

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Mentimun

Tanaman mentimun masih memiliki kekerabatan dengan tanaman pare (*Cucumis anguria* L.), tanaman melon (*Cucumis melo* L.), tanaman zucchini (*Cucumis hardwickii* L.), tanaman oyong (*Cucumis longifes* L.). Pada klasifikasi botani tanaman timun, tanaman ini termasuk ke dalam kerajaan plantae, divisi spermatophyta (tumbuhan berbiji), subdivisi angiospermae (berbiji tertutup), kelas dicotylodena (biji berkeping dua), ordo cucubitales, family cucurbitaceae, genus cucumis dan spesies *Cucumis sativus* L (Sumpena, 2001).

Tanaman mentimun merupakan tanaman semusim yang menjalar dengan sulur. Sulur yang dimiliki setiap tanaman ini biasanya tumbuh pada bagian dari sisi tangkainya sedangkan, bentuk dari batangnya berbuku-buku. Tanaman ini biasanya memiliki panjang mencapai kisaran 50-250 cm (Rukmana, 1994). Tanaman mentimun mempunyai daun yang tunggal, tangkai yang dimiliki panjang, saat tumbuh daun baru letaknya berseling di sekitar ruas batang dengan warna daun yang hijau. Ciri-ciri dari daun mentimun yaitu berbentuk bulat dan lebar, pada bagian ujung daun meruncing. Mentimun memiliki perakaran tunggang disertai dengan rambut-rambut akar pada kedalaman perakaran sekitar 30-60 cm. (Sunarjono, 2005). Buah mentimun yang masih berusia muda biasanya memiliki warna-warna yang berbeda tergantung dari varietasnya. Warna-warna buah pada tanaman timun antara lain warna hijau, hijau gelap, hijau muda ataupun hijau muda yang memiliki corak warna keputihan (Cahyono, 2005).

Tanaman Mentimun memiliki tingkat adaptasi dan pertumbuhan yang cukup baik pada hamper di segala jenis tanah. Tingkat keasaman yang baik untuk mentimun diantara pH 5.5-6.5. Tanaman ini membutuhkan cukup banyak air terutama pada saat telah berbunga akan tetapi, bukan berarti timun suka pada kondisi yang tergenang air. Suhu yang ideal untuk tanaman mentimun adalah pada kisaran 18-30°C. Sedangkan, suhu yang baik untuk mentimun melakukan perkecambahan benih adalah kisaran 25-35°C (Sumpena, 2001).



Gambar 1. Tanaman Mentimun (dokumentasi pribadi).

2.2 Cucumber Mosaic Virus (CMV)

Cucumber mosaic virus (CMV) tergolong ke dalam genus *Cucumovirus* dan masuk ke dalam keluarga dari *Bromoviridae* (Palukaitis *et al.*, 1992). CMV adalah virus yang memiliki kisaran inang yang luas yaitu lebih dari 1300 spesies tanaman dapat terserang oleh virus ini. Penyebaran dari CMV dapat diakibatkan dari 80 spesies aphid yang memiliki sifat non presisten (Palukaitis *et al.*, 1992). Beberapa tanaman sayur-sayuran yang dapat diinfeksi oleh virus mosaik ini salah satunya adalah timun, gladioli, melon, bayam, tomat, seledri, kacang-kacangan (Agrios, 2005) dan selada (El-Borollosy dan Waziri, 2013). Tanaman hias seperti dahlia, geranium, petunia, viola, zinnia, candytuft, columbine, delphinium dan plox serta gulma juga dapat terserang oleh CMV (Ditlinhorti, 2013).

Cucumber mosaic virus (CMV) masuk ke dalam kelompok dari *Cucumovirus* yang partikelnya adalah polyhedral. Koefisien yang dimiliki oleh virus ini adalah sedimentasi yang hampir sama, berbeda dengan tiga tipe yang mengandung segmen dari genom yang berbeda. Segmen terkecilnya mengandung mRNA dengan protein salut serta berat molekul yang dimiliki adalah $0,35 \times 10^6$ daltons (Murayama *et al.*, 1998). Partikel yang dimiliki oleh CMV berbentuk bulat (Ditlinhorti, 2013). Viroin dari CMV mengandung RNA sebesar 18% serta 82% protein. RNA memiliki tiga genom dan yang lainnya satu ataupun dua subgenom RNA. Panjang dari genom RNA berdasarkan oleh RNA 1 dengan panjang 3,3 kb; RNA 2 dengan panjang 3kb serta RNA 3 memiliki panjang 2,2 kb yang dikemas tiap partikel individunya. Sedangkan dua dari subgenom adalah RNA 4 memiliki

panjang 1kb yang kemungkinan RNA 4A atau 682 nukleotida dikemas dengan genom dari RNA 3 (Palukaitis *et al.*, 1992). Virion dari CMV ini stabil dan tumbuh optimal pada suhu sekitar 20°C dan kurang stabil pada suhu yang terlalu dingin ataupun pada suhu yang panas (Roossinck dan White, 1998 ; Zitikaite, 2011).

Gejala yang ditimbulkan akibat serangan dari CMV di tanaman adalah pada bagian daun, buah dan bunga nya terlihat mosaik, distorsi dan terdapat spot-spot. Akibat dari serangan ini juga membuat tanaman yang terserang menurun kualitas dan kuantitasnya dan bahkan dalam gejala yang berkelanjutan dan parah dapat terjadi kegagalan panen (Agrios, 2005). Sedangkan, pada tanaman mentimun yang terinfeksi gejala CMV muncul mosaik yang diikuti dengan belang dan keriting pada bagian daun dan menyebabkan tanaman menjadi kerdil (Palukaitis *et al.*, 1992). Pada bagian daun juga mengalami malformasi dan nekrosis secara sistemik (Mochizuki dan Ohki, 2012).



Gambar 2. Variasi gejala CMV tanaman timun (Pandawani *et al*, 2016).

Penularan dari virus ini dapat ditularkan melalui benih, vektor maupun secara mekanis. Masuknya virus dapat terjadi karena adanya luka kecil dan partikel dari virus masuk dengan mudah ke bagian dalam sel tanaman sehingga tanaman terinfeksi (Bos, 1990). Menurut Semangun (2000), virus mosaik ini ditularkan melalui gesekan akibat *Aphid* sp maupun mekanik. Hal tersebut membuat luka pada *trichoma* (bulu daun) yang membuat tanaman sakit dapat menghasilkan cairan sap ke tanaman yang sehat. Metode penularan secara mekanis sering dilakukan dalam penelitian untuk membuat waktu inokulasi lebih efisien.

Pengendalian yang dapat dilakukan dalam menangani penyakit virus mosaik ini adalah dengan mengontrol benih agar terbebas dari serangan virus atau penggunaan benih bebas virus, mengendalikan keberadaan kutu daun di tanaman sehingga, penyakit mosaik virus dapat dihindarkan (Grubben, 2004). Pengaturan periode tanam juga dapat dilakukan untuk membuat area bebas virus yang dilakukan bersamaan dengan penggunaan benih bebas virus (Agrios, 2005).

Usaha selanjutnya dalam mengendalikan virus yang telah menyerang tanaman mentimun dengan cara mencabut dan membakar tanaman tersebut (Haryanto *et al.*, 2007).

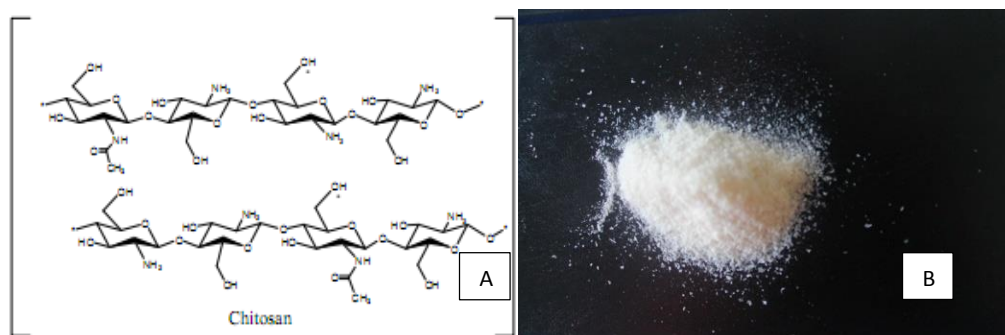
2.3 Kitosan

Kitin memiliki senyawa turunan yaitu kitosan. Saat ini, kitosan menjadi hal yang menarik dan banyak mendapatkan perhatian dari para ilmuwan. Kitosan dapat berinteraksi baik dengan bahan-bahan yang memiliki muatan seperti protein, polisakarida, anionik, asam empedu, fosfolipid serta asam lemak (Suptija, 2006). Kitosan biasanya didapatkan dari udang serta kepiting dengan cara menghilangkan gugus dari asetil atau disebut dengan deasetilasi. Pada kulit yang dimiliki oleh crustacea, kitin berperan sebagai mikropolisakarida yang dapat berikatan dengan garam-garam yang bersifat anorganik yang salah satunya adalah kalsium karbonat (CaCO_3), protein serta lipida. Dalam proses untuk sintesa kitosan, tiga komponen besar yang harus dilakukan adalah dengan cara menghilangkan protein melalui proses deproteinasi, kalsium karbonat dengan proses demineralisasi serta gugus asetil dengan proses deasetilasi. Metode yang digunakan dalam mensintesa protein terdapat dua cara yaitu secara enzimatik yang menggunakan enzim maupun bakteri dan secara kimiawi dengan menggunakan zat kimia pada tahapan prosesnya (Thariq, 2015). Dalam prosesnya, NaOH digunakan pada tahap deproteinasi HCl digunakan saat proses mineralisasi serta penggunaan NaOH 50% dalam proses deasetilasi. Kitosan larut dalam asam dan air sehingga, mempunyai bentuk gel yang seimbang (Kumar, 2000).

Kitosan adalah polimer linear α (1-4) yang berkaitan dengan 2-amino-2-deoksi- β -D-glucopyranose (Dutta, 2004). Biomaterial kitosan didapatkan dari vial basa *N-daecatylation* yang dimiliki oleh kitin (Champagne, 2008). Karakteristik kitosan yang bagus adalah memiliki tekstur serbuk yang berwarna putih, tidak memiliki bau serta kadar air yang dimiliki kurang dari 10%. Kitosan tidak mudah larut dalam air maka, dibutuhkan media pelarut dalam melarutkannya. Media pelarut yang dapat digunakan adalah asam asetat dengan konsentrasi sebesar 2% (Agustina *et al.*, 2015) sedangkan, media pelarut lain yang dapat digunakan adalah asam format, asam laktat dan asam glutamate (Thariq *et al.*, 2015). Menurut Sembiring (2011), sumber-sumber kitosan adalah dapat berasal dari udang yang memiliki kadar kitosan sebesar 70%, kepiting dengan kadar kitosan 69%, ulat sutra memiliki kadar kitosan sebesar 44%, laba-laba dengan kadar

kitosan 38%, kumbang yang kadar kitosannya sebesar 35%, kadar kitosan yang berasal dari kalajengking sebesar 30%, cumi-cumi dengan kadar kitosan 3-20% serta jamur atau cendawan dengan kadar kitosan yang dimiliki sebesar 5-20%.

Kitosan memiliki sifat karakteristik secara fisik dan biologi serta kimiawi. Contohnya seperti dapat diperbaharui, tidak mengandung toksik atau racun, dapat didegradasi, biokompatibel dan memiliki sifat adsorpsi yang selektif (Suptija, 2006). Karena sifat-sifat tersebut, kitosan banyak dipergunakan dalam bidang ilmiah seperti dalam bidang pertanian, medis, pengawet makanan, kosmetik dan bioteknologi (Champagne, 2008) serta pemanfaatan dalam menjaga ekosistem air dari limbah buangan pabrik (Thariq *et al.*, 2015).



Gambar 3. (A) Struktur Kimia Kitosan (Champagne, 2008) dan (B) Kenampakan Kitosan (dokumentasi pribadi).

2.4 Pemanfaatan Kitosan pada Bidang Pertanian

Pemanfaatan kitosan dalam bidang pertanian sudah cukup banyak dilakukan. Berbagai macam patogen telah berhasil dilakukan pengendalian terhadap hama, bakteri, jamur maupun virus tanaman dengan menggunakan kitosan (Hadrami *et al.*, 2010). Menurut Boonlertnirun *et al* (2008), kitosan memiliki peran dalam mengatur sistem kekebalan yang dimiliki oleh tanaman serta membuat ketahanan tanaman menjadi meningkat dalam melawan patogen penyakit dan serangga. Efek kitosan pada bidang pertanian lainnya adalah dapat membantu sistem perakaran yang dimiliki oleh tanaman untuk menyerap banyak nutrient dari dalam tanah.

Kitosan telah diujikan dan efektif pada tanaman buncis yang terserang *Alfafa Mosaic Virus* (AMV) dengan cara disemprotkan dengan larutan kitosan sebesar 0,1%. Kitosan sangat efektif menjadi inhibitor dari AMV saat pengaplikasiannya dilakukan sehari sebelum dan sesudah inokulasi. Cara kerja dari kitosan dalam mengendalikan virus adalah dengan menghambat penyebaran sistemik virus pada tanaman sehingga meningkatkan respon ketahanan

hipersensitif pada tanaman inang (Pospieszny *et al.*, 1991). Pada tanaman tomat yang terinfeksi dengan *Potato Spindle Tuber Viroid* (PSTVd) dan *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dengan pemberian aplikasi kitosan dengan metode yang sama dengan AMV dikabarkan dapat menekan infeksi dari virus pada tanaman tomat tersebut (Pospieszny *et al.*, 1991). Dilaporkan pula, kitosan dapat menekan infeksi virus yang menyerang tanaman kacang panjang *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV) dengan perlakuan konsentrasi kitosan sebesar 0,1% dan 1,0% pada waktu aplikasi penyemprotan yang berbeda (Damayanti *et al.*, 2014). Aplikasi dengan menggunakan konsentrasi kitosan 0,15% dan berat molekul sebesar 76 kDa pada tanaman tembakau yang terinfeksi *Tobacco Necrotic Virus* (TNV) dapat mengalami penurunan sebesar 95,2%. Hal tersebut dikarenakan ketahanan dari tanaman tembakau meningkat dengan memproduksi asam absisat (Faoro dan Iriti, 2007). Pemberian kitosan pada tanaman kentang dapat menginduksi resistensi dari serangan *Potato Virus X* (PTX). Larutan kitosan 1mg/l disemprotkan ke tanaman kentang dengan mol 3, 36 dan 120kD setelah 1,2,3 atau 4 hari inokulasi. Dan pada hari 2-3 hari setelah pemberian kitosan resistensi dari virus mulai berkurang (Chirkov *et al.*, 2001). Sedangkan pada tanaman kentang pemberian kitosan dengan mol 23kD dapat menghambat infeksi lesio lokal *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) lebih dari 80% (Galiana *et al.*, 1997).

Kitosan juga efektif menjadi insektisida alami. Hal tersebut didukung dengan pemberian konsentrasi kitosan sebesar 0,9% dapat menekan populasi dari hama *Aphis craccivora* Koch sebagai vektor dari virus mosaik pada tanaman kacang panjang (Megasari *et al.*, 2014). Pada sifatnya yang dapat mengendalikan jamur, kitosan dapat menghambat pertumbuhan dari kolonisasi jamur, spora, perpanjangan dari umur fitopatogenik *Fusarium solani* (Mart.) Sacc pada kondisi *in vitro*. Penggunaan konsentrasi kitosan sebesar 0,20% dapat menghambat pertumbuhan dari koloni jamur hingga 76% dan produksi dari spora dapat diturunkan (9×10^4 /ml filtrate kultur) (Bhattacharya, 2013).

2.5 Mekanisme Kerja Kitosan Sebagai Antivirus

Pada dasarnya, tanaman memiliki berbagai respon pertahanan yang secara aktif sebagai respon terhadap patogen dimulai dari serangan virus secara mikroskopis hingga serangan serangga atau hama. Waktu respon pertahanan tanaman dalam mengatasi atau mengalah pada permasalahan tersebut dibagi menjadi dua kategori yaitu yang diperoleh secara sistemik atau *Systemic Acquired Resistance* (SAR) dan resistensi sistemik yang diinduksi atau *Induced Systemic*

Resistance (ISR). Kedua respon ini menghasilkan resistensi atau toleransi terhadap patogen tanaman atau serangga yang menyerang (Vallad dan Goodman, 2004).

SAR adalah mekanisme pertahanan induksi yang memberikan pengaruh secara jangka panjang dalam perlindungan terhadap spektrum mikroorganisme secara luas. SAR akan memberikan sinyal pada molekul asam salisilat dan kemudian dikaitkan dengan akumulasi dari protein patogen yang diperkirakan berkontribusi dalam resistensi (Ghanbari *et al.*, 2015). Dalam cara kerjanya, ISR adalah induksi dari resistensi ketahanan sistemik. Pada proses ini, diinduksikan dengan cara mengirimkan strain spesifik dari *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang membantu pertumbuhan tanaman dan bergantung pada fitohormones ethylene dan asam jasmonat serta bebas dari salisilat sehingga, tak terkait dengan akumulasi dari protein PR (Vallad dan Goodman, 2004).

Larutan kitosan diaplikasikan dengan cara disemprotkan atau diinokulasikan ke tanaman untuk melindungi dari serangan virus yang diinfeksi secara mekanis. Penggunaan kitosan dapat menghambat infeksi baik penyebaran virus secara lokal maupun sistemik dalam berbagai kombinasi tanaman dengan virus. Efisiensi kitosan terhadap penghambatan infeksi virus bergantung pada dosis yang digunakan dan cara penerapan serta virus tanaman yang diujikan (Pospienzy, 1991). Kitosan terbukti dapat memicu sifat hipersensitif pada tanaman inang. Hal tersebut membuat pertumbuhan patogen terbatas hanya pada bagian epidermis dan lapisan terluar dari korteks yang terdapat endapan dari elektron dan banyak unsur fenolat yang terakumulasi (Benhamou, 1996).

Kitosan terbukti efisien dalam menekan serangan infeksi *Tobacco Necrosis Virus* (TNV) sebesar 95,6% pada daun pertama yang diinokulasi dan 95,2% pada daun kedua. Penggunaan kitosan yang terlalu banyak untuk menginduksi, menyebabkan kematian sel pada jaringan mesofil palisade yang terlihat seperti lesi mikroskopis. Hal ini mengindikasikan bahwa kitosan masuk ke tanaman melalui stomata dan bekerja langsung pada sel-sel yang terdekat (Faoro dan Iriti, 2006). Kitosan bekerja dengan membuat tanaman merespon secara SAR dengan melalui akumulasi dari H_2O_2 . Akan tetapi, hal tersebut menyebabkan bahaya jika konsentrasi kitosan yang digunakan secara berlebihan karena akan terjadi akumulasi dari H_2O_2 secara lokal dalam jaringan mesofil tanaman dan menyebabkan kematian sel dan menyebabkan lesi secara mikro. Peran dari H_2O_2

dapat menyeimbangkan kematian sel atau mentransmisikan stimulasi dari rangsangan eksternal dalam pertahanan tanaman (Iriti dan Faoro, 2008).

Mekanisme kitosan sebagai antivirus, antijamur serta antibakteri memiliki mekanisme kerja yang hampir sama. Hal ini bergantung pada metode waktu yang digunakan. Aktivitas antivirus dari kitosan dapat memicu daya tahan dari tanaman dengan menembus sel tanaman tersebut sebelum masa panen karena ukuran partikel yang relatif kecil. Keberhasilan dan efisiensi dari proses penghambatan aktivitas antivirus dan antibakteri kitosan tergantung pada derajat polimerisasi yang dimiliki (Kulikov *et al.*, 2006). Studi yang ditemukan adalah dengan penggunaan berat molekul kitosan dengan rata-rata variasi sebesar 1,2-40,4 kDA dan konsentrasi kitosan sebesar 10 atau 10 ug/ml dapat menghambat dari akumulasi sistemik virus dan propagasi nya (Kulikov *et al.*, 2006).

Kitosan merupakan senyawa kimia yang dapat membantu untuk mengaktifkan sistem pertahanan tanaman yang selanjutnya menginduksi produksi pertahanan yang terdiri dari protein defensif atau *pathogenesis related* (PR). Protein tersebut dapat melindungi tanaman dari serangan patogen. PR protein mempunyai peran untuk mencegah multiplikasi, penyebaran serta lokalisasi virus pada jaringan tanaman yang terserang maupun yang secara diinokulasikan. PR protein ini akan terakumulasi pada bagian jaringan yang terinfeksi (Naylor *et al.*, 1998).

Proses kitosan dalam menekan replikasi virus menurut Chirkov *et al.*, (2001) bahwa dengan pemberian kitosan pada tanaman, membuat infeksi dari *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) ditemukan menurun dalam 2 - 3 hari setelah pemberian kitosan pada tanaman kentang. Menurut Rabea *et al.*, (2003), kemampuan kitosan untuk menekan infeksi virus tanaman tidak bergantung pada jenis virus tersebut akan tetapi, kitosan yang mempengaruhi tanaman itu sendiri sehingga, menyebabkan resistensi terhadap infeksi virus yang menyerang. Sama halnya antara kontak tanaman dan fitopatogen, kitosan menginduksi spektrum reaksi protektif yang luas di tubuh tanaman dan membatasi penyebaran virus dan viroid sistemik di dalam tanaman dan menyebabkan pengembangan resistansi terhadap virus tersebut yang diperoleh secara sistemik (SAR).