

ISSN 0853-2885

Jurnal
Agrikultura

Volume 18, Nomor 2, Agustus 2007

Terakreditasi oleh Direktorat Jenderal
Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional

Fakultas Pertanian
Universitas Padjadjaran

| | |
|---|---------|
| Pengantar Dari Redaksi | 69 |
| Petunjuk Penulisan Naskah | 70-72 |
| Pengaruh Perlakuan Quercetin, Temperatur dan Subkultur Berulang Terhadap Titer Geminivirus pada Tembakau Secara Kultur Jaringan (Ari Mulyasari, Sri Hendrastuti Hidayat, dan Ni Made Armini Wiendi)..... | 73-79 |
| Pemodelan Manajemen Rantai Pasokan Agribisnis Teh dengan Pendekatan Dinamika Sistem (Tomy Perdana, Yosini Deliana, dan Tuti Karyani)..... | 80-91 |
| Mobilitas Kerja dan Produktivitas Kerja Petani (Suatu Kajian Tentang Beberapa Faktor Sosial Ekonomi Petani Padi Sawah di Satuan Wilayah Pembangunan Ciawi Kabupaten Tasikmalaya, Jawa Barat) (Dedi Sufyadi)..... | 92-96 |
| The Compatibility of <i>Aglaia odorata</i> Lour (Meliaceae) Extract Formulation with the Use of <i>Trichogramma</i> spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Controlling <i>Crocidolomia pavonana</i> F. (Lepidoptera: Pyralidae) (Dananar Dono, W Darajat Natawigena, Vira Kusuma Dewi, and Nurdin Sujana)..... | 97-104 |
| Aktivitas Sediaan Insektisida <i>Calophyllum soulattri</i> Terhadap Reproduksi dan Oviposis <i>Crocidolomia pavonana</i> (Edy Syahputra)..... | 105-110 |
| Pendekatan Agropolitan Sebagai Strategi Alternatif Pembangunan Pertanian di Kabupaten Garut (Deddy Ma'mun dan Tuti Karyani)..... | 111-119 |
| Aktivitas Moluskisida Ekstrak Biji Teh (<i>Camelia sinensis</i>) (Theaceae) Terhadap Keong Mas (<i>Pomacea canaliculata</i>) (Mesogastropoda: Ampulariidae) (Martua Suhunan Sianipar, Danar Dono, Hendarsih Suharto, dan Yati Nurlaeni)..... | 120-127 |
| Respirasi dan Produksi Etilen Berbagai Kultivar Mentimun-Acar pada Berbagai Temperatur Penyimpanan (Tino Mutiarawati Onggo)..... | 128-133 |
| Pengaruh Benzylaminopurine Terhadap Pembentukan Tunas Adventif Asal Eksplan Daun Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.) <i>In Vitro</i> (Warid Ali Qosim, Roedhy Poerwanto, Guldof Albert Wattimena, dan Witjaksono)..... | 134-142 |
| Changes on Population of <i>Phytophthora palmivora</i> Butler, <i>Streptomyces</i> spp. and <i>Trichoderma</i> sp. in Soil Amended with Clove Leaf Powder or <i>Trichoderma</i> Inoculum and Their Influences on <i>P. palmivora</i> Infectivity on Cacao Pods (Umrah, Pudji Sulaksono, Rosmini, and Asrul)..... | 143-151 |
| Pengaruh Kompos Kulit Buah Kakao dan Kascing Terhadap Pertumbuhan Bibit Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Kultivar Upper Amazone Hybrid (UAH) (Santi Rosniawaty)..... | 152-159 |
| Indeks..... | 160 |



AGRIKULTURA

Alamat : Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran
Kampus Jatinangor, Bandung 40600
Telp./Fax. (022) 779-6316
E-mail : tarkussuganda@unpad.ac.id

Pelindung : Dekan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran
Penanggung jawab Ilmiah : Pembantu Dekan Bidang Akademik
Penanggung jawab Keuangan : Pembantu Dekan Bidang Administrasi dan Keuangan

DEWAN REDAKSI DAN MITRA BESTARI

Ketua : Tarkus Suganda, Prof. Ir., M.Sc., Ph.D. (Fitopatologi - Unpad)
Anggota : Achmad Riskawa, Prof., Dr., Ir., M.S., M.Sc. Ad. (Sosek Pertanian - Unpad)
Ati Srie Duriat, Dr., Ir. APU (Virologi - Balitsa)
Dananar Dono, Dr., Ir., M.S. (Ilmu Hama - Unpad)
Dedi Ruswandi, Ir., M.Sc., Ph.D. (Pemuliaan Tanaman - Unpad)
Denny Kurniadie, Dr.rer.nat., Ir., M.Sc. (Tek. Budidaya Tanaman - Unpad)
Imron Zahri, Dr., Ir. (Sosek Pertanian - Universitas Sriwijaya)
Mahfud Arifin, Prof., Dr., Ir., MS. (Ilmu Tanah - Unpad)
Noor Istifadah, Dr., Ir., M.Sc. (Fitopatologi - Unpad)
Roni Kastaman, Dr., Ir., M.T. (Fakultas Teknologi Industri Pertanian-Unpad)
Supiandi Sabiham, Prof., Dr., Ir., M.Sc. (Ilmu Tanah - IPB)

REDAKSI PELAKSANA

Ketua : Tarkus Suganda, Prof. Ir., M.Sc., Ph.D.
Anggota : Endah Yulia, S.P., M.Sc.
Fitri Widiyanti, S.P., M.Bt.S.
Dr. Anne Nurbaity, S.P., M.P.
Noladhi Wicaksana, S.P., M.P.
Rani Andriani, S.P.

- Jurnal Agrikultura terbit tiga (3) kali setahun (April, Agustus, dan Desember), memuat artikel hasil penelitian dan kupasan (*review*) orisinal dalam bidang pertanian. Dengan mengirimkan naskah ke jurnal Agrikultura, secara otomatis penulis naskah telah menyetujui bahwa naskah yang dikirimkan ke jurnal Agrikultura adalah naskah **yang belum dan tidak akan dipublikasikan** dalam media lain yang sejenis, kecuali naskah tersebut telah dinyatakan oleh Dewan Redaksi, tidak dapat dimuat dalam jurnal Agrikultura.
- Naskah **disertai surat pengantar dari penulis dan perangko balasan**, dikirimkan ke Redaksi Jurnal Agrikultura pada alamat di atas. Naskah yang diterima Redaksi akan mendapatkan bukti penerimaan naskah. Untuk penulis yang naskahnya dimuat dikenakan biaya cetak sebesar Rp. 150.000 per artikel. Naskah akan dimuat jika biaya cetak sudah kami terima. Penulis akan menerima 1 (satu) eksemplar nomor jurnal yang memuat artikelnya. Jika menginginkan eksemplar tambahan, dipersilahkan mengganti biaya cetak sebesar Rp. 50.000 per eksemplar.

Pengaruh Perlakuan Quercetin, Temperatur dan Subkultur Berulang Terhadap Titer Geminivirus pada Tembakau Secara Kultur Jaringan

Ari Mulyasari dan Sri Hendrastuti Hidayat*)
Dept. Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian,
Institut Pertanian Bogor

Ni Made Armini Wiendi
Dept. Agronomi dan Hortikultura,
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

*) Autor untuk korespondensi. Email: shidayat@ipb.ac.id

ABSTRACT

The effect of Quercetin, heat therapy, and subculturing on titer of Geminivirus on tobacco tissue culture

The research was undergone to study the effect of antiviral Quercetin, temperature, and repetitive subculturing on the geminivirus titer in tobacco tissue culture in order to have virus free plant. Tobacco plantlet was grown in Murashige-Skoog media with specific treatment, i.e. addition of Quercetin 10 mg. l⁻¹ and 20 mg. l⁻¹, heat therapy at 35 °C, 40 °C, and 50 °C, and two time subculturing. Measurement of virus titer was conducted serologically using *Indirect ELISA* method. In general, the growth of tobacco plantlets was not effected by Quercetin, nor temperature except for heat therapy at 50 °C. Addition of Quercetin to the growing media and its combination with subculturing reduced the titer of geminivirus. The same result was observed with heat therapy at 35 °C and 40 °C, and its combination with subculturing. Tissue culture plants should be tested through acimatitiation to asure the plants has been freed from systemic infection of the virus.

Keywords: Antiviral, geminivirus, tissue culture, quercetin

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk mempelajari pengaruh perlakuan antiviral Quercetin, temperatur, dan subkultur berulang terhadap titer geminivirus pada tanaman tembakau secara kultur jaringan dalam rangka mendapatkan tanaman bebas virus. Kultur tembakau ditanam menggunakan media dasar Murashige-Skoog, dengan perlakuan antiviral konsentrasi 10 mg. l⁻¹ dan 20 mg. l⁻¹, temperatur 35 °C, 40 °C, dan 50 °C, serta subkultur berulang sebanyak dua kali. Pengukuran titer virus dilakukan secara serologi menggunakan metode *Indirect ELISA*. Daya tumbuh eksplan pada saat induksi tunas adventif, dengan perlakuan Quercetin dan temperatur mencapai 100%. Perlakuan Quercetin dan kombinasinya dengan perlakuan subkultur berulang tidak menghambat pertumbuhan tunas, namun mampu menurunkan titer geminivirus. Perlakuan temperatur 50 °C menyebabkan pertumbuhan eksplan terhambat bahkan menyebabkan kematian. Walaupun demikian perlakuan temperatur 35 °C dan 40 °C dan kombinasinya dengan perlakuan subkultur berulang tidak menghambat pertumbuhan tunas, namun mampu menurunkan titer geminivirus. Tanaman hasil kultur jaringan perlu diuji lebih lanjut melalui tahapan aklimatisasi untuk dapat dinyatakan bebas dari infeksi sistemik virus.

Kata kunci: Antiviral, geminivirus, kultur jaringan, quercetin

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit tanaman yang dapat menimbulkan kerugian dan kerusakan secara ekonomi adalah penyakit yang disebabkan oleh virus tumbuhan. Banyak cara yang dapat dilakukan guna mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh virus, namun keefektifan cara tersebut relatif rendah karena infeksi virus bersifat sistemik dan beberapa virus dapat ditularkan melalui vektor (*vector-borne*) atau biji (*seed-borne*). Salah satu cara pengendalian adalah melalui penggunaan tanaman bebas virus yang dapat diperoleh melalui teknik kultur jaringan (Bos, 1994).

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu cara untuk mendapatkan tanaman bebas virus dengan menggunakan bagian vegetatif dari tanaman dan menumbuhkannya secara aseptik pada media kultur yang sesuai. Guna menambah keefektifan teknik kultur jaringan untuk mendapatkan tanaman bebas virus atau tindakan eliminasi virus, ke dalam media kultur dapat ditambahkan senyawa penghambat multiplikasi virus (antiviral). *International Potato Center/CIP* (1993) melaporkan bahwa penambahan 100 mg.l⁻¹ ribavirin ke dalam medium dapat mengeliminasi PVS (*potato virus S*), PVX (*potato virus X*), dan PVY (*potato virus Y*). Antiviral 2-thiouracil dapat meningkatkan jumlah planlet bebas virus hingga 71,2% dari infeksi SCrV (*strawberry crinkle virus*).

Selain antiviral yang merupakan perlakuan kimia atau kemoterapi, eliminasi virus dapat dilakukan dengan perlakuan temperatur atau termoterapi. Hadidi *et al.* (1998) melaporkan bahwa pada tanaman strawberry dengan perlakuan temperatur 36°C selama 6 minggu dapat mengeliminasi SMYEV (*strawberry mild yellow edge virus*) hingga 82%. Infeksi CMV (cucumber mosaic virus) pada kultur tembakau dapat dieliminasi dengan temperatur 40°C selama 16 jam dan temperatur 22°C selama 8 jam.

Teknik kultur meristem dapat pula dilakukan dalam upaya mengeliminasi virus. Untuk mengefektifkan perlakuan, kultur meristem dapat digabung dengan perlakuan lain, misalnya perlakuan kimia, temperatur atau subkultur berulang. Nurhayati *dkk.* (1993) melaporkan perlakuan kultur meristem dan penambahan ribavirin dapat mengeliminasi PVX dan PVY hingga 100%. Demikian pula Hadidi *dkk.* (1998) berhasil mengeliminasi CarRSV (*carnation ring spot virus*) hingga 95% dengan menggunakan kultur meristem

yang diikuti dengan perlakuan temperatur 36°C selama empat minggu.

Penelitian tentang eliminasi virus telah banyak dilakukan dengan berbagai perlakuan, namun masih perlu pengembangan perlakuan yang lain guna mengefektifkan perlakuan untuk mendapatkan tanaman bebas virus. Dalam tulisan ini kami laporkan hasil penelitian yang bertujuan untuk mempelajari pengaruh perlakuan antiviral Quercetin, yang merupakan salah satu senyawa antiviral (Sigma 2003), temperatur, dan subkultur berulang terhadap titer geminivirus pada tanaman tembakau secara kultur jaringan dalam rangka mendapatkan tanaman bebas virus.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Media Kultur

Media kultur yang digunakan untuk perbanyakan eksplan adalah medium padat Murashige-Skoog dengan campuran larutan unsur hara makro dan mikro, zat pengatur tumbuh (ZPT) 0,1 mg.l⁻¹ IAA dan 2 mg.l⁻¹ 2ip serta sukrosa sebanyak 30 g.l⁻¹. Medium kultur yang digunakan untuk perlakuan sama dengan media perbanyakan hanya sukrosa diganti dengan gula sebanyak 30 g.l⁻¹, sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 0,1 mg.l⁻¹ IAA dan 2 mg.l⁻¹ BAP.

Isolasi Eksplan dari Tanaman Induk

Eksplan yang digunakan adalah daun tembakau yang terinfeksi geminivirus. Isolasi dilakukan dengan sterilisasi eksplan yang dilakukan melalui 2 tahap pengerjaan. Tahap pertama adalah sterilisasi daun dengan menggunakan larutan fungisida. Daun yang akan digunakan dipotong dengan ukuran ± 2x2 cm tanpa tulang daun, dicuci dengan air yang mengalir kemudian direndam dalam larutan fungisida (2 g fungisida dilarutkan dalam 1 l aquades steril), dikocok pada kecepatan 100 rpm selama ± 1 jam kemudian dibilas 2-3 kali dengan menggunakan aquades steril. Tahap selanjutnya, daun yang telah dibilas, direndam dalam larutan kloroks 20% selama 10 menit kemudian dibilas 2-3 kali dengan menggunakan aquades steril. Kemudian daun direndam dalam larutan kloroks 5% selama 10 menit. Setelah daun dibilas 2-3 kali dengan menggunakan aquades steril dilakukan pemotongan bagian tepi daun yang mengalami lisis akibat penggunaan kloroks. Sebagai kontrol negatif,

digunakan benih tembakau bebas virus yang disiapkan melalui perlakuan sterilisasi yang sama.

Penanaman Eksplan dan Perbanyakkan Tunas

Potongan daun dan benih tembakau yang telah mengalami tahap sterilisasi permukaan kemudian ditanam pada medium MS0 (MS tanpa zat pengatur tumbuh) sebagai medium *preconditioning* untuk menyeleksi eksplan yang aseptik. Botol-botol kultur disimpan pada ruang inkubasi dengan 16 jam penyinaran, dan temperatur 25°C. Setelah masa inkubasi ± 1 minggu dan eksplan tidak mengalami kontaminasi, dilakukan subkultur ke medium induksi tunas adventif yaitu medium MS dengan penambahan 0,1 mg.l⁻¹ IAA dan 2 mg.l⁻¹ 2ip. Setelah 3 minggu, dilakukan subkultur tunas adventif untuk perbanyakkan pada media yang baru. Untuk mendapatkan jumlah tunas adventif yang siap diberi perlakuan, dibutuhkan 4 kali subkultur.

Perlakuan Quercetin, Temperatur, dan Subkultur

Bahan kimia yang digunakan sebagai antiviral yaitu Quercetin (Sigma 2003) dengan konsentrasi 10 dan 20 mg.l⁻¹. Temperatur yang digunakan untuk *shock therapy* adalah temperatur 35, 40, dan 50°C. Bagian eksplan yang digunakan untuk perlakuan adalah tunas adventif tembakau dengan ukuran tinggi berkisar antara 1-2 cm. Pada perlakuan antiviral dan temperatur masing-masing dilakukan 2 kali subkultur.

Perlakuan Quercetin diberikan dengan cara menanam tunas adventif tembakau di dalam medium yang telah ditambah Quercetin. Kultur disimpan di ruang inkubasi selama 3 minggu dan selanjutnya tunas yang telah tumbuh disubkultur dengan memotong pucuk terminal dan pucuk aksilar sebagai eksplan untuk perlakuan subkultur berulang. Setelah 3 minggu dilakukan lagi subkultur dengan cara yang sama.

Kultur yang akan diberi perlakuan temperatur ditanam dalam media MS yang telah ditambah zat pengatur tumbuh. Kultur disimpan di ruang inkubasi selama 2 minggu dan selanjutnya kultur disimpan dalam inkubator sebagai sarana *shock therapy* selama 3 hari. Selanjutnya kultur dipindah kembali ke ruang inkubasi selama 1-2 hari. Tunas yang tumbuh digunakan untuk subkultur dengan cara memotong pucuk terminal dan pucuk aksilar sebagai eksplan untuk perlakuan subkultur berulang. Kultur kemudian diberi perlakuan temperatur yang sama dengan subkultur pertama.

Pengukuran Titer Geminivirus

Pengukuran titer virus dilakukan dengan ELISA sebanyak 3 kali yaitu sebelum perlakuan, 3 minggu setelah subkultur I, dan 3 minggu setelah subkultur II. Teknik ELISA yang digunakan adalah *indirect* ELISA. Sampel tanaman (antigen) digerus dalam bufer ekstraksi (BE) dengan perbandingan ± 0,03 g daun sakit dalam 300µl BE. Antigen dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran pada plat mikrotiter sebanyak 100 µl dan diinkubasi pada temperatur 4°C selama semalam. Setelah dicuci sebanyak 4-8 kali dengan PBST, tiap-tiap sumuran diisi dengan antibodi geminivirus yang telah dilarutkan dalam bufer ECI dan plat diinkubasi pada temperatur 37°C selama 2 jam. Plat dicuci sebanyak 4-8 kali dengan PBST kemudian diisi dengan konjugat universal sebanyak 100 µl/sumuran. Plat diinkubasi pada temperatur 37°C selama 2 jam. Plat dicuci kembali sebanyak 4-8 kali dengan PBST kemudian ditambahkan larutan PNP sebanyak 100 µl/sumuran. Plat diinkubasi selama 30-60 menit di dalam kotak lembab pada temperatur ruang dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil pengukuran konsentrasi virus dapat dibaca dengan menggunakan *ELISA reader*.

Rancangan Percobaan dan Pengamatan

Penelitian terdiri atas dua set percobaan yang terpisah. Masing-masing percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dan masing-masing percobaan terdiri atas 3 ulangan. Percobaan I adalah perlakuan dengan Quercetin sebagai faktor pertama yang terdiri atas 4 taraf perlakuan yaitu konsentrasi 10 mg.l⁻¹, 20 mg.l⁻¹, kontrol negatif dan kontrol positif. Faktor kedua adalah banyaknya subkultur yang terdiri dari 2 taraf perlakuan yaitu subkultur I dan subkultur II. Setiap ulangan terdiri dari 5 botol kultur dengan 2 eksplan pucuk terminal dan 2 pucuk aksilar/botol sehingga terdapat 240 unit contoh pengamatan. Percobaan II adalah perlakuan dengan temperatur sebagai faktor pertama yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu temperatur 35, 40, 50°C, kontrol negatif dan kontrol positif. Faktor kedua adalah banyaknya subkultur yang terdiri atas 2 taraf perlakuan yaitu subkultur I dan subkultur II. Setiap ulangan terdiri dari 5 botol kultur dengan 2 eksplan pucuk terminal dan 2 pucuk aksilar/botol sehingga terdapat 300 unit contoh pengamatan.

Data hasil pengukuran titer virus dianalisis dengan uji F menggunakan program SAS for Window v 6.12 melalui *Analysis of Variance*

(Anova) yang dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan pada taraf nyata 5% ($\alpha = 0,05$). Interaksi antara perlakuan quercetin dan subkultur berulang atau perlakuan temperatur dan subkultur berulang dianalisis dengan uji *Least Square Means* (LSMeans) pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keadaan Umum Kultur

Eksplan tembakau memiliki tunas adventif yang tumbuh merumpun. Selama perbanyakan eksplan terjadi kontaminasi oleh jamur sebanyak 20% untuk eksplan yang berasal dari potongan daun, dan 10% untuk eksplan yang berasal dari benih tembakau. Setelah dilakukan empat kali subkultur diperoleh jumlah eksplan yang mencukupi untuk perlakuan. Pada 3 minggu setelah tanam (3 MST) daya tumbuh eksplan mencapai 100% setelah perlakuan Quercetin, temperatur, dan subkultur dan tidak ditemukan kontaminasi pada kultur.

Daun yang dihasilkan dari masing-masing eksplan yang telah diberi perlakuan Quercetin tampak berwarna hijau. Demikian pula pada eksplan yang telah diberi perlakuan temperatur 35°C. Keadaan yang berbeda tampak pada eksplan yang diberi perlakuan temperatur 40°C dan 50°C. Pada perlakuan temperatur 40°C tunas pucuk berwarna hijau tetapi daun berwarna kuning. Pada perlakuan temperatur 50°C eksplan mengalami perubahan warna sejak hari pertama, yaitu menjadi coklat dan akhirnya mati pada hari ketiga. Penentuan temperatur merupakan hal yang penting karena diharapkan temperatur efektif yang digunakan dalam teknik kultur jaringan berpengaruh terhadap konsentrasi virus namun tidak menyebabkan tanaman mati. Perlakuan temperatur 35°C dan 40°C tampaknya tidak mengganggu pertumbuhan eksplan, tetapi temperatur 50°C tidak dapat ditolerir oleh kultur tembakau dan menyebabkan kematian. Oleh karena itu perlakuan temperatur 50°C tidak dianjurkan dalam perlakuan kultur jaringan.

Pengaruh Perlakuan Quercetin, Temperatur, dan Subkultur terhadap Titer Geminivirus

Titer awal geminivirus diperkirakan dengan melakukan ELISA pada beberapa eksplan sebelum diberi perlakuan quercetin, temperatur, atau subkultur. Sebagai pembanding digunakan tanaman tembakau sehat dan terinfeksi geminivirus yang berasal dari rumah kaca. Rata-rata nilai absorbansi hasil ELISA untuk tanaman tembakau terinfeksi geminivirus asal rumah kaca ternyata lebih rendah dibandingkan dengan eksplan asal kultur jaringan (Tabel 1). Titer geminivirus pada eksplan asal kultur jaringan tersebut mengalami penurunan setelah eksplan diberi perlakuan Quercetin, temperatur, atau subkultur berulang (Tabel 2, 3, 4, 5). Hal tersebut merupakan indikasi bahwa perlakuan-perlakuan tersebut mempunyai potensi untuk mengeliminasi virus dari jaringan tanaman.

Perlakuan Quercetin pada 3 tingkat konsentrasi tidak menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap titer virus, baik pada eksplan pucuk terminal maupun pucuk aksilar (Tabel 2). Antiviral yang digunakan dalam penelitian ini adalah Quercetin (2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-onedihydrate; 3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone dihydrate) (Sigma 2003) yang merupakan antioksidan alami yang terdapat pada tanaman anggur. Quercetin dapat pula digolongkan ke dalam bioflavonoid yang dapat menghambat proses proliferasi dan transduksi enzim termasuk di dalamnya protein kinase, tyrosine kinase, cdc25 phosphatase, P1-3 kinase, DNA topoisomerase II, Na⁺ K⁻ ATPase, dan c-Jun N-terminal kinase (Nguyen *et al.*, 2004). Diketahui bahwa quercetin dapat mencegah perkembangan dan replikasi virus (HealthGate CAM Medical Review Board, 2003) dan berpengaruh positif terhadap beberapa virus diantaranya virus herpes, dan polio. Aplikasi Quercetin sebagai antiviral dalam penelitian ini masih perlu dikaji ulang untuk mempelajari potensinya sebagai agen pengeliminasi virus pada bahan tanaman.

Tabel 1. Rata-rata nilai absorbansi hasil ELISA pada eksplan tembakau sebelum perlakuan Quercetin, temperatur, dan subkultur.

| Asal tanaman/eksplan | Rata-rata nilai absorbansi |
|---|----------------------------|
| Tembakau sehat, asal rumah kaca | 0,57 |
| Tembakau terinfeksi <i>geminivirus</i> , asal rumah kaca | 1,02 |
| Tembakau terinfeksi <i>geminivirus</i> , asal kultur jaringan | 1,35 |

Tabel 2. Pengaruh perlakuan Quercetin terhadap titer geminivirus pada eksplan tembakau.

| Konsentrasi quercetin (mg.l ⁻¹) ^{a)} | Rata-rata nilai absorbansi hasil ELISA ^{b)} | |
|--|--|---------------|
| | Pucuk terminal | Pucuk aksilar |
| 0 (Kontrol -) | 0,32 a | 0,56 a |
| 0 (Kontrol +) | 0,57 a | 0,70 a |
| 10 | 0,30 a | 0,41 a |
| 20 | 0,36 a | 0,61 a |
| KK (%) | 60,60 | 37,17 |

Keterangan: ^{a)}Kontrol - = eksplan sehat yang ditumbuhkan pada media tanam tanpa Quercetin; Kontrol + = eksplan terinfeksi *geminivirus* yang ditumbuhkan pada media tanam tanpa Quercetin. ^{b)} Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang ganda Duncan pada taraf $\alpha=5\%$. KK = koefisien keragaman.

Demikian pula 4 tingkat perlakuan temperatur tidak menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap titer virus pada eksplan tembakau (Tabel 3). Sebelumnya telah dilaporkan bahwa perlakuan temperatur merupakan teknik yang efektif untuk membebaskan tanaman dari infeksi virus terutama kelompok virus isometrik dan infeksi yang disebabkan oleh mikoplasma (Pierik, 1987). Perlakuan temperatur dapat menurunkan atau menghentikan replikasi dan perpindahan virus di dalam tanaman, yaitu melalui perubahan dari proses biokimia virus yang berhubungan dengan susunan α -quinones, dan mengganggu ikatan fosfodiester

ribonukleat (Hadidi *et al.* 1998). CIP (1993) berhasil mengeliminasi virus-virus yang menyerang tanaman kentang dengan menggunakan temperatur 36°C selama 16 jam dan 30°C selama 8 jam dan dilakukan selama 30 hari dengan tingkat intensitas cahaya 5000 lux. Pierik (1987) melaporkan bahwa eliminasi virus dari tanaman anggur dapat diperoleh dengan menggunakan pucuk, kemudian diberi perlakuan temperatur 35°C selama 21 hari. Keefektifan perlakuan temperatur untuk menurunkan titer geminivirus pada eksplan tembakau perlu dipelajari lebih lanjut, misalnya melalui pengaturan waktu perlakuan, dan intensitas cahaya yang lebih baik.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan temperatur terhadap titer geminivirus pada eksplan tembakau.

| Temperatur (°C) ^{a)} | Rata-rata nilai absorbansi hasil ELISA ^{b)} | |
|-------------------------------|--|---------------|
| | Pucuk terminal | Pucuk aksilar |
| 25 (Kontrol -) | 0.32 a | 0.56 a |
| 25 (Kontrol +) | 0.57 a | 0.70 a |
| 35 | 0.40 a | 0.38 a |
| 40 | 0.48 a | 0.59 a |
| 50 | 0.47 a | 0.41 a |
| KK (%) | 60.60 | 37.17 |

Keterangan: ^{a)}Kontrol - = eksplan sehat yang ditumbuhkan pada media tanam pada temperatur ruang 25°C; Kontrol + = eksplan terinfeksi *geminivirus* yang ditumbuhkan pada media tanam pada temperatur ruang 25°C. ^{b)} Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang ganda Duncan pada taraf $\alpha=5\%$. KK = koefisien keragaman.

Secara umum perlakuan subkultur pada eksplan yang telah diberi perlakuan quercetin maupun temperatur tidak berpengaruh nyata terhadap titer geminivirus. Pengecualian tampak pada eksplan yang ditumbuhkan pada media yang

mengandung Quercetin dimana terjadi penurunan titer geminivirus yang nyata setelah subkultur II pada bagian aksilar (Tabel 4). Walaupun tidak menyebabkan perubahan yang nyata, perlakuan subkultur menyebabkan titer geminivirus cenderung

menurun pada eksplan yang ditumbuhkan pada kondisi temperatur yang berbeda (Tabel 5). Subkultur sendiri merupakan bagian terpenting dalam teknik kultur jaringan, yaitu untuk memperbanyak planlet sebelum planlet dilanjutkan ke tahap aklimatisasi. Frekuensi pengulangan dari subkultur bervariasi untuk setiap spesies dan kondisi

pertumbuhan. Beberapa jenis eksplan dapat disubkultur tiap 4-8 minggu dengan 3-6 kali subkultur (Wetherell, 1976; Wiendi, 2004). Penambahan perlakuan subkultur pada eksplan tembakau yang terinfeksi geminivirus perlu dilakukan guna meningkatkan efektifitas perlakuan subkultur untuk mengeliminasi virus.

Tabel 4. Pengaruh subkultur berulang pada perlakuan Quercetin terhadap titer geminivirus pada eksplan tembakau.

| Perlakuan | Rata-rata nilai absorbansi ELISA ^{a)} | |
|--------------|--|---------------|
| | Pucuk terminal | Pucuk aksilar |
| Subkultur I | 0.20 a | 0.18 a |
| Subkultur II | 0.17 a | 0.12 b |
| KK (%) | 26.05 | 27.33 |

Keterangan: ^{a)}Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang ganda Duncan pada taraf $\alpha=5\%$. KK = koefisien keragaman.

Tabel 5. Pengaruh subkultur berulang pada perlakuan temperatur terhadap titer geminivirus pada eksplan tembakau.

| Perlakuan | Rata-rata nilai absorbansi ELISA ^{a)} | |
|--------------|--|---------------|
| | Pucuk terminal | Pucuk aksilar |
| Subkultur I | 0.19 a | 0.18 a |
| Subkultur II | 0.22 a | 0.14 a |
| KK (%) | 37.41 | 43.78 |

Keterangan: ^{a)} Angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang ganda Duncan pada taraf $\alpha=5\%$. KK = koefisien keragaman.

Hal lain yang menarik dari penelitian ini adalah perbedaan titer geminivirus pada bagian pucuk terminal dan pucuk aksilar. Terlihat ada kecenderungan bahwa titer geminivirus pada bagian pucuk aksilar lebih tinggi dibandingkan dengan bagian pucuk terminal. Walaupun demikian, penurunan titer geminivirus yang terjadi pada pucuk aksilar setelah perlakuan Quercetin, temperatur, dan subkultur juga cenderung lebih tinggi. Sebagai contoh pengaruh subkultur berulang pada perlakuan Quercetin menyebabkan penurunan titer virus sebesar 15% pada eksplan terminal, sedangkan pada eksplan aksilar mencapai 33%. Kejadian tersebut dapat menjadi dasar pertimbangan dalam pemilihan bahan tanaman yang akan digunakan dalam usaha pembebasan virus melalui teknik kultur jaringan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Perlakuan antiviral Quercetin tidak menghambat pertumbuhan eksplan tembakau, tetapi

perlakuan temperatur sangat mempengaruhi pertumbuhan eksplan tembakau. Pertumbuhan eksplan pada perlakuan temperatur 40°C cenderung lebih tertekan dibandingkan pada temperatur 35°C, sedangkan temperatur 50°C dapat menyebabkan kematian eksplan. Walaupun terjadi penurunan titer geminivirus, tetapi perlakuan Quercetin dan temperatur tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan titer geminivirus. Demikian pula perlakuan subkultur tidak dapat meningkatkan secara nyata efektifitas Quercetin dan temperatur sebagai perlakuan untuk mengeliminasi virus.

Saran

Penelitian sebaiknya dapat dilanjutkan dengan menambahkan perlakuan subkultur dan meneruskan ke tahap aklimatisasi untuk memastikan kemampuan teknik kultur jaringan dalam upaya mengeliminasi virus.

DAFTAR PUSTAKA

- Bos, L. 1994. Pengantar Virologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Hadidi, A, RK Khetarpal, and H Koganezawa. 1998. Plant Virus Disease Control. APS Press. Minnesota.
- HealthGate CAM Medical Review Board. 2003. Herbs and supplements: Quercetin. EBSCO Publishing.
- International Potato Center (CIP). 1993. Basic techniques in plant virology. Lima, Peru.
- Nguyen, TTT, E Tran, TH Nguyen, PT Do, TH Huynh, and H Huynh. 2004. The role of activated MEK-REK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells. *Carcinogenesis*. 25(5): 647-659.
- Nurhayati, E, R Suseno, GA Wattimena, dan I Mariska. 1993. Eliminasi *PVX* dan *PVY* dari tanaman kentang dengan perlakuan ribavirin dan/atau subkultur pada kultur pucuk dan meristem tunas samping. *Buletin HPT*. 6: 66-72.
- Pierik, RLM. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Boston.
- Wetherell, DF. 1976. Pengantar Propagasi Tanaman Secara *In Vitro*. Seri Kultur Jaringan. Avery Publi Group Inc. New Jersey.
- Wiendi, NMA. 2004. Pengaruh air kelapa, zeolit, dan subkultur beruntun terhadap daya multiplikasi tunas pisang tanduk secara in vitro. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. (Tidak dipublikasikan)
-