

# Pengaruh Durasi Pemanasan terhadap Keberadaan *Chrysanthemum Virus-B* pada Tiga Varietas Krisan Terinfeksi

Budiarto, K., Y. Sulyo, I. B. Rahardjo, dan D. Pramanik

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Pacet-Ciherang, Cianjur 43253

Naskah diterima tanggal 25 September 2006 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 3 Mei 2007

**ABSTRAK.** *Chrysanthemum virus-B* (CVB) merupakan salah satu jenis virus penting yang dapat menyebabkan degenerasi pertumbuhan pada tanaman krisan. Usaha eliminasi virus pada tanaman terinfeksi merupakan salah satu upaya untuk mendapatkan kembali tanaman sehat dengan potensi genetik yang sesuai dengan varietas asalnya. Usaha eliminasi ini dapat ditempuh dengan menggunakan kombinasi metode pemanasan dan kultur meristem. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh durasi pemanasan terhadap kandungan partikel CVB pada plantlet 3 varietas krisan terinfeksi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Virologi Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung dari bulan Februari hingga Agustus 2005. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok lengkap dengan 5 ulangan. Faktor pertama adalah 3 varietas krisan yaitu Cut Nyak Dien, Sakuntala, dan Yellow Fiji. Faktor kedua adalah durasi terapi pemanasan dengan 3 taraf, yaitu 1, 2, dan 3 minggu pemanasan suhu 38-40°C. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan toleransi antarvarietas yang dicoba terhadap durasi suhu tinggi akibat perlakuan pemanasan. Pada ketiga varietas yang dicoba, jumlah plantlet hidup pascaperlakuan pemanasan menurun seiring dengan semakin lamanya durasi pemanasan. Persentase plantlet bebas virus semakin meningkat seiring dengan lamanya durasi pemanasan yang dilakukan dan perlakuan pemanasan selama 3 minggu yang diikuti kultur meristem secara efektif dapat membebaskan plantlet krisan dari infeksi CVB.

Katakunci: *Dendranthema grandiflora*; *Chrysanthemum virus-B* (CVB); Eliminasi; Pemanasan; Kultur meristem.

**ABSTRACT.** Budiarto, K., Y. Sulyo, I.B. Rahardjo, and D. Pramanik. 2008. The Effect of Duration of Heat Treatment on *Chrysanthemum Virus-B* at Three Varieties of Infected *Chrysanthemum*. *Chrysanthemum virus-B* (CVB) is one of the important pathogenic viruses caused significant degeneration on chrysanthemum growth. Efforts have been made to get the healthy protocols by eliminating virus from the infected plants. One of the promising methods was the combination of heat treatments and meristem culture. The research was conducted to find out the influence of heat durations of meristem culture on the existence of CVB on infected chrysanthemum plants. The experiment was carried out in Tissue Culture Laboratory and Virology Laboratory of The Indonesian Ornamental Crops Research Institute from February until August 2005. A randomized completely block design with 5 replications was used. The first factor was 3 chrysanthemum varieties, namely Cut Nyak Dien, Sakuntala, and Yellow Fiji. The second factor was duration of heat treatments; 1, 2, and 3 weeks heat treatments at 38-40°C. The results of the experiment showed that different responses existed among varieties to heat durations. The plantlet survival rates also decreased in line with the length of heat duration. However, the percentage of virus-free plantlets increased along with the lengthened heat treatments. Three weeks heat treatment of meristem culture, effectively eliminated CVB from infected plantlets.

Keywords: *Dendranthema grandiflora*; *Chrysanthemum virus-B* (CVB); Elimination; Heat treatment; Meristem culture.

Krisan (*Dendranthema grandiflora* [Ramat.] Kitam) merupakan salah satu komoditas penghasil bunga potong yang banyak dibudidayakan secara komersial di Indonesia. Pada perdagangan internasional, komoditas krisan mempunyai posisi yang strategis, terbukti pada tahun 2003, Indonesia mengalami surplus sekitar US \$ 1 juta. Nilai ekspor krisan ini pun meningkat dari tahun ke tahun, sehingga proyeksi ekspor tahun 2007 diperkirakan mencapai sekitar US \$ 15 juta (Statistik Pertanian 2005).

Peningkatan produksi krisan di dalam negeri ini harus diiringi dengan ketersediaan benih

dengan mutu yang memadai. Salah satu kendala dalam penyediaan bibit bermutu adalah penyakit sistemik yang disebabkan oleh virus, viroid, dan fitoplasma. Menurut Megan *et al.* (2001) sedikitnya terdapat 14 jenis virus yang dapat menyerang tanaman krisan, di antaranya adalah *chrysanthemum virus B*, *cucumber mosaic virus*, *chrysanthemum latent virus*, *chrysanthemum ringspot virus*, dan *chrysanthemum rosette virus*. Di Indonesia, *chrysanthemum virus-B* (CVB) merupakan salah satu virus yang paling banyak diketemukan pada pertanaman krisan komersial.

*Chrysanthemum virus-B* merupakan salah satu jenis virus yang termasuk dalam kelompok carlavirus. Virus ini memiliki genom monopartit berukuran 7,5 kb dengan nucleocapsid (*virion*) berbentuk filamen heliks tunggal (Levay dan Zavriev 1991), simetris, memanjang tanpa pembungkus protein (Brunt *et al.* 1996). Selain krisan (*compositae*), virus ini juga diketahui dapat menyerang tanaman lain, seperti *Vicia faba* (*Leguminosae*), nicotiana, petunia, dan tetragonia (Megan *et al.* 2001). Gejala yang nampak pada tanaman krisan akibat serangan virus ini berupa klorosis pada daun, malformasi pada organ vegetatif dan generatif, pecahnya warna petal bunga, dan pertumbuhan tanaman secara keseluruhan terhambat dan kerdil (Zaitlin dan Palukaitis 2000). Pengaruh CVB terhadap kualitas pertumbuhan tanaman krisan juga dilaporkan hingga pada tingkat perbanyak in vitro. Plantlet krisan yang terinfeksi virus ini memperlihatkan laju pertumbuhan dan tingkat ploriferasi yang lebih lambat dibandingkan dengan tanaman yang sehat (Marwoto *et al.* 2004).

Usaha mengembalikan potensi genetik tanaman akibat serangan virus dapat dilakukan dengan mengeliminasi partikel virus pada tanaman yang telah terinfeksi. Usaha eliminasi virus pada berbagai jenis tanaman dilaporkan telah berhasil dilakukan dengan beberapa metode, di antaranya adalah kultur meristem, terapi pemanasan, dan penggunaan antiviral sintetik.

Teknik isolasi daerah meristem yang memiliki kandungan antiviral alami dan belum terinfeksi virus pertama kali berhasil dilakukan pada anggrek cymbidium (Morel 1960). Metode ini kemudian dilaporkan berhasil diterapkan untuk tujuan serupa pada jenis tanaman lain seperti bawang putih, bawang merah, alstromeria, singkong, anggur, dan kentang (Wakley *et al.* 1987, Hakkaart dan Versluijs 1988, Adejare *et al.* 1987, Monette 1983, Nascimento *et al.* 2003, Nagib *et al.* 2003). Namun demikian, teknik isolasi daerah meristem yang sangat sensitif dan sangat kecil ini juga dilaporkan relatif sulit dilakukan pada beberapa jenis tanaman (Brown *et al.* 1988).

Aplikasi pemanasan untuk tujuan eliminasi virus berdasarkan pada tingkat multiplikasi virus sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, terutama suhu yang tinggi. Beberapa hasil penelitian terapi pemanasan menunjukkan, laju

multiplikasi virus mengalami penurunan pada kisaran suhu 35-43°C (Converse dan Tanne 1984). Namun demikian, derajat toleransi tanaman terhadap suhu tinggi ini pun merupakan faktor pembatas dalam aplikasi metode ini pada beberapa jenis tanaman. Beberapa kasus menunjukkan laju tanaman hidup pascaterapi juga semakin kecil seiring dengan meningkatnya suhu pemanasan (Lozoya-Saldana dan Merlin-Lara 1984).

Penerapan metode kombinasi terapi pemanasan dan kultur meristem dilakukan untuk mengurangi tingkat kesulitan penerapan metode tunggal pemanasan atau kultur meristem. Metode kombinasi ini dilaporkan lebih efektif diterapkan untuk beberapa jenis virus pada tanaman yang sulit dieliminasi dengan metode tunggal kultur meristem atau pemanasan saja seperti pada ubi jalar, tembakau, jeruk, dan mentimun (Green dan Lo 1989, Lozoya-Saldana dan Dawson 1982, Greno *et al.* 1990, dan Kim *et al.* 2003).

Mendasarkan pada hal-hal tersebut di atas, maka penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh durasi pemanasan dan kultur meristem untuk tujuan eliminasi CVB pada beberapa varietas krisan terinfeksi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Virologi Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung dari bulan Februari hingga Agustus 2005. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok lengkap dengan 5 ulangan. Faktor pertama adalah 3 varietas krisan, yaitu Cut Nyak Dien, Sakuntala, dan Yellow Fiji. Faktor kedua adalah durasi terapi pemanasan dengan 3 taraf, yaitu 1, 2, dan 3 minggu pemanasan pada suhu 38-40°C.

Pelaksanaan penelitian dapat diuraikan sebagai berikut. Batang tanaman krisan yang telah diidentifikasi terinfeksi virus, dipotong-potong sepanjang  $\pm 1,5$  cm atau setiap potongan setidaknya memiliki 1 mata tunas. Potongan batang tanaman ini disterilisasi menggunakan etanol 80% selama 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaClO 1% selama 2 menit. Potongan batang ini kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali dan ditanam pada media  $\frac{1}{2}$  MS + 0,5 mg/l IAA untuk induksi tunas aksiler. Tunas aksiler yang tumbuh kemudian disubkultur kembali pada

media  $\frac{1}{2}$  MS + 0,1 mg/l IAA untuk mendapatkan plantlet yang seragam. Satu minggu menjelang perlakuan pemanasan, plantlet diprakondisikan pada suhu 30-35°C untuk mengurangi kematian plantlet akibat perlakuan pemanasan.

Terapi pemanasan pada plantlet dilakukan dengan menempatkan plantlet dalam inkubator dalam kondisi hari panjang pada suhu 38-40°C dengan durasi sesuai perlakuan. Pengambilan meristem apikal (<1 mm) plantlet dilakukan di bawah mikroskop pada setiap perlakuan durasi pemanasan. Apikal-apikal meristem ini kemudian ditanam pada media MS + NAA dan diinkubasi pada suhu 18-20°C agar berproliferasi lebih lanjut hingga membentuk plantlet baru dalam beberapa minggu. Plantlet-plantlet baru kemudian, disubkultur kembali pada media regenerasi.

Kandungan CVB pada plantlet krisan dideteksi dengan metode DAS ELISA langsung menurut Clark dan Adam (1977). Tahapan metode ELISA langsung sebagai berikut.

1. Lubang *plate* dilapisi dengan IgG CVB (AGDIA, USA) yang dicampur dengan penyangga *coating* ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  +  $\text{NaHCO}_3$  +  $\text{NaN}_3$ ) dengan perbandingan 1 : 200 sebanyak 100  $\mu\text{l}$  per lubang *plate*, kemudian diinkubasi semalam pada suhu 4 °C.
2. Lubang *plate* kemudian dicuci dengan penyangga PBS Tween ( $\text{NaCl}$  +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  +  $\text{KCl}$  +  $\text{NaN}_3$  + Tween 20 +  $\text{H}_2\text{O}$ ) selama 3 menit sebanyak 2 kali dan ditunggu hingga kering.
3. Sampel tanaman masing-masing seberat 0,2 g dihancurkan dalam mortar dan diekstraksi dengan penyangga ekstraksi (PBST + 0,02% PVP) dengan perbandingan 1:5 sebanyak 1 ml.
4. Ekstrak sampel ini kemudian dimasukkan ke dalam *plate* sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. *Plate* kemudian dicuci kembali dengan PBS Tween dan ditunggu hingga kering.
5. IgG CVB (yang telah dilabel dengan enzim alkaline fosfatase) (AGDIA, USA) dimasukkan ke dalam *plate* yang dicampur dengan penyangga ECI (PBST + 0,2% BSA) dengan perbandingan 1:200 sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam.
6. Setelah dicuci dengan PBS Tween, penyangga substrat yang mengandung 4-nitrophenylphosphate dimasukkan ke

dalam tiap lubang *plate* sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dan diinkubasi pada suhu kamar hingga terjadi perubahan warna menjadi kuning. Reaksi perubahan warna kuning ini akibat adanya kandungan partikel virus. Reaksi ini kemudian dihentikan dengan menambahkan NaOH 3M sebanyak 25  $\mu\text{l}$ .

7. Intensitas perubahan warna ini kemudian diukur menggunakan ELISA *reader* (*Minireader II Dynatech*) pada panjang gelombang 410 nm. Sampel tanaman dinyatakan tidak terinfeksi (bebas) virus bila 3 kali nilai absorbansinya kurang dari nilai absorbansi kontrol positif.

Selain nilai absorbansi pada DAS ELISA, pengamatan juga dilakukan pada persentase plantlet hidup pascapemanasan, laju inisiasi tunas aksiler, serta tinggi plantlet.

Parameter yang dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan diuji lanjut dengan Uji LSD pada taraf nyata 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Jumlah Plantlet Hidup Pascapemanasan

Hasil pengamatan pada Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan jumlah plantlet hidup antarvarietas pada setiap perlakuan durasi pemanasan. Pada durasi 1 hingga 2 minggu pemanasan, Cut Nyak Dien memperlihatkan jumlah plantlet hidup yang secara signifikan lebih banyak dibandingkan dengan Sakuntala dan Yellow Fiji. Jumlah plantlet hidup yang tetap lebih banyak hingga akhir minggu ketiga pemanasan pada Cut Nyak Dien menunjukkan varietas ini lebih toleran terhadap pemanasan dibandingkan Sakuntala dan Yellow Fiji. Perbedaan jumlah plantlet hidup antarvarietas pada setiap durasi pemanasan mengindikasikan adanya perbedaan respons antarvarietas terhadap durasi pemanasan dan perbedaan toleransi ketahanan ini dipengaruhi oleh faktor genetik tanaman (Lozoya-Saldana dan Merlin-Lara 1984).

Data pada Tabel 1 juga mengungkapkan, sekalipun jumlah kematian plantlet antarvarietas berbeda pada setiap durasi pemanasan, namun laju kematian plantlet pada setiap durasi pemanasan memperlihatkan kecenderungan yang sama pada

**Tabel 1. Jumlah plantlet hidup pascadurasi terapi pemanasan yang berbeda (Number of plantlets survival post to different heat treatment durations)**

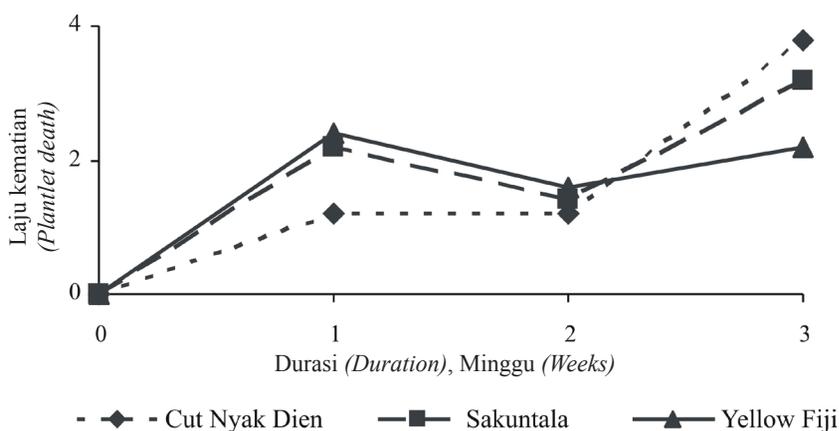
Varietas (Varieties)	Rerata plantlet hidup pascadurasi pemanasan ... batang/plant *) (Average plantlets survival post to different heat treatment durations) Minggu (Weeks)		
	1	2	3
Cut Nyak Dien	8,8 a	7,6 a	3,8 a
Sakuntala	7,8 b	6,4 b	3,2 a
Yellow Fiji	7,6 b	6 b	3,6 a

\*) jumlah inisial plantlet adalah 10 untuk setiap ulangan (number of initial plantlets was 10 per replication).

ketiga varietas yang dicoba. Plantlet yang mati akibat perlakuan pemanasan berkisar antara 12-24% pada minggu pertama, kemudian turun sekitar 12-16% setelah minggu kedua pemanasan (Gambar 1). Laju kematian plantlet yang tinggi pada minggu pertama diduga disebabkan oleh umur plantlet yang masih terlalu muda dan perlakuan prakondisi yang terlalu pendek. Perlakuan prakondisi pada suhu 30-35°C selama 1 minggu sebelum terapi pemanasan tampaknya belum cukup bagi plantlet untuk mengadaptasikan diri terhadap suhu yang relatif tinggi akibat pemanasan. Menurut pendapat Manganaris *et al.* (2003), perlakuan prakondisi pada plantlet dilakukan dengan menaikkan suhu secara bertahap dengan jangka waktu yang cukup

hingga mendekati kisaran suhu pada perlakuan pemanasan. Kenaikan suhu secara bertahap ini akan membantu plantlet untuk beradaptasi saat perlakuan pemanasan dilaksanakan, sehingga dapat mengurangi kematian plantlet yang tinggi pada awal pemanasan.

Laju kematian plantlet tertinggi pada ketiga varietas terjadi pada minggu ketiga pemanasan, yaitu berkisar antara 22-38%. Di antara ketiga varietas yang dicoba, Cut Nyak Dien justru memperlihatkan laju kematian plantlet yang tertinggi setelah 3 minggu pemanasan, walaupun varietas ini mempunyai jumlah plantlet hidup yang lebih banyak dan laju kematian plantlet yang lebih kecil pada 1 hingga 2 minggu pemanasan. Hal ini mengindikasikan adanya batas toleransi



**Gambar 1. Laju kematian plantlet pada 3 varietas pada durasi 1, 2, dan 3 minggu pemanasan (Plantlet death rates after 1, 2, and 3 weeks heat treatments)**

**Tabel 2. Waktu inisiasi tunas pascakultur meristem plantlet 3 varietas krisan setelah perlakuan pemanasan (*Shoot initiation post to meristem culture of 3 chrysanthemum varieties after heat treatments*)**

Varietas (Varieties)	Waktu inisiasi tunas pascadurasi pemanasan ( <i>Shoot initiation post to different heat treatment durations</i> )		
	Hari (Days)		
	1	2	3
Cut Nyak Dien	66,8 a	67,4 a	52,4 b
Sakuntala	67,4 a	62,6 b	51,2 c
Yellow Fiji	64,6 a	62,6 a	47,4 b

tanaman terhadap durasi pemanasan yang dilakukan. Hal ini sesuai dengan pendapat Wang *et al.* (2006) bahwa pada kondisi *in vitro*, batas toleransi tanaman terhadap lingkungan yang ekstrim cenderung lebih sempit dan jelas. Dengan demikian, kemungkinan minggu ketiga merupakan selang waktu batas kritis toleransi tanaman krisan terhadap suhu pemanasan 38-40°C pada skala *in vitro*.

#### Waktu Inisiasi Tunas dan Tinggi Plantlet

Hasil pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa durasi pemanasan pada plantlet berpengaruh terhadap waktu inisiasi tunas pascakultur meristem pada 3 varietas krisan yang dicoba. Waktu inisiasi tunas pascakultur meristem lebih cepat seiring dengan lamanya durasi pemanasan pada plantlet. Inisiasi tunas plantlet setelah 2 minggu pemanasan lebih cepat bila dibandingkan dengan plantlet yang dipanaskan selama 1 minggu sekalipun tidak berbeda nyata, namun plantlet yang dipanaskan selama 3 minggu

memperlihatkan waktu inisiasi lebih pendek yang signifikan dibandingkan dengan 2 minggu pemanasan.

Pengaruh durasi pemanasan juga terlihat pada pertumbuhan tinggi plantlet. Plantlet ketiga varietas krisan setelah perlakuan pemanasan menunjukkan perbedaan tinggi yang signifikan setelah tiga minggu subkultur. Perbedaan tinggi plantlet pada ketiga varietas menunjukkan trend yang sama, yaitu tinggi plantlet setelah 2 minggu pemanasan sekalipun menunjukkan nilai yang lebih tinggi, namun tidak berbeda nyata dengan plantlet yang dipanaskan selama 1 minggu kecuali pada Yellow Fiji. Sedangkan plantlet pada pemanasan 3 minggu lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan plantlet yang dipanaskan selama 1 dan 2 minggu (Tabel 3).

Lambatnya laju pertumbuhan yang terlihat pada waktu inisiasi tunas dan tinggi plantlet subkultur pada pemanasan 1 dan 2 minggu pada ketiga varietas yang dicoba mengindikasikan kemungkinan masih adanya kandungan partikel

**Tabel 3. Tinggi plantlet 3 varietas krisan setelah 3 minggu pada perlakuan pemanasan yang berbeda (*Plantlet height on different heat treatments after 3 weeks subcultured*)**

Varietas (Varieties)	Tinggi plantlet setelah 3 minggu subkultur ( <i>Plantlet heights post to different heat treatments after 3 weeks subcultured</i> )		
	cm		
	1	2	3
Cut Nyak Dien	4,54 a	5,22 a	6,56 b
Sakuntala	4,58 a	5,04 a	7,06 b
Yellow Fiji	5,24 a	6,42 b	7,22 c

**Tabel 4. Hasil deteksi uji ELISA langsung dan persentase bebas CVB 3 varietas krisan pada durasi pemanasan yang berbeda (CVB detection by direct ELISA and percentage of virus-free on 3 chrysanthemum varieties treated by different heat durations)**

Varietas (Varieties)	Durasi pemanasan (Heat treatment durations) Minggu (Weeks)	Nilai absorbansi (Absorbance values)	Persentase bebas CVB* (Percentage of CVB-free)
Sakuntala	1	0,08 - 0,12	3/10 (30%)
	2	0,04 - 0,08	7/10 (70%)
	3	0,03 - 0,06	10/10 (100%)
Cut Nyak Dien	1	0,07 - 0,16	5/10 (50%)
	2	0,06 - 0,10	6/10 (60%)
	3	0,02 - 0,06	10/10 (100%)
Yellow Fiji	1	0,08 - 0,10	4/10 (40%)
	2	0,06 - 0,08	8/10 (80%)
	3	0,02 - 0,08	10/10 (100%)
Kontrol positif (Positive control)		0,21	+
Kontrol negatif (Negative control)		0,01	-

virus pada jaringan tanaman yang mempengaruhi pertumbuhan plantlet. Keberadaan virus ini mampu mengubah orientasi fisiologi pertumbuhan plantlet ke arah pembentukan metabolit yang diperlukan virus dengan bahan dasar yang disediakan tanaman (Marwoto *et al.* 2004). Kondisi tersebut berlangsung secara sistemik dan persisten yang mengakibatkan tanaman mengalami kekurangan produk metabolit yang sangat diperlukan untuk mendukung pertumbuhan vegetatif (Bhatthacharyya *et al.* 1990).

Pertumbuhan plantlet pada perlakuan 3 minggu pemanasan menunjukkan performa yang lebih baik dibandingkan dengan plantlet dengan pemanasan 2 dan 1 minggu. Hal ini disebabkan perlakuan pemanasan selama 3 minggu yang diikuti dengan kultur meristem mampu mengembalikan potensi pertumbuhan plantlet yang terganggu akibat keberadaan partikel virus pada jaringan tanaman. Pulihnya performa pertumbuhan ini mengindikasikan bahwa kandungan partikel virus pada tanaman menurun/tereliminasi, sehingga plantlet mampu mengabsorpsi hara secara optimal di dalam medium dan memaksimalkan proses metabolisme untuk mensintesis elemen-elemen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan vegetatif (Styer dan Chin 1983).

### Analisis Kandungan Virus

Berdasarkan uji ELISA pada jaringan plantlet dapat diketahui bahwa nilai absorbansi bervariasi pada ketiga varietas krisan namun memiliki

kecenderungan yang sama terhadap perbedaan durasi perlakuan pemanasan yang dicoba. Pada plantlet ketiga varietas krisan, nilai absorbansi yang menunjukkan kandungan partikel virus pada jaringan tanaman semakin menurun seiring dengan lamanya durasi pemanasan (Tabel 4).

Hasil analisis jaringan tanaman tersebut juga menunjukkan bahwa presentase plantlet bebas CVB meningkat seiring dengan lamanya perlakuan durasi pemanasan. Perlakuan 1 minggu pemanasan diikuti dengan kultur meristem dapat membebaskan 30-50% plantlet yang dicoba dari partikel virus. Presentase plantlet terdeteksi bebas virus meningkat menjadi 60-80% setelah perlakuan 2 minggu dan 100% setelah 3 minggu perlakuan pemanasan.

Menurunnya nilai absorbansi pada uji ELISA dan meningkatnya persentase plantlet yang terdeteksi bebas virus seiring dengan semakin lamanya durasi perlakuan pemanasan menunjukkan bahwa kandungan partikel CVB dan persistensinya pada jaringan tanaman dipengaruhi oleh lamanya durasi pemanasan. Kandungan partikel virus yang masih terdeteksi pada perlakuan 1 hingga 2 minggu mengindikasikan bahwa durasi pemanasan tersebut belum cukup untuk mengeliminasi/membebasan daerah apikal dari partikel virus, sehingga partikel virus masih terbawa pada meristem apikal yang ditanam pada media induksi kalus dan tunas. Sedangkan pemanasan selama 3 minggu nampaknya cukup efektif untuk menghambat multiplikasi virus pada daerah apikal.

Penghambatan multiplikasi virus ini menyebabkan apikal meristem yang ditanam pada media induksi relatif bersih dari partikel virus, sehingga plantlet yang tumbuh dari meristem ini pun terbebas dari virus (Hosokawa *et al.* 2004).

### KESIMPULAN

1. Toleransi tanaman terhadap durasi suhu tinggi akibat perlakuan pemanasan berbeda antarvarietas dan jumlah plantlet hidup pasca perlakuan pemanasan menurun seiring dengan semakin lamanya durasi pemanasan.
2. Persentase plantlet bebas virus semakin meningkat seiring dengan lamanya durasi pemanasan yang dilakukan.
3. Perlakuan pemanasan selama 3 minggu yang diikuti kultur meristem dapat membebaskan plantlet krisan dari infeksi CVB.

### Saran

Mengingat tidak hanya CVB yang merupakan penyakit sistemik dan dapat menyebabkan degenerasi pada tanaman krisan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aplikasi terapi pemanasan ini terhadap jenis virus dan tanaman hias lainnya.

### PUSTAKA

1. Adejare, G. O., S. D. Gupta dan P. D. Ghosh. 1987. Eradication of Cassava Mosaic Disease from Nigerian Cassava (*Manihot esculenta*) Clones by Meristem Tip Culture. *Plant Cell Tissue Culture Org. Cult.* 1:25-32.
2. Batthacharyya, P., S. Dey, N. Das, and B. C. Batthacharyya. 1990. Rapid Mass Propagation of Chrysanthemum Morifolium by Callus Derived from Stem and Leaf Explans. In: *Plant Cell Reports*. Biotechnology Unit . Dept. of Chem. Eng. IIT. Kharagpur.
3. Brown, C. R., S. Kwiatkowski, M. W. Martin, and P. E. Thomas. 1988. Eradication of PVS from Potato Clones Through Excisions of Meristems from In Vitro, Heat Treated Shoot Tips. *Am. Potato J.* 65:633-638.
4. Brunt, A. A., K. Crabtree, M. J. Dallwitz, A. J. Gibbs, L. Watson, and E. J. Zurcher. 1996. Onward. Plant Viruses Online: *Descriptions and lists from the VIDE database.* (<http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>). Diakses tanggal : 3 Juni 2005.
5. Clark, M. F. and A. N. Adam. 1977. Characteristic of the Microplate Method Of Enzyme Lingked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483.
6. Converse, R. H. and E. Tanne. 1984. Heat Therapy and Stolon Apex Culture to Eliminate Mild Yellow-edge Virus from Hood Strawberry. *Phytopathol.* 74:1315-1316.
7. Departemen Pertanian. 2005. Statistik Pertanian. *Laporan Tahunan*. 245 Hlm.
8. Green, S. K. and C. Y. Lo. 1989. Elimination of Sweet Potato Yellow Dwarf Virus (SPYDV) by Meristem Tip Culture and by Heat Treatment. *J. Plant Dis. Protection* 96:464-469.
9. Greno, V., M. Cambra, L. Navarro, and N. Duran-Vila. 1990. Effect of Antiviral Chemicals on the Development of Virus Content of Citrus Buds In Vitro. *Scientia Horticulturae.* 45:75-87.
10. Hakkaart, F. A. and J. M. A. Versluijs. 1988. Virus Elimination by Meristem Tip Culture From a Range of Alstromeria Cultivars. *Plant Dis.* 68:216-218.
11. Hosokawa, M., A. Otake, K. Ohishi, E. Ueda, T. Hayashi, and S. Yazawa. 2004. Elimination of Chrysanthemum Stunt Viroid from an Infected Chrysanthemum Cultivar by Shoot Regeneration from a Leaf Primordium-free Shoot Apical Meristem Dome Attached to a Root Tip. *Plant Cell Rep.* 22:859-863.
12. Kim, S., S. H. Nam, J. M. Lee, K. O. Yim, and K. H. Kim. 2003. Destruction of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus by Heat Treatment and Rapid Detection of Virus Inactivation by RT-PCR. *Mol. Cells.* 16 (3):338-342.
13. Levay, K and S. Zavriev. 1991. Nucleotide Sequence and Gene Organization of 3'-Terminal Region of Chrysanthemum Virus-B Genomic RNA. *J. Gen. Virol.* 72:2333-2337.
14. Lozoya-Saldana, H. and W. O. Dawson. 1982. Effect of Alternating Temperature Regimes on Reduction or Elimination of Viruses in Plant Tissue. *Phytopathol.* 72:1018-1022.
15. \_\_\_\_\_ and O. Merlin-Lara. 1984. Thermo-therapy and Tissue Culture for Elimination of Potato Virus X (PVX) in Mexican Potato Cultivars Resistant to Late Blight. *Am. Potato J.* 61:735-739.
16. Manganaris, G. A., A. S. Economou, I. N. Boubourakas, and N. I. Katis. 2003. Elimination of PPV and PNRSV Through Thermotherapy and Meristem-tip Culture in Nectarine. *Plant Cell Rep.* 22:195-200.
17. Marwoto, B., L. Sanjaya, K. Budiarto, dan I. B. Rahardjo. 2004. Pengaruh Antiviral dalam Media Kultur terhadap Keberadaan Chrysanthemum Virus B pada 4 Varietas Krisan Terinfeksi. *J. Hort. (Edisi Khusus)* 14:410-418.
18. Megan, F. H., R. J. Giles, R. M. Moran, and G. Hepworth. 2001. The Incidence of Chrysanthemum Stunt Viroid and Chrysanthemum B Carlavirus, Tomato Aspermy Cucumovirus and Tomato Spotted Wilt Tospovirus in Australian Chrysanthemum Crops. *Australian Plant Path.* 25(3):174-178.
19. Monette, P. L. 1983. Virus Eradication through In Vitro Technique. *Int. Plant Propag. Soc. Comb. Proc.* 33:90-100.

20. Morel, G. 1960. Producing Virus Free-Cymbidium. *Am. Orchid Soc. Bull.* 29: 495 – 497.
21. Nagib, A., S. A. Hossain, M. F. Alam, M. M. Hossain, R. Islam, and R. S. Sultana. 2003. Virus Free Potato Tuber Seed Production Through Meristem Culture In Tropical Asia. *Asian J. Plant Sci.* 2(8):616-622.
22. Nascimento, L. C., G. P. Riberio, L. Willadino, and G. P. Andrade. 2003. Stock Indexing and Potato Virus Y Elimination from Potato Plants Cultivated In Vitro. *Sci. Agricola* 60 (3):525-530.
23. Styer, D. J. and C. K. Chin. 1983. Meristem and Shoot Tip Culture for Propagation, Pathogen Elimination and Germplasm Preservation. *Hort. Rev.* 5:221-277.
24. Wakley, D. G. A., M. J. W. Webb, C. J. Bolland, and A. Miller. 1987. Production of Virus Free Garlic (*Allium sativum* L.) and Shallot (*Allium ascalonicum* L.) by Meristem Tip Culture. *J. Hort. Sci.* 62:211-220.
25. Wang, I., G. Wang, N. H. R. Tang, X. Deng, and H. Zhang. 2006. Effect of Thermotherapy on Elimination of Apple Stem Grooving Virus and Apple Chlorotic Leaf Spot Virus for In Vitro-cultured Pear Shoot Tips. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 41 (3): 1327 - 1329.
26. Zaitlin, M and P. Palukaitis. 2000. **Advances in Understanding Plant Viruses and Virus Diseases.** *Annu. Rev. Phytopathol.* 38:117-143.