

Sirkuler

Informasi Teknologi
Tanaman Rempah dan Obat

ISBN : 978-979-548-038-9

**DETEKSI PENYAKIT MOSAIK
PADA TANAMAN NILAM
SECARA SEROLOGI DAN MOLEKULER**

Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat



SCIENCE.INNOVATION.NETWORKS
www.litbang.deptan.go.id

ISBN : 978-979-548-038-9

Informasi Teknologi Tanaman Rempah dan Obat

Penanggung Jawab

Kepala Balitro

Dr. Agus Wahyudi

Penyunting Ahli

Ketua Merangkap Anggota

Dra. Endang Hadipoentyanti, MS

Anggota

Dr. Molide Rizal

Ir. Sri Yuni Hartati, M.Sc

Ir. Agus Ruhnayat

Penyunting Pelaksana

Ir. Yusniarti

Efiana, S.Mn.

Sujianto, A.Md.

Miftahudin

UNIT PENERBITAN DAN PUBLIKASI BALITRO 2013

Alamat Redaksi

Jl. Tentara Pelajar No. 3

Cimanggu Bogor 16111

Email: publikasitro@gmail.com

Design Sampul dan Tata Letak :

Miftahudin dan Sujianto

Sumber Dana

DIPA 2013

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan

©Hak cipta dilindungi undang-undang, dilarang memperbanyak buku ini sebagian atau seluruhnya dalam bentuk dan dengan cara apapun, baik secara manual maupun elektronik tanpa izin tertulis dari penerbit

ISBN : 978-979-548-038-9

Sirkuler

**Informasi Teknologi
Tanaman Rempah dan Obat**

**DETEKSI PENYAKIT MOSAIK
PADA TANAMAN NILAM
SECARA SEROLOGI DAN MOLEKULER**

Rita Noveriza

Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat



SCIENCE. INNOVATION. NETWORKS
www.litbang.deptan.go.id

KATA PENGANTAR

Penyakit mosaik yang disebabkan oleh beberapa jenis virus merupakan penyakit yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas produksi tanaman nilam. Penyakit tersebut sangat cepat berkembang karena dapat ditularkan oleh serangga kutu daun, tetapi penyebaran yang utama di lapangan adalah dari bahan tanaman. Benih yang berasal dari setek pucuk atau setek batang tanaman nilam yang terinfeksi virus akan menjadi sumber pembawa virus. Hal ini akan menyebarkan virus dari suatu daerah ke daerah pertanaman nilam lainnya, sehingga akan membawa dan melestarikan virus dari musim ke musim.

Tulisan ini memberikan penjelasan tentang penyakit mosaik pada tanaman nilam dan gejala-gejalanya serta bagaimana teknik untuk mendeteksi keberadaan virus penyebab penyakit tersebut.

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Kepala,

Dr. Ir. Agus Wahyudi, MS

NIP. 19600121 198503 1 002

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
PENDAHULUAN	1
VIRUS PADA TANAMAN NILAM DAN GEJALANYA	2
Virus-virus yang menginfeksi tanaman nilam	2
Gejala infeksi virus pada tanaman nilam	3
KARAKTER BIOLOGI VIRUS PADA TANAMAN NILAM	5
<i>Potyvirus</i>	5
<i>Fabavirus</i>	6
PENYEBARAN DAN PENULARAN VIRUS-VIRUS PADA TANAMAN NILAM	7
AKIBAT INFEKSI VIRUS PADA TANAMAN NILAM	8
DETEKSI DINI VIRUS-VIRUS PADA TANAMAN NILAM SECARA SEROLOGI DAN MOLEKULER	9
Deteksi secara serologi.....	9
Deteksi <i>Potyvirus</i> dan <i>Fabavirus</i> secara molekuler	12
BAHAN BACAAN	18

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Gejala mosaik yang disebabkan oleh virus pada 3 varietas nilam	3
Gambar 2. Variasi gejala mosaik yang disebabkan oleh infeksi <i>Potyvirus</i> pada tanaman nilam di beberapa daerah sentra produksi di Indonesia: (A) dan (B) sampel daun nilam dari Kecamatan Bogor Barat-Bogor, (C) dari Cidolog-Ciamis, (D) dari Pakenjeng-Garut, (E) dari Kinali-Pasaman Barat, dan (F) dari Situ Jehe-Pakpak Bharat yang sehat (negatif virus hasil analisis secara serologi) (Sumber: Noveriza, 2013).	4
Gambar 3. Gejala mosaik pada tanaman nilam karena infeksi tunggal dan infeksi ganda virus: (A) sampel daun nilam dari Cicurug-Sukabumi yang terinfeksi tunggal <i>Fabavirus</i> (BBWV1), (B) dari Kinali-Pasaman Barat yang terinfeksi tunggal <i>Potyvirus</i> (TeMV), (C) dari Singkut-Sarolangun, Jambi yang terinfeksi ganda <i>Potyvirus</i> dan <i>Fabavirus</i> , (D) dari Kecamatan Salem-Brebes yang terinfeksi <i>Fabavirus</i> (BBWV2) (Sumber: Noveriza, 2013).	4
Gambar 4. Bentuk partikel <i>Potyvirus</i> isolat nilam asal Bogor yang diamati dengan mikroskop elektron. Panjang partikel virus berkisar 350-2400 nm (rata-rata dari 40 partikel) dengan rata-rata 914 nm	5
Gambar 5. Partikel <i>Fabavirus</i> berbentuk bulat (<i>isometric</i>). Skala garis = 100 nm	6
Gambar 6. Partikel <i>Potexvirus</i> berbentuk batang lentur. Skala garis= 100 nm	7
Gambar 7. Koloni kutu daun yang mengkoloni di pucuk tanaman nilam yang menyebabkan daun menggulung	8
Gambar 8. Teknik deteksi sampel tanaman nilam yang terinfeksi virus secara <i>Indirect-ELISA</i>	10
Gambar 9. Tahapan awal penyiapan sampel daun tanaman nilam yang akan dideteksi menggunakan metode ELISA. Daun tanaman nilam ditimbang, digerus dengan penambahan bufer (A), dimasukkan ke dalam cawan ELISA (B) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 jam (C)	10
Gambar 10. Tahapan pencucian cawan ELISA, (A) Cawan ELISA yang berisi cairan ekstrak daun nilam dibuang, kemudian diisi dengan larutan PBS-T sebanyak 200 µl, (B) Inkubasi pada suhu kamar sambil digoyang pelan-pelan, dan (C) Cairan dibuang ke tempat pembuangan air	11
Gambar 11. Tahapan penambahan antiserum (A) dan substrat (B), dan kemudian diukur dengan menggunakan ELISA reader (C)	11
Gambar 12. Deteksi sampel tanaman menggunakan metode DIBA. (A) Kontrol positif, (B) Cairan bufer, (C) Kontrol negatif, (D-G) Sampel tanaman yang diuji, (H) Tanaman sehat	12
Gambar 13. Tahapan ekstraksi RNA/DNA virus tanaman	13

Gambar 14. Proses penyiapan sampel tanaman uji yang akan dideteksi menggunakan teknik PCR	14
Gambar 15. Proses visualisasi DNA virus dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarose	16
Gambar 16. Hasil amplifikasi DNA genom virus dengan metode RT-PCR menggunakan campuran primer <i>Potyvirus</i> dan <i>Fabavirus</i> . Lajur M: marker 100 bp DNA ladder; lajur 1: kontrol negatif dari tanaman sehat; lajur 2: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi tunggal oleh <i>Potyvirus</i> ; lajur 3: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi tunggal oleh <i>Fabavirus</i> ; dan lajur 4: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi ganda oleh kedua virus <i>Potyvirus</i> dan <i>Fabavirus</i>	17

PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang penting, menyumbang devisa lebih dari 50% total ekspor minyak atsiri Indonesia. Indonesia merupakan pemasok minyak nilam terbesar dipasaran dunia dengan kontribusi 80-90%. Ekspor Indonesia berfluktuasi dengan laju peningkatan sekitar 12% per tahun atau berkisar antara 700 dan 2.800 ton. Sementara itu, kebutuhan dunia berkisar 1.200-1.500 ton dengan pertumbuhan 5% per tahun (PDIP, 2010).

Sebagian besar produk minyak nilam diekspor untuk dipergunakan dalam industri parfum, kosmetik, antiseptik dan insektisida (Dummond, 1960; Robin, 1982; Mardiningsih *et al.*, 1995). Manfaat utama minyak nilam digunakan sebagai bahan fiksatif (mengikat minyak atsiri lainnya) yang sampai sekarang belum ada produk substitusinya (Ibnusantoso, 2000). Selain itu dengan berkembangnya metode pengobatan, minyak nilam dapat menjadi salah satu pilihan bahan untuk aromaterapi, karena diketahui bermanfaat untuk menyembuhkan penyakit fisik maupun mental.

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, Kembang dan Jawa atau Sabun. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) pada tahun 2005 telah melepas 3 varietas unggul nilam, yaitu Tapak Tuan, Lhokseumawe, dan Sidikalang (Nuryani, 2005).

Budidaya nilam di Indonesia diusahakan oleh petani yang tersebar di 12 propinsi, yang sekitar 50% arealnya berada di Sumatera (Nanggroe Aceh Darussalam (NAD), Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Bengkulu dan Lampung) dan 50% lainnya berada di Jawa (Jawa Barat, Jawa Tengah, DI Yogyakarta dan Jawa Timur). Akhir-akhir ini tanaman nilam juga dikembangkan di Bali, Kalimantan Tengah, Kalimantan Timur dan Sulawesi Utara (Barani, 2008 dan Hadipoentyanti, 2010). Pada tahun 1998-2008, luas areal pertanaman nilam meningkat pesat dengan rata-rata kenaikan sebesar 12.98% per tahun. Bahkan pada tahun 2002 peningkatan luas areal nilam mencapai 139.79% dibandingkan tahun sebelumnya (PDIP, 2010). Namun peningkatan luas areal ini tidak sejalan dengan perkembangan produktivitas nilam.

Produktivitas dan mutu minyak nilam Indonesia masih sangat rendah dengan kadar minyak 1-2% (Rusli *et al.*, 1993). Pada tahun 2004 produktivitas nilam Indonesia sekitar 103.42 kg/ha, tetapi tahun berikutnya turun menjadi 103.11 kg/ha dan pada tahun 2006 meningkat hingga 107.23 kg/ha. Tingkat produktivitas yang cukup tinggi tidak dapat dipertahankan dan menurun lagi menjadi 72.92 kg/ha pada tahun 2007 dan 83.05 kg/ha pada tahun 2008 (PDIP, 2010). Tahun 2010 meningkat lagi 157.00 kg/ha (Ditjenbun, 2010). Banyak faktor yang menyebabkan fluktuasi produktivitas dan mutu nilam Indonesia rendah, antara lain adalah tidak menggunakan benih varietas unggul, budidaya yang tidak intensif, hama dan penyakit, cara penanganan bahan baku dan penyulingan minyak yang masih jauh dari sempurna (PDIP, 2010).

Salah satu faktor penyebab utama penurunan produktivitas tanaman nilam tersebut karena adanya infeksi patogen penyebab penyakit. Beberapa penyakit penting nilam yang saat ini sudah tersebar di Indonesia yaitu layu bakteri, budok, penyakit yang ditimbulkan akibat nematoda, akar putih dan bercak daun (Nurawan, 2008), dan penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus (Sukamto *et al.*, 2007).

Penyebaran penyakit yang disebabkan oleh virus sangat cepat, saat ini sudah dilaporkan keberadaannya di sentra produksi nilam di Sumatera dan Jawa (Noveriza *et al.*, 2012a). Infeksi *Telosma mosaic virus* (TeMV) pada tiga varietas unggul nilam (Tapak Tuan, Lhokseumawe, Sidikalang) pada 6 bulan setelah tanam (panen pertama) dapat menurunkan produksi terna basah, terna kering, kadar minyak dan PA (*patchouli alcohol*) berturut-turut mencapai 35%, 40%, 9% dan 5% (Noveriza *et al.*, 2012b). Persentase penurunan produksi dan kadar minyak diduga akan menjadi lebih besar pada panen kedua, ketiga dan seterusnya. Oleh sebab itu pemilihan bahan tanaman setek (benih) nilam yang benar-benar sehat dan bebas virus sangat penting dilakukan untuk mencegah penularan virus dari suatu daerah ke daerah lainnya.

Infeksi virus bersifat sistemik dan tanaman nilam diperbanyak secara vegetatif (setek), oleh sebab itu sangat penting untuk mengetahui apakah bahan tanaman nilam yang akan digunakan sebagai induk untuk perbanyakannya tersebut sudah bebas dari infeksi virus.

Pada tulisan ini diuraikan virus-virus yang dapat menginfeksi tanaman nilam, cara penularan, cara mendeteksinya secara dini pada bahan tanaman yang menjadi sumber benih nilam. Teknik-teknik untuk mendeteksi tanaman nilam yang terinfeksi virus atau sehat diuraikan secara detail, dan teknik untuk membebaskan tanaman nilam yang terinfeksi virus akan diuraikan pada tulisan lainnya.

VIRUS PADA TANAMAN NILAM DAN GEJALANYA

Virus merupakan submikroorganisme yang sangat sederhana, tersusun dari rangkaian asam nukleat (RNA atau DNA) yang bersifat infeksius (dapat menginfeksi tanaman) dan diselubungi oleh mantel protein (*coat protein*). Secara umum virus tanaman hanya dapat hidup di dalam sel-sel tanaman yang hidup, meskipun beberapa virus tertentu seperti *Tobacco mosaic virus* (TMV) bersifat sangat stabil dan mampu bertahan dalam keadaan inaktif pada daun tembakau sakit yang sudah kering (Agrios, 2005), tetapi jika lingkungan tempat hidupnya cocok maka dapat aktif dan bersifat infeksius lagi.

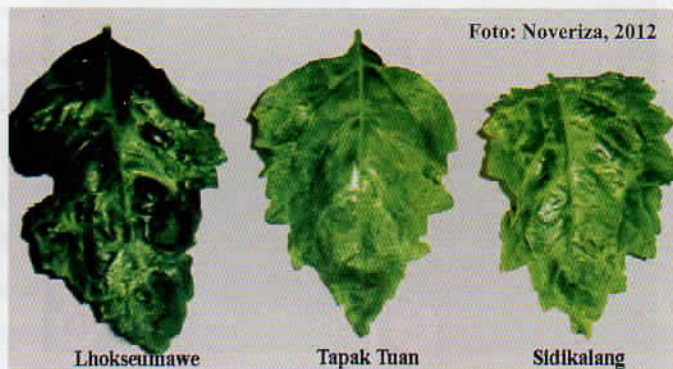
Virus-virus yang menginfeksi tanaman nilam

Penelitian tentang virus-virus yang menginfeksi tanaman nilam sudah banyak dilakukan di luar negeri, sedang di Indonesia masih sangat sedikit. Pada tahun 1982 di Brazil, pertama kali dilaporkan adanya infeksi *Tobacco Necrosis Virus* (TNV) pada tanaman nilam, yang merupakan anggota dari *Necrovirus* (Gama *et al.*, 1982). Dua puluh tahun kemudian, ditemukan adanya infeksi *Patchouli virus X* (PatVX) yang merupakan anggota dari *Potexvirus*. Virus ini ditemukan menginfeksi pertanaman nilam di *Agronomic Institute of Campinas*, Brazil (Meissner Filho *et al.*, 2002).

Pada pertanaman nilam yang dikembangkan di lahan percobaan di Jepang dan Taiwan, ditemukan adanya gejala penyakit mosaik yang disebabkan oleh virus. Berdasarkan hasil identifikasi, tanaman nilam tersebut terinfeksi oleh campuran dua jenis virus yaitu *Patchouli mild mosaic virus* (PaMMV) merupakan anggota dari *Fabavirus* dan *Patchouli mottle virus* (PaMoV) merupakan anggota dari *Potyvirus*. Persentase intensitas penyakit yang disebabkan oleh kedua virus tersebut sangat tinggi (Natsuaki *et al.*, 1994).

Pada tahun 2002, dilaporkan adanya infeksi virus *Peanut stripe potyvirus* (PStV) yang merupakan anggota dari *Potyvirus* di India. Virus ini ditemukan menginfeksi tanaman nilam pada lahan Chandpur di *Institute of Bioresource Technology* (IHBT) kampus Palampur di India (Singh *et al.*, 2009).

Virus yang dilaporkan menginfeksi tanaman nilam di Indonesia adalah *Cucumber mosaic virus* (CMV) dan *Potyvirus* yang terdeteksi dari sampel tanaman nilam asal Cianjur dan Bogor (Sukamto *et al.*, 2007). Tanaman nilam di Jawa Tengah dilaporkan terinfeksi oleh *Bean common mosaic virus* strain PStV (Hartono, 2008). Tanaman nilam Kembang (*P. heyneanus*) di Jawa Tengah dilaporkan juga terinfeksi virus dengan intensitas penyakit yang tinggi (Sumardiyono, 1991). Infeksi virus-virus tersebut menunjukkan gejala yang berbeda pada daun tanaman nilam. Virus yang dilaporkan menginfeksi tanaman nilam di Indonesia ada 6 jenis yaitu dari genus *Potyvirus* (TeMV, PStV), *Fabavirus* (*Broad bean wilt virus 2*, BBWV2) (Noveriza *et al.*, 2012a), *Potexvirus* (*Cymbidium mosaic virus*, CymMV), CMV dan *Tobacco mosaic virus* (TMV) (Miftakhurohmah, komunikasi pribadi), tetapi yang dominan adalah *Potyvirus*. Virus-virus tersebut menginfeksi ke tiga varietas nilam yaitu Lhokseumawe, Tapak Tuan dan Sidikalang (Gambar 1).

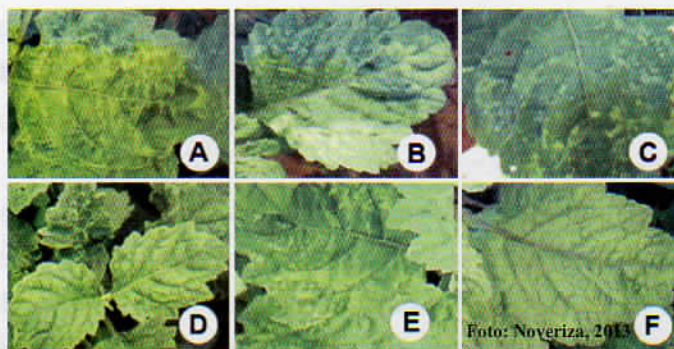


Gambar 1. Gejala mosaik yang disebabkan oleh virus pada 3 varietas nilam.

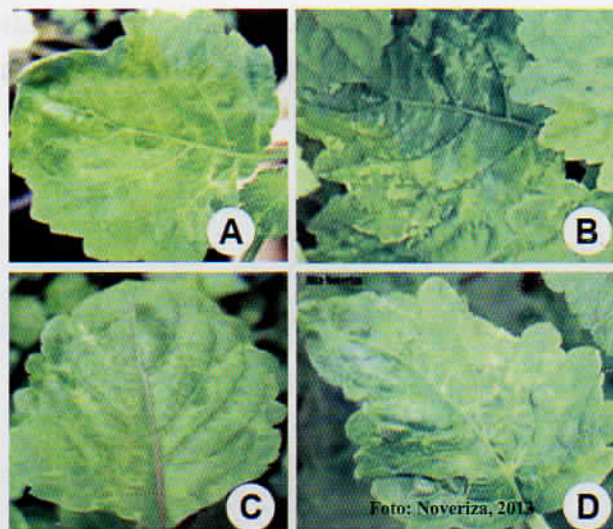
Gejala infeksi virus pada tanaman nilam

Virus dapat menginfeksi tanaman nilam secara sendiri-sendiri (infeksi tunggal) atau secara bersama-sama dengan virus lain (infeksi ganda). Infeksi ganda menyebabkan gejala lebih berat jika dibandingkan infeksi tunggal. Dua jenis virus (PaMoV dan PaMMV) ditemukan secara bersamaan menginfeksi tanaman nilam di Jepang. PaMMV menginduksi gejala mosaik lemah (*mild mosaic*), sedangkan PaMoV menginduksi belang lemah (*mild mottling*) (Natsuaki *et al.*, 1994). Infeksi CMV, BCMV strain PStV dan PStV dapat menginduksi gejala mosaik

pada nilam di India dan Indonesia (Singh *et al.*, 2009; Sukamto *et al.*, 2007; Hartono, 2008). Noveriza (2013), melaporkan bahwa terdapat variasi gejala mosaik yang disebabkan oleh infeksi *Potyvirus* (Gambar 2), dan tidak bisa dibedakan antara infeksi *Potyvirus* maupun *Fabavirus* berdasarkan gejalanya. Gejala tanaman nilam yang terinfeksi tunggal dan ganda dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Variasi gejala mosaik yang disebabkan oleh infeksi *Potyvirus* pada tanaman nilam di beberapa daerah sentra produksi di Indonesia: (A) dan (B) sampel daun nilam dari Kecamatan Bogor Barat-Bogor, (C) dari Cidolog-Ciamis, (D) dari Pakenjeng-Garut, (E) dari Kinali-Pasaman Barat, dan (F) dari Situ Jehe-Pakpak Bharat yang sehat (negatif virus hasil analisis secara serologi) (Sumber: Noveriza, 2013).



Gambar 3. Gejala mosaik pada tanaman nilam karena infeksi tunggal dan infeksi ganda virus: (A) sampel daun nilam dari Cicurug-Sukabumi yang terinfeksi tunggal *Fabavirus* (BBWV1), (B) dari Kinali-Pasaman Barat yang terinfeksi tunggal *Potyvirus* (TeMV), (C) dari Singkut-Sarolangun, Jambi yang terinfeksi ganda *Potyvirus* dan *Fabavirus*, dan (D) dari Kecamatan Salem-Brebes yang terinfeksi *Fabavirus* (BBWV2) (Sumber: Noveriza, 2013).

Tanaman nilam yang terinfeksi virus, daun-daunnya nampak mengalami klorosis berat (mosaik), berubah bentuk (malformasi), dan berukuran sangat kecil. Pertumbuhan tanaman secara keseluruhan menjadi sangat terhambat dan tanaman sakit tampak sangat kerdil (Hartono dan Subandiyah, 2006; Noveriza, 2013).

KARAKTER BIOLOGI VIRUS-VIRUS PADA TANAMAN NILAM

Potyvirus

Potyvirus termasuk ke dalam famili *Potyviridae*, merupakan virus yang menginfeksi tanaman nilam dan yang menyebabkan gejala mosaik. *Potyviridae* merupakan famili terbesar dari virus tanaman. Genom *Potyvirus* adalah *positif sense single-stranded RNA* [ssRNA(+)] yang berukuran kurang lebih 10 kb dan satu subunit *coat protein*. Semua anggota dari genus tersebut memiliki partikel virus (virion) berbentuk batang dan lentur (Gibs *et al.*, 2008).

PaMoV dan PStV tergolong ke dalam genus *Potyvirus*. Berdasarkan hasil pengamatan dengan mikroskop elektron, *Potyvirus* terdiri dari satu partikel berbentuk batang lentur dengan panjang antara 680–900 nm dengan diameter 12 nm (Agrios, 2005). Menurut Natsuaki *et al.* (1994), partikel PaMoV berbentuk batang lentur dengan panjang kurang lebih 760 nm. Noveriza (2013) melaporkan bahwa partikel *Potyvirus* (TeMV) isolat Bogor berbentuk batang dan lentur yang berukuran lebih kurang 914 nm (Gambar 4).



Gambar 4. Bentuk partikel *Potyvirus* isolat nilam asal Bogor yang diamati dengan mikroskop elektron. Panjang partikel virus berkisar 50-2400 nm (rata-rata dari 40 partikel) dengan rata-rata 914 nm.

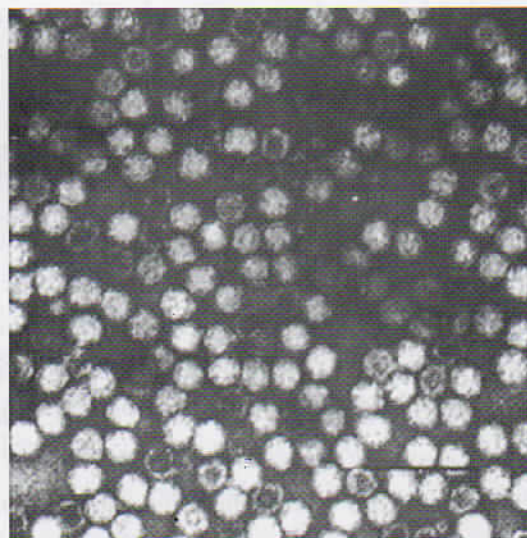
Pengujian kisaran inang PaMoV telah dilakukan oleh Sumardiyono *et al.* (1995). Infeksi PaMoV menyebabkan gejala bercak nekrosis pada *Chenopodium amaranticolor* dan *Gomprena globosa*, dan menyebabkan gejala mosaik pada *Nicotiana tabacum* var. Samsun, *N. glutinosa*, dan *Vigna unguiculata*. Di lain pihak, infeksi PaMoV tidak menyebabkan gejala pada tanaman *N. glauca*, *Physalis floridana*, *Tetragonia expansa*, *Phaseolus radiatus*, *Vicia faba* dan *Datura stramonium*. Hasil ini mirip dengan hasil pengujian kisaran inang strain PaMoV isolat dari Jepang. Menurut Natsuaki *et al.* (1994), PaMoV secara mekanis ditularkan dari nilam ke *C. quinoa*, *T. expansa* dan *Sesamum indicum* L., menyebabkan gejala lesion sistemik, dan ke *C. amaranticolor* dan *G. globosa* menyebabkan gejala lesion lokal. Delapan belas spesies tanaman lain pada 7 famili termasuk *Labiatae*, tahan terhadap PaMoV seperti *Spinacia oleracea*, *Phaseolus vulgaris* cvs. Top Crops dan Masterpiece; *Vigna sesquipedalis*; *Brassica campestris* cv. Komatsuna; *Cucumis sativus*, *Perilla frutescens*; *Mentha spicata*; *Salvia splendens*; *Vinca rosea*; *Lucopersicon esculentum*; *Nicotiana glutinosa*; *N. clevelandii*; *N. tabacum* cvs. Burley 21, Samsun dan Xanthi-nc; *Petunia X hybrida*; *Lactuca sativa*; dan *Zinnia elegans*. Tanaman indikator atau tanaman yang bias membedakan TeMV dan PaMoV adalah *C. quinoa*, *G. globosa* dan *N. tabacum* (Noveriza, 2013).

Fabavirus

Virus yang berasal dari genus *Fabavirus* (famili *Comoviridae*) dapat menginfeksi tanaman dalam berbagai kisaran inang, termasuk tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan tanaman hortikultura dalam berbagai spesies. Virus ini sangat berpotensi menyebabkan kehilangan hasil tanaman yang sangat tinggi setiap tahunnya (Ferrer *et al.*, 2007).

Partikel dari *Fabavirus* berbentuk bulat (*isometric*) seperti pada Gambar 5 (Natsuaki *et al.*, 1994), diameter sekitar 30 nm, dan terbagi menjadi 3 komponen yaitu bentuk T, M, dan B, selama *density gradient uhra-centrifugation* (DGC) (Wellink *et al.*, 2000). Genom RNA terdiri dari dua molekul *single strand* dari 6.0-6.3 kb (RNA1) dan 3.9-4.5 kb (RNA2) dimana terjadi pemisahan selubung protein pada komponen B dan M secara berturut-turut. Masing-masing dari 3 komponen tersebut disusun dari 2 protein yang berbeda, yaitu Mr 40 x 10³ sampai 45 x 10³ (*large coat protein*; LCP) dan 21 x 10³ sampai 27 x 10³ (*small coat protein*; SCP) (Kobayashi, 2005). RNA *Fabavirus* ditranslasikan menjadi *single polyprotein* awal, dimana protein fungsional diperoleh dari pemecahan *proteolytic* yang terjadi seperti pada *Comoviridae* (Wellink, 2000).

Saat ini, terdapat tiga spesies yang telah diakui termasuk dalam genus *Fabavirus*, yaitu *Broad bean wilt virus 1* (BBWV 1), *Broad bean wilt virus 2* (BBWV 2), *Lamium mild mosaic virus* (LaMMV) dan kandidat spesies baru, *Gentian mosaic virus* (GeMV) (Kobayashi, 2005). BBWV 1 dan BBWV 2 dapat dibedakan berdasarkan uji serologi (Uyemoto, 1974). Pada penelitian sebelumnya, telah ditentukan bahwa seluruh sekuen nukleotida dari RNA BBWV-1 dan BBWV-2 dilaporkan memiliki hubungan genetik satu dengan lainnya (Kobayashi *et al.*, 2003). Tanaman yang terinfeksi tunggal oleh BBWV memiliki gejala mosaik, *vein-clearing*, *rugosity*, dan malformasi pada daun (Kondo *et al.*, 2005). BBWV memiliki kisaran inang yang luas pada tanaman dikotil dan beberapa famili tanaman monokotil (Qi *et al.*, 2000). *Patchouli mild mosaic virus* (PaMMV) juga telah diklasifikasikan sebagai spesies yang termasuk dalam *Fabavirus* (Ferrer, 2005 dan Kobayashi, 2003) yang telah diusulkan sebagai salah satu isolat BBWV-2 (Ikegami, 1998 dan Ikegami, 2001).

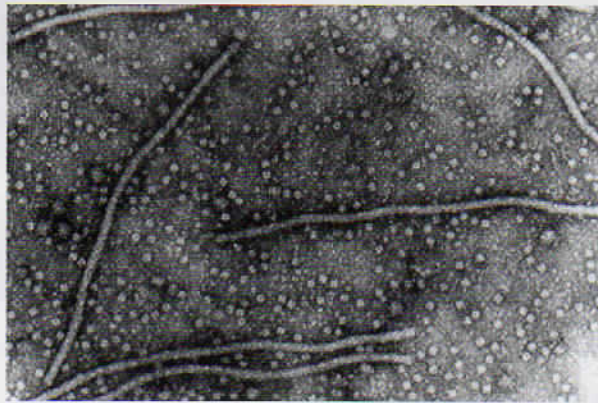


Gambar 5. Partikel *Fabavirus* berbentuk bulat (*isometric*). Skala garis= 100 nm (Natsuaki *et al.*, 1994).

Potexvirus

Partikel *Potexvirus* berbentuk batang lentur (*flexuous rod*), dengan panjang antara 470 sampai 580 nm, dan berdiameter antara 11 sampai 13 nm (Gambar 6). Genom *Potexvirus* adalah RNA positif utas tunggal, berukuran 5.8 – 7.0 kb dan memiliki lima *Open Reading Frame* (ORF). ORF1 mengkode protein yang berhubungan dengan replikasi virus, ORF2 sampai 4 secara umum mengacu sebagai *Triple Gene Block* (TGB) dan mengkode gen yang berhubungan dengan perpindahan virus dari sel ke sel. ORF5 mengkode *coat protein* virus (Agrios 2005).

Anggota dari *Potexvirus* yang menginfeksi tanaman nilam dilaporkan adalah *Patchouli virus X* dengan menunjukkan gejala mosaik. Secara serologi, virus ini berhubungan dekat dengan *Papaya mosaic virus*, *Potato Virus X*, *Viola mottle virus*, *White clover mosaic virus* dan *Lily virus X*. *Patchouli virus X* tidak ditularkan melalui alat pangkas (gunting tanaman), biji ataupun vektor, namun ditularkan dengan efektif secara mekanis. Pada tanaman nilam, infeksi PatVX hanya menyebabkan infeksi laten (Meissner Filho *et al.* 2002).



Gambar 6. Partikel *Potexvirus* berbentuk batang lentur. Skala garis = 100 nm.

PatVX mempunyai inang yang terbatas dan dapat ditularkan secara mekanis pada kelompok tanaman *Amaranthaceae*, *Solanaceae* dan *Labiatae*, diantaranya adalah *G. globosa*, *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *Datura stramonium* dan *N. tabacum* Meissner Filho *et al.* 2002).

PENYEBARAN DAN PENULARAN VIRUS-VIRUS PADA TANAMAN NILAM

Infeksi virus pada umumnya bersifat sistemik, bergerak dari sel ke sel melalui plasmodesmata dan secara pasif bersama asimilat melalui jaringan pembuluh. Hal ini berarti virus tersebar ke seluruh jaringan tanaman dan mampu melakukan perbanyakan (multiplikasi). Multiplikasi RNA/DNA dan selubung mantel proteinnya terjadi secara terpisah yang pada akhirnya akan bersatu membentuk partikel virus baru. Multiplikasi virus pada umumnya terjadi dalam jaringan-jaringan muda yang aktif melakukan metabolisme (Agrios, 2005).

Infeksi, penyebaran, dan penularan *Potyvirus* dan *Fabavirus* pada tanaman melalui berbagai cara, yaitu pelukaan halus, benih bibit tanaman terinfeksi, dan serangga vektor.

Potyvirus dan *Fabavirus* adalah kelompok virus yang secara alami dapat ditularkan dan disebarkan oleh kutu daun (Hampton *et al.*, 2005; Natsuaki *et al.*, 1994). Kedua kelompok virus tersebut ditularkan secara non-persisten (Noveriza, 2013; Kobayashi, 2005) dan juga ditularkan secara mekanis. Persentase infeksi virus yang ditularkan melalui serangga vektor pada pertanaman nilam di India mencapai 27% (Sastry dan Vasanthakumar, 1981). Kutu daun *Aphis gossypii* efektif menularkan TeMV (*Potyvirus*) pada tanaman nilam, dalam waktu inokulasi 5 menit, persentase infeksi virus mencapai 30% (Noveriza, 2013).

Kutu daun *A. gossypii* berwarna hijau kekuningan sampai hijau, membentuk koloni dipermukaan bawah daun dan tangkai pucuk (Gambar 7), menyebabkan pucuk daun menggulung karena serangga tersebut menghisap cairan tanaman. Serangga tersebut ditemukan diseluruh pertanaman nilam di Indonesia.



Gambar 7. Koloni kutu daun yang mengkoloni di pucuk tanaman nilam yang menyebabkan daun menggulung.

Cara penyebaran utama virus tersebut yang terjadi di lapang adalah melalui bahan tanaman yang terinfeksi. Perbanyakan benih dari tanaman yang terinfeksi tanpa adanya seleksi, merupakan salah satu penyebab utama tingginya kejadian penyakit pada pertanaman nilam di India (Sastry dan Vasanthakumar, 1981) dan Indonesia (Hartono dan Subandiyah, 2006). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 2.680 setek nilam yang ditanam di lapang, 2.386 setek dinyatakan terinfeksi oleh virus. Persentase kejadian penyakit mencapai 89% (Sastry dan Vasanthakumar, 1981).

AKIBAT INFEKSI VIRUS PADA TANAMAN NILAM

Dalam budidaya tanaman nilam, virus merupakan salah satu penyebab penyakit yang dapat menimbulkan kerugian produksi yang cukup berarti baik secara kualitas maupun kuantitas. Infeksi virus PaMMV dapat menurunkan produksi dan kadar minyak nilam berturut-turut mencapai 35% dan 2% (Sugimura *et al.*, 1995). Infeksi TeMV dapat menyebabkan penurunan produksi terna basah, terna kering, kadar minyak dan *patchouli alcohol* berturut-turut mencapai 34,65%, 40,42%, 9,09% dan 5,06% (Noveriza, 2013).

Pada daun nilam terdapat kelenjar yang terdapat pada bagian mesofil daun, tempat diproduksi minyak nilam (Sandes *et al.*, 2012). Minyak nilam terdiri atas 24 jenis senyawa sesquiterpene (Deguerry *et al.*, 2006). Menurut Maeda *et al.* (1999), penyebab menurunnya kadar minyak pada tanaman yang terinfeksi virus karena siklus sesquiterpene pada kelenjar minyak mesofil terganggu oleh keberadaan virus. Pada jaringan tanaman yang terinfeksi *Po-tyvirus* akan ditemukan badan inklusi yang berbentuk silindris dan cakram yang merupakan hasil agregasi protein virus (Agrios, 2005). Tipe badan inklusi yang sama juga ditemukan pada sitoplasma sel sekretori dari mesofil daun nilam (Maeda *et al.*, 1999). Badan inklusi silindris dan cakram juga ditemukan pada sel daun tanaman nilam yang terinfeksi PaMoV (Natsuaki *et al.*, 1994).

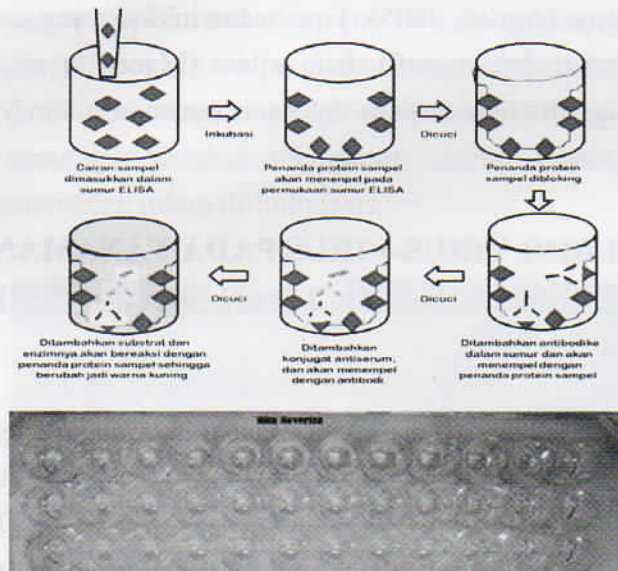
DETEKSI DINI VIRUS-VIRUS PADA TANAMAN NILAM SECARA SEROLOGI DAN MOLEKULER

Deteksi secara Serologi

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan teknik serologi canggih untuk deteksi dan identifikasi patogen tumbuhan. Teknik ini dapat diterima secara luas oleh penggunaannya, karena: (1) efisien menggunakan bahan kimia (1,0 ml antiserum dapat digunakan untuk menguji 10-20 ribu sampel), (2) bahan kimia yang digunakan tidak berbahaya dan memiliki daya simpan lama, (3) bahan yang diuji dapat langsung berupa ekstrak tanaman sakit tanpa harus mengisolasi patogennya terlebih dahulu, (4) mempunyai kepekaan deteksi tinggi (1-10 ng virus/ml dan 10^3 - 10^4 sel bakteri/ml), (5) prosedurnya relatif sederhana dan cepat (antara 5-24 jam), (6) hasilnya dapat dikuantifikasi, (7) dapat digunakan untuk menguji sampel dalam jumlah besar sekaligus; dan (8) dapat digunakan langsung di lapang. Seiring dengan perkembangannya, teknik ELISA mengalami berbagai modifikasi baik dari segi praktis maupun kehandalannya, sehingga muncul berbagai variannya. Sebagai teknik serologi, prinsip dasar ELISA adalah reaksi antara antigen (Ag) dengan antibodi (Ab) menjadi molekul Ag-Ab yang lebih besar dan mudah mengendap. Perbedaannya, pengamatan hasil reaksi pada serologi biasa berdasarkan endapan molekul Ag-Ab, sedangkan pada ELISA berdasarkan perubahan warna yang terjadi pada substrat pereaksi sesuai dengan label konjugat antibodi-enzim. Perubahan warna terjadi akibat hidrolisa enzimatis pada reaksi antara konjugat antibodi-enzim dengan substratnya, sehingga hasil ELISA lebih peka dan dapat dikuantifikasi.

Tahapan umum ELISA meliputi penempelan penanda protein dengan antiserum (Ag atau Ab) pada dinding sumur pada cawan ELISA, diikuti penambahan konjugat, dan diakhiri dengan penambahan substrat serta bufer penghenti reaksi (*buffer blocking*). Dalam perkembangannya, metode ini mengalami modifikasi dalam prosedur pelaksanaan pengujian, diantaranya adalah pengujian standar (*direct*) *Double Antibody Sandwich-Enzyme Link Immunosorbent Assay* (DAS ELISA) dan *Indirect-Enzyme Link Immunosorbent Assay* (I-ELISA). Perbedaan kedua metode ini adalah pada tempat enzim terikat. Bila konjugasi enzim

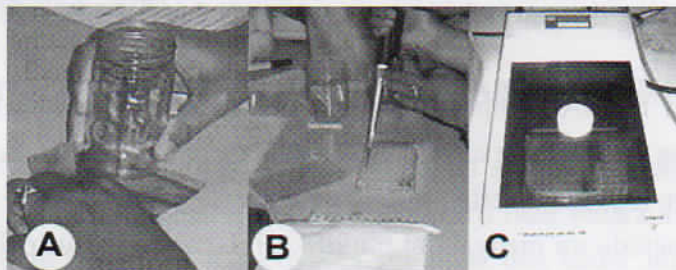
dilakukan pada imunoglobulin antivirus, maka metode itu termasuk DAS-ELISA, tetapi bila konjugasi enzim dilakukan pada imunoglobulin dari antiserum, maka metode tersebut diklasifikasikan sebagai I-ELISA. Contoh teknik I-ELISA dapat dilihat pada Gambar 8. Hasil perubahan warna kuning dapat dikuantifikasi dengan mengukur nilai absorbansinya menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm.



Gambar 8. Teknik deteksi sampel tanaman nilam yang terinfeksi virus secara *Indirect-ELISA*.

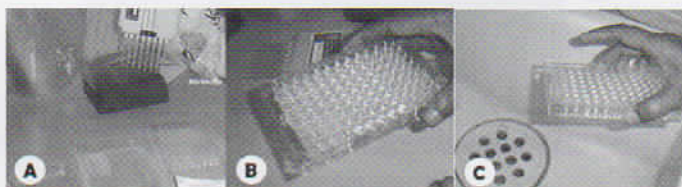
Ada beberapa perusahaan penyedia antiserum yang dapat digunakan seperti DSMZ (Jerman) dan Agdia (USA). Secara umum prinsip kerjanya adalah sebagai berikut:

1. Pertama-tama, sampel daun tanaman nilam ditimbang 0,1 g dan dimasukkan dalam plastik tebal dan kemudian ditambahkan bufer pengikat (*coating*) dengan perbandingan 1: 5. Selanjutnya digerus dengan menggunakan bagian bawah dari botol sampai halus (Gambar 9A).
2. Kemudian cairan ekstrak sampel diisi ke dalam sumur cawan ELISA sebanyak 100 μ l (Gambar 9B) dan diinkubasi pada suhu 4^oC selama semalam atau pada suhu 37^oC selama 4 jam (Gambar 9C).



Gambar 9. Tahapan awal penyiapan sampel daun tanaman nilam yang akan dideteksi menggunakan metode ELISA. Daun tanaman nilam ditimbang, digerus dengan penambahan bufer (A), dimasukkan ke dalam cawan ELISA (B) dan diinkubasi pada suhu 37^oC selama 4 jam (C).

3. Tahapan berikutnya yaitu proses pencucian cawan ELISA. Cawan ELISA dicuci dengan menggunakan larutan PBS-T (bufer fosfat ditambah Tween-20) (Gambar 10). Cawan ELISA yang berisi cairan ekstrak daun nilam dibuang, kemudian diisi dengan larutan PBS-T sebanyak 200 μ l (Gambar 10A), dibiarkan beberapa menit sambil digoyang pelan-pelan (Gambar 10B), selanjutnya dibuang ke tempat bak pembuangan (Gambar 10 C). Proses pencucian dilakukan berulang-ulang sebanyak 5 kali.
4. Pada sumur cawan ELISA selanjutnya diisi dengan 100 μ l larutan 2% skim milk dalam PBS-T dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Kemudian larutannya dibuang dan cawan ELISA dibiarkan dalam posisi tertelungkup pada kertas tisu dalam beberapa menit.
5. Selanjutnya sumur cawan ELISA diisi 100 μ l antiserum dengan pengenceran 1/1.000 dalam bufer konjugat (Gambar 11A) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 jam.
6. Setelah dicuci dengan PBS-T, sumur cawan ELISA diisi dengan 100 μ l antiserum konjugat, yang diencerkan 1/1.000 dalam buffer konjugat, dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C.
7. Setelah dicuci dengan PBS-T, sumur cawan ELISA diisi dengan substrat p-nitrophenyl fosfat (Gambar 11B) dan diinkubasi selama 30-60 menit pada suhu ruang, dan dalam keadaan ditutup.
8. Selanjutnya hasil ELISA diukur nilai absorbansinya menggunakan ELISA reader (Gambar 11C) pada panjang gelombang 405 nm.



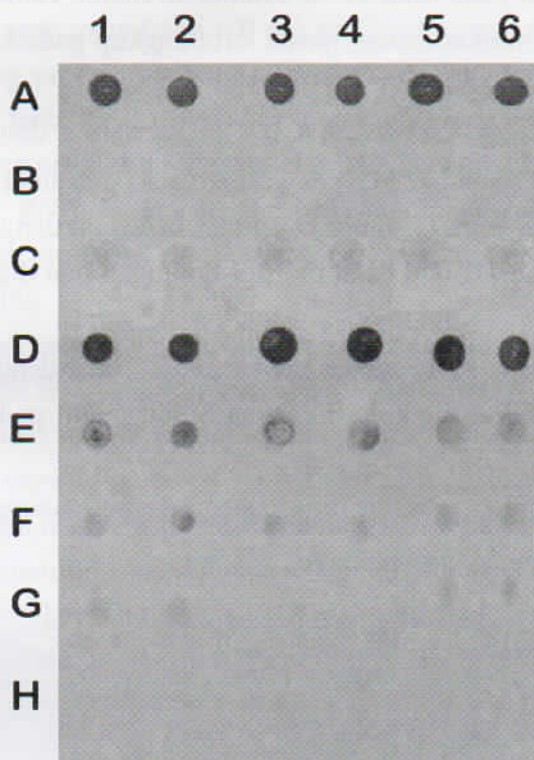
Gambar 10. Tahapan pencucian cawan ELISA, (A) Cawan ELISA yang berisi cairan ekstrak daun nilam dibuang, kemudian diisi dengan larutan PBS-T sebanyak 200 μ l, (B) Inkubasi pada suhu kamar sambil digoyang pelan-pelan, dan (C) Cairan dibuang ke tempat pembuangan air.



Gambar 11. Tahapan penambahan antiserum (A) dan substrat (B), dan kemudian diukur dengan menggunakan ELISA reader (C).

Teknik deteksi serologi yang lain adalah metode DIBA (*Dot Immunobinding Assay*). Metode ini merupakan modifikasi dari metode ELISA dan bisa dilakukan di lapang. Cairan sampel tanaman diteteskan di atas kertas *nitrocellulose membrane* (NCM, ukuran pori 0,45 μ m) menggunakan pipet mikro. NCM yang telah ditetesi cairan sampel direndam dalam lar-

tan bloking (1% Bovine Serum Albumin, BSA) sambil di goyang (*shake*) pelan-pelan selama 30 menit. NCM kemudian direndam dalam larutan antiserum virus (pengenceran 100 kali) selama 30-60 menit. NCM dicuci 3 kali dengan bufer pencuci (PBS-T). Selanjutnya, NCM direndam dalam larutan konjugat dengan pengenceran 3000 kali. Setelah dicuci dengan larutan PBS-T, NCM direndam dalam larutan substrat. Sampel uji yang bereaksi positif akan menunjukkan warna keunguan di atas kertas NCM, sedangkan yang negatif tidak menunjukkan reaksi warna (Gambar 12).

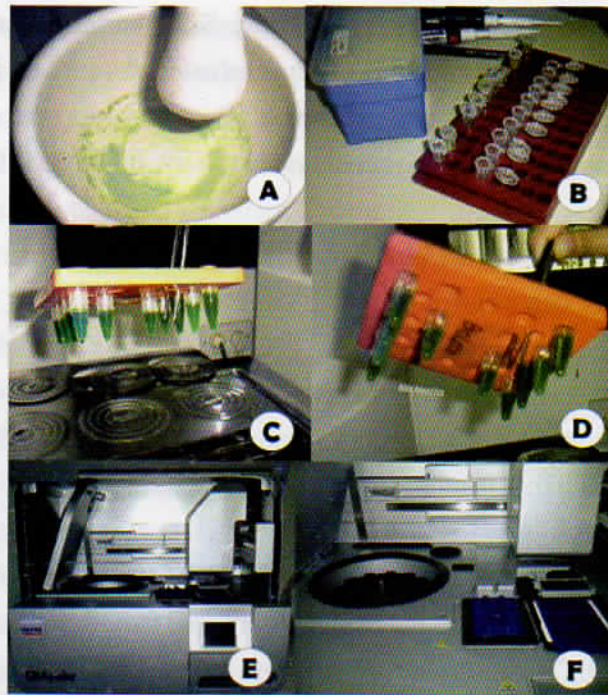


Gambar 12. Deteksi sampel tanaman menggunakan metode DIBA. (A) Kontrol positif, (B) Cairan bufer, (C) Kontrol negatif, (D-G) Sampel tanaman yang diuji, (H) Tanaman sehat.

Deteksi *Potyvirus* dan *Fabavirus* secara molekuler

Teknik deteksi virus secara molekuler, yang pertama-tama dilakukan adalah ekstraksi RNA/DNA virus dengan menggunakan kit (seperti QIAGEN RNEasy Plant Mini Kit) yang banyak dijual, tahapannya adalah:

1. Sampel daun ditimbang sebanyak 0,1 g dan kemudian digerus pada mortal steril dengan ditambahkan nitrogen cair (Gambar 13A),
2. Setelah halus (seperti tepung), selanjutnya ditambahkan 450 μ l bufer ekstraksi (bufer RLT). Sampel digerus sampai lunak, dipindahkan kedalam tabung ependorf (2 ml) (Gambar 13B), kemudian diinkubasi pada penangas air suhu 56°C selama 10 menit (Gambar 13C) dan dibolak-balik (Gambar 13D).
3. Proses selanjutnya dilakukan pada alat QIAcube (Gambar 13E dan 13F), sehingga didapatkan RNA total virus tanaman dan disimpan dalam lemari es suhu -80°C sampai saatnya digunakan.



Gambar 13. Tahapan ekstraksi RNA/DNA virus tanaman.

Sebagian besar komponen genetik virus tanaman adalah RNA, terutama jenis-jenis virus yang hanya terdiri dari RNA. Untuk melipat gandakan DNA dari cetakan yang berupa RNA maka sebelumnya perlu dilakukan sebuah tahapan yaitu transkripsi balik (*reverse transcription*). Pada tahap ini cetakan RNA terlebih dahulu diubah menjadi cDNA (*complementary DNA*) menggunakan enzim *reverse transcriptase*.

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan metode deteksi yang sensitif dan cepat dalam mendeteksi virus. PCR merupakan sebuah metode yang digunakan untuk memperbanyak suatu fragmen DNA yang spesifik secara *in vitro*. Posisi fragmen DNA yang spesifik tersebut ditentukan oleh sepasang primer yang akan menjadi cetakan awal untuk proses perbanyakan fragmen DNA selanjutnya dengan bantuan enzim polimerase dan *deoxyribonucleotide triposphate* (dNTPs) yang dikondisikan pada suhu tertentu. Fragmen DNA, yang pada awalnya terdapat dalam konsentrasi yang sangat rendah akan diperbanyak menjadi cetakan fragmen DNA baru yang cukup untuk dapat divisualisasi pada gel agarosa.

Secara prinsip, PCR merupakan proses yang diulang antara 20–30 kali. Setiap siklus terdiri dari tiga tahap. Berikut adalah tiga tahap kerja PCR dalam satu siklus: (1) Tahap peleburan (*melting*) atau denaturasi. Pada tahap ini (berlangsung pada suhu tinggi, 94-96 °C) ikatan hidrogen DNA terputus (denaturasi) dan DNA menjadi berutas tunggal. Biasanya pada tahap awal PCR tahap ini dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua berkas DNA terpisah. Pemisahan ini DNA tidak stabil dan siap menjadi *template* bagi primer. Durasi tahap ini 1–2 menit, (2) Tahap penempelan atau *annealing*. Primer menempel pada bagian DNA *template* yang komplementer urutan basanya. Ini dilakukan pada suhu antara 45-60 °C. Penempelan ini bersifat spesifik. Suhu yang tidak tepat menyebabkan tidak terjadinya penempelan atau primer menempel di sembarang tempat. Durasi tahap ini 1-2

menit, dan (3) Tahap pemanjangan atau *elongation*. Suhu untuk proses ini tergantung dari jenis DNA *polymerase* yang dipakai. Dengan *Taq-polymerase*, proses ini biasanya dilakukan pada suhu 76 °C. Durasi tahap ini biasanya 1 menit.

Proses deteksi virus dengan menggunakan teknik PCR dapat dilihat pada Gambar 14. Tahapannya adalah:

- (1). Penyiapan tabung PCR sebanyak sampel yang akan dideteksi dan ditambah tabung untuk kontrol positif dan kontrol negatif (Gambar 14A).
- (2). Penyiapan bahan kimia untuk reaksi PCR seperti (a). DNA cetakan (cDNA) yaitu fragmen DNA virus yang akan dilipatgandakan, (b). oligonukleotida primer yaitu sekuen oligonukleotida pendek yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA (pasangan primer ini tergantung jenis virus yang akan dideteksi), (c). deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) dan (d). enzim DNA polimerase yaitu enzim yang melakukan katalis reaksi sintesis rantai DNA. Semua bahan kimia ini disebut komponen PCR yang kemudian disimpan dalam *box* yang berisi es (Gambar 14B).
- (3). Semua komponen PCR dimasukkan ke dalam tabung PCR dan kemudian disentrifuse pada kecepatan 2000 rpm dan suhu 4°C selama 1 menit (Gambar 14C), supaya tidak ada gelembung udara.
- (4). Kemudian semua tabung PCR disusun pada rak mesin PCR (Gambar 13D) dan selanjutnya dimasukkan dalam mesin PCR (Gambar 14E).



Gambar 14. Proses penyiapan sampel tanaman uji yang akan dideteksi menggunakan teknik PCR.

Reaksi pelipat gandaan suatu fragmen DNA dimulai dengan melakukan denaturasi DNA *template* (cetakan) sehingga rantai DNA yang berantai ganda (*double stranded*) akan terpisah menjadi rantai tunggal (*single stranded*). Denaturasi DNA dilakukan dengan menggunakan panas (94°C) selama 1-2 menit, kemudian suhu diturunkan menjadi 55°C sehingga *primer*

akan menempel (*annealing*) pada cetakan yang telah terpisah menjadi rantai tunggal. *Primer* akan membentuk jembatan hidrogen dengan cetakan pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen *primer*.

Primer yang digunakan dalam PCR ada dua (sepasang), yaitu oligonukleotida yang mempunyai sekuen yang identik dengan salah satu rantai DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat, dan oligonukleotida yang kedua identik dengan sekuen pada ujung 3'-OH rantai DNA cetakan yang lain. Proses *annealing* biasanya dilakukan selama 1-2 menit. Setelah dilakukan *annealing* oligonukleotida primer dengan DNA cetakan, suhu inkubasi dinaikkan menjadi 72°C selama 1,5 menit. Pada suhu ini DNA polimerase akan melakukan proses polimerasi rantai DNA yang baru berdasarkan informasi yang ada pada DNA cetakan. Setelah terjadi polimerasi, rantai DNA yang baru akan membentuk jembatan hydrogen dengan DNA cetakan. DNA rantai ganda yang terbentuk dengan adanya ikatan hidrogen antara rantai DNA cetakan dengan rantai DNA baru hasil polimerasi selanjutnya akan didenaturasi lagi dengan menaikkan suhu inkubasi menjadi 95 °C. Rantai DNA yang baru tersebut selanjutnya akan berfungsi sebagai cetakan bagi reaksi polimerasi berikutnya.

Reaksi-reaksi seperti yang sudah dijelaskan tersebut diulang lagi sampai 25-30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan didapatkan molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target di dalam campuran reaksi. Paling kurang diperlukan 25 siklus untuk melipatgandakan satu kopi sekuen DNA target di dalam DNA genom organisme agar hasilnya dapat dilihat secara langsung, misalnya dengan elektroforesis gel agarose. Akan tetapi, pada umumnya konsentrasi DNA polimerase *Taq* menjadi terbatas setelah 25-30 siklus amplifikasi (Sambrook *et al.*, 1989). Proses elektroforesis gel agarose dapat dilihat pada Gambar 15.

Hasil amplifikasi DNA dapat dilihat secara langsung dengan elektroforesis gel agarose. Tahapan elektroforesis gel agarose adalah:

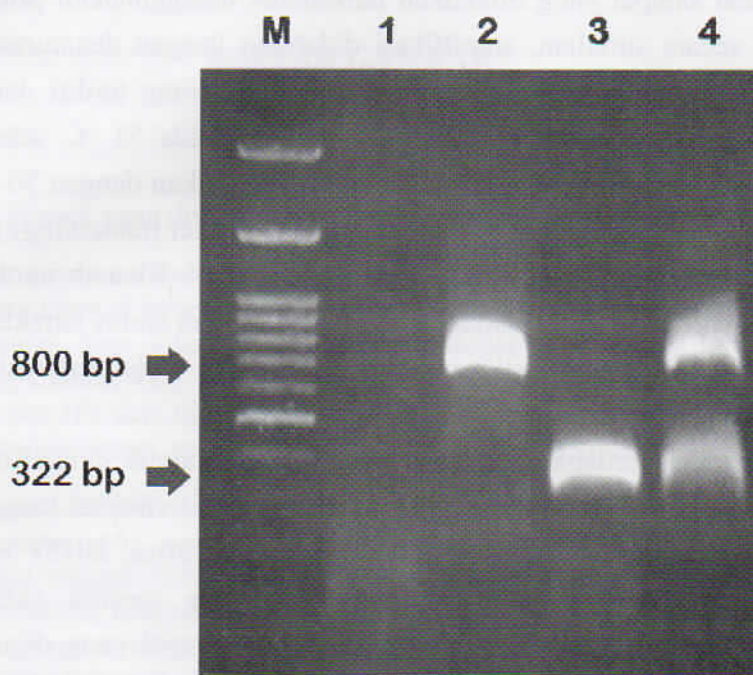
- (1) Pertama agarose ditimbang sesuai konsentrasi gel yang akan dibuat (Gambar 15A), kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditambahkan larutan bufer *running* (Gambar 15B). Campuran agarose dan buffer *running* dipanaskan dalam microwave hingga agarose larut dengan sempurna.
- (2). Setelah agarose larut dan didinginkan pada suhu kamar (Gambar 15C), selanjutnya dituang pada cetakan agarose gel (Gambar 15D).
- (3). Setelah agarose padat (beku) dan dikeluarkan dari cetakan, kemudian dimasukkan kedalam *chamber* elektroforesis dan ditambahkan bufer *running* sehingga gel agarose terendam di dalam bufer (Gambar 15E).
- (4). DNA hasil amplifikasi dipipet ke dalam lubang gel agarose (Gambar 15F).
- (5). Elektroda pada *chamber* elektroforesis dipasang sesuai dengan kutub positif dan negatifnya dengan cara menghubungkan elektroda konektor pada *chamber* dengan lubang pada elektroda.

- (6). *Chamber* elektroforesis ditutup dengan penutup *chamber*. Steker pada trafo step down yang telah dihubungkan terlebih dahulu pada sumber tegangan. Kecepatan *running* diatur dengan memilih tombol *voltage selector* yang sesuai (25V, 50V, 100V, 135V). Lama waktu *running* dapat diatur dengan menekan tombol *TIMER SET BUTTONS*, dan lama waktu *running* akan muncul pada *TIMER DISPLAY* dalam satuan menit. Nyalakan elektroforesis dengan menekan tombol ON yang terdapat pada elektroda hingga lampu indikator pada elektroda menyala (Gambar 15G).
- (7). Setelah selesai, elektroforesis *chamber* dimatikan dengan menekan tombol OFF, dan steker dicabut dari sumber tegangan. Kemudian gel agarose dikeluarkan dari *chamber* elektroforesis (Gambar 14H) dan dimasukkan ke dalam larutan *ethidium bromide* (EtBr) selama kurang lebih 2 menit (Gambar 15I).
- (8). Selanjutnya gel agarose dicuci dalam larutan H₂O steril dan visualisasi DNA selanjutnya dilakukan dibawah paparan sinar ultraviolet (Gambar 15J).

Elektroforesis DNA merupakan teknik untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan atas ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya. Elektroforesis gel agarose dapat dilakukan untuk memisahkan sampel DNA dengan ukuran dari beberapa ratus hingga 20.000 pasang basa (bp). Molekul DNA yang bermuatan negatif akan bermigrasi melalui matriks gel menuju kutub positif di dalam medan listrik. Makin besar ukuran molekulnya, maka makin rendah laju migrasinya. Berat molekul dari suatu fragmen DNA dapat diperkirakan dengan membandingkan laju migrasi fragmen-fragmen molekul DNA standar (*DNA marker*) yang telah diketahui ukurannya.



Gambar 15. Proses visualisasi DNA virus dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarose.



Gambar 16. Hasil amplifikasi DNA genom virus dengan metode RT-PCR menggunakan campuran primer *Potyvirus* dan *Fabavirus*. Lajur M: marker 100 bp DNA ladder; lajur 1: kontrol negatif dari tanaman sehat; lajur 2: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi tunggal oleh *Potyvirus*; lajur 3: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi tunggal oleh *Fabavirus*; dan lajur 4: sampel daun tanaman nilam yang positif terinfeksi ganda oleh kedua virus *Potyvirus* dan *Fabavirus* (Sumber: Satyani, 2012).

Deteksi virus secara serologi hanya mampu untuk melakukan deteksi virus yang menginfeksi secara tunggal, tetapi dengan cara molekuler dapat melakukan deteksi virus yang meinfeksi secara ganda. Untuk mendeteksi secara simultan *Potyvirus* dan *Fabavirus* pada tanaman nilam yang terinfeksi ganda digunakan metode yang berbeda, yaitu kedua pasangan primer *Potyvirus* dan *Fabavirus* digunakan secara bersamaan tercampur dengan komponen PCR yang lain. Reagensia yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1 (Satyani, 2012).

Tabel 1. Reagensia PCR dan konsentrasi yang diperlukan untuk mendeteksi pasangan primer *Potyvirus* dan *Fabavirus* yang digunakan secara bersamaan.

Komponen	Volume(μl)1	Volume(μl)2
H2O	7,5	22,5
Gotag Green Master Mix 2x	12,5	37,5
Primer CPUP-F	1	3
Primer CP9502-R	1	3
Primer BBWVSSP	1	3
Primer BBWVKMRM	1	3
cDNA 1 3	1	3
Total Volume (μl) 25 75	25	75

1) Volume total yang diperlukan sebanyak 25 μl untuk 1X reaksi; 2) Volume total yang diperlukan sebanyak 75 μl untuk 3X reaksi.

Untuk deteksi sampel yang dilakukan bersamaan menggunakan primer *Potyvirus* dan *Fabavirus* (Mix) secara simultan, amplifikasi didahului dengan denaturasi awal pada 95°C selama 5 menit. Kemudian dilanjutkan dengan 10 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 95°C selama 1 menit, penempelan primer (*annealing*) pada 51 °C selama 1 menit, dan pemanjangan pada 72 °C selama 1 menit, kemudian dilanjutkan dengan 30 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 94 °C selama 1 menit, penempelan primer (*annealing*) pada 54 °C selama 1 menit, dan pemanjangan pada 72 °C selama 2 menit. Khusus untuk siklus terakhir, ditambahkan 10 menit pada 72 °C untuk tahapan sintesis, dan siklus berakhir pada suhu 4 °C. Setelah dilakukan PCR, maka hasil yang diperoleh dapat dielektroforesis. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 16.

Pada lajur 1 tidak terdapat pita DNA yang muncul karena sampel merupakan kontrol tanaman sehat. Pada lajur 2 yang merupakan sampel positif terinfeksi tunggal oleh *Potyvirus* terlihat hanya pita DNA *Potyvirus* berukuran 800 bp (Noveriza, 2013). Hal ini disebabkan pasangan primer *Potyvirus* hanya mendeteksi virus yang spesifik yaitu *Potyvirus* saja, sedangkan *Fabavirus* tidak terdeteksi. Begitu pula jika sampel yang digunakan merupakan sampel yang terinfeksi tunggal oleh *Fabavirus* seperti ditunjukkan pada lajur 3 maka pita DNA yang muncul yaitu pita DNA *Fabavirus* dengan panjang 322 bp (Satyani, 2012).

Pada lajur 4, yang merupakan sampel tanaman yang terinfeksi ganda oleh *Potyvirus* dan *Fabavirus*, terdapat 2 pita DNA yang muncul karena kedua virus tersebut terdeteksi oleh kedua pasangan primer *Potyvirus* dan *Fabavirus*, sehingga kedua pasangan primer akan menempel pada pasangan DNA masing-masing. Pasangan primer *Potyvirus* akan menempel pada DNA *Potyvirus* dan pasangan primer *Fabavirus* akan menempel pada DNA *Fabavirus*. Meskipun terdapat pada satu lajur, kedua pita tersebut dapat terlihat jelas karena perbedaan ukurannya. Pita DNA *Potyvirus* berada di bagian atas dengan panjang 800 bp sedangkan pita DNA *Fabavirus* berada di bagian bawah dengan panjang 322 bp (Satyani, 2012). Saat ini sedang dikembangkan metode untuk mendeteksi virus-virus yang menginfeksi tanaman nilam, yaitu *Potyvirus* (TeMV), *Fabavirus* (BBWV2) dan *Potexvirus* (CymMV). Ketiga jenis virus tersebut dilaporkan menyerang tanaman nilam secara ganda.

BAHAN BACAAN

- Agrios N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. New York (US): Elsevier Academic Press.
- Ahmed M. 2002. *Patchouli, an ideal aromatic crop of commercial importance*. Guwahati (Indian): North Eastern Development Finance Corporation Ltd.
- Amalia, Hadipoentyanti E. dan Nursalam. 2008. Pengaruh irradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan kalus dan tunas nilam varietas sidikalang secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam. Bogor-4 Nopember 2008. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor. hlm177-187.
- Barahima W.P. 2003. Eliminasi *Sweet Potato Feathery Mottle Virus* (SPFMV) pada empat kultivar Ubijalar unggul lokal asal Papua melalui teknik kultur meristem. *Bul. Agron.* 31(3):81-88.

- Blackman R.L. and Eastop V.F. 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. New York (US): John Wiley.
- Budiarto K., Sulyo Y., Rahardjo I.B. dan Pramanik S. 2008. Pengaruh durasi pemanasan terhadap keberadaan *Chrysanthemum Virus-B* pada tiga varietas Krisan terinfeksi. *J. Hort.* 18(2):185-192.
- Damayanti T.A., Putra L.K. and Giyanto. 2010. Hot water treatment of cutting cane infected with Sugarcane streak mosaic virus (SCSMV). *J. ISSAAS* 16(2):17-25.
- Deguerry F., Pastore L., Wu S., Clark A., Chappell J. and Schalk M.. 2006. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 454:123-136.
- [DBPP] Ditjen Bina Produksi Perkebunan. 2004. Nilam. Statistik Perkebunan Indonesia. 2001-2003. Jakarta (ID): Kementrian Pertanian.
- Gama M.I.C.S., Kitajima E.W. and Lin M.I. 1982. Properties of a tobacco necrosis virus isolate from *Pogostemon patchouli* in Brazil. *Phytopatology* 72:529-532.
- Guenter E. 1949. The Essential Oil. New York (US): Van Nostrand Company.
- Gunaeni N. dan Karjadi A.K. 2008. Kultur meristem dan antiviral ribavirin pada tanaman kentang. *J. Agrivigor* 7(2):105-112.
- Hadidi A., Khetarpal R.K. and Koganezawa H. 1998. Plant Virus Diseases Control. St. Paulo (US): American Phytopatology Society.
- Hadipoentyanti E.; Amalia; Nursalam; Hartati S.Y. dan Suhesti S. 2008. Perakitan varietas untuk ketahanan nilam terhadap penyakit layu bakteri. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam. Bogor-4 Nopember 2008. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor. hlm163-176.
- Hampton R.O., Jensen A. and Hagel G.T. 2005. Attributes of Bean yellow mosaic potyvirus transmission from clover to snap beans by four species of aphids (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 98(6):1816-1823.
- Hartono S. dan Subandiyah S. 2006. Pemurnian dan deteksi serologi Patchouli mottle virus pada tanaman nilam. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 12(2):74-82.
- Hartono S. 2008. Karakterisasi virus mottle pada tanaman nilam di Indonesia. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam. Bogor-4 Nopember 2008. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor. Tidak dipublikasi.
- Kalleshwara swamy C.M., Verg hese A., Ranga nath H.R., Krishnak umar N.K., Dinesh M.R. and Venugopalan R. 2007. Role of transient aphid vectors on the temporal spread of Papaya ringspot virus in south India. *Acta Hort.* 740: 251-258.
- Maeda E., Miyake H. and Tomaru K. 1999. Ultrastructure of mesophyll glands secreting the aromatic substances in patchouli leaves. *Plant Prod. Sci.* 2(3):213-220.
- Magdy, El-Kholy Y., El-Sayed and El-Saiedy M.A.K. 2009. Biological control of *Thrips tabaci* (Lind.) and *Aphis gossypii* (Glover) using different predatory Phytoseiid mites and the biocide vertimec on eggplant at Behaira Governorate. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* 2(2):13-22.

- Mardiningsih T.L. dan Jakfar R. 2010. *Serangan parasitoid pada kutudaun nilam*. Prosiding Seminar Nasional Perlindungan Tanaman. Bogor, 5-6 Agustus 2009. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. hlm 289-292.
- Mardiningsih T.L., Sukmana C., Tarigan N. dan Suriati S. 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., Sartiami D., Suriati S., Sukmana C. dan Tarigan N. 2011. *Serangga-serangga yang berasosiasi dengan tanaman nilam (Pogostemon cablin Benth.)*. Prosiding Seminar Peringatan Ulang Tahun Perhimpunan Entomologi Indonesia (PEI) ke 40. Yogyakarta, 1-2 Oktober 2010. Hlm 216-226.
- Meissner Filho P.E., Resende R. de O., Lima M.I. and Kitajima E.W. 2002. Patchouli virus X, a new potexvirus from *Pogostemon cablin*. *Ann. Appl. Biol.* 141:267-274.
- Natsuaki K.T., Tomaru K., Ushiku S., Ichikawa Y., Sugimura Y., Natsuaki T., Okuda S. and Teranaka M. 1994. Characteristic of two viruses isolated from patchouli in Japan. *Plant Dis.* 78:1094-1097.
- Noveriza R. 2013. Penyakit mosaik pada tanaman nilam dan identifikasi *Telosma mosaic virus* (TeMV) yang berasosiasi serta pengendaliannya [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Noveriza R., Suastika S., Hidayat S.H. and Kartosuwondo U. 2012a. Identification of A *Potyvirus* Associated with Mosaic Disease on Patchouli Plants in Indonesia. *Journal of ISSAAS*. 18(1):131-146.
- Noveriza R., Suastika S., Hidayat S.H. dan Kartosuwondo U. 2012b. Pengaruh infeksi virus mosaik terhadap produksi dan kadar minyak tiga varietas nilam. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 23(1): 93-101.
- Noveriza R., Suastika S., Hidayat S.H. dan Kartosuwondo U. 2012c. Eliminasi *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan kultur meristem apikal dan perlakuan air panas. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 18(1): 107-114.
- Noveriza R., Suastika S., Hidayat S.H. dan Kartosuwondo U. 2012d. Penularan *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam melalui vektor *Aphis gossypii*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 8(3): 65-72.
- Nuryani Y. 2005. Pelepasan Varietas Unggul Nilam. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 11(1):1-3.
- Nuryani Y., Emmyzar dan Wiratno. 2005. *Budidaya Tanaman Nilam*. Sirkuler No. 12. Bogor (ID): Balitro.
- Nuryani Y. 2006. *Budidaya Tanaman Nilam (Pogostemon cablin Benth.)*. Bogor (ID): Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- [PDIP] Pusat Data Informasi Pertanian. 2010. *Outlook Komoditas Pertanian Perkebunan*. Jakarta (ID): Kementerian Pertanian.
- Quak F. 1972. The treatment and substances inhibit virus multiplication in meristem culture to obtain virus free plant. *Ad. Hort. Sci.*:141-144.
- Roni K. 2003. Kajian teknis budidaya dan manajemen produksi pengolahan minyak nilam di beberapa sentra Nilam Jawa Barat. Bandung (ID): Dinas Pertanian.

- Sambrook, J., Fritsch, and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning. A Laboratory Manual*. Second edition. New York (US): Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sandes S.S., Blank A.F., Botanico M.P., Blank M.F.A., Vasconcelos J.N.C. and Mendonca S.A.D. 2012. Estruturas secretoras foliares em patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]. *Scientia Plena* 8(5):1-6.
- Sastry K.S. and Vasanthakumar T. 1981. Yellow mosaic of patchouli (*Pogostemon patchouli*) in India. *Current Science* 50(17):767-768.
- Satyani V. 2012. Deteksi diferensial *Potyvirus* dan *Fabavirus* dengan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Singh M.K., Chandel V., Hallan V., Ram R. and Zaldi A.A. 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(1): 2-6.
- Sudarmono. 2008. Keanekaragaman nilam (*Pogostemon* spp.; Lamiaceae) perilaku bunga dan budidayanya. Prosiding Seminar Nasional Pengendalian Terpadu Organisme Pengganggu Tanaman Jahe dan Nilam. Bogor-4 Nopember 2008. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor. hlm216-220.
- Sugimura Y., Padayhag B.F., Ceniza M.S., Kamata N., Eguchi S., Natsuaki T. and Okuda S. 1995. Essential oil production increased by using virus free patchouli plants derived from meristem-tip culture. *Plant Pathology* 44:510-515.
- Sukanto, Rahardjo I.B. and Sulyo Y. 2007. Detection of potyvirus on patchouli plant (*Pogostemon cablin* Bent.) from Indonesia. Proceeding International Seminar on Essential Oil. Jakarta, 7-9 November 2007. ISMECRI. Bogor. hlm72-77.
- Sumardiyono Y.B. 1991. Sifat fisik dan biologi virus pada tanaman nilam (*Pogostemon* sp.). Yogyakarta (ID): Lembaga Penelitian UGM.
- Sumardiyono Y.B., Sulandari S. dan Hartono S. 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.
- Takada H. 1995. *IPM of vector aphids*. Japan (JP): Kyoto Prefectural University.
- Toledo A.V., Remes-Lenicov A.M.M. and Lopez-Lastra C.C. 2010. Histopathology caused by the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, in the adult planthopper, *Peregrinus maidis*, a maize virus vector. *J Insect Sci* 10:26-35.
- Trifilief E. 1980. Isolation of the postulated precursor of nor patchoulenol in patchouli leaves. *Phytochemistry* 19:2464.
- Van Lenteren J.C. 2000. A greenhouse without pesticides: fact or fantasy. *Crop Prot.* 19: 375-384.
- Vasquez G.M., Orr D.B. and Baker J.R. 2006. Efficacy assessment of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) for suppression of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) in greenhouse-grown *Chrysanthemum*. *J. Econ. Entomol.* 99(4):1104-1111.
- Walker T.G. 1969. *The structure and synthesis of patchouli alcohol*. New York (US) : Manufacturing chemist and aerosol news.



Penulis dilahirkan di Bukittinggi pada tanggal 4 April 1967. Pendidikan sarjana ditempuh di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, lulus tahun 1991. Tahun 2000, penulis diterima di Departemen *Plant Pathology University of Philipines at Los Banos* (UPLB) dan lulus tahun 2003. Pada akhir tahun 2008, penulis melanjutkan ke program doktor di Program Studi Fitopatologi Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB, lulus tahun 2013.

Tahun 1993-1995 penulis bekerja sebagai staf teknis di Pusat Penelitian Tanaman Industri Bogor. Kemudian sejak pertengahan tahun 1995 sampai sekarang penulis bekerja sebagai staf peneliti kelompok peneliti Proteksi Tanaman di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Berbagai aktivitas penelitian telah penulis lakukan diantaranya penelitian tentang penyakit busuk pangkal batang (BPB) pada tanaman lada, penyakit virus pada tanaman lada dan penyakit virus mosaik pada tanaman nilam. Pada tahun 2004, penulis menjadi **Dewan Penyunting Prosiding Simposium Rempah Indonesia II** selama 4 bulan. Pada tahun 2006-2008, beliau menjadi **Dewan Redaksi Perkembangan Teknologi TRO Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat** selama 3 tahun. Pada tahun 2008, menjadi **Manager Teknis Mikroba Kontaminan** pada Laboratorium Pengujian Balitro. Pada tanggal 25-30 Maret 1998, penulis pertama kalinya mendapat kesempatan untuk mengikuti **Pelatihan Penulisan Makalah Ilmiah di Bogor**, dan pada tanggal 21-22 Oktober 2004 mengikuti **Pelatihan Karya Tulis Ilmiah Populer di Bogor** serta pada tanggal 5-8 Desember 2006 mengikuti **Workshop Penulisan Ilmiah di Bogor**. Pada tanggal 14 April-31 Mei 2012, mendapat kesempatan mengikuti *Sandwich-Like Programme* yang dilaksanakan di *Tokyo University of Agriculture* (TUA) selama 1,5 bulan, dari beasiswa Badan Litbang Pertanian, Jakarta.

NATURAL PRODUCTS



PRODUK-PRODUK HERBAL DAN KEGUNAANNYA

BALAI PENELITIAN TANAMAN REMPAH DAN OBAT

ANDROCAP (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Diabetes mellitus/kencing manis
- Asam urat
- Hipertensi
- Menurunkan kolesterol
- Malaria
- Membersihkan darah
- Penawar bis, membunuh kuman

ASIATICAP (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu memperlancar sirkulasi darah
- Mencegah stroke
- Mengatasi insomnia
- Anti Pikun, merangsang syaraf memori
- Menambah nutrisi jaringan otak
- Melindungi organ ginjal

PURWOCENG (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu meningkatkan gairah/ seksual
- Meningkatkan vitalitas
- Menghangatkan tubuh
- Menambah stamina tubuh
- Anti masuk angin

TEMULAWAK (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu/menambah nafsu makan
- Memperbaiki fungsi hati
- Memperlancar peredaran darah
- Peluruh haid
- Membersihkan darah
- Pelancar ASI

KUNYIT (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu mengobati sakit maag
- Memperbaiki kerja sistim lambung
- Bersifat antibodi
- Memperbaiki fungsi hati
- Anti peradangan
- Melancarkan getah empedu

DAUN SIRSAK (ISI : 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu/mengobati segala jenis kanker (Prostat, pankreas, payudara, dan lain-lain)
- Sakit ngilu/sesak napas
- Mengatasi sakit pinggang
- Menghentikan mencret/diare
- Anti jamur
- Anti bakteri

JATI BELANDA (ISI : 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu sebagai obat pelangsing
- Menurunkan kadar kolesterol
- Menurunkan kadar trigliserida
- Obat batuk
- Peluruh keringat

DAUN UNGU (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu/mengobati wasir (ambeien)
- Mencegah pertumbuhan bakteri streptococcus
- Mempercepat pemasakan bisbul
- Obat panas dalam
- Sembelit

DAUN SALAM (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Menciutkan selaput lendir
- Membantu mengobati tekanan darah tinggi
- Meredakan diare
- Sakit maag
- Anti diabetes
- Menurunkan kolestrol

DAUN KEMUNING (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Melancarkan peredaran darah
- Menciutkan selaput lendir
- Obat pelangsing
- Obat sakit gigi

TEMU PUTIH (ISI : 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Menghambat sel kangker
- Anti radang
- Membunuh bakteri melancarkan peredaran darah
- Pereda demam/kejang
- Menghilangkan rasa nyeri peluruh haid

KELADI TIKUS (ISI : 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu mengatasi kanker (paru-paru)
- Menjaga stamina
- Mengatasi gangguan pencernaan
- Anti tuberculosis
- Memperbaiki/menjaga fungsi hati

TEMU MANGGA (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Memperbaiki/menjaga fungsi hati
- Mengembalikan rahim setelah melahirkan
- Mengobati hernia radang tenggorokan
- Membersihkan racun peluruh angin
- Membantu menurunkan kadar kolesterol

MENIRAN (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Menjaga stamina
- Mengatasi gangguan pencernaan
- Anti tuberculosis
- Pereda demam, peluruh dahak
- Memperbaiki/manjaga fungsi hati
- Aprodisiak

CAKAR AYAM (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Membantu melancarkan peredaran darah
- Membantu menyembuhkan kangker
- Narsophoparin
- Batuk
- Anti bengkak
- Menghentikan pendaharaan

RUMPUT MUTIARA (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Mengatasi macam-macam kanker servik, payudara, rahim
- Membersihkan fungsi hati
- Radiasi darah

BINAHONG (ISI 30 KAPSUL)



Manfaat dan Kegunaan :

- Mempercepat penyembuhan luka
- Kanker payudara
- Penurunan tekanan darah
- Menurunkan kolesterol
- Melindungi hati
- Memperbiki ginjal
- Menurunkan gula darah

SABUN CITRONELLA



Manfaat dan Kegunaan

- Menghangatkan badan
- Membersihkan kulit dari plek hitam
- Anti septik

SABUN NEEM LEAF SOAP



Manfaat dan Kegunaan

- Obat gatal
- Membersihkan plek-plek hitam

LOTION NYAMUK



Manfaat dan Kegunaan :

- Mengatasi kulit dari gangguan nyamuk

IMACRI-COUNTER PAINT



Manfaat dan Kegunaan :

- Menghangatkan badan
- Melancarkan peredaran darah
- Obat keseleo, rematik

SPLASH NYAMUK



Manfaat dan Kegunaan :

- Menghindari dari gangguan nyamuk

SHAMPOO NOURISH



Manfaat dan Kegunaan :

- Mengatasi kulit kepala dari ketombe
- Untuk menyumburkan rambut

CONTACT PERSON :

Seksi Jasa Penelitian Balitro
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jl. Tentara Pelajar No. 3 Cimanggu Bogor 16111
Telp (0251) 8321879 ; Fax. (0251) 8327010 ;
Email : balitro@litbang.deptan.go.id ;
balitro@telkom.net





Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jl. Tentara Pelajar No. 3 Cimanggu Bogor 16111
Telp. (0251) 8321879 ; Fax. (0251) 8327010
Email : balitro@litbang.deptan.go.id ; balitro@telkom.net
Website : www.balitro.litbang.deptan.go.id

