

PERLINDUNGAN SILANG ANTARA DUA STRAIN VIRUS CTV
(*Citrus Tristeza Virus*) PADA DUA KANDIDAT TANAMAN
JERUK BESAR NAMBANGAN BERBIJI SEDIKIT (*Seedless*)

Oleh
ELEENNA CHARISTINA

0710460022-46



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2011

PERLINDUNGAN SILANG ANTARA DUA STRAIN VIRUS CTV
(*Citrus Tristeza Virus*) PADA DUA KANDIDAT TANAMAN JERUK BESAR
NAMBANGAN BERBIJI SEDIKIT (*Seedless*)

Oleh

ELENN CHARISTINA

0710460022-46

SKRIPSI

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2011

PERNYATAAN

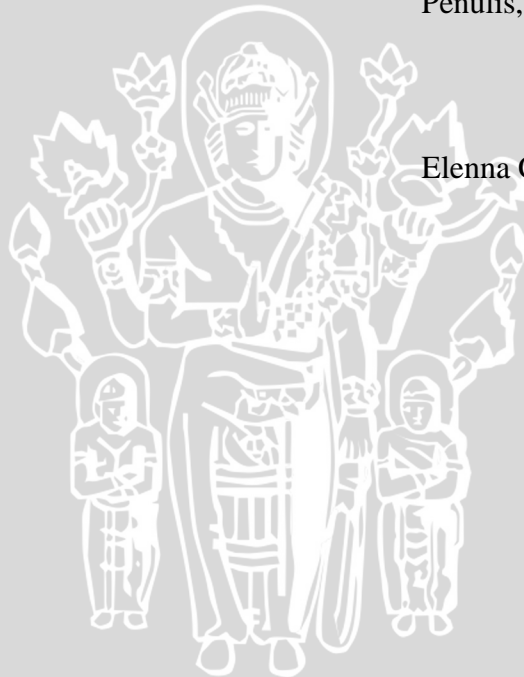
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis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

Malang, Agustus 2011

Penulis,

Elenna Charistina

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





*Skrripsi ini kupersembahkan kepada
Kedua orang tua yang tercinta dan
Adik-adikku tersayang*

RINGKASAN

Elenna Charistina. 0710460022. Perlindungan Silang Antara Dua Strain Virus CTV (*Citrus Tristeza Virus*) Pada Dua Kandidat Tanaman Jeruk Besar Nambangan Berbiji Sedikit (*Seedless*). Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS. sebagai pembimbing utama, Prof. Dr. Ir. Siti Rasminah Ch. Sy. sebagai pembimbing kedua dan Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS. sebagai pembimbing ketiga.

Masalah utama yang menyebabkan rendahnya produktivitas jeruk di Indonesia antara lain adanya serangan penyakit CTV (*Citrus Tristeza Virus*). CTV atau *quick decline* adalah suatu penyakit pada jeruk yang disebabkan oleh virus dan dianggap sebagai penyakit yang merugikan secara global. Penularan CTV pada tanaman jeruk dapat melalui serangga vektor, terutama kutu pucuk daun (aphis jeruk) dan melalui perbanyakan vegetatif (okulasi, stek, dan cangkok).

Untuk mengatasi permasalahan tersebut maka diperlukan pengendalian yang efektif. Namun virus tanaman tidak dapat dikendalikan dengan pestisida sehingga diperlukan pengendalian dengan cara preventif. Cara yang sudah berhasil dilakukan di luar negeri untuk mengendalikan CTV yang ditularkan melalui vektor serangga dan keberadaan vektornya di lapang sangat dominan cukup berhasil dengan cara perlindungan silang. Saat ini sedang disiapkan varietas *seedless* jeruk besar Nambangan. Oleh karena itu diperlukan pengujian calon tanaman unggul jeruk besar Nambangan *seedless* terhadap CTV. Metode yang dapat digunakan yaitu dengan perlindungan silang tanaman yang berasal dari virus avirulen atau strain lemah sejak sebelum ditanam. Sehingga diharapkan pada saat terserang virus strain kuat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dapat terlindungi.

Percobaan ini dilakukan secara semi lapangan yaitu di *screen house* dan laboratorium Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Tlekung, Batu. Rancangan percobaan yang digunakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdapat 2 kandidat dan 4 perlakuan tanaman yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak empat kali. Perlakuan disusun dari 2 kandidat yaitu kandidat 1 (P₁A₄) dan kandidat 2 (P₂A₆) dengan 4 perlakuan yang berbeda yaitu inokulasi strain lemah, inokulasi strain kuat, inokulasi strain lemah kemudian inokulasi strain kuat (perlindungan silang) dan tanpa perlakuan (kontrol). Analisis percobaan dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dengan menggunakan uji F pada taraf kesalahan 5 % dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kesalahan 5 %.

Varietas jeruk besar Nambangan *seedless* setelah diinokulasi strain lemah kemudian strain kuat CTV (perlindungan silang) menunjukkan gejala strain lemah CTV. Terdapat perbedaan pertumbuhan panjang tunas, diameter tunas, dan kerusakan jaringan tulang daun tanaman akibat pengaruh perlakuan. Dari hasil uji ELISA dibuktikan bahwa kandidat 2 (P₂A₆) merupakan tanaman yang toleran terhadap infeksi CTV, sehingga tanaman kandidat 2 (P₂A₆) dapat direkomendasikan sebagai kandidat baru unggul yang dapat dilepas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode perlindungan silang dapat digunakan dalam pencegahan penularan CTV karena telah terbukti dapat melindungi tanaman dari serangan CTV strain kuat.

SUMMARY

Elenna Charistina. 0710460022. The Cross Protection of Two Virus Strains of CTV (*Citrus Tristeza Virus*) on Two Candidates Citrus Pameló Seedless. Supervised by Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS., Prof. Dr. Ir. Siti Rasminah Ch. Sy. and Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS.

Main problem of the low productivity of citrus in Indonesia is attack of CTV (*Citrus Tristeza Virus*). CTV or *quick decline* is a disease caused by virus and wide spread on the world. The infected of CTV can be transmissions by insects vector such as *Toxoptera citricidus* and grafting or cuttings.

To complete that problems, it need effective control by preventive method because the virus do not be controlled by pesticides. However, the method was success to control of CTV the dominant transmissions by vector used cross protection. Currently was produced seedless varieties Citrus Pameló Nambangan by mutation breeding. That needed to test the candidate of Citrus Pameló Nambangan seedless against CTV. The method can used cross protection based on avirulent virus or mild strain inoculation before planted. It is expected that it will be protected during attack of severe strain virus in the field.

The research was conducted in screen house and laboratory at Citrus and Subtropical Fruits Research Institute Tlekung, Batu. Design of experiment used Completely Randomized Design. The treatment was used by two candidates that is candidate 1 (P₁A₄) and candidate 2 (P₂A₆) with four different treatment that is mild strain inoculated, severe strain inoculated, mild strain then severe strain inoculated of CTV (cross protection) and not inoculated (control) that was repeated 4 times. Then used serological test, indexing by DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay) to detected of positively caused CTV infected. Data was analyzed by the F test on the error rate of 5% and continued with the Honest Significance Difference test (HSD) at 5% significance.

Citrus Pameló Nambangan Seedless varieties which was inoculated with a mild strain then severe strain of CTV (cross protection) had shown the symptoms of mild strain CTV attack. There is differences in the long of bud, diameter of bud and leaf damage bone tissue caused by the CTV inoculation treatment plant. Indexing by ELISA showed that the candidate 2 (P₂A₆) was tolerant to CTV, therefore the candidate 2 (P₂A₆) can be recommended to purposed and release for new superior varieties. The research result showed that cross protection method can be used to prevent the spread of CTV because it can protect plants against severe strains of CTV.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Perlindungan Silang Antara Dua Strain Virus CTV (*Citrus Tristeza Virus*) Pada Dua Kandidat Tanaman Jeruk Besar Nambangan Berbiji Sedikit (*Seedless*)", sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian (S₁) Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Dalam penulisan skripsi ini penulis ucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS. selaku dosen pembimbing utama.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Siti Rasminah Ch. Sy. selaku dosen pembimbing kedua.
3. Ibu Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS. selaku pembimbing ketiga.
4. Dr. Ir. Hardiyanto, MSc. selaku kepala Balitjestro (Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika) yang telah mengizinkan untuk melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas tempat, alat serta bahan di Balitjestro.
5. Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. selaku ketua jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.
6. Serta keluarga dan teman-teman yang telah memberikan dukungan dalam pembuatan skripsi ini.

Penulis harapan semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi khususnya kepada pembaca.

Malang, Agustus 2011

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lampung, pada tanggal 27 Januari 1989 merupakan putri kedua dari tiga bersaudara dari Bapak Soegito dan Ibu Ari Sutini, S. Pd. Kakak Penulis bernama Sarendra Adhitama, S. Sos. dan adik bernama Chaterine Elsa.

Penulis memulai pendidikannya di TK Satya Dharma Sudjana pada tahun 1993 sampai tahun 1995, melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 02 Gunung Madu pada tahun 1995 sampai tahun 2001. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Satya Dharma Sudjana pada tahun 2001 sampai tahun 2004, dan dilanjutkan ke pendidikan SMA Negeri 10 Bandar Lampung pada tahun 2004 sampai tahun 2007. Pada tahun 2007 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1, program studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang melalui jalur SPMB (Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi jurusan yaitu HIMAPTA (Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman) pada periode kepengurusan 2008-2010 sebagai staf administrasi dan kesekretariatan. Penulis juga aktif dalam kepanitiaan yang diadakan HIMAPTA.

DAFTAR ISI

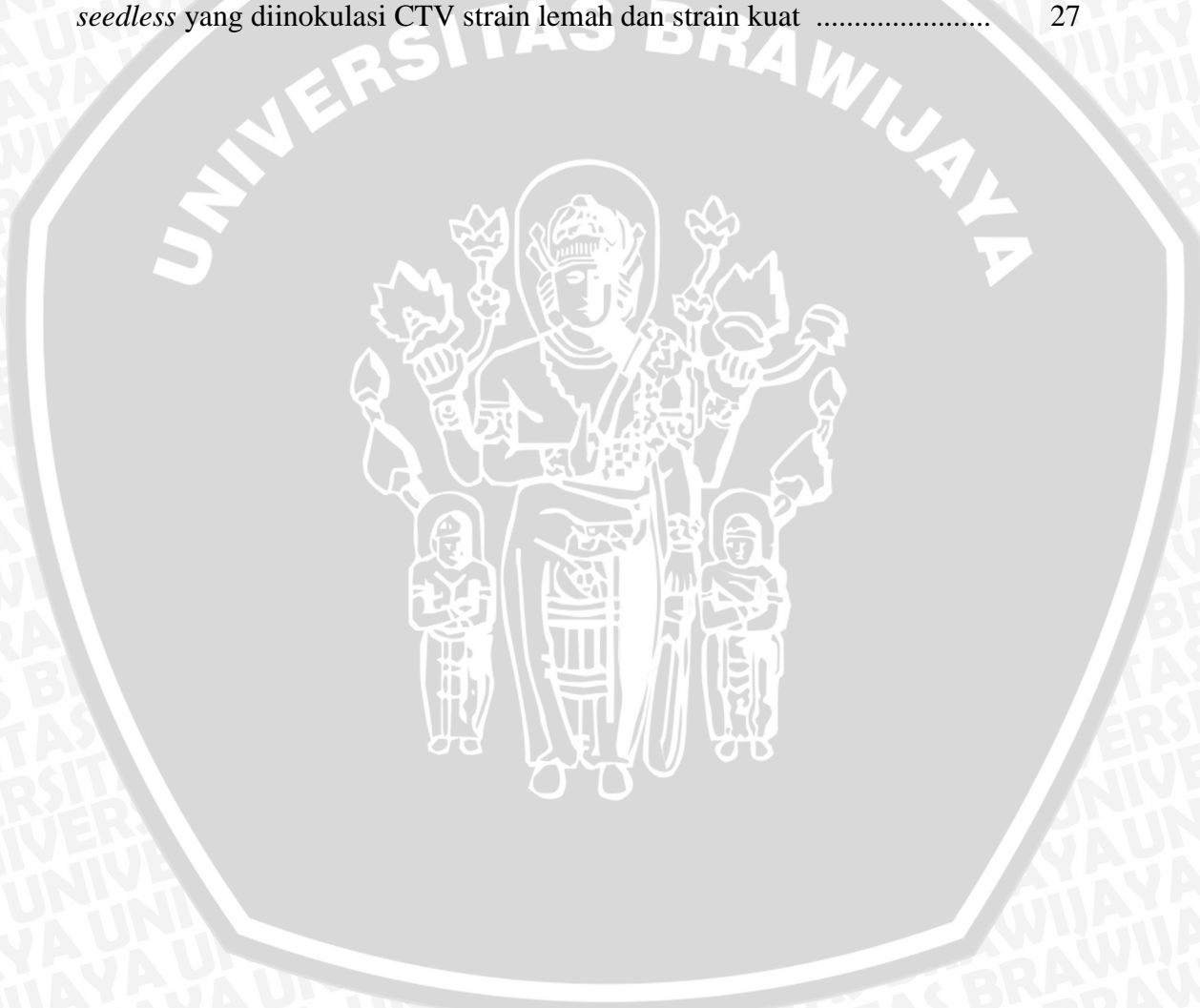
	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan	2
1.4. Hipotesis	2
1.5. Manfaat	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Jeruk Besar (<i>Citrus maxima</i> Merr.)	3
2.1.1. Klasifikasi Jeruk Besar	3
2.1.2. Jeruk Besar Nambangan <i>Seedless</i>	3
2.1.3. Teknik Perbanyakan Jeruk Besar	3
2.1.4. Proses Pemuliaan Kandidat Jeruk <i>Seedless</i>	4
2.2. CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	5
2.2.1. Gejala CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	5
2.2.2. Penyebab CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	6
2.2.3. Pengendalian CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	6
2.2.4. Mekanisme CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	7
2.2.5. Klasifikasi CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	7
2.2.6. Morfologi CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	7
2.2.7. Strain CTV (<i>Citrus Triteza Virus</i>)	8
2.3. Perlindungan Silang	8
III. METODOLOGI	
3.1. Tempat dan Waktu	9
3.2. Alat dan Bahan	9
3.3. Metode Penelitian	9
3.3.1. Rancangan percobaan	9
3.3.2. Perlakuan	9
3.3.3. Analisis percobaan	10
3.4. Persiapan Penelitian	10
3.4.1. Persiapan inokulum CTV	10

3.4.2. Preparasi Buffer	10
3.4.3. Persiapan pembuatan larutan stok	11
3.5. Pelaksanaan Penelitian	12
3.5.1. Inokulasi CTV pada batang bawah JC	12
3.5.2. Okulasi mata tempel jeruk besar Nambangan <i>seedless</i>	13
3.5.3. Parameter pengamatan	14
3.5.3. Analisa CTV	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Gejala dan Masa Inkubasi	16
4.2. Pertumbuhan Tanaman Jeruk Besar Nambangan <i>Seedless</i>	18
4.3. Kerusakan Jaringan Tulang Daun Tanaman	23
4.4. Uji DAS-ELISA	25
4.5. Bobot Basah dan Bobot Kering Akar Tanaman	26
V. KESIMPULAN	
5.1. Kesimpulan	28
5.2. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32



DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Panjang tunas dua kandidat jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat	18
2.	Diameter tunas dua kandidat jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat	19
3.	Hasil <i>indexing</i> DAS-ELISA untuk tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat	25
4.	Rerata bobot basah dan bobot kering akar tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat	27



DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Gejala <i>stem pitting</i> (lekur batang memanjang) pada batang tanaman jeruk yang terinfeksi CTV	6
2.	Gejala <i>vein clearing</i> akibat serangan CTV	6
3.	CTV setelah dilihat menggunakan mikroskop elektron dengan pembesaran 100 nm	8
4.	Panjang sumber inokulum yang ditempel pada batang JC (A), hasil inokulasi strain lemah CTV (B), hasil inokulasi strain kuat CTV (C) dan hasil perlindungan silang (D).....	13
5.	Panjang mata tempel jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> (A), pengikatan plastik pada proses penempelan mata tempel (B) dan pertumbuhan tunas pada mata tempel (C)	14
6.	Kenampakan daun jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang diberi perlakuan inokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C) dan tanpa perlakuan (kontrol) (D)	17
7.	Tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 1 (I) dan kandidat 2 (II) yang diberi perlakuan inokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C) dan kontrol (D)	20
8.	Laju pertumbuhan panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 1 (P ₁ A ₄) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol	20
9.	Laju pertumbuhan panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 2 (P ₂ A ₆) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol	21
10.	Laju pertumbuhan diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 1 (P ₁ A ₄) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol	22
11.	Laju pertumbuhan diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 2 (P ₂ A ₆) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol	22
12.	Irisan melintang tulang daun tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 1 (P ₁ A ₄) yang telah diinokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C), dan tidak diinokulasi (kontrol) (D) pada mikroskop pembesaran 40x	24
13.	Irisan melintang tulang daun tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> kandidat 2 (P ₂ A ₆) yang telah diinokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C), dan tidak diinokulasi (kontrol) (D) pada mikroskop pembesaran 40x	24
14.	<i>Plate</i> hasil <i>indexing</i> uji ELISA dari dua kandidat tanaman jeruk besar Nambangan <i>seedless</i> yang positif terinfeksi CTV	26

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
1.	Data Hasil Pengukuran Pertumbuhan Tanaman Jeruk Besar Nambangan <i>Seedless</i> kandidat 1 (P ₁ A ₄) dan kandidat 2 (P ₂ A ₆)	32
2.	Analisis Varian (ANOVA)	36
3.	Nilai Absorbansi Sumber Inokulum CTV (<i>Citrus Tristeza Virus</i>)	38



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pembangunan pertanian hortikultura pada tahun mendatang diharapkan menjadi bagian dari pertanian industrial berkelanjutan yang mampu menjamin ketahanan pangan dan kesejahteraan petani. Salah satu ciri dari sistem pertanian tersebut adalah tingginya inovasi teknologi pertanian pada proses produksi. Pemanfaatan teknologi dalam proses produksi dapat dijadikan salah satu upaya untuk menyelesaikan permasalahan pertanian hortikultura khususnya komoditas buah-buahan. Permasalahan yang saat ini banyak ditemui antara lain rendahnya kualitas buah segar dan lambatnya perbanyakan benih sehingga komoditas buah dalam negeri kalah bersaing dengan buah import (Anonymous, 2010b).

Program jeruk nasional Indonesia pada saat ini adalah menciptakan jeruk varietas baru dengan keunggulan buah berkulit kuning, rasanya manis, dan berbiji sedikit (*seedless*). Di Indonesia varietas baru *seedless* tersebut diharapkan dapat menyaingi kualitas jeruk import yang ada di pasaran. Program yang dilaksanakan di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika telah menghasilkan penemuan varietas jeruk baru berkarakter lebih unggul dari jeruk import. Salah satunya adalah jeruk besar Nambangan *seedless*. Namun varietas ini belum dipasarkan secara luas karena belum teruji tingkat ketahanannya terhadap hama dan penyakit.

Masalah utama yang menyebabkan rendahnya produktivitas jeruk di Indonesia antara lain adanya serangan penyakit CTV (*Citrus Tristeza Virus*). CTV atau *quick decline* adalah suatu penyakit pada tanaman jeruk yang disebabkan oleh virus dan dianggap sebagai penyakit yang merugikan secara global (Timmer *et al.*, 2000). Penularan CTV pada tanaman jeruk dapat melalui serangga vektor, terutama kutu pucuk daun dan melalui perbanyakan vegetatif (okulasi, stek, dan cangkok) (Rismunandar, 1995).

Untuk mengatasi permasalahan tersebut maka diperlukan pengendalian yang efektif. Namun virus tanaman tidak dapat dikendalikan dengan pestisida sehingga diperlukan pengendalian dengan cara preventif. Cara yang sudah berhasil dilakukan di luar negeri untuk mengendalikan CTV yang ditularkan melalui vektor serangga

dan keberadaan vektornya di lapang sangat dominan cukup berhasil dengan cara perlindungan silang. Saat ini sedang disiapkan varietas *seedless* jeruk besar Nambangan. Oleh karena itu diperlukan pengujian calon tanaman unggul jeruk besar Nambangan *seedless* terhadap CTV. Metode yang dapat digunakan yaitu dengan perlindungan silang tanaman yang berasal dari virus avirulen atau strain lemah sejak sebelum ditanam. Sehingga diharapkan pada saat terserang virus strain kuat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dapat terlindungi.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah strain lemah CTV dapat melindungi tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dari serangan strain kuat CTV?
2. Bagaimanakah respon dua kandidat (P_{1A_4} dan P_{2A_6}) tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* terhadap proses perlindungan silang (strain lemah dan strain kuat CTV)?

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui reaksi perlindungan silang pada tanaman jeruk besar Nambangan *seedless*.
2. Mengetahui respon yang ditimbulkan akibat strain lemah dan strain kuat CTV.

1.4. Hipotesis

1. Strain lemah CTV dapat melindungi tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dari serangan strain kuat CTV.
2. Respon dari dua kandidat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* terhadap proses perlindungan silang memunculkan gejala strain lemah CTV.

1.5. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandidat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang dapat terproteksi terhadap infeksi strain kuat CTV yang sebelumnya diinokulasi dengan strain lemah CTV.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jeruk Besar (*Citrus maxima* Merr.)

2.1.1. Klasifikasi Jeruk Besar

Setiawan dan Sunarjono (2003) menyatakan bahwa jeruk besar merupakan famili Rutaceae yang beranggotakan sekitar 1300 spesies. Secara sistematis klasifikasi jeruk besar dapat dilihat sebagai berikut:

Kerajaan: Plantae, Divisi: Spermatophyta, Kelas: Dicotyledoniae, Ordo: Rurales, Suku: Rutaceae, Marga: Citrus, Jenis: *Citrus maxima* Merr.

2.1.2. Jeruk Besar Nambangan *Seedless*

Pemuliaan buah khususnya jeruk pada saat ini terkonsentrasi untuk mengembangkan kultivar unggul baru jeruk yang tanpa biji (Ollitrault *et al.*, 2007). Ciri khas jeruk besar adalah buah berukuran besar dan berkulit tebal sehingga tahan disimpan dan diangkut dalam jarak jauh. Buah berbentuk bulat dan berkulit agak tebal, berisi 11- 16 segmen. Warna daging buah merah muda atau merah jambu. Daging buah memiliki tekstur keras sampai lunak, rasa manis sampai sedikit asam, dan berbiji sedikit (Anonymus, 2011a).

Jeruk besar Nambangan *seedless* termasuk jenis jeruk unggul yang sedang berkembang. Di sentra produksinya dikenal dengan nama Adas Nambangan. Daging buah merah muda dan menjadi merah hingga jingga setelah tua. Rasanya manis-manis asam dan segar (Mahardhika, 1999). Untuk besar Nambangan *seedless* merupakan varietas jeruk yang diberi perlakuan sinar gamma 20 Gy, sehingga menghasilkan jeruk berbiji sedikit (*seedless*).

2.1.3. Teknik Perbanyakkan Jeruk Besar

Perbanyakkan jeruk besar Nambangan *seedless* dapat dilakukan dengan biji, pencangkakan dan penyambungan. Perbanyakkan tanaman dengan biji jarang dilakukan karena sifat tanaman yang dihasilkan banyak yang menyimpang dari sifat induknya (Wudianto, 1998). Selain itu perbanyakkan dengan biji tanaman tersebut mempunyai masa *juvenile* yang lebih lama (Hartmann *et al.*, 1997).

Dengan pencangkokan, tanaman yang dihasilkan memiliki perakaran yang pendek serta tidak dapat dilakukan secara besar-besaran karena membutuhkan cabang (bahan tanaman) yang lebih banyak. Oleh sebab itu perbanyak tanaman lebih banyak dilakukan dengan penyambungan (Ashari, 1995). Keuntungan dengan cara penyambungan antara lain pengadaan bibit dalam jumlah banyak dapat dilakukan, ketahanan tanaman terhadap penyakit dan pada kondisi tanah yang kurang menguntungkan dapat ditingkatkan melalui pemilihan batang bawah yang sesuai dan dapat diperoleh tanaman baru yang sifatnya lebih baik dari induknya (Wudianto, 1998) serta sistem perakarannya lebih baik (Samson, 1992).

Penyambungan merupakan proses penggabungan dua jenis tanaman antara batang bawah dan batang atas yang berbeda dengan tujuan untuk menggabungkan sifat unggul yang terdapat pada batang atas dan batang bawah sehingga diperoleh tanaman yang bersifat lebih unggul dibandingkan tanaman asalnya. Syarat-syarat tanaman batang bawah: 1) mempunyai pertumbuhan yang baik dan perakaran yang kuat, 2) tahan terhadap kekurangan dan kelebihan air, 3) berasal dari tanaman yang subur serta tahan terhadap penyakit sehingga dapat kompatibel, 4) bibit yang berasal dari biji nuselus dijadikan batang bawah, biasanya jeruk Rough Lemon (RL) atau Japanesche Citroen (JC), 5) jenis jeruk tersebut memiliki beberapa keunggulan yaitu penyebaran akar dalam tanah cukup luas, baik secara lateral maupun vertical, 6) mempunyai daya tahan yang tinggi terhadap kekeringan.

2.1.4. Proses Pemuliaan Kandidat Jeruk Seedless

Mutagenesis merupakan cara yang efisien untuk mengembangkan buah tanpa biji karena sterilitas adalah salah satu efek dari perlakuan mutagen yang sering terjadi (Ollitrault *et al.*, 2007). Pemuliaan mutasi dengan menggunakan mutagen fisik seperti sinar gamma adalah salah satu alternatif untuk meningkatkan keragaman yang dapat mengubah satu atau lebih karakter tanpa mengubah karakteristik asalnya.

Proses pemuliaan kandidat jeruk *seedless* melalui beberapa tahap, yaitu perbanyakan kalus embriogenik, iradiasi sinar gamma pada kalus, pendewasaan embrio somatik, perkecambahan embrio somatik, analisis keragaman genetik berdasarkan karakter morfologi dan analisis stomata sehingga diperoleh informasi bahwa pemberian mutagen sinar gamma dapat menyebabkan perubahan baik morfologi maupun jumlah kromosom.

Pada tahap pertumbuhan kalus pemberian mutagen sinar gamma dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan kalus. Perubahan morfologi yang terjadi dapat dilihat secara visual, yaitu pada karakter jumlah daun, bentuk daun, bentuk ujung daun, tinggi planlet, warna daun, dan ketegapan tanaman. Perubahan yang terjadi pada tingkat kromosom dapat dilihat berdasarkan jumlah kloroplas yang terdapat ada sel penjaga pada stomata. Jumlah kloroplas di dalam sel penjaga diperoleh calon mutan yang diduga merupakan tanaman triploid yaitu regenerasi yang berasal dari pemberian iradiasi sinar gamma (Indrayasa, 2011).

2.2. CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

CTV dapat menyebabkan kerugian besar pada kombinasi batang bawah atau batang atas (*stock/scion*) tertentu, terutama jeruk manis (*sweet orange, C. cinensis*) yang ditempel di atas jeruk masam (*sour orange, C. aurantium*). Di Indonesia golongan CTV yang umumnya dijumpai adalah lekuk atau celah batang (*stem pitting*). Dilaporkan bahwa penyakit akibat CTV terdapat di Malaysia, Thailand, Filipina, Taiwan, Fiji, India, Australia, Selandia Baru, Hawaii, Israel, Afrika Selatan dan Barat, dan Amerika Utara dan Selatan. Diduga bahwa penyakit ini juga terdapat di Sri Lanka (Semangun, 2007).

2.2.1. Gejala CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Gejala infeksi CTV berupa kerusakan pada jaringan pembuluh tapis (floem), yaitu terdapat lekukan atau celah-celah memanjang pada jaringan kayu pada batang, cabang atau ranting (*stem pitting*) (Gambar 1) dan gejala pemucatan tulang daun (*vein clearing*) (Gambar 2) berupa garis-garis putus atau memanjang pada tulang daun yang tembus cahaya setelah 2-8 minggu terinfeksi.

Pertumbuhan tanaman menjadi kerdil, menghasilkan daun yang kecil dan kaku serta tepinya melengkung ke atas (*vein cupping*). Gejala lain yang dapat muncul adalah pengerasan tulang daun (*vein crocking*), serta daun menjadi lebih tebal dan kaku (Anonymous, 2010d).



Gambar 1. Gejala *stem pitting* (lekuk batang memanjang) pada batang tanaman jeruk yang terinfeksi CTV (Lee, 2011)



Gambar 2. Gejala *vein clearing* akibat serangan CTV (Amador, 2011)

2.2.2. Penyebab CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Penyebab penyakit CTV semula diduga disebabkan oleh ketidakcocokan batang atas dan batang bawah. Kemudian terbukti bahwa penyebab penyakitnya adalah virus yang disebut CTV (*Citrus Tristeza Virus*). Cara untuk mendeteksi virus ini adalah dengan penyambungan pada *Mexican lime* sebagai tanaman indikator. Tetapi cara ini membutuhkan waktu lama. Dewasa ini untuk

mengetahui adanya CTV pada tanaman jeruk dipakai uji ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) yang terbukti cukup peka (Semangun, 2007).

2.2.3. Pengendalian CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Penyebab penyakit akibat CTV pada tanaman jeruk dapat dilakukan dengan usaha penanaman bibit jeruk yang sehat berasal dari mata tunas yang bebas CTV. Untuk daerah yang tidak ada vektor seperti di Florida dapat dilakukan eradikasi dengan membongkar semua tanaman yang sakit. Sedangkan untuk daerah yang terdapat vektor seperti di pulau Jawa dianjurkan untuk memakai batang bawah jeruk manis, RL, keprok Clepatra dan troyer citrange (Knorr *et al.*, 1957). Akan tetapi di beberapa negara sudah dilakukan preimunisasi atau proteksi silang dengan menginfeksi tanaman jeruk dengan strain lemah yang kurang merugikan untuk melindungi tanaman dari infeksi strain kuat (Dwiastuti *et al.*, 1995).

2.2.4. Mekanisme Serangan CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Semangun (2007) melaporkan bahwa CTV tidak dapat menular secara mekanis dan tidak terdapat tanda-tanda bahwa virus terbawa oleh biji. CTV terjadi karena virus menginduksi ketidaksesuaian sambungan, sehingga perkembangan floem dan xilem menjadi abnormal. Akibatnya, tanaman menjadi kerdil, ukuran buahnya kecil tetapi tanaman tidak mati. Gejala yang timbul pada tanaman terinfeksi bergantung pada ketahanan inang dan virulensi patogen.

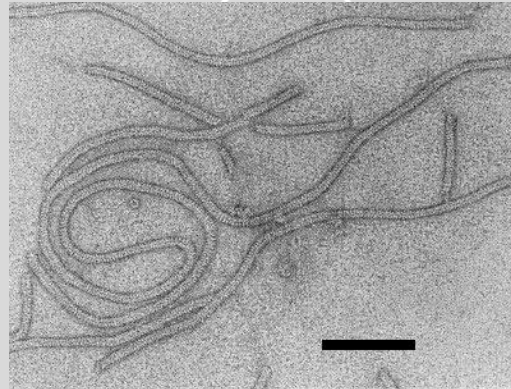
Penularan secara alami di lapang dapat terjadi melalui tunas mata tempel terinfeksi dan dengan perantara kutu daun (aphid). Ada 4 spesies aphid yang berperan, yaitu kutu daun coklat (*Toxoptera citricidus*), kutu daun hitam (*T. aurantii*), dan kutu daun hijau (*Aphis gossypii*). Pada kutu daun coklat virus melekat pada alat penghisap (*stilet*). Kutu daun ini sudah dapat menularkan virus jika menghisap tanaman sakit selama 5 detik dengan inkubasi 5 detik, dan hanya efektif dalam waktu pendek.

2.2.5. Klasifikasi CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Klasifikasi CTV yaitu Genom: ss RNA, Keluarga: Closteroviridae, Marga: Closterovirus, Nama lain: *Citrus quick decline virus* (Fawcett dan Wallace, 1946).

2.2.6. Morfologi CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Citrus Tristeza Virus adalah virus yang memiliki RNA berantai tunggal Closterovirus dan merupakan salah satu virus yang memiliki rantai terpanjang, muncul sebagai partikel seperti benang dengan panjang sekitar 2000 nm dan diameter 12 nm. CTV memiliki kepadatan 1.257 g/ml (Gambar 3) (Brunt *et al.*, 1996).



Gambar 3. CTV setelah dilihat menggunakan mikroskop elektron (Niblett *et al.*, 2000)

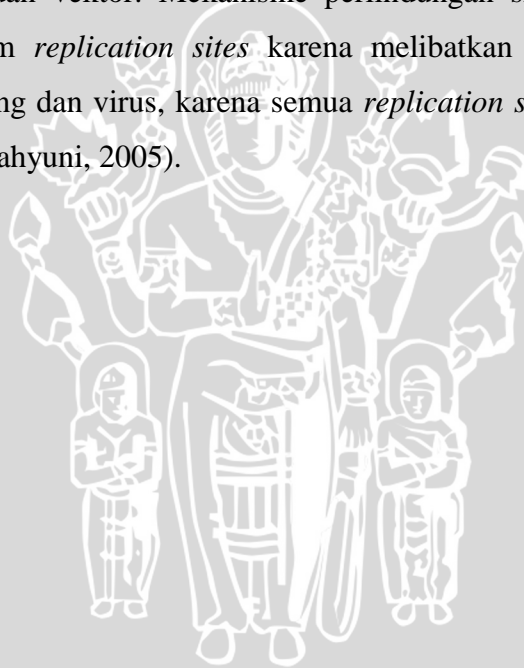
2.2.7. Strain CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Pada tahun 2003, Sambade *et al.* melaporkan terdapat 3 strain virus CTV yang menyebabkan gejala berbeda pada tanaman, yaitu: 1) Strain ringan menyebabkan gejala pemucatan tulang daun (*vein clearing*), 2) Strain berat menyebabkan gejala lekukan panjang pada batang kayu (*stem pitting*), 3) Kelompok yang tidak normal dengan menunjukkan gejala yang berbeda.

2.3. Perlindungan Silang

Perlindungan silang adalah preinokulasi tanaman dengan strain virus lemah (*mild*) sebagai virus pelindung yang akan menghalangi atau melindungi tanaman dari infeksi virus yang kedua dengan strain lebih kuat (*severe*). Strain disebut lemah apabila hanya mereduksi 5-10% produk tanaman tanpa mengubah kualitasnya, sehingga tidak mempengaruhi nilai pasarnya.

Karakteristik agar suatu virus dapat dimanfaatkan sebagai pelindung adalah gejalanya bersifat sistemik dan tidak mengubah kualitas produk, mempunyai sifat genetik yang stabil sehingga tidak berubah menjadi strain kuat, tidak mudah disebarkan oleh vektor, inokulum virus harus mudah diproduksi, tetap murni dan stabil dalam tanaman dan vektor. Mekanisme perlindungan silang terjadi karena adanya kompetisi dalam *replication sites* karena melibatkan kombinasi subunit-subunit sandi antara inang dan virus, karena semua *replication sites* sudah ditempati oleh virus pelindung (Wahyuni, 2005).



III. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan secara semi lapangan di dalam *screen house* dan di laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Tlekung, Batu. Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2011 sampai dengan bulan Juni 2011.

3.2. Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah pisau, plastik, mikro plate ELISA, tissue, silet, kain saring, mortar, timbangan, pipet tetes, gelas ukur dan Elisa reader.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumber inokulum (strain lemah dan strain kuat CTV), batang bawah JC (*Japanesche citroen*), sumber mata tempel dari dua kandidat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* (P₁A₄ dan P₂A₆), buffer ekstrak (grinding), larutan Coating antibodi, Conyugate buffer, larutan PBST, Substrat (PNP Buffer), Coating buffer, dan aquades.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Rancangan percobaan

Percobaan ini dilakukan secara semi lapangan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdapat 2 kandidat dan 4 perlakuan tanaman yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

3.3.2. Perlakuan

Perlakuan disusun dengan mengkombinasikan 2 kandidat yaitu kandidat 1 (P₁A₄) dan kandidat 2 (P₂A₆) dengan 4 perlakuan yang berbeda (inokulasi strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol).

3.3.3. Analisis Percobaan

Analisis percobaan dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan tanaman jeruk Besar Nambangan *seedless* dengan menggunakan uji F pada taraf kesalahan 5 % dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kesalahan 5 %.

3.4. Persiapan Penelitian

3.4.1. Persiapan sumber inokulum CTV

Sumber inokulum yang digunakan merupakan koleksi isolat yang ada di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. Sumber inokulum tersebut merupakan hasil isolasi tanaman jeruk nipis yang telah diinfeksi strain virus CTV. Cara penentuan strain kuat CTV dan strain lemah CTV pada sumber inokulum digunakan dengan cara penentuan nilai absorbansi hasil uji ELISA sumber inokulum yang dilakukan oleh Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. Gejala pada sumber inokulum strain lemah yaitu *vein cupping* ringan dan *vein clearing* dengan nilai absorbansi 0,025. Sedangkan gejala pada sumber inokulum strain kuat adalah *vein cupping*, *vein crocking* dan *stem pitting* dengan nilai absorbansi 0.224 (Lampiran 3).

3.4.2. Preparasi Buffer

a. Larutan PBST (Phosphate Buffer Saline Tween)

Bahan yang digunakan untuk pembuatan 1 L larutan PBST yaitu Sodium chloride (NaCl) 8 gr; Sodium phosphate 1,15 gr; Potasium phosphate 0,2 gr; Potasium chloride 0,2 gr; dan Tween-20 0,5 ml (500 μ l). Semua bahan tersebut dicampurkan dengan H₂O hingga larut, kemudian pada pH 7,4 ditambahkan H₂O lagi hingga volumenya 1 L. Larutan disimpan dalam suhu ruangan.

b. Substrat

Bahan yang digunakan untuk pembuatan 250 ml larutan substrat yaitu MgCl 0,025 gr; Sodium azide 0,05 gr; dan Diethanolamine 24,25 gr. Semua bahan tersebut dicampurkan dengan larutan H₂O hingga larut, kemudian pada pH 9,8 ditambahkan H₂O lagi hingga volumenya 250 ml. Larutan disimpan pada suhu 4°C dalam botol gelap.

c. Coating Buffer

Bahan yang digunakan Sodium carbonate 1,59 gr; Sodium bicarbonate 2,93 gr; dan Sodium azide 0,2 gr. Semua bahan dicampurkan dengan H₂O hingga larut, kemudian pada pH 9,6 ditambahkan H₂O lagi hingga volume mencapai 1000ml. Lalu larutan disimpan pada suhu 4°C.

3.4.3. Persiapan pembuatan larutan stok**a. Buffer Ekstrak (grinding)**

Dalam pembuatan larutan ini digunakan bahan larutan PBST 250 ml yang ditambahkan Tween-20 sebanyak 1,25 ml, lalu ditambahkan susu non lemak/susu skim sebanyak 1 gr. Kemudian diaduk hingga semua bahan larut/stirer selama 30 menit, pada pH 7,4 ditambahkan larutan PBST hingga volume mencapai 250 ml.

b. Coating Antibodi

Pembuatan larutan coating antibodi yaitu dengan cara larutan antibodi dengan Coating buffer dicampurkan menjadi satu dengan perbandingan 1 : 200 yang masing-masing plate diisi 100 µl. Karena jumlah sampel yang digunakan sebanyak 32, maka perbandingan yang digunakan 16 : 3200 (32 sampel x 100 µl).

c. Conyugate Buffer

Conyugate buffer yang dibutuhkan disesuaikan dengan kebutuhan, yaitu dengan perhitungan menggunakan rumus $ECl = 1 \times (ECl \ 5x) + 4 \ H_2O$. Apabila sampel yang digunakan sebanyak 32. Maka dapat dihitung 32 sampel x 100 µl =

3200 μl , sehingga dibutuhkan perbandingan larutan Conyugate buffer = 100 μl (ECI 32x) + 400 μl (H_2O). Kemudian larutan tersebut ditambahkan Enzym conyugate yang terdiri dari dua botol yaitu botol A = 25 μl dan botol B = 25 μl .

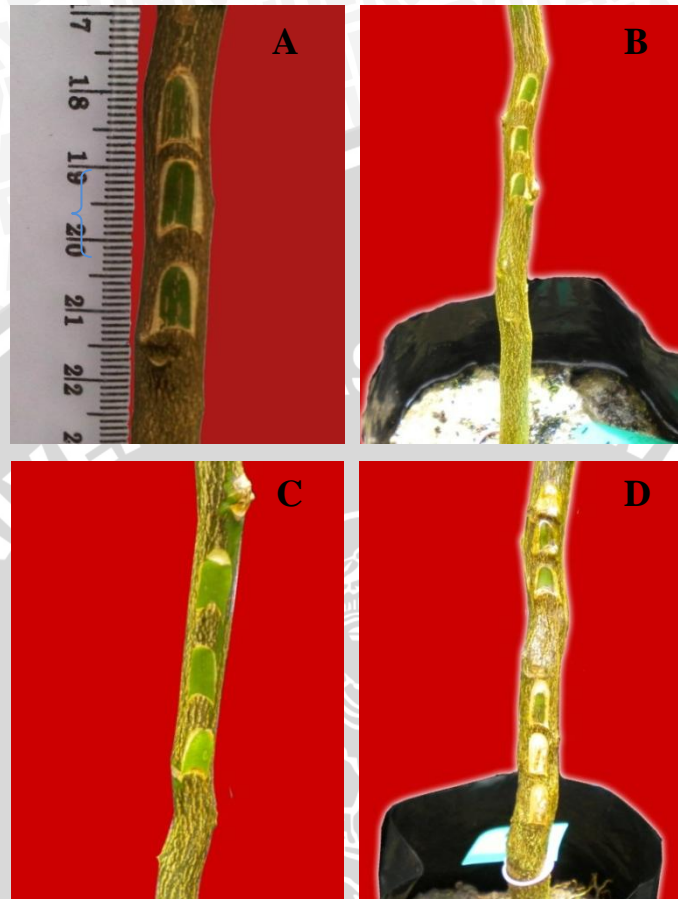
3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Inokulasi CTV pada batang bawah JC

Inokulasi CTV dilakukan pada batang bawah *Japanschee Citroen* (JC) yang berumur 4-5 bulan. Cara penginokulasian dilakukan dengan cara kulit batang muda/ranting muda sumber inokulum (jeruk nipis) disayat $\pm 1-1,5$ cm lalu di tempelkan/diinokulasikan pada batang JC (Gambar 4). Dari 32 tanaman (kandidat 1 dan kandidat 2), batang JC tersebut di beri 4 perlakuan yaitu:

- perlakuan ke-1 sebanyak 8 tanaman diinokulasikan dengan strain lemah CTV,
- perlakuan ke-2 sebanyak 8 tanaman diinokulasikan dengan strain kuat CTV,
- perlakuan ke-3 sebanyak 8 tanaman diinokulasikan dengan strain lemah CTV kemudian setelah ± 1 bulan diinokulasikan dengan strain kuat CTV,
- perlakuan ke-4 sebanyak 8 tanaman tidak diinokulasi strain CTV karena sebagai tanaman kontrol.

Kemudian sumber inokulum yang di tempel diikat dengan menggunakan plastik dan diamati perubahan gejalanya $\pm 1-2$ bulan.

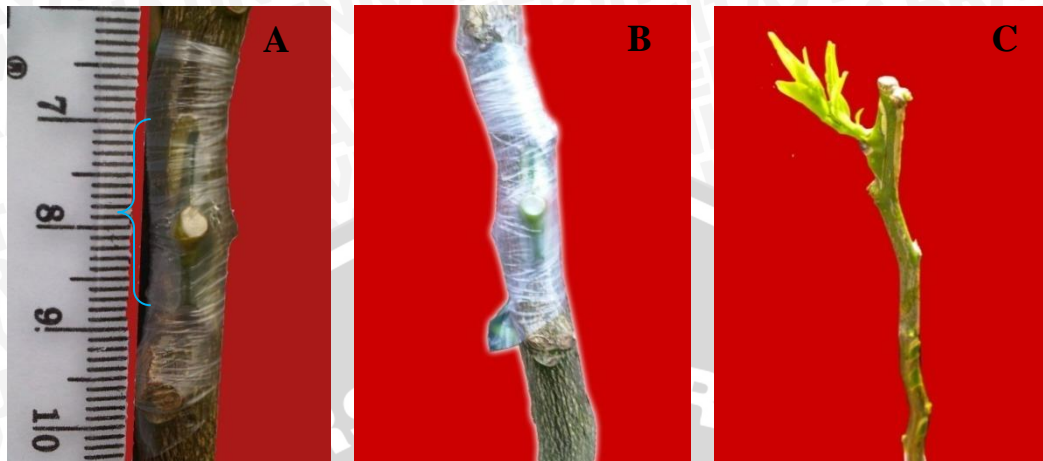


Gambar 4. Panjang sumber inokulum yang ditempel pada batang JC (A), hasil inokulasi strain lemah CTV (B), hasil inokulasi strain kuat CTV (C) dan hasil perlindungan silang (D)

3.5.2. Okulasi mata tempel jeruk besar Nambangan *seedless*

Okulasi adalah menempelkan mata tunas tanaman lain pada batang muda dan dari varietas yang sama atau antarvarietas dalam spesies. Dengan okulasi sifat-sifat baik dari kedua tanaman (batang bawah dan mata tunas dari batang lain) dapat disatukan.

Okulasi pada batang menggunakan batang bawah berumur 4-5 bulan dengan penempelan \pm 15-20 cm di atas permukaan tanah dan panjang mata tempel \pm 1-2 cm (Gambar 5). Setelah umur penginokulasian pada batang JC \pm 1 bulan maka dilakukan okulasi mata tempel dua kandidat jeruk besar Nambangan *seedless*.



Gambar 5. Panjang mata tempel jeruk besar Nambangan *seedless* (A), pengikatan plastik pada proses penempelan mata tempel (B) dan pertumbuhan tunas pada mata tempel (C)

3.5.3. Parameter pengamatan

a. Gejala

Pengamatan gejala infeksi CTV dilakukan 2 minggu setelah okulasi mata tempel yang sebelumnya batang JC diinokulasi dengan strain CTV. Kemudian tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* diamati perubahan gejalanya secara berkala dalam kurun waktu 1 minggu sekali.

b. Masa inkubasi

Perhitungan masa inkubasi dilakukan 2 minggu setelah okulasi mata tempel jeruk besar Nambangan *seedless* yang sebelumnya batang JC diinokulasi dengan strain CTV. Kemudian tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* diamati secara berkala dalam kurun waktu 2 hari sekali hingga gejala CTV tampak.

c. Pertumbuhan tunas (panjang tunas dan diameter batang tanaman)

Pengukuran pertumbuhan dilakukan 2 minggu setelah okulasi mata tempel yang sebelumnya batang JC diinokulasi dengan strain CTV. Pengukuran panjang tunas dilakukan secara berkala dalam kurun waktu 2 minggu sekali. Sedangkan

pengukuran diameter batang tanaman dilakukan dalam kurun waktu 4 minggu sekali.

d. Kerusakan jaringan tulang daun

Pengamatan ini kerusakan jaringan tulang daun dilakukan setelah tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* memunculkan gejala. Dalam pengamatan digunakan tulang daun primer kemudian diiris tipis secara melintang lalu diamati di bawah mikroskop.

e. Uji serologi ELISA

Uji ELISA dilakukan setelah tanaman memunculkan gejala \pm 3 bulan setelah tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* memunculkan daun yang bergejala.

f. Perhitungan bobot basah dan bobot kering akar tanaman

Cara untuk mendapatkan bobot basah yaitu akar tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diambil dari lapang dibersihkan dan dicuci, lalu ditiriskan pada kertas agar air yang menetes hilang kemudian akar dapat ditimbang. Setelah itu akar dimasukkan ke dalam oven pada suhu 37°C selama \pm 24 jam sehingga akan didapatkan bobot keringnya.

3.5.4. Analisa CTV

a. Coating Buffer

Dalam proses *coating buffer* langkah awal yang dilakukan yaitu menyiapkan *plate* baru (pada bagian dalam mikro *plate* jangan sampai tersentuh tangan). Setiap lubang mikro *plate* diisi dengan larutan antibodi sebanyak 100 μl . Kemudian larutan tersebut diinkubasi selama 4 jam pada suhu ruangan atau disimpan dalam lemari es selama \pm 24 jam. Lalu *plate* tersebut dicuci dengan larutan PBST sebanyak 3 kali (3 menit dalam satu kali pencucian) dan dikeringkan dengan posisi *plate* terbalik di atas kertas *tissue*.

b. Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi sampel ini menggunakan daun yang diduga memunculkan gejala. Langkah awal yang dilakukan yaitu sampel daun jeruk yang bergejala dibersihkan dengan kertas *tissue*, lalu diambil tulang daunnya dengan menggunakan silet. Tulang daun tersebut dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 0,3 gr. Potongan tersebut dihaluskan lalu ditambahkan Buffer ekstrak (*grinding*) sebanyak 3 ml (d disesuaikan dengan jumlah sampel yang digunakan). Lalu sampel dimasukkan ke dalam tabung plastik berukuran 1 ml dengan menggunakan kain saring dan disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 300 rpm. Setelah itu sampel disimpan dalam lemari es dengan waktu maksimal 24 jam.

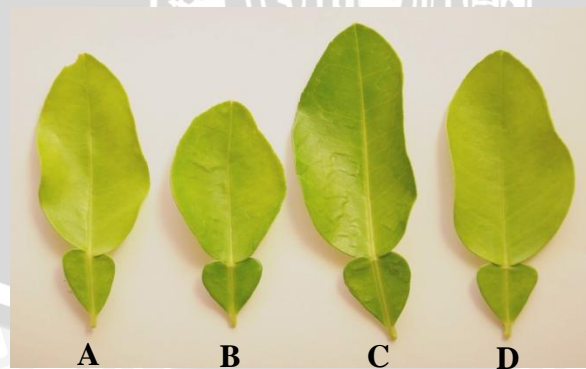
c. Analisa ekstrak

Cairan sampel yang disiapkan dimasukkan ke dalam lubang *plate* masing-masing sebanyak 100 μ l. Sampel tersebut diinkubasi selama 2 jam atau dapat disimpan dalam lemari es selama \pm 24 jam. Lalu *plate* dicuci dengan larutan PBST sebanyak 4 kali (3 menit dalam satu kali pencucian) dan dikeringkan secara terbalik di atas kertas *tissue*. Setelah kering, larutan *conyugate buffer* dimasukkan pada tiap lubang *plate* sebanyak 100 μ l kemudian diinkubasi selama 2 jam. Setelah itu *plate* dicuci kembali dengan larutan PBST sebanyak 4 kali (3 menit dalam satu kali pencucian) dan dikeringkan secara terbalik di atas kertas *tissue*. Larutan substrat kemudian dimasukkan pada tiap lubang *plate* masing-masing 100 μ l. Sampel dibiarkan dengan waktu maksimal 60 menit dan reaksi larutan dihentikan dengan larutan NaOH. Lalu sampel diamati dengan menggunakan alat Elisa Reader.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Gejala dan Masa Inkubasi

Gejala merupakan kenampakan pada tumbuhan akibat serangan virus tumbuhan yang dapat diamati melalui mata, baik tanpa atau menggunakan alat bantu penglihatan seperti mikroskop, lup dan sebagainya. Hasil pengamatan yang dilakukan pada tanaman uji belum menunjukkan gejala *vein clering*, akan tetapi terdapat gejala *vein cupping* ringan pada perlakuan inokulasi strain lemah, inokulasi strain kuat dan perlindungan silang (Gambar 6). Diduga hal tersebut diakibatkan karena virus yang menginfeksi merupakan jenis virus yang gejalanya tidak tampak serta dipengaruhi faktor lingkungan, suhu, dan ketahanan tanaman yang berbeda. Agrios (1996) melaporkan banyak jenis virus yang mungkin menginfeksi inang tertentu tanpa pernah memunculkan gejala yang dapat dilihat pada tumbuhan tersebut. Virus yang demikian dinamakan virus laten dan inangnya disebut pembawa tanpa gejala (*symptomless carriers*). Hal lain juga diduga disebabkan karena ukuran dan luas daun tersebut besar, lebar dan bersayap serta daun berbentuk *ovale* atau *elliptic ovale* (Martasari, 2008). Sedangkan pada sel parenkim daun, virus berpindah kira-kira 1 mm atau 8-10 sel per hari (Agrios, 1996), sehingga proses translokasi dan distribusi virus dalam tumbuhan berlangsung cukup lama.



Gambar 6. Kenampakan daun jeruk besar Nambangan *seedless* yang diberi perlakuan inokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C) dan tanpa perlakuan (kontrol) (D)

4.2. Pertumbuhan Tanaman Jeruk Besar Nambangan *Seedless*

Pengukuran pertumbuhan mata tunas jeruk besar Nambangan *seedless* meliputi panjang mata tunas dan diameter mata tunas.

Tabel 1. Panjang tunas dua kandidat jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat

Perlakuan	Waktu (minggu ke-)				
	4	6	8	10	12
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah CTV	6,02 ab	9,28 ab	12,25 ab	12,75 ab	13,12 ab
Inokulasi strain kuat CTV	3,03 a	3,94 a	8,9 a	9,6 a	9,91 a
Perlindungan silang	4,36 ab	11,01 bc	14,28 b	15,1 b	15,42 b
Tanpa perlakuan (kontrol)	10,08 b	15,98 c	21,12 c	22,36 c	22,61 c
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah CTV	3,3 a	8,78 a	12,62 b	13,14 b	13,14 b
Inokulasi strain kuat CTV	3,88 a	8,55 a	9,02 a	9,44 a	9,44 a
Perlindungan silang	1,42 a	8,58 a	13,93 b	14,49 b	14,49 b
Tanpa perlakuan (kontrol)	1,95 a	13,88 a	19,7 c	21,13 c	21,13 c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNJ pada taraf 5%

Panjang tunas pada kandidat 1 (P₁A₄) dan kandidat 2 (P₂A₆) dipengaruhi oleh empat perlakuan tanaman yang berbeda. Interaksi yang terjadi pada pengamatan akhir, ditunjukkan bahwa panjang tunas tanpa perlakuan berbeda nyata dan memiliki tunas lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan inokulasi strain lemah, inokulasi strain kuat dan perlindungan silang (Tabel 2). Perbedaan pertumbuhan tersebut diduga karena perbedaan perlakuan strain yang berbeda pada tiap kandidat. Agrios (1996) berpendapat bahwa gejala yang ditimbulkan akibat infeksi virus menyebabkan menurunnya laju pertumbuhan, menghasilkan berbagai tingkat kerdil (*dwarf*) atau kalaupun (*stunting*) keseluruhan tumbuhan..

Tabel 2. Diameter tunas dua kandidat jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat

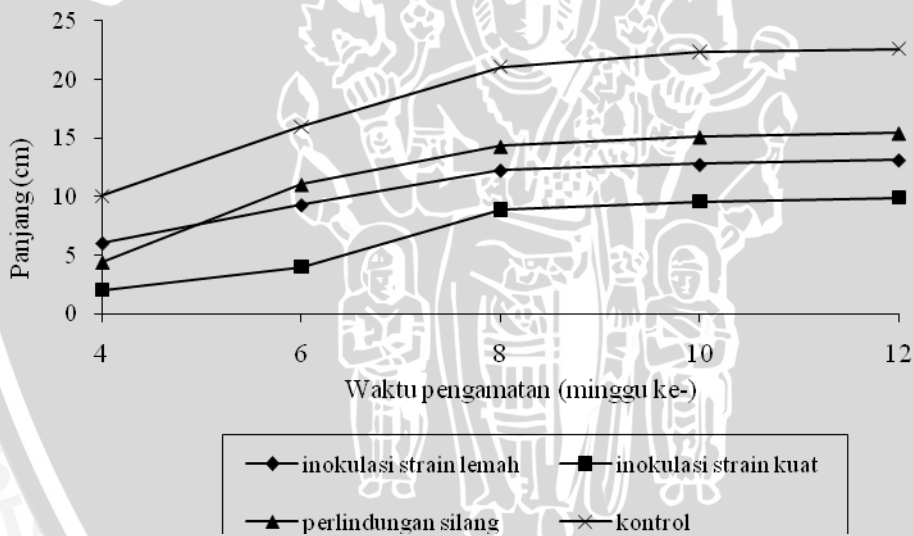
Perlakuan	Waktu Pengamatan (minggu ke-)
	12
Kandidat 1 (P₁A₄)	
Inokulasi strain lemah CTV	1,47 a
Inokulasi strain kuat CTV	1,32 a
Perlindungan silang	1,5 a
Tanpa perlakuan (kontrol)	1,67 a
Kandidat 2 (P₂A₆)	
Inokulasi strain lemah CTV	1,51 ab
Inokulasi strain kuat CTV	1,38 a
Perlindungan silang	1,66 ab
Tanpa perlakuan (kontrol)	1,74 b

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNJ pada taraf 5%

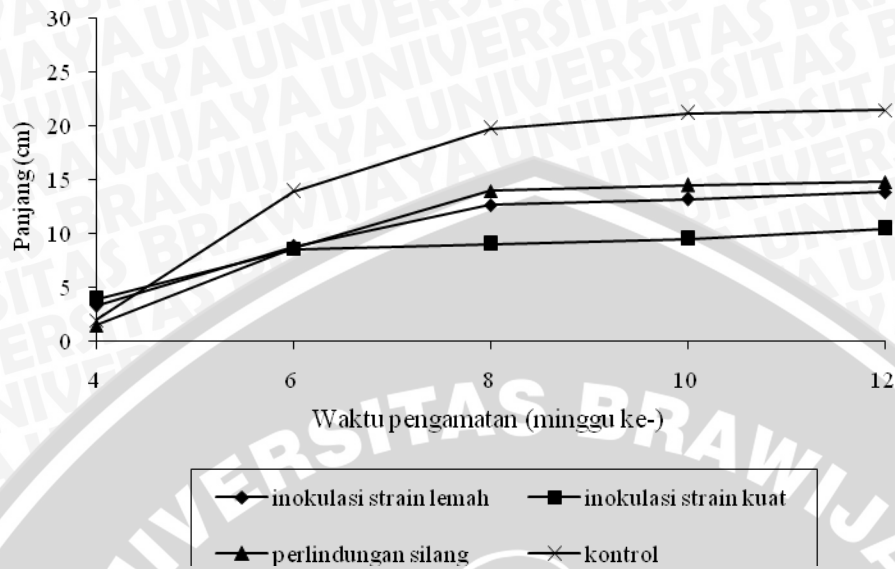
Interaksi yang terjadi (Tabel 3) pada kandidat 1 (P₁A₄) dan kandidat 2 (P₂A₆) pada pengamatan minggu ke-4 dan pengamatan minggu ke-8 belum menunjukkan perbedaan pertumbuhan, sedangkan pada pengamatan minggu ke-12 menunjukkan bahwa diameter tanaman tanpa perlakuan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan inokulasi strain kuat, namun tidak berbeda nyata dengan inokulasi strain lemah dan perlindungan silang. Jika dilihat dari angka diameter, pada tanaman tanpa perlakuan memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan inokulasi strain lemah, inokulasi strain kuat dan perlindungan silang. Ashari (1995) menyebutkan bahwa hambatan transporasi hara pada bagian pertutan dapat menyebabkan gangguan translokasi hara ke tajuk, sehingga pertumbuhan batang atas menjadi kerdil. Kemungkinan lain batang bawah dapat mempengaruhi pertumbuhan batang atas karena terganggunya aliran zat pengatur tumbuh dalam tanaman dan terganggunya hasil fotosintesis.



Gambar 7. Tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (I) dan kandidat 2 (II) yang diberi perlakuan inokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C) dan kontrol (D)



Gambar 8. Laju pertumbuhan panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol

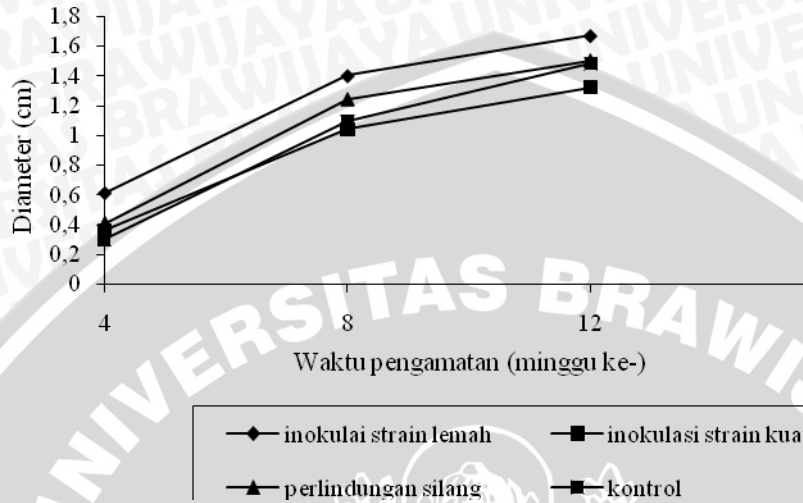


Gambar 9. Laju pertumbuhan panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 2 (P_2A_6) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol

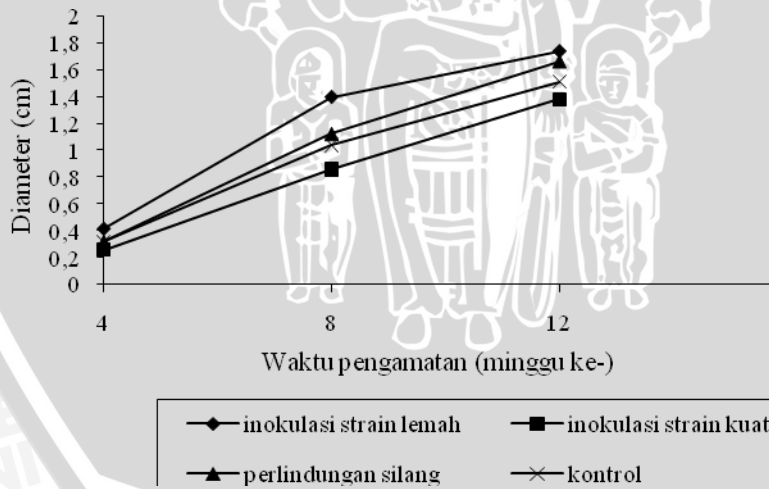
Pada Gambar 8 dan Gambar 9 dapat dilihat bahwa pertumbuhan panjang tunas masing-masing perlakuan tanaman untuk kandidat 1 dan kandidat 2 berbeda. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan tingkat respon pada masing-masing mata tunasnya. Pertumbuhan tunas yang lambat dari kedua kandidat terdapat pada perlakuan inokulasi strain kuat. Inokulasi strain kuat menyebabkan menurunnya laju pertumbuhan tunas dibandingkan dengan inokulasi strain lemah. Sama dengan pendapat Agrios (1996), gejala yang ditimbulkan akibat infeksi virus menyebabkan menurunnya laju pertumbuhan, menghasilkan berbagai tingkat kerdil (*dwarf*) atau katainya (*stunting*) keseluruhan tumbuhan. Serta dapat menyebabkan penurunan jumlah hasil dan lama hidup tumbuhan yang terinfeksi virus biasanya lebih pendek.

Pertumbuhan panjang tunas pada perlakuan inokulasi strain lemah dan proteksi silang lebih cepat dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pertumbuhan tersebut menunjukkan bahwa tanaman pada perlakuan inokulasi strain lemah tahan terhadap infeksi virus strain lemah CTV. Sedangkan perlakuan perlindungan silang tidak terinfeksi virus strain kuat CTV karena sebelumnya telah diinokulasikan dengan virus strain lemah CTV. Sehingga tanaman terlindung dari virus strain kuat karena di

dalam tanaman tersebut telah membentuk antibodi virus CTV pada saat diinokulasikan virus strain lemah CTV.



Gambar 10. Laju pertumbuhan diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol



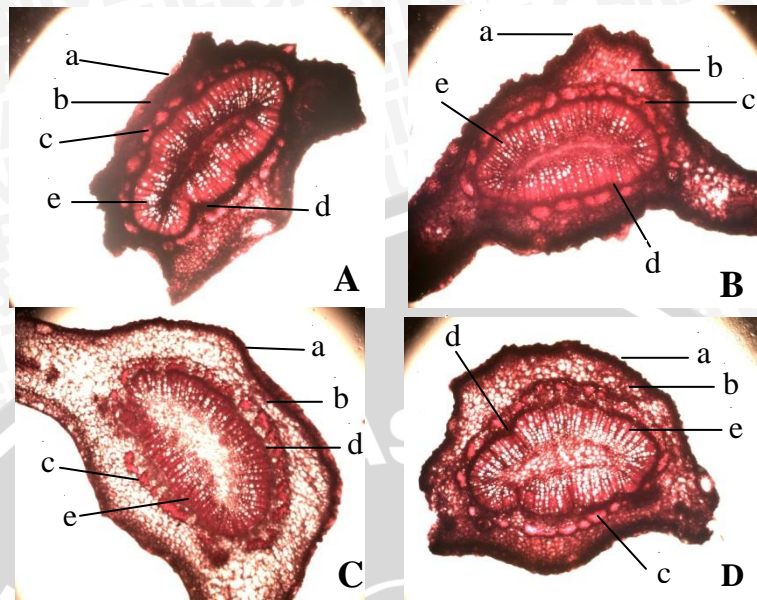
Gambar 11. Laju pertumbuhan diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 2 (P₂A₆) yang diinokulasi CTV strain lemah, inokulasi strain kuat, perlindungan silang dan kontrol

Dari Gambar 10 dan Gambar 11 dapat dilihat laju pertumbuhan diameter perlakuan inokulasi strain kuat lebih lambat dibandingkan dengan laju pertumbuhan diameter perlakuan inokulasi strain lemah, perlindungan silang dan kontrol. Sehingga disimpulkan bahwa laju pertumbuhan diameter tanaman yang diinokulasi virus strain kuat CTV diameternya lebih kecil dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan inokulasi virus lemah CTV. Perbedaan tersebut diduga disebabkan serangan virus yang menyerang menyebabkan perubahan histologis tanaman. Reduksi histologis termasuk peningkatan dan penyusutan jumlah sel, nekrosis sel dan sebagainya. Reduksi jumlah sel kambium terjadi pada gejala *stem pitting* sedangkan peningkatan jumlah sel seperti yang terjadi pada pembengkakan pucuk tanaman kakao (*swollen shoot*) (Anonymous, 2011c).

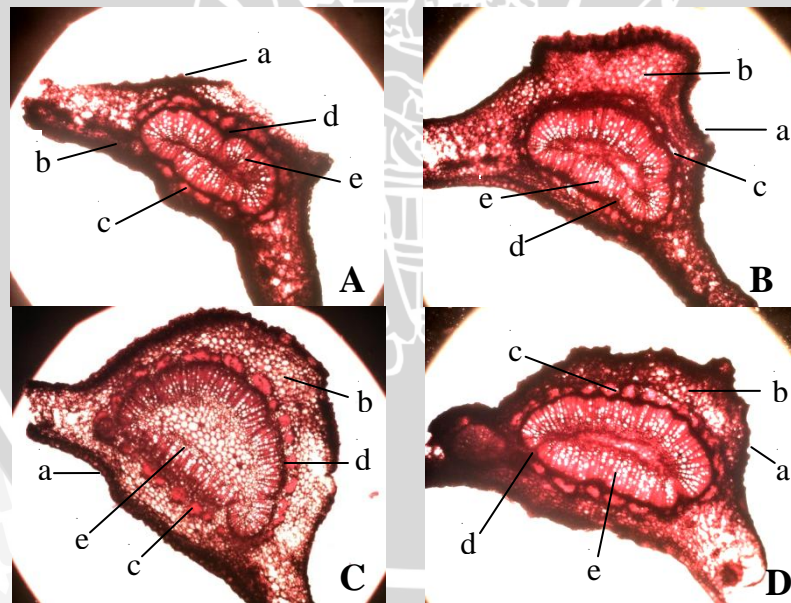
4.3. Kerusakan Jaringan Tulang Daun Tanaman Jeruk Besar Nambangan *Seedless*

Gejala mikroskopis terjadi didalam jaringan tanaman sakit dan terdapat perubahan sitologi yang muncul pada sel yang terinfeksi virus dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop cahaya. Perubahan sel yang terjadi akibat serangan virus antara lain perubahan inti sel, kloroplas dan perubahan mitokondria. CTV terjadi karena virus menginduksi ketidaksesuaian sambungan, sehingga perkembangan floem dan xilem menjadi abnormal.

Pada Gambar 12 kenampakan jaringan tulang daun tanaman kandidat 1 (P₁A₄) pada masing-masing perlakuan tidak menunjukkan perbedaan. Diduga karena konsentrasi virus pada saat inokulasi lebih kecil, sehingga proses perbanyakan virus dalam jaringan floem pun lebih lambat, sedangkan pada Gambar 13 dapat dilihat kerusakan jaringan tulang daun tanaman kandidat 2 (P₂A₆) pada tiap perlakuan berbeda. Pada perlakuan inokulasi strain kuat jaringan floem berukuran kecil dibandingkan dengan perlakuan inokulasi strain lemah, perlindungan silang dan kontrol. Hal ini membuktikan bahwa inokulasi CTV mengakibatkan kerusakan jaringan floem sehingga akan menghambat laju translokasi hasil fotosintesis ke seluruh bagian tanaman (Muharram dan Dzanuri, 1994). Kerusakan floem tersebut yang mengakibatkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat.



Gambar 12. Irisan melintang tulang daun tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄) yang telah diinokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C), dan tidak diinokulasi (kontrol) (D) pada mikroskop pembesaran 40x
Keterangan : a = epidermis, b = parenkim, c = floem, d = kambium, e = xylem



Gambar 13. Irisan melintang tulang daun tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 2 (P₂A₆) yang telah diinokulasi strain lemah CTV (A), inokulasi strain kuat CTV (B), perlindungan silang (C), dan tidak diinokulasi (kontrol) (D) pada mikroskop pembesaran 40x
Keterangan : a = epidermis, b = kortek, c = floem, d = kambium, e = xylem

4. 4. Uji DAS-ELISA

Pendeteksian CTV dapat menggunakan teknik serologi yang telah dikembangkan dengan *Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (DAS-ELISA). DAS-ELISA merupakan teknik deteksi secara cepat yang telah dikembangkan dengan aplikasi teknik deteksi patogen secara serologis (Jagoueix *et al.* 1996; Mathews *et al.* 1997) dan ELISA dapat diandalkan sebagai teknik untuk mendeteksi sampel lapangan (Rocha-pena dan Lee, 1991).

Penelitian yang telah dilakukan ini dibutuhkan uji serologi DAS-ELISA untuk mengetahui bahwa tanaman terserang virus yang telah diinokulasikan atau tidak. Berikut adalah hasil uji serologi DAS-ELISA pada sampel tanaman yang diberi beberapa perlakuan :

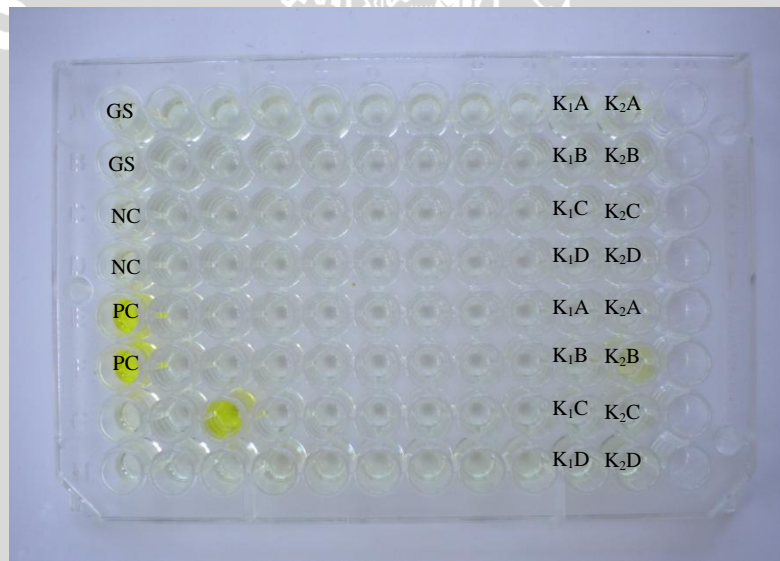
Tabel 3. Hasil *indexing* DAS-ELISA untuk tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat

Perlakuan	Rata-rata Nilai Absorban λ 405 nm	Ket.
Kandidat 1(P₁A₄)		
Inokulasi strain lemah CTV	-0,031	(-)
Inokulasi strain kuat CTV	-0,022	(-)
Perlindungan silang	-0,030	(-)
Tanpa perlakuan (kontrol)	-0,032	(-)
Kandidat 2 (P₂A₆)		
Inokulasi strain lemah CTV	-0,032	(-)
Inokulasi strain kuat CTV	0,73	(+)
Perlindungan silang	-0,034	(-)
Tanpa perlakuan (kontrol)	-0,032	(-)
Positif kontrol	0,24	(+)
Negatif kontrol	-0,058	(-)

Keterangan: Dinilai secara visual atau diukur pada ELISA reader 405 nm, ambang batas untuk reaksi positif pada plate harus > 2x kontrol negatif (Lamka, 1991).

Berdasarkan Tabel 4 pembacaan nilai absorban pada λ 405 nm hasil DAS-ELISA pada sampel tanaman jeruk menunjukkan nilai absorban yang bervariasi. Nilai absorban kontrol negatif adalah -0,058. Variasi nilai tersebut menunjukkan perbedaan konsentrasi antigen (virus tristeza) yang terdeteksi. Makin tinggi nilai absorban berarti makin tinggi konsentrasi antigen.

Konsentrasi virus dalam contoh tanaman berkorelasi positif dengan tingkat serangan. Hal ini berarti makin tinggi nilai absorban makin tinggi tingkat serangannya. Hasil uji dinyatakan positif jika nilai absorban λ 405 nm lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif. Hasil *indexing* dengan menggunakan metode DAS-ELISA pada absorban λ 405 menunjukkan sampel yang diberi perlakuan inokulasi strain kuat CTV memiliki nilai di atas kontrol negatif, yaitu dengan nilai 0,73 pada tanaman kandidat 2 (P₂A₆). Sampel tersebut dinyatakan positif terinfeksi CTV. Kemudian untuk sampel yang diberi perlakuan inokulasi strain lemah CTV, perlindungan silang dan kontrol memiliki nilai absorban di bawah kontrol negatif. Sehingga ketiga perlakuan tersebut dinyatakan negatif terinfeksi CTV. Untuk hasil perubahan warna positif (kuning) pada *plate* dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. *Plate* hasil *indexing* uji ELISA dari dua kandidat tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang positif terinfeksi CTV

Keterangan : GS = grinding solution, PC = positive control, NC = negative control, K₁= kandidat 1 (P₁A₄), K₂= kandidat 2 (P₂A₆), A = inokulasi strain lemah, B = inokulasi strain kuat, C = perlindungan silang dan D = kontrol

4.5. Bobot Basah dan Bobot Kering Akar Tanaman Jeruk Besar Nambangan

Seedless

Perhitungan bobot basah dan bobot kering yang dilakukan adalah untuk mengetahui apakah penginfeksi virus CTV mempengaruhi bobot akar tanaman. Dari Tabel 5 dapat diketahui bobot basah kandidat 1 (P₁A₄) dengan perlakuan inokulasi strain lemah 27,75 gr, inokulasi strain kuat 52,2 gr, perlindungan silang 42,93 gr dan kontrol 49,52 gr. Bobot basah kandidat 2 (P₂A₆) yang diberi inokulasi strain lemah 39,21 gr, inokulasi strain kuat 21,26 gr, perlindungan silang 39,5 gr dan kontrol 40,26 gr. Setelah di oven selama 24 jam bobot kering yang didapat kandidat 1 (P₁A₄) inokulasi strain lemah 18,9 gr, inokulasi strain kuat 44,79 gr, perlindungan silang 36,5 gr dan kontrol 36,65 gr. Bobot kering kandidat 2 (P₂A₆) inokulasi strain lemah 24,82 gr, inokulasi strain kuat 11,57 gr, perlindungan silang 33,1 gr dan kontrol 24,22 gr.

Bobot kering yang diperoleh sebagian besar berjumlah setengah dari bobot basah awal. Dari data yang diperoleh disimpulkan bahwa perhitungan bobot basah dan bobot kering tidak dapat digunakan sebagai acuan bahwa tanaman telah terinfeksi oleh CTV. Karena pertumbuhan akar tanaman pada tiap perlakuan berbeda-beda, sehingga bobot yang didapat berbeda-beda pula.

Tabel 4. Rerata bobot basah dan bobot kering akar tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi CTV strain lemah dan strain kuat

Perlakuan	Bobot Basah (gr)	Bobot Kering (gr)
Kandidat 1(P₁A₄)		
Inokulasi strain lemah CTV	27,75	18,9
Inokulasi strain kuat CTV	52,2	44,79
Perlindungan silang	42,93	36,5
Tanpa perlakuan (kontrol)	49,52	36,65
Kandidat 2 (P₂A₆)		
Inokulasi strain lemah CTV	39,21	24,82
Inokulasi strain kuat CTV	21,26	11,57
Perlindungan silang	39,5	33,1
Tanpa perlakuan (kontrol)	40,26	24,22

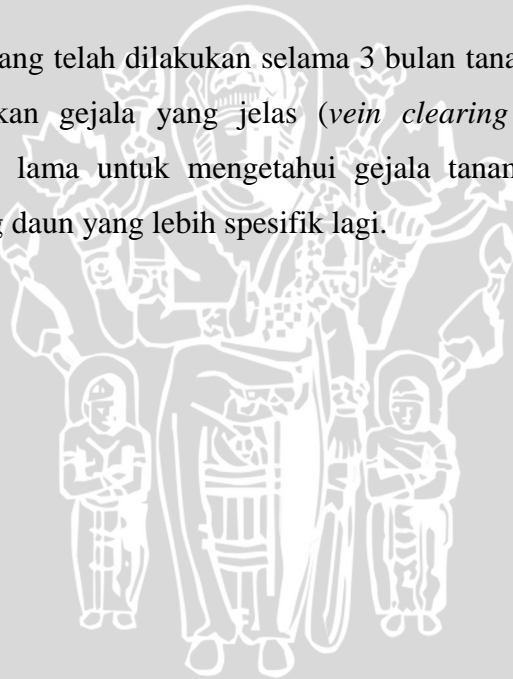
V. KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

1. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa strain lemah dapat melindungi tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* dari strain kuat.
2. Gejala yang ditimbulkan tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* setelah diberi perlakuan perlindungan silang menunjukkan gejala *vein cupping* ringan.
3. Kandidat 2 (P₂A₆) merupakan tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang toleran terhadap infeksi CTV dibandingkan kandidat1 (P₁A₄).

5.2. Saran

Hasil penelitian yang telah dilakukan selama 3 bulan tanaman yang terinfeksi CTV belum memunculkan gejala yang jelas (*vein clearing* dan *stem pitting*). Dibutuhkan waktu yang lama untuk mengetahui gejala tanaman yang jelas dan kerusakan jaringan tulang daun yang lebih spesifik lagi.



DAFTAR PUSTAKA

- Amador, J. M. 2011. Viral Diseases : Extension Plant Pathologist. Texas. The Texas A&M University System.
- Anonymous. 2011a. *Citrus maxima*. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=1530. Diunduh pada tanggal 08 Januari 2011.
- Anonymous. 2010b. Citrus Spectacular Day 2010. <http://zainurihanif.com/2010/07/05/citrus-spectacular-day-2010/>. Diunduh pada tanggal 20 Desember 2010.
- Anonymous. 2011c. Pengenalan Gejala Luar Penyakit Virus Tumbuhan.
- Anonymous. 2011d. Gejala Citrus Tristeza Virus. <http://www.bkp-pangkalpinang.deptan.go.id/download/Tristeza.pdf>. Diunduh pada tanggal 11 Juli 2011.
- Agrios, G. N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan:Edisi Ketiga. Gajah Mada University. Yogyakarta.
- Ashari, S. 1995. Hortikultura : Aspek Budidaya. UI Press. Jakarta. 485 hal.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallivitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., dan Zurcher, E.J. (eds) (1996). Plant viruses online: Descriptions and lists from VIDE Database Version: 20th August, 1996.
- Dwiastuti, M. E., A. Muharam dan A. Triwiratno. 1995. Deteksi Cepat CVPD pada Jeruk dengan Teknik Immunofluorescence. Kongres Nasional XII PFI. Yogyakarta. September 1993 (2) : 673-678.
- Fawcett H. S. dan Wallace J. M. 1946. Evidence of The Virus Nature of Citrus Quick Decline. Calif. Citrogn. 32 (50) : 88-89.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester dan F. T. Davies. 1997. Plant Propagation, Principles and Practice. Sixth Edition. Prentice-Hall International Inc. New Jersey. 770 hal.
- Indrayasa, Andri. 2011. Induksi Keragaman Genetik dengan Sinar Gamma pada Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis var. microcarpa*) secara *In Vitro*. Bogor Agricultural University. Bogor.
- Jagoueix, S., J. M. Bove, dan M. Garnier. 1996. PCR Detection of The Two 'Candidatus' Liberobacter Species Associated With Greening Disease of Citrus. Molecular and Cellular Probes (10) : 43-50.

- Lamka, G. L., J. H. Hill, Mc Gee dan E. J. Braun. 1991. Development of An Immunosorbent Assay for Seed-Borne *Erwinia stewartii*. *Phytopathology*. 81 : 839-846.
- Lee, R. 2011. Citrus Tristeza Virus. <http://ecoport.org/ep?SearchType=slideshowViewSlide&slideshowId=14&slideId=76>. Diunduh pada tanggal 11 Juli 2011.
- Mahardhika, I. B. K. 1999. Perubahan Kualitas Buah Beberapa Kultivar Jeruk Besar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) Selama Periode Pematangan. Tesis. Program Pascasarjana. IPB. 58 hal.
- Martasari, C. dan H. Mulyanto. 2008. Teknik Identifikasi Varietas Jeruk. *Iptek Hortikultura*, No. 4 Agustus 2008. Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. Malang.
- Mathews, D.M., K. Riley, dan J.A. Dodds. 1997. Comparison of Detection Methods for Citrus Tristeza Virus in Field Trees During Months of Nonoptimal Titer. *Plant Dis.* 81: 525-529.
- Muharram, A. dan Dzanuri. 1994. Uji Ketahanan Beberapa Varietas Jeruk Terhadap Virus Tristeza Jeruk (CTV). *J. Hortikultura*. 4:28-33.
- Niblett, C. L., H. Genc, B. Cevik, S. Halbert, L. Brown, G. Nolasco, B. Bonacalza, K. L. Manjunath, V. J. Vebres, H. R. Pappu dan R. L. Lee. 2000. Progress on Strain Differentiation of *Citrus Tristeza Virus* and Its Application to the Epidemiology of Citrus Tristeza Disease. *Virus Res.* 71 : 97-106.
- Ollitrault, P., F. Luro, dan M. Yamamoto. 2007. Seedlessness and ploidy manipulations, p. 197-218. In Khan, I.A (Ed). *Citrus: Genetic, Breeding, and Biotechnology*. CAB International. Cambridge.
- Rismunandar. 1995. Virus: Mengenal Penyakit Tumbuh-tumbuhan. Trigenda Karya. Bandung. 129 hal.
- Rocha-pena, M.A., R.F. Lee, R. Lastra, C.L. Niblett, F.M. Ochoa-Corona, S.M. Garensey, dan R.K. Yokomi. 1995. Citrus Tristeza Virus and Its Aphid Vector *Toxoptera citricida*: Threats to Citrus Production in The Caribbean and Central and North America. *Plant Dis.* 79: 437-445.
- Sambade, A., C. Lopez, L. Rubio, R. Flores, J. Guerri, dan P. Moreno. 2003. Polymorphism of A Specific Region in Gene p23 of *Citrus Tristeza Virus* Allows Discrimination Between Mild and Severe Isolates. *Arch. Virol.* 76 : 473-483.

Samson, J. A. 1992. Tropical Fruit. Second Edition. Longman Scientific Technical. New York. 335 hal.

Semangun, H. 2007. Penyakit-penyakit Hortikultura di Indonesia (Edisi Kedua). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 845 hal.

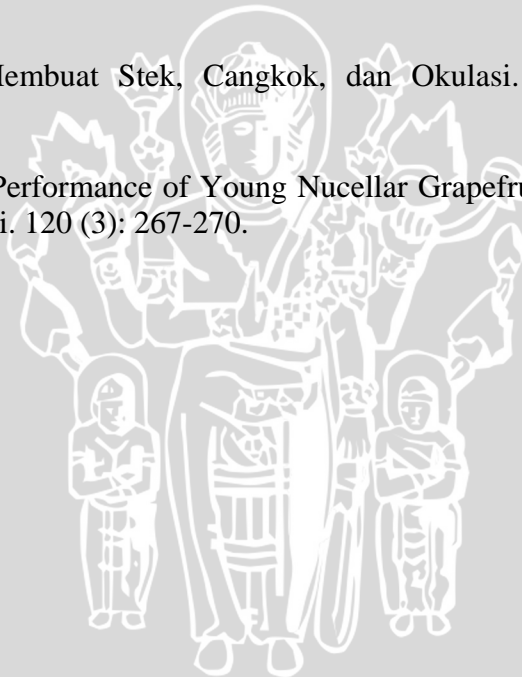
Setiawan A. I. dan H. Sunarjono. 2003. Jeruk Besar Pembudidayaan di Pot dan di Kebun. Penebar Swadaya. Jakarta. 18 hal.

Timmer, L. W., S. M. Garnsey dan J. H. Graham. 2000. Compendium of Citrus Diseases. 2d Edition. APS Press. St. Paul, Minn. 92 hal.

Wahyuni, W. S. 2005. Dasar-dasar Virologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Wudianto, R. 1998. Membuat Stek, Cangkok, dan Okulasi. Penebar Swadaya. Jakarta. 171 hal.

Wutscher, H. K. 1989. Performance of Young Nucellar Grapefruit on 20 Rootstock. J. Amer. Soc. Hor. Sci. 120 (3): 267-270.



Lampiran 1. Data Hasil Pengukuran Pertumbuhan Tanaman Jeruk Besar Nambangan *Seedless* kandidat 1 (P₁A₄) dan kandidat 2 (P₂A₆)

Tabel lampiran 1. Rerata panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-4

Perlakuan	Panjang Tunas (cm)				Rata-rata
	U1	U2	U3	U4	
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	4,15	7,7	7,1	5,15	6,025
Inokulasi strain kuat	0,5	8,65	0,5	2,5	3,0375
Perlindungan silang	1,55	9,75	4,5	1,65	4,3625
Kontrol	9,5	8,95	10,5	11,35	10,075
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	7,35	3,35	0,8	1,7	3,3
Inokulasi strain kuat	10,35	3,5	1,2	0,5	3,8875
Perlindungan silang	2,5	0,5	0,9	1,8	1,425
Kontrol	3,5	2,5	0,5	1,3	1,95

Tabel lampiran 2. Rerata panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-6

Perlakuan	Panjang Tunas (cm)				Rata-rata
	U1	U2	U3	U4	
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	8,25	10,35	8,05	10,5	9,2875
Inokulasi strain kuat	2,25	4,65	3,1	5,75	3,9375
Perlindungan silang	7,25	13,25	15,45	8,1	11,0125
Kontrol	11,5	15,8	18,65	17,95	15,975
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	11,3	6,65	8,9	8,25	8,775
Inokulasi strain kuat	18,25	7,75	6,5	1,7	8,55
Perlindungan silang	11,4	7,25	7	8,7	8,5875
Kontrol	15,6	11,3	15,4	13,2	13,875

Tabel lampiran 3. Rerata panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-8

Perlakuan	Panjang Tunas (cm)				
	U1	U2	U3	U4	Rata-rata
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	11,85	13,05	11,2	12,9	12,25
Inokulasi strain kuat	10,4	7,6	9,75	7,85	8,9
Perlindungan silang	10,65	15,25	16,85	14,4	14,2875
Kontrol	20,2	19,95	23,85	20,5	21,125
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	12,1	14,25	11,85	12,3	12,625
Inokulasi strain kuat	11,25	8,4	7,9	8,54	9,0225
Perlindungan silang	15,26	16,2	12,8	11,46	13,93
Kontrol	17,8	21,5	20,3	19,2	19,7

Tabel lampiran 4. Rerata panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-10

Perlakuan	Panjang Tunas (cm)				
	U1	U2	U3	U4	Rata-rata
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	12,65	13,75	11,76	12,84	12,75
Inokulasi strain kuat	11,43	8,3	9,97	8,73	9,6075
Perlindungan silang	11,85	15,74	17,97	14,85	15,1025
Kontrol	21,05	20,33	27,52	20,57	22,3675
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	12,97	14,62	12,2	12,8	13,1475
Inokulasi strain kuat	11,75	8,64	8,3	9,1	9,4475
Perlindungan silang	15,65	16,95	13,4	11,96	14,49
Kontrol	21,5	21,75	21,5	19,78	21,1325

Tabel lampiran 5. Rerata panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-12

Perlakuan	Panjang Tunas (cm)				Rata-rata
	U1	U2	U3	U4	
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	12,98	13,89	12,23	13,4	13,125
Inokulasi strain kuat	11,75	8,8	10,15	8,95	9,9125
Perlindungan silang	12,2	16,4	18	15,1	15,425
Kontrol	21,35	20,55	27,65	20,89	22,61
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	13,89	14,38	13,75	13,2	13,805
Inokulasi strain kuat	11,93	9,22	9,9	10,67	10,43
Perlindungan silang	15,85	17,45	13,53	12,3	14,7825
Kontrol	21,73	22,05	21,83	30,13	23,935

Tabel lampiran 6. Rerata diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-4

Perlakuan	Diameter Tunas (cm)				Rata-rata
	U1	U2	U3	U4	
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	0,2	0,55	0,2	0,25	0,3
Inokulasi strain kuat	0,2	0,38	0,58	0,28	0,36
Perlindungan silang	0,35	0,28	0,7	0,32	0,4125
Kontrol	0,42	0,75	0,68	0,6	0,6125
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	0,58	0,3	0,25	0,15	0,32
Inokulasi strain kuat	0,2	0,18	0,3	0,37	0,2625
Perlindungan silang	0,2	0,55	0,25	0,26	0,315
Kontrol	0,32	0,55	0,2	0,6	0,4175

Tabel lampiran 7. Rerata diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-8

Perlakuan	Diameter Tunas (cm)				
	U1	U2	U3	U4	Rata-rata
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	0,86	1,4	0,95	1,16	1,0925
Inokulasi strain kuat	0,9	1,24	0,74	1,31	1,0475
Perlindungan silang	1,1	1,43	0,96	1,47	1,24
Kontrol	1,2	1,22	1,54	1,63	1,3975
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	1,12	1,48	0,9	0,67	1,0425
Inokulasi strain kuat	0,96	0,77	0,74	0,95	0,855
Perlindungan silang	0,89	1,55	1,25	0,77	1,115
Kontrol	1,65	1,47	0,8	1,68	1,4

lampiran 8. Rerata diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* yang diinokulasi strain lemah, strain kuat, perlindungan silang dan kontrol pada minggu ke-12

Perlakuan	Diameter Tunas (cm)				
	U1	U2	U3	U4	Rata-rata
Kandidat 1 (P₁A₄)					
Inokulasi strain lemah	1,12	1,48	1,72	1,58	1,475
Inokulasi strain kuat	1,25	1,57	1,14	1,32	1,32
Perlindungan silang	1,45	1,75	1,2	1,6	1,5
Kontrol	1,8	1,3	1,83	1,75	1,67
Kandidat 2 (P₂A₆)					
Inokulasi strain lemah	1,44	1,83	1,45	1,32	1,51
Inokulasi strain kuat	1,29	1,58	1,37	1,27	1,3775
Perlindungan silang	1,75	1,85	1,58	1,45	1,6575
Kontrol	1,85	1,75	1,68	1,7	1,745

Lampiran 2. Analisis Varian (ANOVA)

Tabel Lampiran 1. Sidik ragam panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄)

Pengamatan (minggu ke-)	SK	JK	db	KT	F hitung	F 5%
4	Perlakuan	112,006	3	37,335	4,452	0,025
	Galat percobaan	100,624	12	8,385		
	Jumlah	212,630	15			
6	Perlakuan	295,904	3	98,635	13,007	0,000
	Galat percobaan	90,998	12	7,583		
	Jumlah	386,902	15			
8	Perlakuan	319,367	3	106,456	32,857	0,000
	Galat percobaan	38,879	12	3,240		
	Jumlah	358,246	15			
10	Perlakuan	353,699	3	117,900	22,504	0,000
	Galat percobaan	62,869	12	5,239		
	Jumlah	416,567	15			
12	Perlakuan	348,814	3	116,271	23,506	0,000
	Galat percobaan	59,358	12	4,947		
	Jumlah	408,172	15			

Tabel Lampiran 2. Sidik ragam panjang tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄)

Pengamatan (minggu ke-)	SK	JK	db	KT	F hitung	F 5%
4	Perlakuan	15,777	3	5,259	00,675	0,584
	Galat percobaan	93,484	12	7,790		
	Jumlah	109,261	15			
6	Perlakuan	82,410	3	27,470	1,815	0,198
	Galat percobaan	181,657	12	15,138		
	Jumlah	264,067	15			
8	Perlakuan	236,122	3	78,707	29,310	0,000
	Galat percobaan	32,224	12	2,685		
	Jumlah	268,346	15			
10	Perlakuan	285,341	3	95,114	40,652	0,000
	Galat percobaan	28,076	12	2,340		
	Jumlah	313,418	15			
12	Perlakuan	254,873	3	84,958	44,190	0,000

Galat percobaan	23,070	12	1,923
Jumlah	277,944	15	

Tabel Lampiran 3. Sidik ragam diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 1 (P₁A₄)

Pengamatan (minggu ke-)	SK	JK	db	KT	F hitung	F 5%
4	Perlakuan	0,220	3	0,073	2,600	0,100
	Galat percobaan	0,339	12	0,028		
	Jumlah	0,560	15			
8	Perlakuan	0,301	3	0,100	1,656	0,229
	Galat percobaan	0,728	12	0,061		
	Jumlah	1,029	15			
12	Perlakuan	0,246	3	0,082	1,522	0,259
	Galat percobaan	0,648	12	0,054		
	Jumlah	0,894	15			

Tabel Lampiran 4. Sidik ragam diameter tunas tanaman jeruk besar Nambangan *seedless* kandidat 2 (P₂A₆)

Pengamatan (minggu ke-)	SK	JK	db	KT	F hitung	F 5%
4	Perlakuan	0,050	3	0,017	0,649	0,598
	Galat percobaan	0,309	12	0,026		
	Jumlah	0,359	15			
8	Perlakuan	,614	3	0,205	1,919	0,180
	Galat percobaan	1,280	12	0,107		
	Jumlah	1,894	15			
12	Perlakuan	0,308	3	0,103	3,907	0,037
	Galat percobaan	0,315	12	0,026		
	Jumlah	0,623	15			

Lampiran 3. Nilai Absorbansi Sumber Inokulum CTV (*Citrus Tristeza Virus*)

Strain	No Sampel	Nilai Absorbansi	Gejala	Keterangan
Lemah (mild)	1	0,153	<i>Vein clearing</i> ringan	
	2	0,005	<i>Vein clearing</i> ringan	
	3	0,009	<i>Vein cupping, vein crocking</i>	
	4	0,135	<i>Vein clearing</i>	
	5	0,152	<i>Vein crocking</i>	
	6	0,003	<i>Yellowing</i>	
	7	0,152	<i>Vein cupping</i> ringan, <i>vein clearing</i>	
	8	0,15	<i>Vein crocking, vein cupping</i> ringan	
	9	0,022	<i>Vein cupping</i> ringan	
	10	0,149	<i>Vein crocking, vein clearing</i> ringan	
	11	0,148	<i>Vein cupping</i> ringan	
	12	0,146	<i>Vein cupping</i> ringan	
	13	0,152	<i>Vein clearing</i> ringan	
	14	0,153	<i>Vein crocking</i> ringan	
	15	0,147	Daun menguning	
	16	0,154	Sebagian daun tanaman hijau dan kuning	
	17	0,163	Tanaman kerdil	
	18	0,161	<i>Vein clearing</i>	
	20	0,032	<i>Vein clearing</i>	
	27	0,042	<i>Vein crocking</i>	
	32	0,051	<i>Vein crocking</i>	
	34	0,065	<i>Vein clearing, stem pitting</i>	
	44	0,025	<i>Vein clearing, vein cupping</i> ringan	Digunakan sebagai sumber inokulum strain lemah
Kuat (severe)	19	0,226	<i>Vein clearing</i>	
	21	0,246	<i>Vein cupping, vein clearing</i>	
	22	0,226	<i>Vein crocking</i>	
	24	0,251	<i>Stem pitting</i> ranting	
	25	0,227	<i>Vein cupping</i> ringan, <i>vein clearing</i>	
	28	0,224	<i>Vein cupping, vein crocking, stem pitting</i>	Digunakan sebagai sumber inokulum strain kuat
	29	0,242	<i>Vein clearing</i>	
	30	0,237	<i>Vein cupping</i> ringan	
	31	0,221	Kekurangan Mg	
	33	0,216	<i>Vein clearing</i>	
37	0,261	<i>Vein clearing</i>		
38	0,248	<i>Vein clearing</i>		
39	0,245	<i>Vein clearing</i>		
45	0,255	<i>Vein clearing</i>		

46	0,253	<i>Vein crocking</i>
47	0,247	<i>Vein cupping, blotching</i>
48	0,23	<i>Vein clearing</i>
49	0,218	<i>Vein cupping, vein clearing</i>
51	0,225	<i>Vein crocking</i>

