

PENGARUH INFEKSI VIRUS MOSAIK TERHADAP PRODUKSI DAN KADAR MINYAK TIGA VARIETAS NILAM

Rita Noveriza¹⁾, Gede Suastika²⁾, Sri Hendrastuti Hidayat²⁾ dan Utomo Kartosuwondo²⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jl. Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
E-mail : rita_noveriza2000@yahoo.com

²⁾ Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian,
Institut Pertanian Bogor
Jl. Kamper, Kampus Dramaga Bogor 16680

(terima tgl. 27/09/2011 – disetujui tgl. 07/03/2012)

ABSTRAK

Penyakit mosaik tercatat sebagai salah satu faktor pembatas dalam produksi tanaman nilam (*Pogostemon cablin*). Penelitian ini dilakukan untuk mengukur pengaruh infeksi virus penyebab penyakit mosaik terhadap produksi dan kadar minyak tanaman nilam. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga varietas unggul tanaman nilam yaitu Sidikalang, Lhokseumawe dan Tapak Tuan. Infeksi *Potyvirus* berhasil dideteksi pada varietas Tapak Tuan dan Lhokseumawe berdasarkan hasil metode ELISA. Pengukuran berat terna basah, terna kering, kadar minyak dan kadar *patchouli alcohol* (PA) yang dilakukan pada tanaman berumur enam bulan menunjukkan terjadinya penurunan produksi dan kadar minyak. Penurunan tertinggi berat terna basah, terna kering, kadar minyak dan kadar PA berturut-turut dapat mencapai 34,65, 40,42, 9,09 dan 5,06%.

Kata kunci : *Pogostemon cablin*, *Potyvirus*, Produksi, Kadar minyak, Patchouli alkohol

ABSTRACT

Effect of Virus Infection on Yield and Oil Content of Three Patchouli Varieties

*Mosaic disease was reported as a limiting factor in production of patchouli plants (*Pogostemon cablin*). A study was conducted to measure the effect of mosaic disease on production and quality of patchouli oil. Three varieties of patchouli were involved in this study, i.e Sidikalang, Lhokseumawe and Tapak Tuan. Based on ELISA result, *Potyvirus* was detected on Tapak Tuan and Lhokseumawe associated in mosaic symptoms. Measurement of fresh and dry weight, oil and patchouli alcohol (PA) content was conducted from six month old plants and showed an indication of fresh and dry weight, oil and patchouli alcohol (PA) content declining up to 34,65, 40,42, 9,09 and 5,06% at most, respectively.*

Key words : *Pogostemon cablin*, *Potyvirus*, Production, Oil content, Patchouli alcohol

PENDAHULUAN

Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yang dibedakan dari karakter morfologi, kandungan dan kualitas minyak serta ketahanan terhadap cekaman lingkungan biotik dan abiotik. Jenis nilam tersebut adalah nilam aceh, nilam jawa dan nilam sabun. Varietas unggul nilam hasil Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik yang dikembangkan dari jenis nilam aceh (*Pogostemon cablin*) adalah Tapak Tuan (unggul dalam hal produksi dan kadar *patchouli* alkohol), Lhokseumawe (kadar minyaknya tinggi), dan Sidi-kalang (toleran terhadap penyakit layu bakteri dan nematoda) (Nuryani 2005).

Serangan virus mosaik tercatat sebagai salah satu faktor pembatas dalam produksi tanaman nilam di Indonesia (Sukamto et al. 2007). Kejadian penyakit mosaik kuning di Indonesia berkisar 53-73%. Penyakit ini tersebar baik pada pertanaman nilam di dataran rendah maupun pergunungan. Kajian daun yang terinfeksi dengan mikroskop elektron menunjukkan berassosiasi dengan virus berbentuk benang (Sumardiyono et al. 1995). Di India, kejadian penyakit di lapangan berkisar antara 43-76% (Sastry dan Vasanthakumar 1981). Menurut estimasi Sugimura et al. (1995), serangan virus berkontribusi menurunkan produksi nilam sampai 35% dan kadar *patchouli* alkohol sebesar 2%.

Virus yang telah dilaporkan dapat menyerang tanaman nilam di lapangan dan menyebabkan gejala mosaik adalah *Patchouli mosaic virus*

(PaMV), *Tobacco necrosis virus* (TNV), *Patchouli mild mosaic virus* (PaMMV), *Patchouli mottle virus* (PaMoV), *Patchouli virus X* (PatVX) dan *Peanut stripe virus* (PStV) (Natsuaki et al. 1994; Meissner Filho et al. 2002; Singh et al. 2009). Menurut Sukamto et al. (2007) sampel nilam dari Bogor dan Cianjur terinfeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus*. Jenis virus yang banyak menyerang tanaman nilam di Indonesia adalah genus *Potyvirus* yaitu *Telosma mosaic virus* (TeMV) (Noveriza et al. 2012a).

Tanaman nilam yang terserang *Potyvirus*, daun-daunnya nampak mengalami klorosis berat (mosaik), berubah bentuk (malformasi), dan berukuran sangat kecil. Pertumbuhan tanaman secara keseluruhan menjadi terhambat dan tanaman sakit tampak kerdil (Noveriza et al. 2012a). Gejala penyakit semacam ini membawa implikasi yang sangat merugikan bagi produksi nilam yang mengandalkan hasil biomassa tanaman secara keseluruhan. Disamping itu gejala mosaik juga mengakibatkan kuantitas dan kualitas minyak atsiri yang dihasilkan oleh tanaman nilam sakit juga akan menurun. Oleh karena itu, penanggulangan penyakit mosaik pada tanaman nilam perlu mendapat perhatian untuk membantu petani dalam mempertahankan dan bahkan meningkatkan produksi nilam pada tingkat optimal. Menurut Brunt (1992) identifikasi spesies virus yang terlibat dalam penyakit tumbuhan diperlukan untuk memantau kejadian penyakit, untuk mengidentifikasi sumber virus dan untuk merekomendasikan tin-

dakan pengendalian yang tepat.

Penelitian ini dilakukan untuk mengukur pengaruh infeksi alami virus penyebab penyakit mosaik terhadap produksi dan kadar minyak varietas nilam Sidikalang, Lhokseumawe dan Tapak Tuan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan sejak Januari sampai Desember 2010 di Rumah Kaca, Kelompok Peneliti Hama dan Penyakit, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitetro) di Bogor dan Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman IPB.

Bahan tanaman

Bahan tanaman yang berupa setek pucuk dan batang terdiri dari tiga varietas nilam (Sidikalang, Lhokseumawe dan Tapak Tuan) yang memperlihatkan gejala mosaik (sakit) dan tanaman nilam yang tidak memperlihatkan gejala sakit (sehat). Bahan tanaman nilam tersebut diperoleh dari Unit Pengelolaan Benih di Bogor dan disemai dalam polibag yang berisi media persemaian dan masing-masing tanaman yang diuji diulang lima kali yang terdiri dari 10 tanaman pertanaman yang diuji. Setelah berumur satu bulan, tanaman dipindahkan ke media tanam dengan perbandingan antara tanah dan pupuk kandang 2:1. Tanaman tersebut di simpan dalam rumah kawat yang kedap serangga. Setelah berumur enam bulan, tanaman dipanen dengan cara memotong seluruh bagian atas tanaman yang berjarak 20 cm dari permukaan tanah. Bagian tanaman yang dipotong tersebut

dibawa ke laboratorium untuk diukur berat basah dan berat kering; kemudian digunakan untuk mendeteksi virus dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA).

Konfirmasi virus pada tanaman nilam dengan uji serologi

Daun nilam yang bergejala mosaik dikonfirmasi melalui uji serologi dan dilakukan dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan antiserum *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Broad Bean Wilt Virus 1* (BBWV1) dan *Broad Bean Wilt Virus 2* (BBWV2) dan *Potyvirus* mengikuti metode DSMZ (Germany).

Direct-ELISA : Pertama-tama lubang plat mikrotiter diisi 100 μ l antiserum BBWV1, BBWV2, TMV, CMV (DSMZ, Germany), dengan pengenceran 1/1.000 dalam *coating buffer* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama dua jam. Setelah lubang plat mikrotiter dicuci dengan PBS-T, disiapkan sap tanaman sakit dengan menggerus daun nilam (0,2 g) dalam satu ml bufer ekstrak. Sebanyak 100 μ l sap diisikan pada lubang plat mikrotiter dan diinkubasi \pm 24 jam pada suhu 4°C. Setelah dicuci dengan PBS-T (bufer fosfat ditambah Tween-20) sebanyak lima kali, lubang plat selanjutnya diisi dengan 100 μ l antiserum konjugat, yang diencerkan 1/1.000 dalam bufer konjugat, dan diinkubasi selama dua jam pada suhu 37°C. Setelah dicuci dengan PBS-T, lubang plat diisi dengan substrat *p-nitrophenyl fosfat* (PNP) dan diinkubasi selama 30-60 menit pada

suhu ruang. Hasil ELISA diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm (Clark dan Adam 1977).

Indirect-ELISA : Pertama-tama disiapkan sap tanaman sakit dengan menggerus daun nilam (0,2 g) dalam satu ml *buffer coating* yang mengandung 0,05 M DIECA. Sebanyak 100 μ l sap diisikan pada lubang plat mikrotiter dan diinkubasi \pm 24 jam pada suhu 4°C. Setelah dicuci dengan PBS-T (bufer fosfat ditambah Tween-20) sebanyak lima kali, lubang plat selanjutnya diisi dengan 100 μ l larutan dua persen skim milk dalam PBS-T dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya lubang plat mikrotiter diisi 100 μ l antiserum *Potyvirus*, dengan pengenceran 1/1.000 dalam bufer konjugat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama dua jam. Setelah dicuci dengan PBS-T, lubang plat diisi dengan 100 μ l konjugat RaM-AP, yang diencerkan 1/1.000 dalam bufer konjugat, dan diinkubasi selama dua jam pada suhu 37°C. Setelah dicuci dengan PBS-T, lubang plat diisi dengan substrat PNP dan diinkubasi selama 30-60 menit pada suhu ruang. Hasil ELISA diukur nilai absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm (Clark dan Adam 1977).

Pengukuran kadar minyak dan kadar patchouli alkohol tanaman nilam

Pengukuran berat kering tanaman dan penyulingan minyak nilam dilakukan dengan mengikuti beberapa tahap. Pertama-tama

bagian tanaman hasil panen dijemur di bawah panas sinar matahari selama lebih kurang tiga jam dan kemudian dibawa ke dalam ruangan (untuk dibiarkan sampai kering). Selama lebih kurang tujuh hari, tanaman nilam kering (terna kering) ditimbang beratnya. Penyulingan minyak nilam mengikuti metode penyulingan minyak nilam dengan dikukus (Mauludi dan Asman 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji serologi

Berdasarkan hasil serologi dengan metode ELISA, sampel tanaman nilam varietas Tapak Tuan dan Lhokseumawe bereaksi sangat kuat dengan antiserum *Potyvirus*, tetapi tidak menunjukkan reaksi dengan antiserum CMV, TMV, BBWV1 dan BBWV2. Sampel tanaman nilam varietas Sidikalang menunjukkan reaksi negatif terhadap semua antiserum yang diuji, walaupun secara kasat mata tanaman tersebut menunjukkan gejala mosaik yang sama seperti pada varietas Lhokseumawe dan Tapak Tuan (Tabel 1).

Hasil deteksi menggunakan metode ELISA memberi indikasi, *Potyvirus* merupakan jenis virus yang dominan ditemukan pada contoh tanaman nilam yang dianalisa. Tanaman nilam yang terinfeksi virus menunjukkan gejala berwarna kuning atau bercak klorosis pada daun, kemudian daun berubah bentuk (malformasi), lamina daun menyempit, dan pada serangan berat menyebabkan tanaman menjadi kerdil (Hartono dan Subandiyah 2006).

Tabel 1. Deteksi tiga varietas nilam, Sidikalang, Lhokseumawe dan Tapak Tuan secara serologi (ELISA)

Table 1. Serological Detection (ELISA) of plant viruses of three varieties of *pogostemon* (Sidikalang, Lhokseumawe and Tapak Tuan)

Jenis antiserum Type of antiserum	Jenis varietas Kind of varieties						Kontrol (+) Positive control	Kontrol (-) Negative control
	Sidikalang Sehat Healthy	Sakit Disease	Lhokseumawe Sehat Healthy	Sakit Disease	Tapak Tuan Sehat Healthy	Sakit Disease		
CMV	-	-	-	-	-	-	+	-
TMV	-	-	-	-	-	-	+	-
BBWV1	-	-	-	-	-	-	+	-
BBWV2	-	-	-	-	-	-	+	-
Potyvirus	-	-	-	+ (66,7%)	-	+ (100%)	+	-

Catatan/note : - =tidak terdeteksi/not detected, + = terdeteksi/detected

Metode ELISA menggunakan antiserum *Potyvirus* berhasil mendekksi infeksi *Potyvirus* sebanyak 100% pada varietas Tapak Tuan, tetapi hanya mendekksi 66,7% pada varietas Lhokseumawe. Pada varietas Sidikalang tak terdeteksi sama sekali. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan respon varietas atau konsentrasi virus yang rendah sehingga tidak terdeteksi dengan antiserum yang diuji. Metode serologi (metode ELISA) adalah suatu teknik yang sensitif dan telah banyak digunakan dalam deteksi virus tanaman (Lister 1978). Banyak faktor yang dapat mempengaruhi tingkat sensitivitas dan keandalan metode ELISA yaitu meliputi kualitas antibodi, persiapan dan penyimpanan perekasi, waktu inkubasi dan suhu, pemilihan bagian yang tepat dari sampel tanaman, dan penggunaan bufer ekstraksi yang cocok (Hewings dan D'Arcy 1984). Sangat penting juga untuk menggunakan kontrol positif dan negatif dalam uji ELISA untuk membedakan antara sampel terinfeksi dengan yang tidak terinfeksi. Pemilihan teknik deteksi lain yang lebih sensitif dan akurat untuk

sampel dengan konsentrasi virus yang rendah perlu dipertimbangkan.

Teknik deteksi virus tumbuhan terkini yang banyak digunakan adalah *polymerase chain reaction* (PCR) dan reverse transkripsi-PCR (RT-PCR). RT-PCR digunakan untuk mendekksi RNA virus tanaman (Thomson *et al.* 1995) dan juga telah digunakan untuk differensiasi strain berbeda dari virus yang sama (Gilling *et al.* 1993).

Metode deteksi dini virus menjadi sangat penting untuk tanaman nilam yang umumnya diperbanyak secara vegetatif. Tanaman nilam diperbanyak secara vegetatif sehingga benih yang dihasilkan dari induk yang terinfeksi virus akan tetap membawa virus dan dapat menyebar ke daerah lain. Pemilihan benih nilam bebas virus sangat penting dilakukan untuk menghindari penyebaran penyakit ini ke seluruh pertanaman nilam di Indonesia.

Salah satu cara untuk mendapatkan benih bebas virus dengan teknik kultur jaringan meristem apikal. Noveriza *et al.* (2012b) telah berhasil membuktikan bahwa kultur jaringan meristem apikal dari bahan tanaman nilam yang terinfeksi virus

dapat menghasilkan benih nilam yang bebas virus.

Pengaruh infeksi virus terhadap produksi dan kadar minyak

Berdasarkan pengukuran bobot basah dan kering yang dilakukan, penyakit mosaik yang menginfeksi tanaman nilam varietas Tapak Tuan dapat mengurangi produksi biomass (terna basah) hingga 26,52% dan berat terna kering hingga 40,42% (Tabel 2), kandungan minyak atsiri hingga 2,37% dan patchouli alkohol (PA) nilam sampai 5,06% (Tabel 3). Berbeda halnya pada varietas Lhokseumawe, penyakit mosaik ini dapat mengurangi produksi biomass (terna basah) hingga 7,87% persen dan berat terna kering hingga 0,62% (Tabel 2), kandungan minyak atsiri hingga 3,36% persen dan patchouli alkohol (PA) nilam sampai 0,72% (Tabel 3). Ada pengaruh yang cukup berbeda terjadi pada kedua varietas nilam tersebut. Untuk varietas Lhok-

seumawe walaupun penurunan biomass tidak terlalu tinggi jika dibandingkan varietas Tapak Tuan tetapi penurunan kadar minyak varietas Lhokseumawe (3,36%) lebih tinggi dibandingkan varietas Tapak Tuan (2,37%).

Produksi tanaman nilam tergantung pada jenis/varietas yang ditanam, keadaan tanah, pertumbuhan tanaman. Produksi yang baik dapat mencapai 15-25 t terna basah atau 3-5 t terna kering per ha per panen dengan rendemen minyak 2,5-4%, sehingga produksi minyak mencapai 75.200 kg/ha/panen (Mauludi dan Asman 2005). Penyakit mosaik tercatat sebagai salah satu faktor pembatas dalam produksi tanaman nilam (*P. cablin*) di Indonesia (Sukamto et al. 2007). Menurut estimasi Sugimura et al. (1995) dan Kadotani dan Ikegami (2002), serangan virus PaMMV yang menyebabkan gejala mosaik pada nilam dapat menurunkan produksi nilam

Tabel 2. Berat terna basah (g/tanaman) dan berat terna kering (g/tanaman) dari tiga varietas nilam terinfeksi virus mosaik dan yang sehat setelah enam bulan tanam

Table 2. Fresh weight (g/plant) and dry weight (g/plant) of virus infected and healthy of three patchouli varieties after six months of planting

Varietas <i>Varieties</i>	Kondisi tanaman <i>Plant Performance</i>	Bobot terna basah (g/tan) <i>Plant fresh weight (g/tan)</i>	Penurunan bobot terna basah <i>Reduction in plant biomass (%)</i>	Bobot terna kering (g/tan) <i>Plant dry weight (g/tan)</i>	Penurunan bobot terna kering <i>Reduction in plant dry weight (%)</i>
Sidikalang	Sehat <i>Healthy</i>	206,73	34,65	16,12	37,10
	Sakit <i>Infected</i>	135,10		10,14	
Lhokseumawe	Sehat <i>Healthy</i>	214,43	7,87	16,08	0,62
	Sakit <i>Infected</i>	197,57		15,98	
Tapak Tuan	Sehat <i>Healthy</i>	255,50	26,52	22,66	40,42
	Sakit <i>Infected</i>	187,73		13,50	

Tabel 3. Kadar minyak (%) dan kadar *patchouli alcohol* (%) dari tiga varietas nilam yang terinfeksi virus mosaik dan yang sehat setelah enam bulan tanam

Table 3. Oil content (%) and patchouli alcohol content (%) of virus infected and healthy of three patchouli varieties after six months of planting

Varietas <i>Varieties</i>	Kondisi tanaman <i>Plant performance</i>	Kadar air <i>Water content</i> (%)	Kadar minyak <i>Oil content</i> (%)	Penurunan kadar minyak <i>Reduction in oil content</i> (%)	Kadar patchouli alkohol <i>Patchouli alcohol content</i> (%)	Penurunan kadar patchouli alkohol <i>Reduction in patchouli alcohol content</i> (%)
Sidikalang	Sehat <i>Healthy</i>	12,31	2,64	9,09	35,65	0
	Sakit <i>Infected</i>	nt	2,40		36,64	
Lhokseumawe	Sehat <i>Healthy</i>	12,22	2,38	3,36	34,50	0,72
	Sakit <i>Infected</i>	11,67	2,30		34,25	
Tapak Tuan	Sehat <i>Healthy</i>	12,81	2,11	2,37	40,90	5,06
	Sakit <i>Infected</i>	nt	2,06		38,83	

Keterangan *Note* : nt = tidak diuji/*not tested*

sampai 35% dan kadar patchouli alkohol sebesar 2%.

Produksi tanaman nilam varietas Sidikalang mengalami penurunan sampai 34,65% tetapi hasil deteksi dengan ELISA menunjukkan bahwa tanaman tersebut tidak terinfeksi oleh *Potyvirus* (Tabel 1). Penurunan produksi (34,65-37,10%) dan kadar minyak (9,09%) pada varietas Sidikalang berhubungan dengan gangguan pada tanaman yang menyebabkan gejala bercak klorotik kuning, walaupun tidak mempengaruhi kadar PA tanaman. Fenomena tersebut memperkuat pentingnya metode identifikasi yang lebih tepat setelah uji serologi untuk memastikan penyebab penyakit atau gangguan pada tanaman nilam. Apabila penyebab penyakit atau gangguan dapat teridentifikasi dengan baik maka rekomendasi tindakan pengendalian

yang sesuai dapat ditentukan untuk mempertahankan produksi tanaman nilam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji serologi dengan metode ELISA pada daun tanaman nilam varietas Tapak Tuan dan Lhokseumawe, yang menunjukkan gejala mosaik diketahui bahwa *Potyvirus* merupakan penyebab utama. Infeksi virus mosaik tersebut berpotensi menyebabkan penurunan produksi dan kadar PA. Kisaran penurunan produksi terna basah, terna kering, kadar minyak dan PA pada dua varietas nilam (Tapak Tuan dan Lhokseumawe).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan

Pengembangan Pertanian Jakarta, yang telah memberikan beasiswa dan bantuan dana penelitian dari KKP3T Nilam tahun 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Brunt, A.A. 1992. The general properties of potyviruses. Archives of Virology 20 : 3-16.
- Clark MF dan AN Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34 : 475-483.
- Gilling, M., P. Broadbent, J. Indsto dan R. Lee. 1993. Characterization of isolates and strains of Citrus tristeza closterovirus using restriction analysis of the coat protein gene amplified by the polymerase chain reaction. Journal of Virology Methods 44 : 305-317.
- Hartono, S. dan S. Subandiyah. 2006. Pemurnian dan deteksi serologi Patchouli mottle virus pada tanaman nilam. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia 12 : 74-82.
- Hewings, A.D. dan C.J. D'Arcy. 1984. Maximizing the detection capability of a beet western yellows virus ELISA system. Journal of Virological Methods 9 : 131-142.
- Kadotani, N. dan M. Ikegami. 2002. Production of patchouli mild mosaic virus resistant patchouli plants by genetic engineering of coat protein precursor gene. Pest Management Science 58 : 1137-1142.
- Lister, R.M. 1978. Application of the Enzymelinked Immunosorbent Assay for Detecting Viruses in Soybean Seed and Plant. Phytopathology 68 : 1393-1400.
- Mauludi, L. dan A. Asman. 2005. Profil Investasi Pengusahaan Nilam. Unit Komersialisasi Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor. hlm. 42.
- Meissner Filho, P.E., R. de O. Resende, M.I. Lima dan E.W. Kitajima. 2002. Patchouli virus X, a new potexvirus from *Pogostemon cablin*. Ann. Appl. Biol. 141 : 267-274.
- Natsuaki, K.T., K. Tomaru, S. Ushiku, Y. Ichikawa, Y. Sugimura, T. Natsuaki, S. Okuda dan M. Teranaka. 1994. Characteristic of two viruses isolated from patchouli in Japan. Plant Disease 78 : 1094-1097.
- Noveriza, R.;G. Suastika; S.H. Hidayat dan U. Kartosuwondo. 2012a. Identification of A Potyvirus Associated with Mosaic Disease on Patchouli Plants in Indonesia. Journal of ISSAAS. (in press).
- Noveriza, R., G. Suastika, S.H. Hidayat dan U. Kartosuwondo. 2012b. Eliminasi Potyvirus penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan kultur meristem apical dan perlakuan air panas. Jurnal Littri. (in press).
- Nuryani, Y. 2005. Pelepasan varietas unggul nilam. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri Vol. 11, 1 : 1-3.
- Sastray, K.S. dan T. Vasanthakumar. 1981. Yellow mosaic of patchouli (*Pogostemon patchouli*) in India. Current Science. 50 : 767-768.

- Singh, M.K., V. Chandel, V. Hallan, R. Ram dan A.A. Zaid. 2009. Occurrence of Peanut stripe virus on patchouli and raising of virus-free patchouli plants by meristem tip culture. Journal of Plant Diseases and Protection 116 : 2-6.
- Sugimura, Y., B.F. Padayhag, M.S. Ceniza, N. Kamata, S. Eguchi, T. Natsuaki dan S. Okuda. 1995. Essential oil production increased by using virus free patchouli plants derived from meristem tip culture. Plant Pathology 44 : 510-515.
- Sukamto, I.B. Rahardjo, dan Y. Sulyo. 2007. Detection of potyvirus on patchouli plant (*Pogostemon cablin* Bent.) from Indonesia. Proceeding International Seminar on Essential Oil. Jakarta, 7-9 November 2007. hlm. 72-77.
- Sumardiyono, Y.B., S. Sulandari dan S. Hartono. 1995. Penyakit mosaik kuning pada nilam (*Pogostemon cablin*). Risalah Kongres Nasional XII dan Seminar Ilmiah PFI Yogyakarta, 6-8 September 1993. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Yogyakarta. hlm. 912-916.
- Thomson, K.G., R.G. Dietzgen, A.J. Gibbs, Y.C. Tang, W. Liesack, D.S. Teakle dan E. Stackebrandt. 1995. Identification of Zucchini yellow mosaic potyvirus by RT-PCR and analysis of sequence variability. Journal of Virology Methods 55 : 83-96.