

VIRUS NILAM: IDENTIFIKASI, KARAKTER BIOLOGI DAN FISIK, SERTA UPAYA PENGENDALIANNYA

Patchouli Viruses: Identification, Biological and Physical Characters, and Control Strategy

Miftakhurohmah dan Rita Noveriza

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111, Indonesia
Telp. (0251) 8321879; Faks. (0251) 8327010

E-mail: miftah_tia05@yahoo.co.id, balittro@litbang.pertanian.go.id

Diterima: 11 November 2014; Direvisi: 20 Januari 2015; Disetujui: 28 Januari 2015

ABSTRAK

Infeksi virus pada tanaman nilam dapat menyebabkan penurunan produksi dan kualitas minyak. Sembilan jenis virus diidentifikasi menginfeksi tanaman nilam, yaitu *Patchouli mosaic virus* (PatMoV), *Patchouli mild mosaic virus* (PatMMV), *Telosma mosaic virus* (TeMV), *Peanut stripe virus* (PStV), *Patchouli yellow mosaic virus* (PatYMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Broad bean wilt virus 2* (BBWV2), *Cucumber mosaic virus* (CMV), dan *Cymbidium mosaic virus* (CymMV). Kesembilan virus tersebut memiliki genom RNA, tetapi panjang dan bentuk partikelnya berbeda. Deteksi dan identifikasi berdasarkan bagian partikel virus dapat dilakukan secara serologi dengan teknik ELISA dan secara molekuler dengan RT-PCR. Gejala awal tanaman nilam terserang virus yaitu mosaik atau belang pada daun pucuk dan pada gejala berat tanaman menjadi kerdil. Infeksi virus dapat bersifat tunggal, tetapi ada pula infeksi oleh beberapa virus. Virus menular secara mekanis dan sebagian melalui penyumbungan dan vektor. TNV, BBWV2, dan CMV memiliki kisaran inang yang luas, sedangkan virus yang lain inangnya terbatas. Virus nilam umumnya memiliki titik panas inaktivasi dan titik batas pengenceran yang tinggi, sedangkan ketahanan *in vitro* tidak stabil. Pendekatan terbaik pengendalian virus ialah menggunakan bahan tanaman bebas virus atau tahan virus dan pengendalian vektor. Tanaman bebas virus dapat diperoleh melalui kultur meristem, sedangkan pengendalian vektor dapat menggunakan pestisida nabati atau kimia.

Kata kunci: Nilam, virus, karakter biologi, karakter fisik, pengendalian virus

ABSTRACT

Virus infection in patchouli can decrease production and oil quality. Nine viruses are identified infecting patchouli plants, namely Patchouli mosaic virus (PatMoV), Patchouli mild mosaic virus (PatMMV), Telosma mosaic virus (TeMV), Peanut stripe virus (PStV), Patchouli yellow mosaic virus (PatYMV), Tobacco necrosis virus (TNV), Broad bean wilt virus 2 (BBWV2), Cucumber mosaic virus (CMV), and Cymbidium mosaic virus (CymMV). Genomes of all viruses are RNA, but the particles length and shape are different. Detection and identification of parts of viral particles can be performed serologically by ELISA techniques and molecularly by

RT-PCR. Early symptoms are mosaic or stripes in leaf buds, then the severe symptoms caused stunted plant growth. The disease may be caused by single or more virus infection. The viruses are transmitted mechanically, and some of them could be transmitted through grafting and vectors. TNV, BBWV2, and CMV have a wide host range, whereas other viruses are limited. Thermal inactivation point and dilution end point of patchouli viruses are generally relatively high, while their longevity in vitro are unstable. The best approaches of viral control are using virus-free or virus-resistant plants and controlling insect vectors. Virus-free plants can be obtained through meristem culture techniques and vector control is done by spraying botanical or chemical pesticides.

Keywords: Patchouli, viruses, biological characters, physical characters, virus control

PENDAHULUAN

Minyak nilam, yang dalam perdagangan internasional dikenal sebagai *patchouli oil*, merupakan bahan pengikat aroma wangi yang tidak dapat digantikan zat sintetis lain. Minyak ini digunakan dalam industri pembuatan parfum, sabun, aroma terapi, dan kosmetik. Minyak nilam menjadi salah satu sumber devisa negara karena Indonesia merupakan pengekspor terbesar minyak nilam di dunia. Volume ekspor minyak nilam dari Sumatera Utara pada tahun 2012 mencapai 1.860 ton, meningkat dari tahun sebelumnya 1.644 ton. Namun, karena harga menurun sekitar Rp100/kg, nilai ekspor minyak nilam menurun dari USD 7.657 juta pada Desember 2011 menjadi USD 5.987 juta pada Desember 2012 (Medan Bisnis 2013).

Pengembangan tanaman nilam menghadapi beberapa kendala, di antaranya serangan penyakit. Penyakit mosaik yang diakibatkan oleh virus akhir-akhir ini menjadi penyakit penting pada tanaman nilam karena penyakit menyebar sangat cepat. Sebagai gambaran di Kebun Percobaan Manoko (Lembang Jawa Barat) pada tahun 2012, sekitar 30% tanaman masih terlihat sehat, meskipun setelah dideteksi secara serologi seluruh tanaman terinfeksi virus (Miftakhurohmah *et al.* 2013). Namun pada

tahun 2014, sudah tidak dijumpai lagi tanaman yang terlihat sehat (Miftakhurohmah, komunikasi pribadi). Meskipun tidak mematikan tanaman secara langsung, infeksi virus menyebabkan pertumbuhan tanaman kurang tegar, tidak subur sehingga menurunkan produksi biomassa dan kadar minyak (Sugimura *et al.* 1995).

Deteksi dan identifikasi secara tepat virus penyebab penyakit merupakan langkah penting pertama untuk menentukan strategi pengendalian yang tepat. Identifikasi virus yang akurat ialah berdasarkan bagian partikel virus, diawali secara serologi kemudian dilanjutkan secara molekuler dengan PCR. Sementara itu, karakter biologi virus perlu dipelajari untuk mengetahui keberadaan dan cara penyebarannya.

Makalah ini menguraikan distribusi dan epidemiologi virus, deteksi dan identifikasi virus, karakter biologi dan fisik virus pada tanaman nilam yang meliputi penularan, tanaman inang lain, dan stabilitas *in vitro*, serta upaya pengendaliannya. Selain virus yang ditemukan pada pertanaman nilam di Indonesia, juga dikemukakan penelitian virus pada tanaman nilam di luar negeri sebagai dasar untuk kegiatan penelitian lebih lanjut.

PENYEBAB PENYAKIT

Infeksi virus pada tanaman nilam dilaporkan pertama kali di Brasil oleh Gama *et al.* (1982), teridentifikasi sebagai *Tobacco necrosis virus* (TNV). Selanjutnya, di Brasil ditemukan virus lain, yaitu *Patchouli virus X* (Filho *et al.* 2002). Pada pertanaman nilam di Jepang, ditemukan *Patchouli mild mosaic virus* (PatMMV) dan *Patchouli mottle virus* (PatMoV) (Natsuaki *et al.* 1994; Sugimura *et al.* 1995). Di India, Singh *et al.* (2009) mendeteksi *Peanut stripe virus* (PStV), sedangkan Zaim *et al.* (2013) melaporkan *Patchouli yellow mosaic virus* (PatYMV).

Di Indonesia sampai saat ini ditemukan tujuh jenis virus yang menginfeksi tanaman nilam. Infeksi virus dilaporkan pertama kali oleh Sumardiyono *et al.* (1995) yang menemukan PatMoV, kemudian berturut-turut diikuti penemuan *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus* oleh Sukanto *et al.* (2007), PStV oleh Hartono *et al.* (komunikasi pribadi 2008), *Telasma mosaic virus* (TeMV) oleh Noveriza *et al.* (2012a), serta *Broad bean wilt virus 2* (BBWV2) dan *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) oleh Miftakhurohmah *et al.* (2013). Selain virus-virus tersebut, diduga masih ada beberapa jenis virus yang belum terdeteksi seiring dengan ditemukannya gejala yang berbeda di lapangan.

GEJALA PENYAKIT

Infeksi virus pada tanaman nilam bersifat sistemik, yang menyebabkan gejala mosaik yang bervariasi. Di India, gejala mosaik disebabkan oleh PStV (Singh *et al.* 2009) dan mosaik kuning berasosiasi dengan PatYMV (Gambar

1a) (Zaim *et al.* 2013), sedangkan mosaik lemah di Jepang disebabkan oleh PatMMV (Natsuaki *et al.* 1994).

Gejala mosaik kuning ditemukan pada pertanaman nilam di Indonesia yang berasosiasi dengan PatMoV (Sumardiyono *et al.* 1995). Akhir-akhir ini, gejala mosaik kuning juga ditemukan pada pertanaman nilam koleksi Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat sehingga diperlukan identifikasi lebih lanjut untuk mengetahui penyebabnya. Selain mosaik kuning yang diakibatkan oleh *Potyvirus*, di Jawa Barat dan Sumatera Barat ditemukan gejala mosaik lemah-parah diikuti dengan penebalan dan pengecilan daun, sedangkan di Brebes (Jawa Tengah) gejala mosaik parah disebabkan oleh BBWV2 (Gambar 1b) (Noveriza *et al.* 2012a).

Variasi gejala yang ditemukan ialah belang dan tanpa gejala (gejala laten). Infeksi PatMoV menyebabkan gejala belang lemah pada pertanaman nilam di Jepang (Natsuaki *et al.* 1994), demikian pula pada pertanaman nilam di Jawa Tengah yang menyebabkan gejala belang kuning dan klorosis (Hartono dan Subandiyah 2006). Infeksi tanpa gejala pada tanaman nilam di Brasil disebabkan oleh TNV (Gama *et al.* 1982) dan PatVX (Filho *et al.* 2002).

Selain infeksi tunggal, juga ditemukan infeksi ganda. Gejala mosaik parah dengan lesio nekrotik terdeteksi disebabkan oleh PatMMV dan PatMoV (Gambar 1c) (Sugimura *et al.* 1995). Infeksi ganda virus juga ditemukan pada pertanaman nilam di Jawa Barat, terinfeksi oleh BBWV2, CymMV, CMV, dan *Potyvirus* yang menyebabkan gejala bervariasi, mulai tanpa gejala, mosaik lemah (Gambar 1d), mosaik dengan penebalan dan perubahan bentuk daun, hingga bercak kuning (Miftakhurohmah *et al.* 2013).

Dengan banyaknya jenis virus yang menyebabkan gejala yang bervariasi, diperlukan penelitian karakteristik gejala. Untuk mendapatkan gejala yang khas dari setiap infeksi virus, perlu dilakukan pemurnian virus dari sampel yang didapatkan pada tanaman indikator virus target. Pemisahan *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), dan *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) dari tanaman cabai dapat dilakukan dengan tanaman indikator (Baker dan Adkins 2000). Setelah diperoleh virus murni, selanjutnya dilakukan inokulasi ke tanaman nilam yang sehat dan gejala yang muncul diamati. Pemurnian virus nilam belum pernah dilakukan di Indonesia.

PARTIKEL DAN GENOM VIRUS

Pengetahuan tentang bentuk partikel, genom virus, dan jenis asam nukleat menjadi dasar dalam klasifikasi virus. Selain itu, pengetahuan tentang jenis asam nukleat virus juga menjadi dasar dalam pengambilan teknik deteksi secara molekuler.

PatMoV, PStV, TeMV, dan PatYMV tergolong ke dalam genus *Potyvirus*, famili *Potyviridae*. *Potyvirus* terdiri atas satu partikel berbentuk batang lentur dengan panjang 680–900 nm dan diameter 12 nm. Genom



Gambar 1. Variasi gejala virus pada daun nilam (a) mosaik kuning (Zaim *et al.* 2013), (b) mosaik parah (Noveriza *et al.* 2012a), (c) mosaik parah dengan lesio nekrotik (Sugimura *et al.* 1995), (d) mosaik lemah (Miftakhurohmah *et al.* 2013).

Potyvirus ialah RNA tunggal positif, berukuran kurang lebih 10 kb dan satu subunit CP (Agrios 2005). Protein yang dibentuk oleh *Potyvirus* akan teragregasi membentuk badan inklusi silindris atau seperti cakram pada sel tanaman yang terinfeksi (Gambar 2a) (Natsuaki *et al.* 1994).

PatMMV dan BBWV2 tergolong ke dalam genus *Fabavirus*, famili Comoviridae. Genom *Fabavirus* terdiri atas dua RNA utas tunggal, yang dinamakan RNA 1 dan RNA 2, masing-masing berada terpisah pada partikel isometrik, berdiameter 27 nm (Gambar 2b) (Kawashima *et al.* 1996 dalam Ikegami *et al.* 2001).

Tobacco necrosis virus tergolong ke dalam genus *Necrovirus*, famili Tombusviridae. Seperti halnya PatMMV, partikel TNV berbentuk isometrik, berukuran 32–35 nm. Namun, berbeda dengan PatMMV, TNV hanya memiliki satu utas tunggal RNA positif sense (Agrios 2005).

PatVX dan CymMV merupakan anggota genus *Potexvirus*, memiliki bentuk partikel benang lentur seperti *Potyvirus*, dengan panjang 470–580 nm dan diameter 11–13 nm (Gambar 2c). Genom *Potexvirus* adalah RNA utas tunggal positif sense, berukuran 5,8–7,0 kb (Agrios 2005).

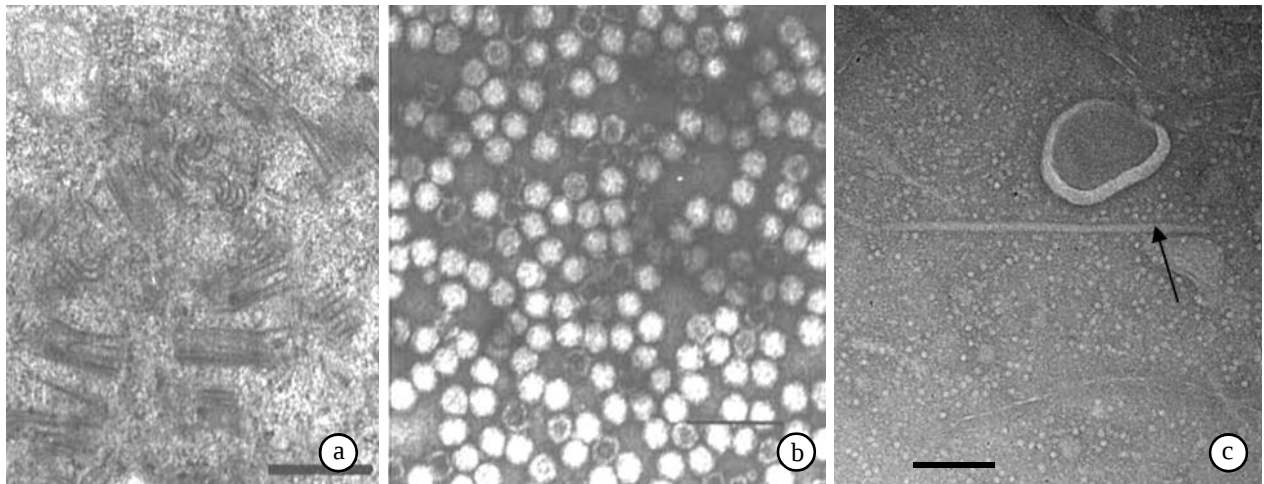
CMV tergolong ke dalam genus *Cucumovirus*, famili Bromoviridae. Partikel berbentuk isometrik dengan diameter 26–35 nm dan panjang 30–85 nm (Fauquet *et al.* 2005). Genom CMV memiliki tiga utas tunggal RNA positif

sense, yaitu RNA 1 (3.357 nukleotida), RNA 2 (3.050 nukleotida), dan RNA 3 (2.116 nukleotida), serta dua subgenomik RNA, yaitu RNA 4 dan RNA 4A (1.027 nukleotida) (Hull 2002).

DISTRIBUSI DAN EPIDEMIOLOGI VIRUS

Penyakit akibat virus pada nilam di Indonesia dilaporkan pertama kali di Jawa Tengah (Sumardiyono 1991 dalam Sumardiyono *et al.* 1995). Selanjutnya penyakit menyebar ke beberapa daerah pertanaman nilam, yaitu Bogor, Garut, Ciamis, Sukabumi (Jawa Barat), Brebes (Jawa Tengah), Pasaman Barat (Sumatera Barat), Pakpak Barat (Sumatera Utara) (Noveriza *et al.* 2012a), serta Konawe Selatan, Kendari, Kolaka Timur, dan Konawe (Sulawesi Tenggara) (Taufik *et al.* 2014). Di luar negeri, penyakit ini dilaporkan di Brasil (Gama *et al.* 1982; Filho *et al.* 2002), India (Singh *et al.* 2009; Zaim *et al.* 2013), dan Jepang (Natsuaki *et al.* 1994; Sugimura *et al.* 1995). Infeksi virus pada nilam juga ditemukan di Kuba, namun penyebabnya masih diduga sebagai rhabdovirus (Rodriguez *et al.* 1989 dalam Filho *et al.* 2002).

Kejadian penyakit akibat virus di Indonesia berkisar antara 53–73% (Sumardiyono *et al.* 1995), dan pada tahun 2011 meningkat menjadi 100%, meskipun berdasarkan



Gambar 2. Partikel virus nilam; badan inklusi PatMoV, skala bar = 500 nm (Natsuaki *et al.* 1994) (a), Partikel PatMMV, skala bar = 100 nm (Natsuaki *et al.* 1994) (b), Partikel CymMV, skala bar = 100 nm (c) (Miftakhurohmah 2013).

pengamatan gejala keparahan penyakit berkisar antara 70–90% (Miftakhurohmah *et al.* 2013). Di luar negeri, tidak banyak laporan tentang kejadian penyakitnya, hanya di India berkisar antara 43–76% (Sastry dan Vasanthakumar 1981).

Penyebaran virus di lapangan terutama disebabkan oleh penggunaan bahan tanaman yang terinfeksi virus, meskipun beberapa virus nilam ditularkan melalui serangga vektor. Sastry dan Vasanthakumar (1981) melaporkan, meskipun virus nilam ditularkan oleh kutu kebul (*Bemisia tabaci*), efisiensi penularannya hanya 27%, sedangkan kejadian penyakitnya mencapai 76%, sehingga diduga virus menyebar melalui bahan tanaman yang terinfeksi virus. Kadotani dan Ikegami (2002) serta Hull (2002) juga mengungkapkan, perbanyakan bahan tanaman nilam melalui setek menyebabkan virus menyebar secara cepat dari satu daerah pertanian ke daerah lain dan virus selalu ada dari musim ke musim, sehingga setelah beberapa tahun hampir seluruh tanaman nilam terinfeksi virus.

Data kerugian yang ditimbulkan oleh infeksi virus belum banyak dilaporkan. Menurut Noveriza *et al.* (2012b), infeksi virus pada tanaman nilam menyebabkan penurunan produksi terna basah antara 7,87–34,65%, bobot terna kering 0,62–40,42%, dan kadar *patchouli alcohol* 0,72–5,06%.

DETEKSI DAN IDENTIFIKASI VIRUS

Teknik deteksi dan identifikasi virus terbagi dalam dua kategori, yaitu berdasarkan sifat-sifat biologi yang berhubungan dengan interaksi virus dengan inang dan vektor dan berdasarkan bagian dari partikel virus, yaitu asam nukleat dan *coat protein* (CP) (Naidu dan Hughes 2003). Deteksi berdasarkan CP dan asam nukleat dapat dilakukan dengan uji serologi dan teknik molekuler.

Beberapa peneliti telah memproduksi antiserum untuk uji serologi dan berhasil mendeteksi TNV (Gama *et al.* 1982) dan PatMMV dengan teknik *gel diffusion* (Natsuaki *et al.* 1994), PatVX secara ELISA (Filho *et al.* 2002), serta PatMoV secara ELISA dan DIBA (Hartono dan Subandiyah 2006). Beberapa antiserum untuk mendeteksi virus pada nilam telah tersedia secara komersial. Uji serologi dengan menggunakan antiserum komersial secara ELISA berhasil mendeteksi PStV (Singh *et al.* 2009), *Potyvirus*, BBWV1 dan BBWV2 (Sukanto *et al.* 2007; Noveriza *et al.* 2012a), serta CymMV, dan CMV (Sukanto *et al.* 2007; Miftakhurohmah *et al.* 2013).

Keunggulan teknik serologi ialah efektif dilakukan untuk deteksi massal. Namun, teknik ini memiliki kelemahan terjadinya reaksi silang, yaitu antiserum bereaksi positif dengan virus nontarget. Antiserum untuk mendeteksi PatVX bereaksi positif dengan anggota genus *Potexvirus* lainnya, yaitu *Viola mottle virus*, *White clover mosaic virus*, dan PVX (Filho *et al.* 2002). Demikian pula antiserum untuk mendeteksi PatMMV juga bereaksi kuat dengan BBWV 2 serta bereaksi lemah dengan BBWV 1 dan LMMV (Natsuaki *et al.* 1994). Reaksi silang ini menyebabkan deteksi secara serologi sering kali tidak akurat sehingga perlu dilanjutkan deteksi secara molekuler.

Teknik molekuler yang umum digunakan ialah *polymerase chain reaction* (PCR). Virus-virus pada tanaman nilam memiliki asam nukleat RNA sehingga harus diubah menjadi *complementary DNA* (cDNA) dengan enzim *reverse transcriptase* (RT) (Naidu dan Hughes 2003). Dengan teknik RT-PCR, berhasil dideteksi PStV, TeMV, BBWV2, CymMV, dan PatYMV pada nilam (Singh *et al.* 2009; Noveriza *et al.* 2012a; Miftakhurohmah *et al.* 2013; Zaim *et al.* 2013).

DNA yang dihasilkan dari PCR selanjutnya dirunut sekuens nukleotidanya untuk mengetahui spesies virus yang ditemukan. Beberapa perangkat lunak telah tersedia

untuk mengolah sekuen nukleotida virus, di antaranya BioEdit, MEGA, dan GeneDoc (Hall 1999; Tamura *et al.* 2007). Noveriza *et al.* (2012a) melaporkan sekuen nukleotida bagian dari gen *coat protein* (CP) TeMV asal Manoko-Bandung, Bogor, Cicurug-Sukabumi di Jawa Barat dan Pasaman Barat di Sumatera Barat. Demikian pula sekuen nukleotida gen *small coat protein* (SCP) BBWV2 dan gen CP CymMV asal Manoko (Bandung) telah dilaporkan oleh Miftakhurohmah *et al.* (belum diterbitkan).

Dengan ditemukannya beberapa virus pada nilam, diperlukan teknik deteksi secara langsung yang dapat dilakukan dengan *multiplex* PCR. Miftakhurohmah (2013) berhasil mendeteksi *Potyvirus*, BBWV2, dan CymMV dengan metode tersebut.

KARAKTER BIOLOGI VIRUS

Penularan

Pengetahuan tentang penularan virus bermanfaat untuk mengetahui cara penyebaran virus dan kemampuannya bertahan di lapangan, yang menjadi salah satu dasar pengambilan keputusan tindakan pengendalian yang tepat. Virus dapat menular secara mekanis, melalui bahan tanaman (vegetatif maupun generatif) dan vektor. Virus pada tanaman nilam mampu menular secara mekanis, melalui penyambungan dan vektor (Tabel 1).

Sembilan jenis virus yang menginfeksi tanaman nilam dapat ditularkan dari tanaman sakit ke tanaman uji dengan mudah secara mekanis. Penularan secara mekanis dilakukan dengan mengoleskan cairan daun dari tanaman sakit ke daun tanaman uji dengan bantuan karborundum. Di lapangan penularan virus antartanaman secara mekanis kecil kemungkinannya terjadi.

Teknik penyambungan merupakan salah satu cara pemuliaan tanaman, tetapi juga menjadi media penular virus yang potensial. PStV dan PatYMV terbukti menular melalui penyambungan (Sreenivasulu dan Demski 1988 dalam Saleh 2003; Zaim *et al.* 2013). Kini penyambungan tidak lagi digunakan sebagai teknik pemuliaan tanaman

nilam. Zaim *et al.* (2013) menggunakan teknik penyambungan hanya untuk mempelajari sistem penularan virus nilam.

Penyebaran virus nilam secara efektif dilakukan oleh vektor, meskipun cara penyebaran ini bukan yang utama. Penelitian vektor virus pada tanaman nilam baru dilakukan pada PatMMV dan PatYMV. PatMMV tidak ditularkan oleh *Mizus persicae*, sebaliknya PatYMV ditularkan oleh serangga tersebut. Namun spesies serangga Aphididae lain diduga mampu menularkan PatMMV karena anggota *Fabavirus* lain ditularkan secara efektif oleh serangga tersebut (Natsuaki *et al.* 1994; Zaim *et al.* 2013).

Penelitian penularan BBWV2, PStV, dan CMV melalui vektor telah dilakukan pada tanaman lain, yaitu ditularkan oleh beberapa spesies serangga Aphididae, salah satunya *Aphis gossypii* (Santiz *et al.* 2001; Sreenivasulu dan Demski 1988 dalam Saleh 2003; Gildow *et al.* 2008; Belliure *et al.* 2009). Serangga *A. gossypii* dan *M. persicae* merupakan serangga pengisap daun nilam (Adria *et al.* 1990; Mardiningsih *et al.* 2011). Dengan demikian, keberadaan serangga tersebut pada tanaman nilam selain sebagai hama diduga juga berperan sebagai vektor virus.

TNV memiliki vektor yang berbeda dengan virus lain, yaitu cendawan patogen tular tanah *Olpidium brassicae* (Gama *et al.* 1982). Cendawan ini bukan menjadi salah satu OPT nilam sehingga penularan virus ini melalui cendawan vektor tidak membahayakan. Selain itu, virus ini belum dilaporkan ditemukan di Indonesia.

PatVX tidak ditularkan oleh *M. nicotianae* pada tanaman nilam (Filho *et al.* 2002), demikian juga CymMV pada tanaman lain (Ajikuttira dan Wong 2009). Virus yang tergolong genus *Potexvirus* dilaporkan tidak dapat menular melalui vektor.

Tanaman Inang

Virus, seperti halnya patogen lain, pada umumnya memiliki beberapa jenis tanaman inang. Pengetahuan tentang tanaman inang lain diperlukan untuk menentukan tindakan pengendalian, dengan tidak menanam tanaman yang menjadi inang dalam satu area. PatMMV merupakan

Tabel 1. Penularan virus yang menginfeksi tanaman nilam.

Virus	Penularan		
	Mekanis	Penyambungan	Vektor
TNV	+	Belum diketahui	Cendawan
PatYMV	+	Belum diketahui	Belum diketahui
BBWV2	+	Belum diketahui	Serangga (Aphid)
PatMoV	+	Belum diketahui	Belum diketahui
PStV	+	+	Serangga (Aphid)
PatYMV	+	+	Serangga (Aphid)
PatVX	+	Belum diketahui	-
CymMV	+	Belum diketahui	-
CMV	+	Belum diketahui	Serangga (Aphid)

+ = menular, - = tidak menular.

anggota genus *Fabavirus* yang ditemukan pada tanaman nilam (Natsuaki *et al.* 1994) dan belum diketahui menginfeksi tanaman lain. Sebaliknya, BBWV2 merupakan virus penyebab penyakit yang merugikan secara ekonomi pada tanaman hortikultura.

Sebelum dilaporkan pada tanaman nilam, di India PStV ditemukan menginfeksi kacang tanah (Singh *et al.* 2009) serta tanaman kacang-kacangan lain seperti kedelai, *Pisum sativum*, dan *Phaseolus vulgaris* (Saleh 2003). PatMoV dan PatYMV baru ditemukan pada tanaman nilam (Natsuaki *et al.* 1994; Zaim *et al.* 2013).

PatVX dilaporkan baru ditemukan pada tanaman nilam, sedangkan CymMV banyak ditemukan pada berbagai jenis anggrek di beberapa negara. Selain anggrek, CymMV juga dilaporkan menginfeksi tanaman vanili (Grisoni *et al.* 2004). Di Indonesia, selain menginfeksi tanaman nilam, CymMV telah terdeteksi pada tanaman anggrek (Lakani *et al.* 2010).

CMV memiliki kisaran inang yang luas, meliputi 85 famili tanaman dan lebih dari 1.000 spesies (Fauquet *et al.* 2005). Selain tanaman nilam, CMV juga menginfeksi tanaman lada (Hartati *et al.* 2005) dan vanili (Bhat *et al.* 2003).

Stabilitas In Vitro

Identifikasi berdasarkan gejala sering terkendala oleh kesulitan mendeskripsikan penyakit sehingga digunakan karakter lain seperti titik panas inaktivasi, kerentanan pada penyimpanan secara *in vitro*, dan titik batas pengenceran (Ross 1964). Seiring dengan perkembangan deteksi secara molekuler, identifikasi virus berdasarkan stabilitas *in vitro* mulai banyak ditinggalkan. Namun, pengetahuan tentang stabilitas *in vitro* masih diperlukan sebagai salah satu dasar pengambilan keputusan tindakan pengendalian, misalnya titik panas inaktivasi dapat digunakan sebagai dasar *hot water treatment* untuk mengeliminasi virus dari bahan tanaman (Damayanti *et al.* 2010). Stabilitas *in vitro* virus yang menginfeksi nilam dapat dilihat pada Tabel 2.

TPI virus nilam tergolong tinggi, rata-rata 60°C, bahkan untuk TNV mencapai 90°C (Tabel 2). Hal ini menyebabkan eliminasi virus dengan *hot water treatment* (HWT) tidak efektif karena sel-sel tanaman juga memiliki titik batas perlakuan panas pada suhu tertentu agar tidak

rusak. Perlakuan HWT pada suhu 55°C selama 10–30 menit menurunkan viabilitas setek tebu 40–60% (Damayanti *et al.* 2010). Perendaman setek nilam dengan air panas pada suhu 55 dan 60°C selama 10, 20, dan 30 menit belum mampu mengeliminasi virus dari tanaman (Noveriza *et al.* 2012c).

Titer virus pada cairan tanaman sakit merupakan karakter penting virus yang secara umum diekspresikan sebagai titik batas pengenceran (TBP) (Thornberry dan Nagaich 1962). PatMov dan PatMMV memiliki nilai TBP terendah, diikuti dengan PStV, dan yang memiliki nilai TBP tertinggi adalah TNV (Tabel 2). TMV yang dikenal sebagai virus dengan titer yang tinggi dalam tanaman memiliki nilai TBP 10^{-7} (Mughal *et al.* 2006), dan TBP virus nilam sedikit berada di bawahnya. Dengan demikian, titer virus nilam tergolong relatif tinggi.

Ketahanan *in vitro* bergantung pada konsentrasi asal virus pada cairan perasan tanaman dan sifat-sifat cairan perasan tanaman. Oleh karena itu, uji ini jarang digunakan untuk identifikasi virus. Namun, pada beberapa penelitian, uji ini penting untuk mengetahui perubahan nilai infektifitas (Nordam 1973). Dalam cairan perasan tanaman, virus nilam yang telah dilaporkan memiliki ketahanan 5–7 hari. Hanya PatMoV yang memiliki ketahanan sampai 1 hari (Tabel 2). Ketahanan *in vitro* virus-virus nilam umumnya rendah dibandingkan dengan virus lain yang memiliki stabilitas *in vitro* yang tinggi. *Tobacco mosaic virus* (TMV) masih infektif setelah disimpan selama 30 hari (Mughal *et al.* 2006).

UPAYA PENGENDALIAN

Perbanyak bahan tanaman nilam umumnya menggunakan setek. Oleh karena itu, jika tanaman induk telah terinfeksi virus maka seluruh setek yang dihasilkan juga terinfeksi virus. Hal inilah yang menyebabkan penyebaran dan perkembangan virus pada pertanaman tergolong cepat. Setelah beberapa tahun penanaman, hampir semua tanaman nilam terinfeksi oleh virus. Pendekatan terbaik untuk mengendalikan virus ialah dengan memproduksi bibit bebas atau tahan virus. Selanjutnya, untuk mencegah penyebaran virus di lapangan dilakukan monitoring dan pengendalian vektor.

Tabel 2. Stabilitas *in vitro* virus-virus nilam.

Virus	Stabilitas <i>in vitro</i>			Referensi
	Titik panas inaktivasi (°C)	Titik batas pengenceran	Ketahanan <i>in vitro</i>	
TNV	85–90	10^{-5} – 10^{-6}	6 hari	Gama <i>et al.</i> (1982)
PatMoV	60–65	10^{-3} – 10^{-5}	12–24 jam	Natsuaki <i>et al.</i> (1994); Sumardiyono <i>et al.</i> (1995)
PatMMV	50–55	10^{-3} – 10^{-4}	5 hari (20°C)	Natsuaki <i>et al.</i> (1994)
PStV	55–60	10^{-4} – 10^{-5}	7 hari (20°C)	Ohki <i>et al.</i> (1989)

Salah satu cara untuk mendapatkan bibit nilam sehat ialah melalui kultur meristem. Virus yang menyebabkan gejala sistemik mampu berpindah ke titik tumbuh tanaman melalui jaringan xilem dan floem, tetapi tidak mampu mencapai meristem karena meristem tidak memiliki xilem dan floem (Crowe *et al.* 1996). Oleh karena itu, meristem dapat digunakan untuk bahan perbanyakan tanaman bebas virus.

Beberapa penelitian kultur meristem nilam telah dilakukan. Tanaman hasil kultur meristem pertumbuhannya lebih *vigorous* dengan kanopi lebih besar, serta produksi biomassa dan minyak atsiri masing-masing meningkat 1,5–3,5 kali dan 1,5–5,1 kali dibandingkan dengan tanaman terinfeksi virus pada 2 bulan setelah penanaman (Sugimura *et al.* 1995). Dengan menggunakan eksplan berukuran 0,1–0,6 mm, Singh *et al.* (2009) berhasil mendapatkan tanaman nilam bebas PStV sebesar 66,67%.

Untuk mendapatkan tanaman nilam tahan virus dapat dilakukan dengan teknik rekayasa genetik. Teknik rekayasa genetik dengan memasukkan prekursor gen CP melalui *Agrobacterium*, berhasil mendapatkan tanaman nilam transgenik resisten terhadap PatMMV (Kadotani dan Ikegami 2002). Transformasi prekursor gen CP PatMMV ke tanaman nilam telah dilakukan oleh Sugimura *et al.* (2005). Dengan menggunakan dua strain *Agrobacterium* diperoleh kultur transforman yang telah tersisipi keseluruhan gen CP PatMMV.

Meskipun serangga vektor bukan menjadi penyebar utama penyakit akibat virus pada nilam, keberadaannya di lapangan harus dikendalikan. Dasar pengambilan tindakan pengendalian serangga sebagai vektor atau sebagai hama berbeda. Pengendalian serangga aphid sebagai vektor tidak melihat ambang ekonomi karena satu ekor serangga sudah dapat menyebarkan virus secara efektif di lapangan. Pendekatan terbaik untuk pengendalian vektor ialah dengan penyemprotan pestisida nabati maupun kimia. Insektisida nabati mimba berbahan aktif azadirachtin dan lerak berbahan aktif saponin dapat digunakan untuk mengendalikan *A. gossypii* dengan nilai efikasi 61,1–75,5% (Mardiningsih *et al.* 2010).

Prioritas penelitian ke depan untuk pengendalian penyakit akibat virus pada nilam ialah pengadaan bahan tanaman bebas virus. Noveriza *et al.* (2012c) telah melakukan kultur meristem nilam dan memperoleh tanaman bebas *Potyvirus* antara 34–91%. Hasil ini perlu ditindaklanjuti dengan memeliharanya di rumah kaca kedap serangga untuk memperoleh tanaman induk yang sehat.

KESIMPULAN

Sembilan jenis virus telah terdeteksi pada tanaman nilam yang menyebabkan gejala mosaik, selanjutnya tanaman menjadi kerdil, kualitas dan kuantitas minyak atsirinya menurun. Deteksi berdasarkan bagian partikel virus dapat

dilakukan secara serologi menggunakan antiserum komersial atau produksi sendiri, dan secara molekuler dengan teknik PCR.

Penyakit akibat virus telah menyebar di beberapa daerah pertanaman nilam di Jawa Tengah, Jawa Barat, Sumatera, dan Sulawesi. Virus menyebar terutama melalui bahan tanaman yang terinfeksi virus.

Penularan dan penyebaran virus dapat terjadi secara mekanis dan sebagian melalui penyambungan dan vektor. TNV, BBWV2, dan CMV memiliki kisaran inang yang luas, sedangkan virus yang lain inangnya terbatas. Virus nilam umumnya memiliki titik panas inaktivasi dan titik batas pengenceran yang relatif tinggi, sedangkan untuk ketahanan *in vitro* relatif tidak stabil.

Pengendalian penyakit akibat virus yang ideal ialah menggunakan bahan tanaman bebas atau tahan virus, yang dapat diperoleh melalui kultur meristem dan teknik rekayasa genetik. Serangga vektor dapat dikendalikan dengan penyemprotan pestisida kimia atau nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Adria, Jamalius, Z. Hasan, dan H. Idris. 1990. Beberapa jenis hama perusak daun tanaman nilam (*Pogostemon cablin* B). Pemberitaan Litri XVI(2): 59–64.
- Agrios, N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, New York. 922 pp.
- Ajjikuttira, P. and S. Wong. 2009. Molecular biology of two orchid infecting viruses: *Cymbidium mosaic potexvirus* and *Odontoglossum ringspot tobamovirus*. Reviews and perspective. Virology X: 252–270.
- Baker, C. and S. Adkins. 2000. Peppers, tomatoes and *Tobamoviruses*. Plant Pathol. Circ. 400: 1–4.
- Belliure, B., M.G. Zambrano, I. Ferriol, M.L. Sapina, L. Alcacer, D.E. Debreczeni, and L. Rubio. 2009. Comparative transmission efficiency of two broad bean wilt virus 1 isolates by *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. J. Plant Pathol. 91(2): 475–478.
- Bhat, A.L., Y.R. Sarma, M. Anandaraj, and R.B. Suseela. 2003. Viral diseases can be a future threat to vanilla in India. Indian J. Recanat, Spices & Medicinal Plant 5(3): 107–110.
- Crowe, F., S. Lommel, and A. Mitchell. 1996. Field performance of peppermint plant regenerated from meristem tip culture and evaluation of virus infection. Mint Industry Research Council (MIRC) 1995 Proceedings.
- Damayanti, T.A., L.K. Putra, and Giyanto. 2010. Hot water treatment of cutting-cane infected with *Sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV). J. ISSAAS 16(2): 17–25.
- Fauquet, C.M., M.A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, and L.A. Ball. 2005. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Elsevier Academic Press, New York. 1258 pp.
- Filho, P.E.M., R.O. Resende, M.I. Lima, and E.W. Kitajima. 2002. *Patchouli virus x*, a new *Potexvirus* from *Pogostemon clabin*. Annu. Appl. Biol. 141: 267–274.
- Gama, M.I.C.S., E.W. Kitajima, and M.T. Lin. 1982. Properties of a tobacco necrosis virus isolate from *Pogostemon patchouli* in Brazil. Phytopathology 72(5): 529–532.
- Gildow, F.E., D.A. Shah, W.M. Sackett, T. Butzler, B.A. Nault, and S.J. Fleischer. 2008. Transmission efficiency of *Cucumber mosaic virus* by aphids associated with epidemics in snap bean. Phytopathology 98: 1233–1241.

- Grisoni, M., F. Davidson, C. Hydrondelle, K. Farreyrol, M.L. Caruana, and M. Perason. 2004. Nature, incidence and symptomatology of viruses infecting *Vanilla tahitensis* in French Polynesia. *Plant Dis.* 88: 119–124.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium Series* 41: 95–98.
- Hartati, S.Y., R. Balfas, R. Noveriza, G. Suastika, and I. Lakani. 2005. Identification of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* from *Piper* spp.. Proceeding of the 1st International Conference on Crop Security. Agriculture Faculty, Brawijaya University, Malang. pp. 314–319.
- Hartono, S. dan S. Subandiyah. 2006. Pemurnian dan deteksi serologi *Patchouli mottle virus* pada tanaman nilam. *J. Perlindungan Tanaman Indonesia* 12(2): 74–82.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. Fourth Edition. Academic Press, California. p. 1001.
- Ikegami, M., Y. Onobari, N. Sugimura, and T. Natsuaki. 2001. Complete nucleotide sequence and the genome organization of *Patchouli mild mosaic virus* RNA1. *Intervirology* 44: 355–358.
- Kadotani, N. and M. Ikegami. 2002. Production of *Patchouli mild mosaic virus* resistant patchouli plants by genetic engineering of coat protein precursor gene. *Pest Manag. Sci.* 58: 1137–1142. DOI: 10.1002/pa.581.
- Lakani, I., G. Suastika, N. Maatjik, and T.A. Damayanti. 2010. Identification and molecular characterization of *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati J. Biosci.* 17: 101–104.
- Mardiningsih, T.L., C. Sukmana, N. Tarigan, dan S. Suriati. 2010. Efektivitas insektisida nabati berbahan aktif azadirachtin dan saponin terhadap mortalitas dan intensitas serangan *Aphis gossypii* Glover. *Bul. Littro* 21: 171–183.
- Mardiningsih, T.L., Rohimatun, dan M. Rizal. 2011. Hama nilam dan strategi pengendaliannya. *Dalam* Supriadi, M. Rizal, dan D. Wahyuno (Ed). *Nilam (Patchouli)*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor. hlm. 50–65.
- Medan Bisnis. 2013. Nilai ekspor nilam tergerus harga. medanbisnisdaily.com. [2 Februari 2015].
- Miftakhurohmah. 2013. Identifikasi dan deteksi *multiplex reverse transcription polymerase chain reaction* virus-virus penyebab gejala mosaik pada nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 50 hlm.
- Miftakhurohmah, G. Suastika, dan T. Asmira. 2013. Deteksi secara serologi dan molekuler beberapa jenis virus yang berasosiasi dengan penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *J. Littri* 19(3): 130–138.
- Mughal, S.M., S. Zidgali, and A.R. Matrooshi. 2006. Some biological, serological and physical properties of *Tobacco mosaic virus* (TMV) from the Sultanate of Oman. *Pak. J. Agric. Sci.* 43(1–2): 50–54.
- Naidu, R.A. and J.d'A Hughes. 2003. Methods for the detection of plant virus diseases. Proceedings of a conference organized by IITA. Ibadan, Nigeria. pp. 233–260.
- Natsuaki, K.T., K. Tomaru, S. Ushiku, Y. Ichikawa, Y. Sugimura, T. Natsuaki, S. Okuda, and M. Teranaka. 1994. Characterization of two viruses isolated from patchouli in Japan. *Plant Dis.* 78: 1094–1097.
- Nordam, D. 1973. Identification of Plant Viruses, Methods and Experiment. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen, the Netherlands. p. 207.
- Noveriza, R., G. Suastika, S.H. Hidayat, and U. Kartosuwondo. 2012a. *Potyvirus* associated with mosaic disease on patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) plants in Indonesia. *J. ISSAAS* 18(1): 131–146.
- Noveriza, R., G. Suastika, S.H. Hidayat, dan U. Kartosuwondo. 2012b. Pengaruh infeksi virus mosaik terhadap produksi dan kadar minyak tiga varietas nilam. *Bul. Littro* 23(1): 93–101.
- Noveriza, R., G. Suastika, S.H. Hidayat, dan U. Kartosuwondo. 2012c. Eliminasi *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan kultur meristem apikal dan perlakuan panas. *J. Littri* 18(1): 107–114.
- Ohki, S.T., T. Nakatsuji, and T. Inouye. 1989. *Peanut stripe virus*, a seed borne *Potyvirus* isolated from peanut plant in Japan. *Annals of phytopathological society, Japan.* 45: 267–278.
- Ross, A.F. 1964. Identification of plant viruses. In Corbett, M.K., Sisler (Ed). *Plant Virology*. HD University of Florida, Gaines Ville. p. 68–92.
- Saleh, N. 2003. Ekobiologi dan optimalisasi pengendalian penyakit virus belang pada kacang tanah melalui pengelolaan tanaman secara terpadu. *J. Litbang Pert.* 22(2): 41–48.
- Santz, N.T., T.H. Chen, and P.Y. Lai. 2001. A newly discovered mosaic disease of bush basil (*Ocimum basilicum*) in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 10: 155–164.
- Sastry, K.S. and T. Vasanthakumar. 1981. Yellow mosaic of patchouli (*Pogostemon patchouli*) in India. *Curr. Sci.* 50(17): 767–768.
- Singh, M.K., V. Chandel, V. Hallan, R. Ram, and A.A. Zaidi. 2009. Occurrence of *Peanut stripe virus* on patchouli and raising of virus-free patchouli plants by meristem tip culture. *J. Plant Dis. Prot.* 116(1): 2–6.
- Sugimura, Y., B.F. Padayhag, M.S. Ceniza, N. Kamata, S. Eguchi, T. Natsuaki, and S. Ouda. 1995. Essential oil production increased by using virus-free patchouli plants derived from meristem-tip culture. *Plant Pathol.* 44: 510–515.
- Sugimura, Y., N. Kadotani, Y. Ueda, K. Shima, S. Kitajima, T. Furusawa, and M. Ikegami. 2005. Transgenic patchouli plants produced by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 82(3): 251–257.
- Sukanto, I.B. Rahardjo, and Y. Sulyo. 2007. Detection of *Potyvirus* on patchouli plant (*Pogostemon cablin* Benth.) from Indonesia. Proceeding of International Seminar on Essential Oil. Indonesian Essential Oil Council, Jakarta. pp. 72–77.
- Sumardiyo, Y.B., S. Sulandari, dan S. Hartono. 1995. Penyakit mosaik kuning pada nilam (*Pogostemon cablin*). Risalah Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Yogyakarta. hlm. 912–916.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA 4: Molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24(8): 1596–1599.
- Taufik, M., A. Hasan, A. Khaeruni, H.S. Gusnawati, dan S. Mamma. 2014. Deteksi *Potyvirus* pada nilam (*Pogostemon cablin* [Blanco] Benth) dengan teknik elisa di Sulawesi Tenggara, *Jurnal Agroteknos.* 4(1): 53–57.
- Thornberry, H.H. and B.B. Nagaich. 1962. Stability of Tobacco-mosaic virus, *Marmor tabaci*, in solutions diluted beyond the end point of infectivity. *Department of Plant Pathol.* 83: 1322–1326.
- Zaim, M., A. Ali., J. Joseph, and F. Khan. 2013. Serological and molecular studies of a novel virus isolate causing yellow mosaic of patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth]. *Plos ONE* 8(12): 1–10. DOI: 10.1371/journal.pone.0083790.