip kerja TEM adalah mengubah energi listrik menjadi elektron-elektron yang akan dipenetrasikan ke dalam spesimen yang telah dicat dengan logam berat, lalu diemisikan menjadi energi sinar. Sinar-elektron ditransmisikan dan diabsorpsi oleh seluruh spesimen, dan dengan kontras yang dipancarkan, bayangan keseluruhan stuktur spesimen secara detail dapat ditangkap dalam dua atau tiga dimensi oleh layar monitor (Wahyuni, 2005).

Salah satu identifikasi virus menggunakan mikroskop elektron adalah menggunakan pengecatan negatif. Cat negatif ini bertujuan agar lebih mengkontraskan spesimen, tidak bereaksi secara kimiawi dengan partikel virus, tetapi mampu menembus ruang-ruang pada permukaan permukaan partikel. Akibatnya, bila spesimen diamati pada bayangan permukaan partikel yang ditangkap mempunyai latar belakang yang menjadi padat elektron. Cat negatif memberikan gambaran spesimen

yang cukup terang, tetapi terbatas gelap dengan latar belakang yang gelap (Wahyuni, 2005).

Identifikasi menggunakan TEM pada pengecatan negatif diperlukan beberapa alat dan bahan antara lain adalah *copper grid*, air destilasi, kotak penyimpanan grid, lapisan karbon, dengan bahan kimia uranil asetat (UAS), dan strip kertas filter (Nurhayati, 2012). Sap yang telah siap ditetaskan pada lapisan karbon, kemudian grid diletakkan dan diinkubasi selama 1-2 menit, proses ini diharapkan partikel virus yang ada pada preparat sampel akan menempel pada grid. Grid dibersihkan menggunakan air destilasi dengan cara ditetaskan sebanyak 10 tetes, kemudian 2% uranil asetat (pH 5) ditetaskan sebanyak 6 tetes. Semua cairan atau noda dihilangkan dengan menyentuh tepi grid dengan hati-hati menggunakan strip kertas filter. Sebelum memposisikan grid pada kotak penyimpanan grid dikering anginkan terlebih dahulu dan kemudian diuji menggunakan mikroskop elektron (Choliq, 2013).

b. Scanning Electron Microscope (SEM)

Prinsip kerja pada SEM adalah sinar elektron yang diemisikan hanya ditangkap oleh permukaan spesimen, sehingga bayangan gambar spesimen yang ditangkap pada layar monitor hanyalah topografi permukaannya saja. Spesimen yang diperlukan dalam uji SEM tidak diperlukan irisan ultra tipis, tetapi dapat berupa sediaan kecil yang utuh, irisan jaringan inang utuh, atau vektor utuh yang telah dibekukan (*freeze-drying*) (Wahyuni, 2005).

Kelebihan dari penggunaan SEM ini yaitu preparasi sample yang digunakan lebih cepat dan sederhana dibandingkan dengan TEM. Ukuran sample yang relatif besar, rentang perbesaran yang luas: 3x - 150,000x. Sedangkan kekurangan dari metode deteksi menggunakan SEM yaitu apabila dibandingkan dengan TEM resolusinya lebih rendah, hanya permukaan yang teramati serta diperlukan coating dg Au pada saat penyiapan sampel (Zulfia, 2014).

Sampel uji yang digunakan untuk identifikasi menggunakan SEM dilakukan dengan cara sample dibersihkan kemudian dikeringkan menggunakan vakum jika diperlukan atau setidaknya sample harus bebas dari H₂O. Sample kemudian ditempatkan pada sample holder lalu

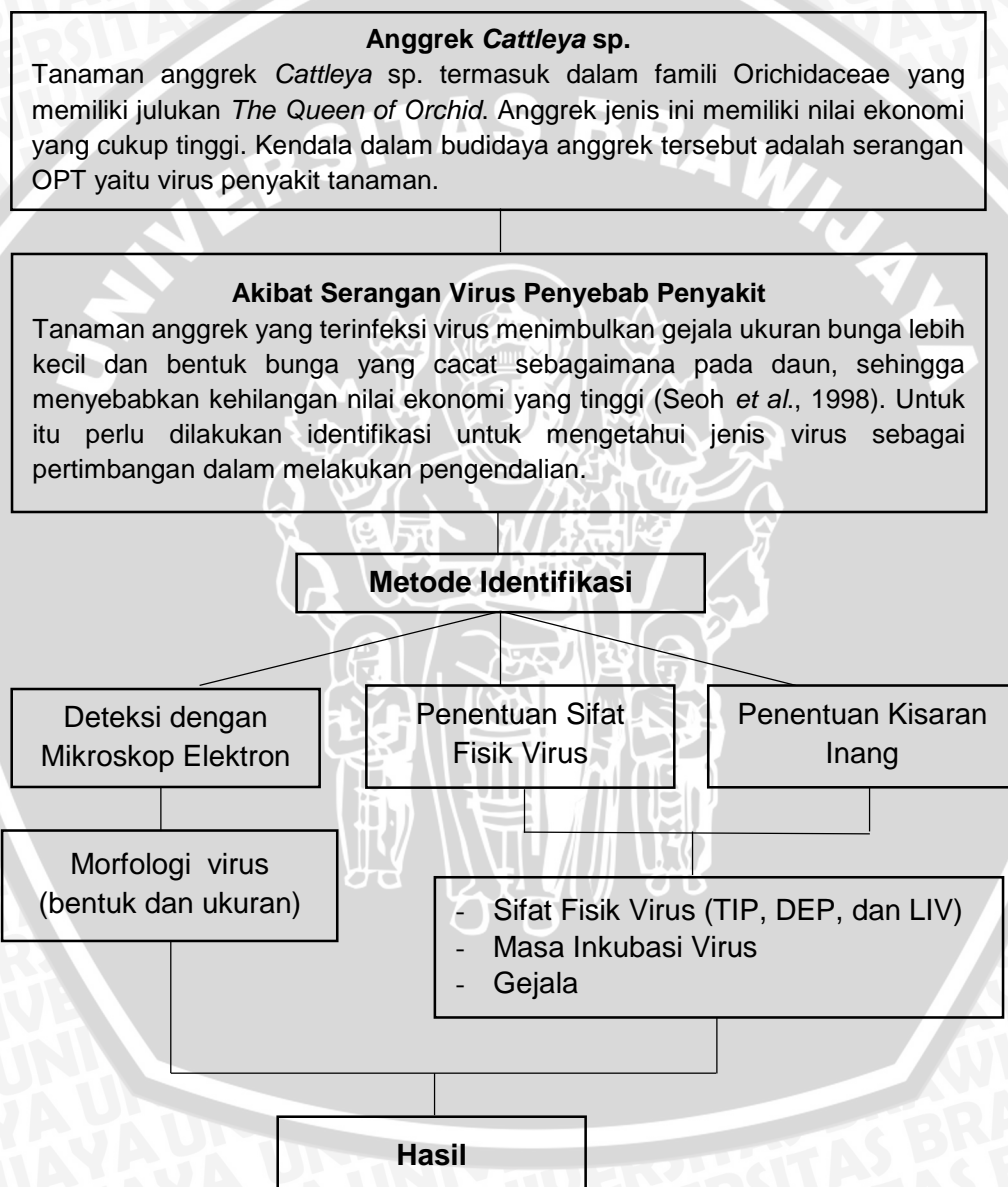
disputter dengan Au atau Pt. Ukuran sample holder yaitu 12 mm atau 25 mm. *Sputtering* merupakan alat yang digunakan untuk sample yang tidak bersifat konduktif, perlu dilakukan pelapisan dg Au (Zulfia, 2014).



III. METODE PENELITIAN

3.1. Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional penelitian bertujuan untuk menjelaskan secara singkat mengenai prosedur-prosedur penelitian yang dilakukan dari tahap awal hingga didapatkan hasil dan kesimpulan. Kerangka operasional penelitian dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Kerangka operasional penelitian

3.2. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di *Green House* yang berlokasi di Ds. Karang Widoro, Kec. Dau, Kab. Malang serta Laboratorium Penyakit, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Juli 2016.

3.3. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *polybag* berukuran 3 kg, mortar, kain kasa, timbangan analitik, gunting/*cutter*, pipet, gelas ukur, mikrotube, tabung reaksi, *water bath*, *centrifuge*, *stirer*, label, dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun tanaman anggrek yang diduga terinfeksi virus, tanaman indikator untuk pengujian sifat fisik virus (*Chenopodium amaranticolor*), tanaman yang digunakan untuk pengujian kisaran inang terdiri dari 9 spesies dari 6 famili tanaman yaitu Orchidaceae (*Dendrobium* sp. dan *Phalaenopsis* sp.), Solanaceae (*Nicotiana tabacum*), Curcubitaceae (*Cucumis sativus* dan *Citrullus vulgaris*), Asteraceae (*Zinnia elegans*), Chenopodiaceae (*Chenopodium amaranticolor* dan *Chenopodium quinoa*), dan Amaranthaceae (*Gomphrena globosa*). Karborundum 600 mesh, alkohol 70%, *aquadest* steril, buffer fosfat 0,01 M pH 7, dan kloroform.

3.4. Metode Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif eksploratif untuk mengetahui jenis virus yang menyerang tanaman anggrek melalui pengujian kisaran inang, pengujian sifat fisik virus, dan morfologi partikel virus. Penelitian eksploratif adalah jenis penelitian yang bertujuan untuk menemukan sesuatu yang baru berupa pengelompokan suatu gejala, fakta dan penyakit tertentu. Penelitian deskriptif eksploratif bertujuan untuk menggambarkan keadaan suatu fenomena, dalam penelitian ini dan tidak dimaksudkan untuk menguji hipotesis tertentu tetapi hanya menggambarkan apa adanya suatu variabel, gejala atau keadaan (Arikunto, 2002).

3.5. Persiapan Penelitian

3.5.1 Sumber Inokulum

Sumber inokulum berasal dari tanaman anggrek jenis *Cattleya* sp. yang menunjukkan gejala terserang virus di Malang (Gambar lampiran 1),

yaitu terdapat garis-garis klorotik dan mosaik pada daun muda serta bercak klorotik sampai nekrosis berwarna coklat kehitaman pada daun.

3.5.2 Perbanyak Inokulum

Tanaman yang digunakan untuk perbanyak inokulum virus sekaligus sebagai tanaman indikator adalah *C. amaranticolor*. Perbanyak inokulum virus, dilakukan dengan inokulasi secara mekanik pada tanaman *C. amaranticolor* yang telah berumur kurang lebih 2 minggu setelah tanam. Inokulasi secara mekanik dilakukan dengan cara melukai daun tanaman *C. amaranticolor* menggunakan karborundum dan selanjutnya dioleskan sap lalu dibilas menggunakan *aquadest*.

3.6. Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Penanaman Tanaman Indikator

Tanaman indikator digunakan untuk identifikasi awal dan pengujian sifat fisik virus. Tanaman indikator yang digunakan adalah tanaman *C. amaranticolor*. Penanaman tanaman indikator dilakukan dengan cara meletakkan benih dalam media tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1 kedalam *polybag* 3 kg.

3.6.2 Pembuatan Cairan Perasan (sap)

Penularan virus dalam penelitian ini menggunakan cara mekanis. Inokulum virus yang akan digunakan terlebih dahulu disiapkan dalam bentuk sap atau cairan perasan. Daun tanaman anggrek *Cattleya* sp. yang menunjukkan gejala serangan virus terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran yang ada pada daun, lalu daun yang telah dicuci disterilkan menggunakan alkohol 70% (termasuk alat, meja, dan tangan) kemudian bagian daun yang bergejala dipisahkan dengan bagian daun yang masih sehat dengan cara dipotong menggunakan gunting/*cutter* dan ditimbang sebanyak 5 gr kemudian diberikan buffer fosfat 0,01 M dengan pH 7 sebanyak 10 ml dan daun ditumbuk menggunakan mortar. Setelah penumbukkan selesai, kemudian disaring menggunakan kain kasa. Hasil saringan yang berupa cairan tersebut adalah sap yang siap digunakan untuk inokulasi.

3.6.3 Inokulasi pada Tanaman Uji

Tanaman yang telah siap untuk diinokulasikan kurang lebih berumur 22 hari setelah tanam. Sap yang telah siap kemudian diinokulasikan secara mekanis pada daun tanaman uji. Tanaman uji yang digunakan adalah tanaman untuk pengujian kisaran inang dan tanaman indikator. Sebelum diinokulasi, permukaan daun tanaman sehat dilukai dengan cara ditaburi bubuk karborundum 600 mesh. Setelah ditaburi bubuk karborundum, sap tanaman yang telah siap kemudian dioleskan secara perlahan dan searah pada permukaan daun. Pengolesan dilakukan dengan hati-hati. Setelah pengolesan selesai kemudian dilakukan pembilasan dengan menggunakan *aquadest* untuk meminimalisir luka mekanis yang terjadi dan berfungsi untuk menurunkan antiviral dalam sap sehingga luka akan cepat sembuh sebelum mengering.

3.6.4 Pengujian Kisaran Inang

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui reaksi tanaman terhadap jenis virus yang belum diketahui. Pengujian kisaran inang dilakukan dengan menginokulasikan virus secara mekanis pada tanaman-tanaman tertentu. Pengujian kisaran inang menggunakan 9 spesies dari 6 famili tanaman yaitu Orchidaceae (*Dendrobium* sp. dan *Phalaenopsis* sp.), Solanaceae (*Nicotiana tabacum*), Cucurbitaceae (*Cucumis sativus* dan *Citrullus vulgaris*), Asteraceae (*Zinnia elegans*), Chenopodiaceae (*Chenopodium amaranticolor* dan *Chenopodium quinoa*), dan Amaranthaceae (*Gomphrena globosa*). Daun tanaman *C. amaranticolor* hasil perbanyakan inokulum yang telah menunjukkan gejala virus kemudian dibuat sap. Sap yang telah siap tersebut dapat langsung diinokulasikan secara mekanis pada daun tanaman yang digunakan sebagai pengujian kisaran inang.

3.6.5 Pengujian Sifat Fisik Virus

a. *Thermal Inactivation Point (TIP)*

TIP digunakan untuk mengetahui ketahanan virus penyebab penyakit melalui pemanasan. Metode yang dilakukan yaitu 2 ml sap yang telah siap dimasukkan ke dalam 9 tabung reaksi. Kemudian, tabung reaksi yang telah berisi sap dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 85°C, 90°C, 95°C,

dan 100°C masing-masing selama 10 menit. Setelah itu tabung reaksi yang telah dipanaskan selama 10 menit tersebut diangkat dan didinginkan dalam air es. Setelah didinginkan, masing-masing sap diinokulasikan pada tanaman indikator *C. amaranticolor* di rumah kaca dengan cara mekanis. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali.

b. Dillution End Point (DEP)

Metode yang digunakan dalam pengujian DEP adalah menggunakan sap yang telah diencerkan. Untuk membuat sap dengan konsentrasi 10^{-1} maka setiap 1 ml sap ditambahkan dengan 9 ml buffer fosfat dan jika membuat konsentrasi 10^{-2} maka 1 ml sap yang berasal dari 10^{-1} diambil menggunakan pipet kemudian ditambahkan dengan 9 ml buffer fosfat dan seperti itu seterusnya hingga 10^{-9} . Setelah diencerkan, sap diinokulasikan secara mekanis pada tanaman indikator *C. amaranticolor*. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

c. Longevity In Vitro (LIV)

LIV digunakan untuk mengetahui ketahanan virus penyakit tanaman terhadap lama penyimpanan dalam suhu kamar. Cara yang dilakukan adalah sap yang telah siap dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml kemudian tabung reaksi yang telah diisi sap ditutup dan disimpan pada suhu kamar (20-24°C). Waktu penyimpanan sap dibagi dalam 7 interval waktu yaitu 1, 7, 14, 21, 30, 45, 50 dan 60 hari. Setelah penyimpanan tersebut maka sap diujikan pada tanaman indikator *C. amaranticolor*. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

3.6.6 Pembuatan sap untuk Identifikasi Menggunakan Mikroskop Elektron

Pembuatan sampel uji ini digunakan untuk mengidentifikasi virus penyebab penyakit tanaman menggunakan mikroskop elektron. Pembuatan sampel uji ini dilakukan dengan cara membuat sap yang berasal dari daun tanaman yang memiliki gejala terserang virus. Bagian daun tanaman yang terinfeksi virus tersebut kemudian ditimbang sebanyak 5 gr dan ditambahkan buffer fosfat 0,01 M pH 7 sebanyak 10 ml. Setelah itu kedua bahan tersebut ditumbuk menggunakan mortar dan disaring menggunakan kain kasa. Hasil saringan tersebut kemudian ditambahkan dengan kloroform dan diaduk

menggunakan stirer kemudian disentrifugasi pada 8000 rpm selama 20 menit. Kemudian supernatan hasil sentrifugasi yang telah terpisah dapat langsung dikumpulkan (Gambar lampiran 2). Supernatan yang telah didapat tersebut siap digunakan sebagai sampel uji untuk diidentifikasi menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM) di Laboratorium Kimia Universitas Gadjah Mada.

3.7. Variabel Pengamatan

3.7.1 Pengamatan Masa Inkubasi Virus

Pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari setelah inokulasi dengan cara mengamati waktu munculnya gejala pertama pada tanaman uji. Pengamatan masa inkubasi ini dilakukan pada uji kisaran inang dan pengamatan sifat fisik virus yang meliputi TIP, DEP, dan LIV.

3.7.2 Pengamatan Gejala dan Variasi Gejala

Gejala dan variasi gejala virus yang ditimbulkan pada tanaman uji diamati setiap hari setelah inokulasi dan dilakukan selama satu bulan. Pengamatan gejala dan variasi gejala ini dilakukan pada uji kisaran inang dan pengamatan sifat fisik virus yang meliputi TIP, DEP, dan LIV.

3.7.3 Pengamatan Sifat Fisik Virus

a. *Thermal Inactivation Point* (TIP)

Pengamatan TIP yang dilakukan meliputi masa inkubasi, gejala, beserta nilai TIP tersebut. Nilai TIP didapatkan dengan cara menghitung jumlah gejala lesio lokal yang muncul pada tiap daun yang diinokulasi serta mengamati setiap perlakuan suhu yang diujikan pada tanaman indikator hingga pada perlakuan suhu tertentu tanaman indikator tidak lagi menunjukkan gejala. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah penularan pada tanaman indikator selama kurang lebih 3 minggu.

b. *Dilution End Point* (DEP)

Pengamatan DEP yang dilakukan meliputi masa inkubasi, gejala, beserta nilai DEP tersebut. Nilai DEP didapatkan dengan cara menghitung jumlah gejala lesio lokal yang muncul pada tiap daun yang diinokulasi serta mengamati setiap perlakuan pengenceran yang diujikan pada tanaman indikator hingga pada pengenceran tertentu tanaman

indikator tidak lagi menunjukkan gejala. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah penularan pada tanaman indikator selama kurang lebih 3 minggu.

c. *Longevity In Vitro* (LIV)

Pengamatan LIV yang dilakukan meliputi masa inkubasi, gejala, beserta nilai LIV tersebut. Nilai LIV didapatkan dengan cara menghitung jumlah gejala lesio lokal yang muncul pada tiap daun yang diinokulasi serta mengamati setiap perlakuan interval waktu penyimpanan yang diujikan pada tanaman indikator hingga pada interval waktu tertentu tanaman indikator tidak lagi menunjukkan gejala. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah penularan pada tanaman indikator selama kurang lebih 3 minggu.

3.7.4 Pengamatan Morfologi Partikel Virus

Pengamatan morfologi partikel virus dilakukan menggunakan TEM di Laboratorium Kimia, Universitas Gadjah Mada. Pengamatan morfologi partikel virus yaitu meliputi bentuk dan ukuran virus. Prosedur pengamatan TEM dilakukan dengan cara mengamati spesimen atau contoh virus yang dilakukan di bawah TEM dengan perbesaran 32.000 kali dan 5000 kali. Untuk mendapatkan hasil yang baik maka spesimen yang tampak segera diabadikan dengan foto. Kontaminasi dengan partikel-partikel lain seperti fraksi-fraksi kloroplas dan ribosom akan menyulitkan pengamatan, karena adanya kesamaan ukuran dengan partikel virus. Pembersihan dapat dilakukan dengan penyaringan cairan perasan terlebih dahulu, yaitu dilakukan dengan kain kasa steril rangkap dua, kemudian disaring kembali dengan saringan halus (mipore filter) dengan diameter lubang 8 μm (Hadiastono, 2012).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Gejala Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Anggrek *Cattleya* sp.

Setiap tanaman memiliki caranya sendiri dalam merespon benda asing yang masuk ke dalam bagian tubuhnya. Hal ini berpengaruh terhadap kenampakan fisik dari suatu tanaman sehingga respon yang dihasilkan dari tiap tanaman berbeda antara satu sama lain.

Pada anggrek *Cattleya* sp. yang diamati menunjukkan gejala penyakit yang diduga diakibatkan oleh virus penyakit tanaman. Gejala yang tampak pada tanaman anggrek *Cattleya* sp. adalah klorotik dan nekrotik yang berwarna cokelat sampai hitam dan hampir menutupi seluruh bagian daun. Gejala ini pada awalnya muncul pada bagian ujung daun dan semakin lama melebar (Gambar 8).

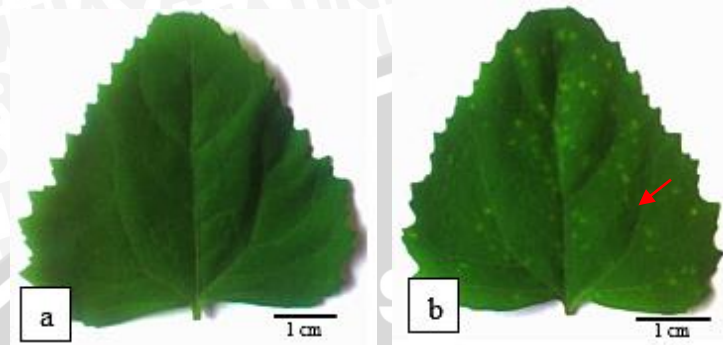


Gambar 8. Gejala penyakit pada daun anggrek *Cattleya* sp. yang diamati

Sebelum disimpulkan bahwa gejala yang tampak pada daun anggrek *Cattleya* sp. tersebut disebabkan oleh virus, maka dilakukan penularan secara mekanis. Penularan dilakukan dengan mengambil sap pada daun tanaman anggrek yang terserang dan kemudian ditularkan pada tanaman indikator *C. amaranticolor*. Tanaman ini dipilih karena pada umumnya relatif lebih rentan sehingga cukup cepat dalam menimbulkan gejala. Menurut Wahyuni (2005) tanaman indikator adalah tanaman yang dapat dengan cepat memberikan gejala dengan jelas. Reaksi tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* diketahui dapat dijadikan sebagai tanaman indikator terhadap ORSV maupun CymMV pada tanaman anggrek (Arditti *et al.*, 2002).

Hasil inokulasi secara mekanis yang telah dilakukan pada tanaman indikator *C. amaranticolor* diketahui bahwa penyakit yang menyerang tanaman anggrek *Cattleya* sp. disebabkan oleh virus. Hal ini dikarenakan tanaman *C. amaranticolor*

menunjukkan gejala lesio lokal dengan masa inkubasi 7 hari (Gambar 9). Menurut Hadiastono (2012) inokulasi pada tanaman yang cukup rentan terhadap virus dapat menunjukkan gejala salah satunya adalah lesio lokal.



Gambar 9. Daun tanaman indikator *C. amaranticolor* a) daun sehat tidak diinokulasi b) daun bergejala lesio lokal setelah diinokulasi (7 hari setelah inokulasi)

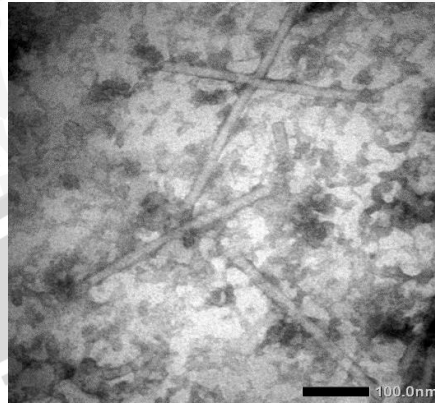
Lesio lokal yang terbentuk pada daun *C. amaranticolor* merupakan tipe gejala lokal, yaitu gejala hanya tampak pada bagian daun yang telah diinokulasi virus. Gejala lesio lokal tersebut ditunjukkan dengan adanya bercak-bercak kecil berwarna kuning pada bagian daun yang diinokulasi. Wahyuni (2005) menyatakan bahwa ukuran lesio yang dihasilkan oleh beberapa tanaman inang penghasil lesio lokal adalah berbeda, dari mulai sekecil tusukan jarum hingga sebesar biji kedelai.

Praktek pengamatan gejala saja pada tanaman indikator tidak cukup digunakan untuk mendiagnosis atau mengidentifikasi penyakit. Hal ini karena beberapa virus memberikan gejala yang sama pada satu jenis inang. Bahkan satu jenis virus dapat memberikan gejala yang berbeda pada satu jenis inang pada musim yang berbeda (Wahyuni, 2005). Oleh sebab itu identifikasi virus hanya dengan menggunakan tanaman indikator tidak dianjurkan. Perlu dilakukannya pengujian virus patogen tanaman lainnya untuk identifikasi seperti halnya pengamatan morfologi partikel virus, pengujian kisaran inang serta pengujian sifat fisik dalam sap.

4.2. Morfologi Partikel Virus

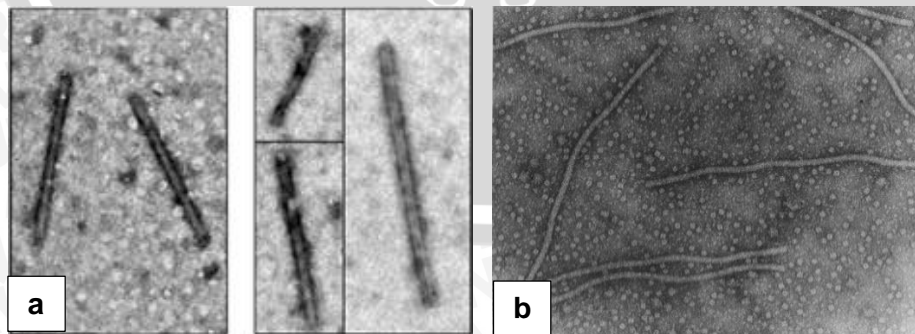
Partikel virus diamati dengan menggunakan TEM. Kenampakan morfologi partikel virus adalah informasi awal yang diperoleh untuk mengetahui jenis dari suatu virus. Hasil foto TEM menunjukkan bahwa virus yang menyerang tanaman

angrek *Cattleya* sp. memiliki partikel virus berbentuk batang kaku dengan panjang sekitar 250-300 x 18 nm (Gambar 10).



Gambar 10. Morfologi partikel virus hasil tangkapan Transmission Electron Microscope (TEM)

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (2006) menjelaskan bahwa ORSV memiliki bentuk batang kaku yang tidak diselubungi oleh *enveloped*, virus ini memiliki panjang kurang lebih 300 nm dan lebar 18 nm. Chun Lin *et al.* (2015) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa partikel ORSV memiliki panjang 300 x 18 nm (Gambar 11). Isnawati (2009) juga menjelaskan bahwa ORSV memiliki partikel berbentuk batang kaku yang berukuran 300 x 18 nm, virus ini merupakan ciri dari kelompok *Tobamovirus*. Sedangkan pada virus CymMV, tidak termasuk dalam kelompok *Tobamovirus* melainkan *Potexvirus* dengan famili *Flexiviridae* (Sherpa *et al.*, 2003). Arditti *et al.*, (2002) mengatakan bahwa CymMV memiliki bentuk partikel batang lentur dengan panjang 480 x 13 nm. Plant Virus Online (2016) juga menjelaskan bahwa CymMV merupakan kelompok *Potexvirus* berbentuk batang lentur (Gambar 11).



Gambar 11. Perbandingan hasil tangkapan TEM berdasarkan literatur a) partikel virus ORSV (Chun Lin *et al.*, 2015) b) partikel virus CymMV (*Plant Virus Online*, 2006)

Hasil tangkapan TEM menunjukkan bahwa virus yang menginfeksi tanaman anggrek *Cattleya* sp. merupakan kelompok dari *Tobamovirus*. Kelompok *Tobamovirus* merupakan kelompok virus yang memiliki stabilitas tinggi dalam sap. Untuk mengetahui virus tersebut adalah kelompok dari *Tobamovirus*, maka perlu dilakukan uji-uji lainnya seperti pengujian kisaran inang dan pengujian sifat fisik virus dalam sap. Pengujian-pengujian selanjutnya diharapkan dapat memperkuat informasi terkait virus yang menyebabkan penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp.

4.3. Pengujian Kisaran Inang

Pengujian kisaran inang bertujuan untuk mengetahui seberapa luas sebaran inang dari virus yang diamati. Penelitian ini menggunakan 9 jenis tanaman dari 6 famili yang berbeda. Setiap tanaman pada pengujian kisaran inang melalui penularan secara mekanis menunjukkan hasil yang bervariasi baik gejala maupun masa inkubasi (Tabel 1). Masing-masing tanaman inang memiliki masa inkubasi yang berbeda yaitu 6 hingga 20 hari. Tanaman *C. quinoa*, *N. tabacum*, dan *G. globosa* menunjukkan masa inkubasi tercepat yakni 6 hari. Sedangkan spesies tanaman dari famili *Orchidaceae* menunjukkan masa inkubasi terlama yakni 11 hingga 20 hari.

Tabel 1. Hasil uji kisaran inang melalui penularan secara mekanis

Tanaman Uji	Reaksi Tanaman	Gejala	Masa Inkubasi
Chenopodiaceae			
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+	LL	7 hari
<i>Chenopodium quinoa</i>	+	LL	6 hari
Solanaceae			
<i>Nicotiana tabacum</i>	+	KL,LL	6 hari
Amaranthaceae			
<i>Gomphrena globosa</i>	+	NK,LL	6 hari
Asteraceae			
<i>Zinnia elegans</i>	+	KL	9 hari
Curcubitaceae			
<i>Cucumis sativus</i>	-	-	-
<i>Citrulus vulgaris</i>	-	-	-
Orchidaceae			
<i>Phalaenopsis</i> sp.	+	NK	11 hari
<i>Dendrobium</i> sp.	+	KL	20 hari

Keterangan : (LL) = lesio lokal, (KL) = klorotik, (NK) = Nekrotik, (-) = tidak bergejala.

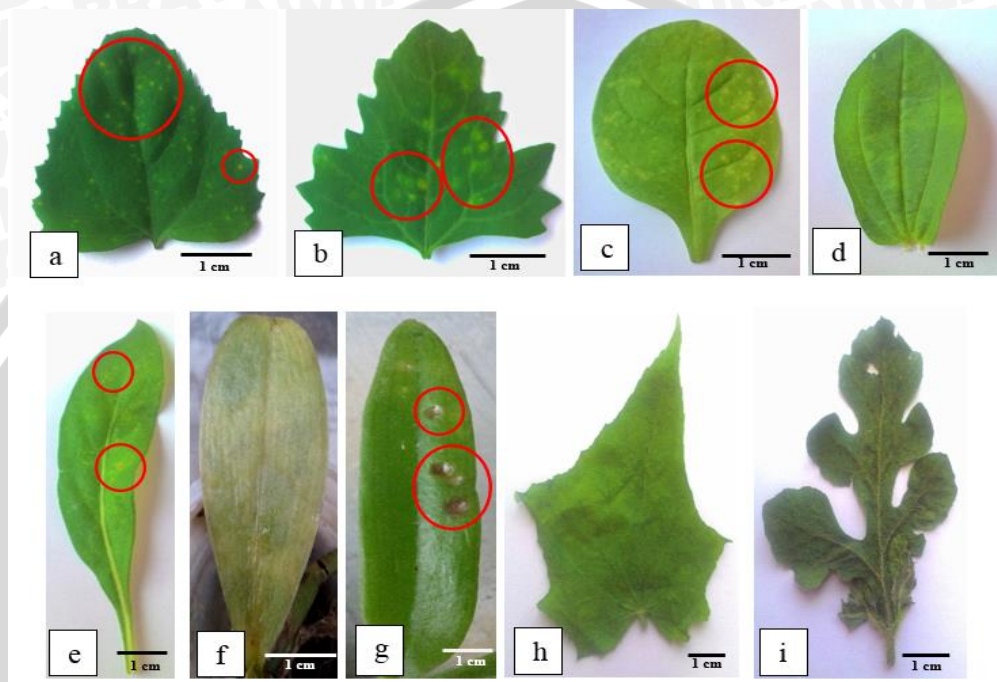
Tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* menunjukkan gejala yang sama yaitu lesio lokal. Gejala lesio lokal yang tampak ditandai dengan munculnya lingkaran kecil berwarna kuning kecokelatan dan semakin lama lingkaran tersebut akan melebar dan menyebabkan daun tanaman menjadi klorosis dan akhirnya layu (Gambar 12). Hal ini disebabkan tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* merupakan salah satu inang dari penyakit yang diduga virus. Dari hasil penelitian Menisa (2009) menyatakan bahwa *C. amaranticolor* merupakan salah satu inang dari CymMV dengan gejala lesio lokal yang ditandai dengan bercak berwarna hijau dan semakin lama bercak tersebut berubah warna menjadi hijau kekuningan dengan masa inkubasi 16 hari. Isnawati (2009) juga menyatakan bahwa *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* merupakan inang dari ORSV dengan gejala lesio lokal nekrotik berwarna cokelat pada permukaan daun dengan masa inkubasi berkisar antara 3-6 hari.

Gejala penyakit yang disebabkan oleh virus juga ditunjukkan oleh tanaman *N. tabacum*, *G. globosa*, dan *Z. elegans*. Ketiga tanaman tersebut menunjukkan gejala yang berbeda pada daun yang telah diinokulasi. *N. tabacum* dan *G. globosa* menunjukkan gejala yang sama dengan *C. amaranticolor* dan *C. quinoa* yaitu lesio lokal berupa bercak-bercak berwarna kuning (Gambar 12). Menurut Odoux dan Grisoni (2011) *N. tabacum* adalah inang dari ORSV dan bukan inang dari CymMV. Gejala yang ditimbulkan akibat serangan ORSV pada tanaman *N. tabacum* adalah klorotik lesio lokal (Arditti *et al.*, 2002). Gejala klorosis pada daun juga ditunjukkan tanaman *Z. elegans* (Gambar 12). Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa tanaman *N. tabacum*, *G. globosa* dan *Z. elegans* merupakan inang dari virus yang diamati tersebut.

Famili Curcubitaceae yakni *C. sativus* dan *C. vulgaris* tidak menunjukkan gejala baik pada daun muda maupun daun yang telah diinokulasi (Gambar 12). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman *C. sativus* dan *C. vulgaris* bukan inang dari virus tersebut. Menurut Arditti *et al.*, (2002) *C. sativus* tidak termasuk salah satu inang dari ORSV, akan tetapi tanaman ini rentan terhadap serangan virus CymMV.

Famili Orchidaceae yaitu *Dendrobium* sp. dan *Phalaenopsis* sp., keduanya menunjukkan gejala terserang virus. Anggrek *Phalaenopsis* sp. gejala menunjukkan nekrotik berbentuk lingkaran-lingkaran kecil berwarna cokelat kehitaman yang cekung dan semakin lama menyebabkan daun berubah warna menjadi kuning. Gejala yang muncul pada anggrek *Dendrobium* sp. adalah

klorosis kemudian diikuti dengan lingkaran berwarna kuning kecokelatan (Gambar 12). Gejala yang ditunjukkan pada anggrek *Phalaenopsis* sp. dan *Dendrobium* sp. sesuai dengan pernyataan Syahierah (2010) yaitu anggrek *Phalaenopsis* sp. yang terinfeksi ORSV menunjukkan gejala klorosis disertai cekungan bulat, sedangkan pada *Dendrobium* sp. menunjukkan gejala klorosis dan nekrotik.



Gambar 12. Gejala infeksi virus pada berbagai tanaman inang setelah diinokulasi. a) *C. amaranticolor* (lesio lokal), b) *C. quinoa* (lesio lokal), c) *N. tabacum* (klorotik), d) *Z. elegans* (klorosis), e) *G. globosa* (nekrotik lesio lokal), f) Anggrek *Dendrobium* sp. (klorosis), g) Anggrek *Phalaenopsis* sp. (nekrotik), h) *C. sativus* (tidak bergejala), i) *C. vulgaris* (tidak bergejala)

Hasil pengujian kisaran inang yang dilakukan menunjukkan bahwa virus yang menginfeksi tanaman anggrek *Cattleya* sp. dapat menginfeksi tanaman dari family Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Solanaceae, dan Orchidaceae. Hal ini diperkuat dengan pernyataan ICTV (2006) bahwa ORSV dapat menginfeksi 8 famili tanaman diantaranya adalah Amaranthaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Compositae, Leguminosae-Caesalpinioideae, Orchidaceae, Solanaceae, dan Tetragoniaceae. Hasil pengujian kisaran inang menunjukkan bahwa virus yang menyerang tanaman anggrek *Cattleya* sp. diduga adalah ORSV. Identifikasi dengan menggunakan pengujian sifat fisik virus

dalam sap yang dilakukan selanjutnya diharapkan dapat memperkuat informasi yang telah ada sebelumnya.

4.4. Pengujian Sifat Fisik Virus

4.3.1 *Thermal Inactivation Point* (TIP)

Pengujian TIP digunakan untuk mengetahui ketahanan suatu virus ketika dipanaskan. Pengujian sifat fisik virus, digunakan tanaman indikator *C. amaranticolor* sebagai tanaman uji. Pada pengujian TIP menunjukkan masa inkubasi yang bervariasi pada tiap suhu pemanasan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil pengujian *Thermal Inactivation Point* (TIP) pada tanaman uji *C. amaranticolor*

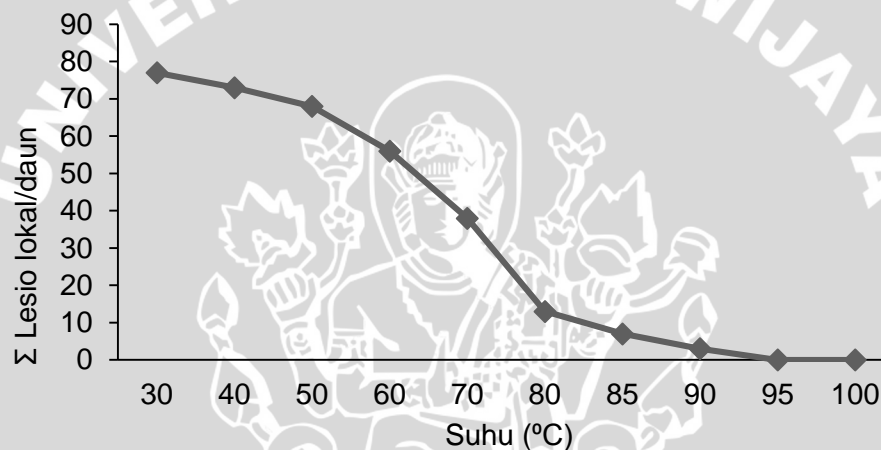
Pemanasan (°C)	Masa inkubasi	Gejala
30	7 hari	Lesio lokal
40	7 hari	Lesio lokal
50	8 hari	Lesio lokal
60	8 hari	Lesio lokal
70	8 hari	Lesio lokal
80	9 hari	Lesio lokal
85	9 hari	Lesio lokal
90	10 hari	Lesio lokal
95	-	-
100	-	-

Keterangan : (-) = tidak bergejala

Pada pemanasan 30°C hingga 40°C virus dapat menginfeksi daun tanaman *C. amaranticolor* dengan masa inkubasi 7 hari dan menunjukkan gejala lesio lokal. Pemanasan 50°C hingga 70°C virus masih bisa menginfeksi daun tanaman uji dengan masa inkubasi 8 hari. Pada pemanasan 80°C sampai 85°C gejala mulai tampak pada 9 hari setelah inokulasi, kemudian pada pemanasan 90°C gejala mulai muncul setelah 10 hari inokulasi. Akan tetapi gejala tidak muncul lagi pada pemanasan 95°C dan 100°C setelah kurang lebih 21 hari setelah inokulasi (hsi).

Pengujian sifat fisik virus untuk TIP, gejala lesio lokal yang muncul pada daun dihitung untuk mengetahui infektivitas virus tersebut. Setiap perlakuan suhu atau pemanasan memiliki jumlah lesio lokal yang berbeda. Perlakuan suhu paling rendah yaitu 30°C, rata-rata jumlah lesio lokal yang muncul adalah 77 lesio lokal per daun. Sedangkan pada perlakuan suhu

90°C, memiliki rata-rata jumlah lesio lokal yang paling sedikit yaitu 3 lesio lokal per daun. Gejala lesio lokal tidak muncul pada perlakuan suhu 95°C dan 100°C. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan pemanasan 95°C virus tidak dapat lagi menginfeksi. Berdasarkan hal tersebut maka titik batas suhu inaktivasi virus dalam sap yang diamati adalah 95°C (Gambar 13). Masing-masing virus memiliki kriteria sifat fisik virus dalam sap. Arditti *et al.* (2002) menjelaskan bahwa *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV) memiliki nilai *Thermal Inactivation Point* (TIP) berkisar antara 90°C sampai 95°C. Pada *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV) memiliki nilai TIP berkisar antara 60°C hingga 80°C.



Gambar 13. Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan *Thermal Inactivation Point* (TIP)

Windayati (2007) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan pada pengujian TIP maka jumlah lesio lokal yang muncul akan semakin sedikit atau bahkan tidak muncul. Perbedaan suhu yang digunakan khususnya suhu yang tinggi, secara tidak langsung dapat menghambat virus dalam tubuh tanaman sehingga menyebabkan beberapa virus tidak menunjukkan gejala. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Adisarwanto *et al.* (1989) yaitu kemampuan virus untuk menginfeksi dalam sap dapat melemah apabila suhu yang digunakan dalam pemanasan tersebut tinggi, hal ini berlaku juga sebaliknya. Nilai TIP yang tinggi dari virus yang diamati, dapat diindikasikan bahwa virus tersebut adalah kelompok dari *Tobamovirus*. Stabilitas virus dalam sap yang tinggi yang dimiliki oleh *Tobamovirus* dapat mengakibatkan virus bertahan hingga pada pemanasan yang tinggi. *Tobamovirus* sendiri memiliki nilai TIP lebih dari 90°C seperti halnya pada

Tobacco Mosaic Virus (TMV) yang juga termasuk dalam kelompok *Tobamovirus* (Wahyuni, 2005). Hasil pengujian TIP yang dilakukan menunjukkan bahwa virus yang menginfeksi tanaman anggrek *Cattleya* sp. adalah *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV).

4.3.2 *Dillution End Point* (DEP)

Pengujian DEP adalah salah satu metode dari pengujian sifat fisik virus. Pengujian ini digunakan untuk mengetahui ketahanan virus dalam sap ketika dilakukan pengenceran. Tanaman uji yang digunakan adalah *C. amaranticolor*. Perbedaan pengenceran dalam sap dapat mempengaruhi muncul tidaknya gejala lesio lokal pada tanaman uji (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengujian *Dillution End Point* (DEP) pada tanaman uji *C. amaranticolor*

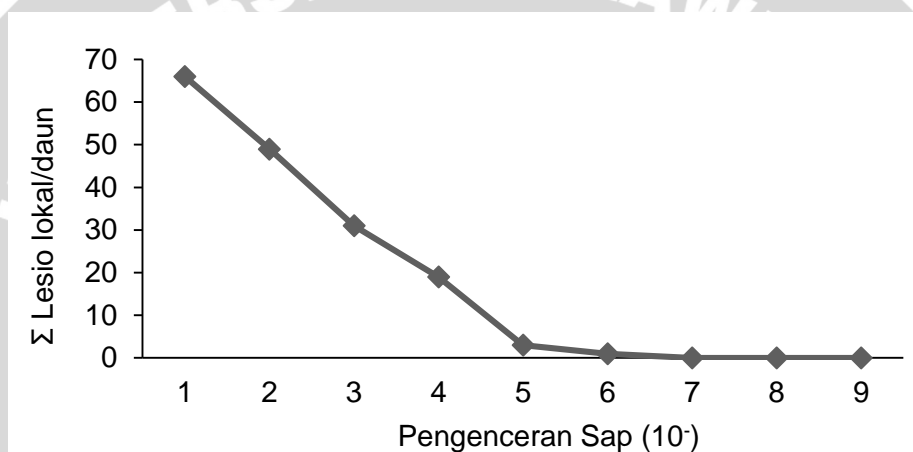
Pengenceran sap	Masa inkubasi	Gejala
10 ⁻¹	7 hari	Lesio lokal
10 ⁻²	7 hari	Lesio lokal
10 ⁻³	7 hari	Lesio lokal
10 ⁻⁴	7 hari	Lesio lokal
10 ⁻⁵	8 hari	Lesio lokal
10 ⁻⁶	9 hari	Lesio lokal
10 ⁻⁷	-	-
10 ⁻⁸	-	-
10 ⁻⁹	-	-

Keterangan : (-) = tidak bergejala

Hasil pengujian DEP diketahui bahwa virus dalam sap dapat menginfeksi daun tanaman *C. amaranticolor* pada pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁴ dengan masa inkubasi 7 hari. Pada pengenceran 10⁻⁵ gejala lesio lokal mulai muncul pada 8 hsi kemudian diikuti dengan pengenceran 10⁻⁶ dengan masa inkubasi 9 hsi. Pada pengenceran 10⁻⁷ hingga 10⁻⁹ gejala lesio lokal tidak muncul setelah kurang lebih 21 hsi. Hal ini terjadi karena konsentrasi virus dalam sap yang telah dilakukan pengenceran berulang kali semakin lama semakin sedikit.

Sama seperti pengujian TIP, pada pengujian DEP dilakukan perhitungan gejala lesio lokal yang muncul pada tanaman uji, dengan demikian akan diketahui virus tersebut infeksi atau tidak pada tiap pengencerannya. Pada pengenceran 10⁻¹ rata-rata jumlah gejala lesio lokal

yang muncul adalah 66 lesio lokal per daun. Kemudian seiring dengan semakin banyaknya pengenceran yang dilakukan, jumlah lesio lokal pun semakin menurun tiap daunnya (Gambar 14). Pada pengenceran 10^{-6} jumlah lesio lokalnya adalah yang paling sedikit yaitu 1 lesio lokal per daun. Pada pengenceran 10^{-7} gejala lesio lokal tidak lagi muncul, hal ini berarti titik batas pengenceran pada virus yang diamati adalah 10^{-7} . Arditti *et al.* (2002) mengatakan bahwa ORSV dan CymMV memiliki nilai *Dilution End Point* (DEP) yang sama yaitu berkisar antara 10^{-6} hingga 10^{-7} . (Wahyuni, 2005) mengatakan bahwa kebanyakan virus memiliki nilai DEP antara 10^{-3} sampai 10^{-7} .



Gambar 14. Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan *Dilution End Point* (DEP)

Konsentrasi virus dalam sap yang semakin sedikit dapat membuat kemampuan virus dalam menginfeksi semakin rendah sehingga virus tidak lagi infeksi (Windayati, 2007). Semakin sering dilakukannya pengenceran sap pada pengujian DEP maka akan semakin rendah kemampuan virus tersebut dalam menginfeksi dan berlaku pula sebaliknya. Wahyuni (2005) menjelaskan bahwa ketika 1 lesio lokal yang terbentuk terdapat satu atau lebih partikel virus, maka dapat diasumsikan bahwa jumlah lesio lokal yang muncul akan semakin sedikit apabila seri pengenceran sap yang dibuat juga semakin rendah.

Nilai DEP yang dimiliki virus ORSV dan CymMV adalah sama. Dengan demikian belum dapat dipastikan bahwa virus yang menginfeksi tanaman anggrek *Cattleya* sp. adalah benar ORSV. Metode pengujian sifat virus dalam sap yang selanjutnya adalah LIV. Metode terakhir yang dilakukan

tersebut diharapkan dapat memperkuat informasi mengenai virus penyebab penyakit pada tanaman anggrek *Cattleya* sp.

4.3.3 Longevity In Vitro (LIV)

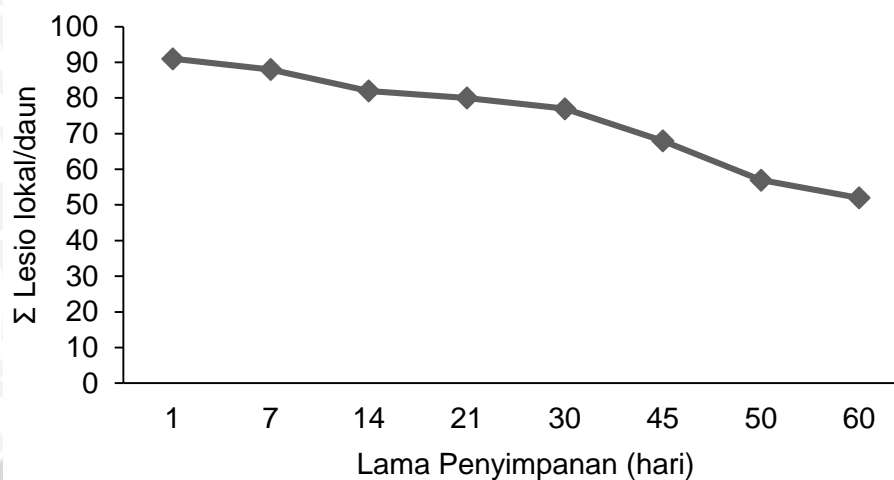
LIV adalah pengujian sifat fisik virus yang terakhir dari ketiga metode sebelumnya. Metode ini dilakukan untuk mengetahui ketahanan virus dalam sap terhadap lama penyimpanan di suhu ruang. Tanaman uji yang digunakan masih tetap sama yaitu *C. amaranticolor* (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil pengujian *Longevity In Vitro* (LIV) pada tanaman uji *C. amaranticolor*

Lama penyimpanan	Masa inkubasi	Gejala
1 hari	7 hari	Lesio lokal
7 hari	7 hari	Lesio lokal
14 hari	7 hari	Lesio lokal
21 hari	7 hari	Lesio lokal
30 hari	8 hari	Lesio lokal
45 hari	8 hari	Lesio lokal
50 hari	9 hari	Lesio lokal
60 hari	9 hari	Lesio lokal

Hasil pengamatan LIV menunjukkan bahwa lama penyimpanan virus dalam sap pada suhu ruang yang dilakukan pada 1 hari penyimpanan hingga 60 hari penyimpanan menunjukkan bahwa virus masih dapat menginfeksi tanaman uji *C. amaranticolor* dengan gejala lesio lokal. Virus yang diamati juga memiliki masa inkubasi yang bervariasi pada setiap perlakuan suhunya. Virus ini juga menginfeksi semua jumlah tanaman uji dari tiap-tiap perlakuan yang dilakukan.

Pada LIV juga dilakukan perhitungan terhadap jumlah gejala lesio lokal pada tiap daun yang menunjukkan gejala tersebut. Dari hasil perhitungan gejala lesio lokal tiap daunnya, diketahui bahwa lama penyimpanan sap pada suhu ruang menunjukkan penurunan rata-rata jumlah lesio lokal tiap daunnya, meskipun tidak menyebabkan tanaman uji kehilangan infektivitasnya (Gambar 15). Pada lama penyimpanan satu hari menunjukkan rata-rata jumlah lesio lokal paling banyak yaitu 91 lesio lokal per daun. Pada penyimpanan 60 hari menunjukkan rata-rata jumlah lesio lokal paling sedikit yaitu 52 lesio lokal per daun.



Gambar 15. Rata-rata jumlah lesio lokal yang dihasilkan tiap daun pada pengamatan *Longevity In Vitro* (LIV)

Adisarwanto (1989) menjelaskan bahwa keinfektifan virus dipengaruhi oleh lama penyimpanan, virus yang disimpan dalam jangka waktu cukup lama akan menyebabkan kemampuan menginfeksi virus tersebut berkurang dan akan berlaku juga sebaliknya. Tidak infektifnya virus dalam menimbulkan gejala meskipun telah disimpan selama 60 hari, menunjukkan bahwa nilai LIV dari virus yang diamati adalah lebih dari 60 hari penyimpanan. Plant Viruses Online (2016) menyatakan bahwa virus CymMV memiliki nilai LIV 25 hari penyimpanan, sedangkan menurut Arditti *et al.* (2002) ORSV memiliki nilai LIV yang cukup lama yaitu kurang dari 10 tahun penyimpanan. Virus menunjukkan bahwa meskipun telah disimpan pada 60 hari dan masih dapat menginfeksi diketahui bahwa virus tersebut memiliki stabilitas yang tinggi. Virus yang diketahui dapat bertahan pada beberapa hari bahkan bulan dalam sap yang disimpan pada suhu ruang adalah TMV, akan tetapi virus lain misalnya *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) hanya dapat bertahan satu hari pada suhu ruang (Wahyuni, 2005). TMV adalah salah satu virus yang termasuk kedalam kelompok *Tobamovirus*. Ini menunjukkan bahwa virus yang menyerang tanaman anggrek *Cattleya* sp. adalah kelompok dari *Tobamovirus* dan ORSV adalah salah satu virus yang termasuk dalam kelompok tersebut.

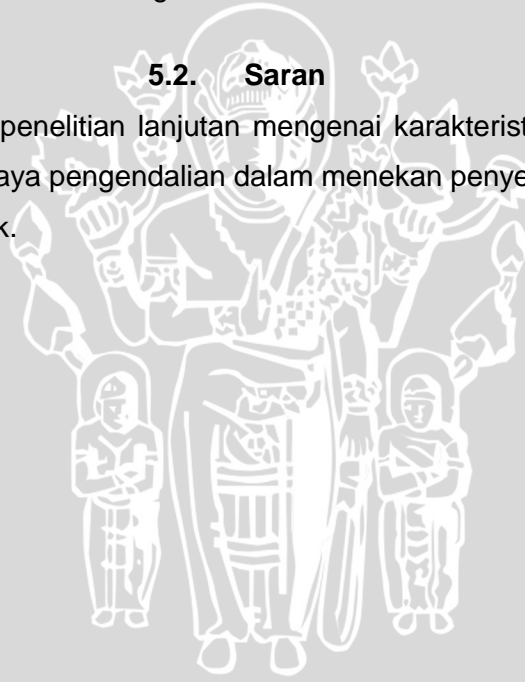
V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Beberapa hasil pengujian sifat fisik virus diketahui bahwa virus yang menyerang tanaman anggrek *Cattleya* sp. adalah *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV). Tanaman anggrek *Cattleya* sp. yang terserang ORSV menunjukkan gejala klorosis beserta nekrosis berwarna coklat kehitaman yang hampir menutupi seluruh bagian daun. Pada pengujian kisaran inang hasilnya menunjukkan bahwa ORSV dapat menginfeksi *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *N. tabacum*, *G. globosa*, *Z. ellegans*, *Dendrobium* sp., dan *Phalaenopsis* sp. Pengujian kisaran inang juga menunjukkan bahwa ORSV tidak dapat menginfeksi *C. sativus* dan *C. vulgaris*. Hasil pengamatan partikel virus diketahui bahwa partikel ORSV memiliki bentuk batang kaku dengan ukuran kurang lebih 300 x 18 nm.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakteristik molekuler yang lebih lengkap serta upaya pengendalian dalam menekan penyebaran virus ORSV pada tanaman anggrek.



DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T., A. Kasno, dan N. Saleh. 1989. Identifikasi Virus Mosaik Pada Tanaman Jagung di Indonesia. Risalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Balai Penelitian Tanaman Pangan Malang.
- Agrios, G. N. 2004. Plant Pathology: Fifth Edition. Academic Press. Florida.
- Ajjikutira, P. A., C.L. Lim Ho, M. H. Woon, K. H. Ryu, C. A. Chang, C. S. Loh, S. M. Wong. 2002. Genetic Variability in The Coat Protein Genes Of Two Orchid Viruses: *Cymbidium Mosaic Virus* and *Odontoglossum Ringspot Virus*. *J. Arch Virology* 147: 1943-1954.
- Akin, H. M. 2006. Virologi Tumbuhan. Kanisius. Yogyakarta.
- Andri, K. B., J. F. Willem, dan A. Tumbuan. 2015. Potensi Pengembangan Agribisnis Bunga Anggrek di Kota Batu Jawa Timur. *Jurnal LPPM Bidang EkoSosBudKum* 2: 19-30.
- Arditti, J., T. Kull, dan S. M. Wong. 2002. Orchid Biology: Reviews and Perspective VIII. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht, Belanda.
- Arikunto, S. 2002. Prosedur Suatu Penelitian: Pendekatan Praktek. Edisi Revisi Kelima. Rineka Cipta. Jakarta.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2005. Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Bottom, S. 2012. Virus in *Cattleya* Orchid - CymMV and ORSV (Online). <http://www.staugorchidsociety.org>. Diakses pada 22 Januari 2016.
- Choliq, F. 2013. Characterization of a Rigid Rod-Shape Virus Isolated From Fragipani (*Plumeria sp.*) Showing Mosaic Symptom in Taiwan. Thesis. National Pingtung University of Science and Technology (NPUST). Taiwan.
- Chun Lin, P., C. H. Wen, C. L. Shu, L. C. Ying, Y. L. Chi, R. C. Yet, D. L. Li Yu, Y. C. Po, S. L. Shih, C. C. Ya. 2015. Application of an Integrated Omics Approach for Identifying Host Proteins that Interact with *Odontoglossum Ringspot Virus* Capsid Protein. *J. Molecular Plant-Microbe Interaction* 88 (6): 711-726.
- Darmono, D. 2003. Menghasilkan Anggrek Silangan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ginting, Y. 2012. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Wortel dan Air Kelapa terhadap Pertumbuhan Tunas Anggrek *Cattleya* 'Blc. Mount Mary' Secara In Vitro pada Media Dasar Pupuk Lengkap. Skripsi. Univ. Padjadjaran.

- Grisoni, M., F. Davidson, C. Hyrondelle, K. Farreyrol, M. L. Caruana, M. Pearson. 2004. Nature, Incidence, and Symptomatology of Viruses Infecting Vanilla tahitensis in French Polynesia. J. Plant Dis 88: 199-124.
- Hadiastono, T. 2012. Virologi Tumbuhan Dasar. Universitas Brawijaya. Malang
- Inouye, N. dan I. W. Gara. 1996. Detection and Identification Virus Of Orchid In Indonesia. Bull, Res, Inst. Bioresour Okayama Univ 4: 109-118.
- International Commitee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2006. *Odontoglossum Ringspot Virus* (Online). <http://www.ICTVdb/VirusDescription//>. Diakses pada 6 Januari 2016.
- Isnawati, L. 2009. Deteksi dan Identifikasi *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV) pada Tanaman Anggrek. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Iswanto, H. 2010. Petunjuk Praktis Merawat Anggrek. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Lakani, I. 2012. Identifikasi dan Karakterisasi Beberapa Virus yang Menginfeksi Tanaman Anggrek di Jawa serta Induksi Ketahanan Sistemik Tanaman Anggrek dengan Asam Salisilat. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Lee, C. S. dan C. Y. Chang. 2006. Multiple RT-PCR Detection of Orchid Viruses with An Internal Control of Plant nad5 mRNA. Plant Pathology 15: 187-196.
- Matthews, R. 1992. Plant Fundamental of Plant Virology. Academic Press Inc. California.
- McMillan, Jr. R. T., W. A. Vendrame. 2005. Color Break in Orchid Flower . Proc. Fla State Horticulture 118: 287-288.
- Menisa, F. 2009. Deteksi dan Identifikasi *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV) Pada Tanaman Anggrek. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Muharam, A., Y. Sulyo, I. B. Rahardjo, E. Diningsih, dan Suryanah. 2013. Penyebaran *Tobacco Mosaic Virus Strain Orchid* dan *Cymbidium Mosaic Virus* dengan Metode DAS ELISA pada Tanaman Anggrek Komersil di Pulau Jawa dan Bali serta Teknologi Pembebasannya. J. Hortikultura 23: 56-64.
- Navalienskie, M. J. Raugalas, dan M. Samuitie. 2005. Viral Diseases Of Flower Plants : Identification of Viruses Affecting Orchid (*Cymbidium Sw*). Biologija 2: 29-34.

- Nurhayati. 2012. Virus Penyebab Penyakit Tanaman. Unsri Pers. Palembang.
- Odoux, E. dan M. Grisoni. 2011. Vanilla: Medicinal & Aromatic Plants-Industrial Profile. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Plant Viruses Online. 2016. *Cymbidium Mosaic Potexvirus* (Online). <http://sdb.im.ac.cn/vide/descr274.htm>. Diakses pada 11 Februari 2016.
- Priatni, D., M. Alifuddin, dan D. Djokosetiyanto. 2006. Pengaruh Pemanasan pada Temperatur Berbeda Selama 30 Menit terhadap Patogenisitas *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.). J. Akuakultur Indonesia 5 (1): 5-12.
- Reimer, E. 2007. *Cattleya-orchid (Cattleya sp.)* (Online). http://ereimer.net/20070323/10422_erCB720.htm. Diakses pada 18 Januari 2016.
- Sarwono, B. 2002. Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida. Agromedia Pustaka. Depok.
- Seoh, M. L., S. M Wong dan L. Zhang. 1998. Simultaneous TD/RT-PCR Detection of *Cymbidium Mosaic Potexvirus* and *Odontoglossum Ringspot Tobamovirus* with a Single Pair of Primers. J. Virology Methods 72: 197-204.
- Sherpa, A. R., Hallan, V., Ram, R., Vij, S. P., Pathak, P., Garg, I. D., Zaidi, A. A. 2003. The first report of *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) in Orchids from India (Online). BSPP Web, New Disease Reports. <http://www.ndrs.org.uk/article.php?id=007010>. Diakses pada 14 Agustus 2016.
- Syahierah, P. 2010. Respon Berbagai Jenis Anggrek (Orchidaceae) terhadap Infeksi *Cymbidium Mosaic Virus* (CymMV) dan *Odontoglossum Ringspot Virus* (ORSV). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- United States Department Of Agriculture (USDA) Plant. 2016. *Classification for Kingdom Plantae Down to Family Orchidaceae* (Online). <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet>. Diakses pada 18 Januari 2016.
- Wahyuni, W. S. 2005. Dasar-Dasar Virologi Tumbuhan. UGM Press. Yogyakarta.
- Widiastoety, D. 2005. Agar Anggrek Rajin Berbunga. Penebar Swadaya. Jakarta.

Windayati, T. 2007. Identifikasi Virus Mosaik pada Tanaman Jagung di Sragen Jawa Tengah (Reaksi Inang dan Sifat Fisik Virus). Skripsi. Universitas Brawijaya.

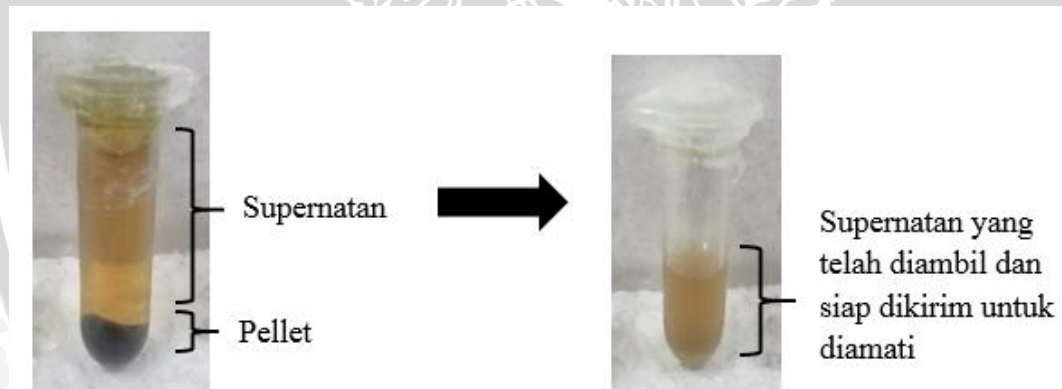
Zulfia, A. 2014. Material Elektan Mikroskop (Online). <http://staff.ui.ac.id/system/files/users/anne.zulfia/material/electronmikroskop>. Diakses pada 17 September 2016.



LAMPIRAN



Gambar Lampiran 1. Lokasi pengambilan sumber inokulum virus untuk identifikasi.



Gambar Lampiran 2. Sap yang digunakan untuk identifikasi virus menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM)

Tabel Lampiran 1. Jumlah tanaman terinfeksi pada pengujian kisaran inang

No.	Tanaman	Masa Inkubasi	TR / TK
1.	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	7 hari	3/3
2.	<i>Chenopodium quinoa</i>	6 hari	3/3
3.	<i>Nicotiana tabacum</i>	6 hari	3/3
4.	<i>Gopmhrena globosa</i>	6 hari	3/3
5.	<i>Zinnia elegans</i>	9 hari	2/3
6.	<i>Cucumis sativus</i>	-	0/3
7.	<i>Citrus vulgaris</i>	-	0/3
8.	<i>Phalaenopsis</i> sp.	11 hari	3/3
9.	<i>Dendrobium</i> sp.	20 hari	2/3

Keterangan: (TR) = jumlah tanaman terinfeksi, (TK) = jumlah tanaman yang diinokulasi

