

## Uji Infektivitas *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) dan *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) pada *Chaenopodium amaranticolor*

### *Infectivity Test of Tobacco Mosaic Virus (TMV) and Cucumber Mosaic Virus (CMV) on Chaenopodium amaranticolor*

\*<sup>1</sup>Siti Shofiya Nasution, <sup>2</sup>Raichan Izzati, <sup>3</sup>Durrah Hayati

<sup>1</sup>Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

<sup>3</sup>Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

Jl. Tgk Hasan Krueng Kalee No. 3 Kopelma Darussalam Banda Aceh

\*<sup>1</sup>e-mail korespondensi: sitishofiyanasution@usk.ac.id

**Abstract.** *The infectivity test is one of the completeness in knowing the physical properties of the virus. Determination of the physical properties of the virus can be done by: Thermal inactivation point (TIP), in vitro resistance (Longevity in vitro / LIV), and dilution end point (DEP). The purpose of this study was to determine the infectivity of TMV and CMV in sap through LIV, DEP, and TIP. LIV testing is done by sap incubation until the test time (0 hours, 6 hours, and 24 hours), DEP test is done by diluting sap (not diluted,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ), while TIP test is done by heating sap at room temperature,  $50^{\circ}\text{C}$ ,  $70^{\circ}\text{C}$ ,  $90^{\circ}\text{C}$  for 10 minutes. The results of this study show TMV is stable compared to CMV. TMV is still infectious in sap storage for 24 hours, while CMV is not infectious between 6-24 hours after incubation. The cutoff point of sap TMV dilution is between  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$ , while CMV has been unable to cause symptoms in indicator plants at dilutions between  $10^{-1}$  and  $10^{-2}$ . TMV is still infectious at  $90^{\circ}\text{C}$  temperature treatment, while CMV inactivation hot spots are  $40^{\circ}\text{C}$  and  $50^{\circ}\text{C}$ .*

**Keywords:** *infectivity, TMV, CMV, Chaenopodium amaranticolor*

**Abstrak.** Uji infektivitas merupakan salah satu kelengkapan dalam mengetahui sifat fisik virus. Penentuan sifat fisik virus dapat dilakukan dengan melakukan pengujian titik panas inaktivasi (*Thermal inactivation point/TIP*), ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro/LIV*), dan titik batas pengenceran (*Dilution end poin/DEP*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui infektivitas TMV dan CMV dalam sap melalui LIV, DEP, dan TIP pada tanaman *Chaenopodium amaranticolor*. Pengujian LIV dilakukan dengan inkubasi sap sampai waktu pengujian (0 jam, 6 jam, dan 24 jam), Uji DEP dilakukan dengan melakukan pengenceran sap (tidak diencerkan,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ), sedangkan uji TIP dilakukan dengan memanaskan sap pada suhu ruang,  $50^{\circ}\text{C}$ ,  $70^{\circ}\text{C}$ ,  $90^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Hasil penelitian ini menunjukkan TMV bersifat stabil dibandingkan dengan CMV. TMV masih bersifat infeksius pada penyimpanan sap 24 jam, sedangkan CMV sudah tidak bersifat infeksius antara 6 - 24 jam setelah inkubasi. Titik batas pengenceran sap TMV adalah antara  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ , sedangkan CMV sudah tidak dapat menimbulkan gejala pada tanaman pada pengenceran antara  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$ . TMV masih bersifat infeksius pada perlakuan suhu  $90^{\circ}\text{C}$ , sedangkan titik panas inaktivasi CMV adalah  $40^{\circ}\text{C}$  dan  $50^{\circ}\text{C}$ .

Kata kunci: infektivitas, TMV, CMV, *Chaenopodium amaranticolor*

#### PENDAHULUAN

Virus tanaman merupakan salah satu organisme pengganggu tumbuhan (OPT) yang memiliki dampak yang signifikan terhadap tanaman budidaya. Virus pada tanaman dapat memberikan pengaruh penurunan hasil panen, penurunan kualitas produk, dan menghambat pertumbuhan. Virus dapat menyebar cepat dari tanaman yang terinfeksi ke tanaman yang sehat salah satunya melalui cairan (sap). Penularan virus melalui cairan (sap) dapat digunakan sebagai alat untuk mengidentifikasi virus. Pengujian sifat ini sebenarnya termasuk dalam uji infektivitas virus. Tumbuhan uji yang digunakan dapat bereaksi sistemik atau bereaksi hipersensitif. Pada umumnya digunakan tumbuhan yang bereaksi hipersensitif dan infektivitas virus setelah diperlakukan dinyatakan dalam jumlah lesion lokal yang terbentuk atau tidak adanya gejala pada tanaman uji. Sifat-sifat virus dalam sap juga ditujukan untuk mengetahui stabilitasnya dalam sap (Wahyuni 2005). Penentuan sifat fisik virus dapat dilakukan dengan: titik panas inaktivasi (*Thermal inactivation point*), ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro*), dan titik batas pengenceran (*Dilution end point*).

Titik panas inaktivasi (*Thermal inactivation/TIP*) adalah suhu yang diperlukan untuk menonaktifkan virus dalam cairan (sap) sepenuhnya dalam 10 menit. Stabilitas virus diuji dengan menghomogenisasi jaringan yang terinfeksi dengan sedikit buffer atau larutan penyangga. Suhu tertinggi dimana tidak muncul gejala pada tanaman uji yang diinokulasi adalah TIP virus tersebut. Ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro/LIV*) adalah lamanya waktu infeksi dalam cairan/sap yang disimpan di suhu ruang. Titik batas pengenceran (*Dilution end point/ DEP*) adalah titik

pengenceran tertinggi cairan/sap tanaman dimana virus tersebut masih dapat menular. Batas pengenceran dinyatakan dalam dua pengenceran, antara pengenceran tertinggi dimana virus masih menular dan pengenceran tertinggi berikutnya (Nurhayati 2012). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui infektivitas TMV dan CMV dalam sap melalui ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro/LIV*), titik batas pengenceran (*Dilution end point/DEP*), dan titik panas inaktivasi (*Thermal inactivation point/TIP*).

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2015 di Laboratorium Pendidikan 1, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman terinfeksi *Tobacco mosaic virus* (TMV), tanaman terinfeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV), buffer fosfat, tanaman indikator (*Chaenopodium amaranticolor*). Sedangkan alat yang digunakan adalah tabung reaksi, gelas ukur, *waterbath*, thermometer, mortar dan pistil.

#### Uji ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro*).

Uji ketahanan *in vitro* dilakukan dengan menggerus daun tanaman terinfeksi TMV dan CMV dalam buffer fosfat (TMV= 1:200 b/v, CMV= 1:10 b/v) secara terpisah. Kemudian dipipet sebanyak 1 ml ke dalam masing-masing tabung reaksi 1.5 ml. Tabung ditutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi sampai waktu pengujian (0 jam, 6 jam, dan 24 jam). Setelah itu, sampel uji diinokulasi pada tanaman indikator, dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji. Lesio lokal yang terbentuk dihitung secara manual pada tiap perlakuan penyimpanan.

#### Uji titik batas pengenceran virus (*Dilution end point*).

Uji titik batas pengenceran virus dilakukan dengan menggerus daun tanaman terinfeksi virus (TMV dan CMV) dalam buffer fosfat (TMV= 1:200 b/v, CMV= 1:10 b/v) secara terpisah. Kemudian dilakukan pengenceran berseri dengan titik batas pengenceran (Tidak diencerkan,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ). Setelah itu, sampel uji diinokulasi pada tanaman indikator sesuai perlakuan, dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji. Lesio lokal yang terbentuk dihitung secara manual pada tiap pengenceran.

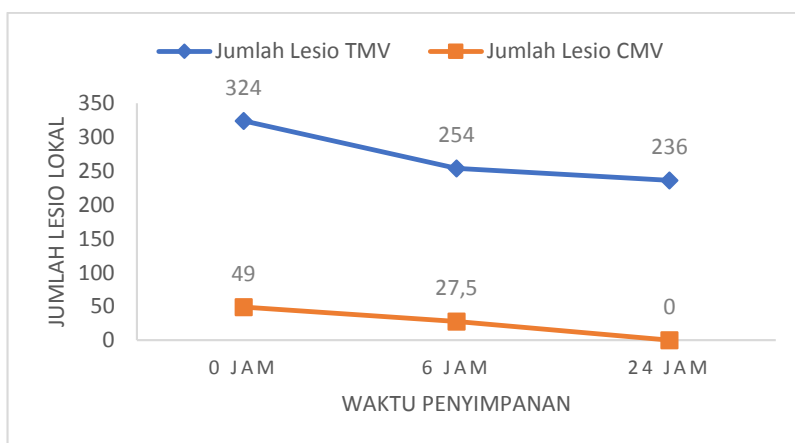
#### Uji titik panas inaktivasi virus (*Thermal inactivation point*).

Uji titik panas inaktivasi virus dilakukan dengan menggerus daun tanaman terinfeksi virus (TMV dan CMV) dalam buffer fosfat (TMV= 1:200 b/v, CMV= 1:10 b/v) secara terpisah. Sap dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml. Kemudian tabung dimasukkan ke dalam penangas (suhu ruang, 50°C, 70°C, 90°C) selama 10 menit. Tabung didinginkan dengan air mengalir. Sap diinokulasikan ke tanaman indikator *Chaenopodium amaranticolor*, dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 3 tanaman uji. Lesio lokal yang terbentuk dihitung secara manual pada tiap suhu perlakuan.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

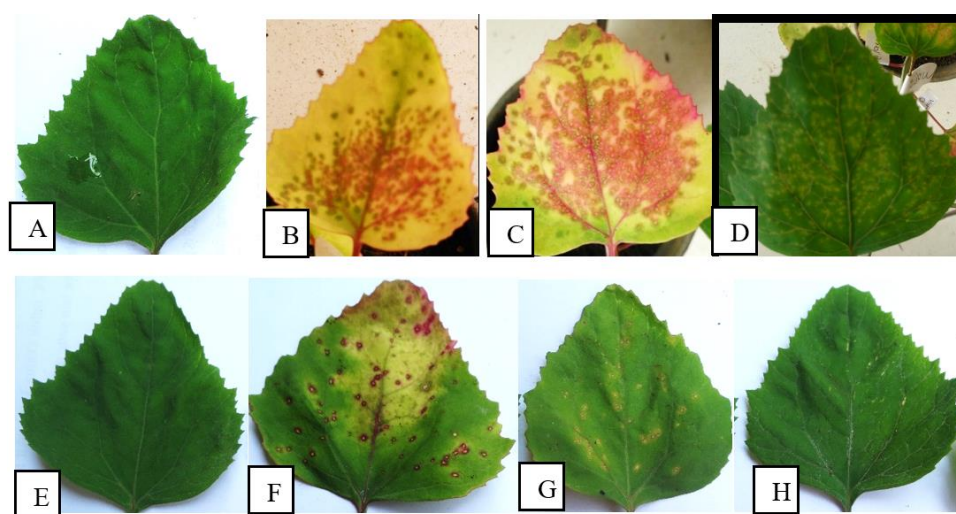
#### Ketahanan *in vitro* (*Longevity in vitro/LIV*)

Pengujian LIV dilakukan untuk melihat kemampuan suatu virus dalam sap terhadap lama penyimpanan pada suhu ruang untuk dapat menginfeksi tanaman. Semakin lama penyimpanan yang dilakukan maka semakin menurun jumlah lesio lokal (Gambar 1). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh ketahanan *in vitro* pada sap TMV masih bersifat infeksius pada penyimpanan selama 1 hari, sedangkan pada sap CMV terlihat adanya penurunan pada penyimpanan selama 1 hari. Hal ini mungkin dikarenakan TMV memiliki sifat yang lebih stabil dibandingkan dengan CMV. Menurut Mughal *et al.* (2006), TMV masih bersifat infeksius selama penyimpanan sap 30 hari. Virus menjadi inaktif setelah 4-6 minggu dalam cairan/sap, namun pada cairan/sap virus tanpa bakteri (steril) dapat bertahan sampai lima tahun dan apabila pada daun yang terinfeksi TMV dikeringkan, maka akan bertahan selama 50 tahun (Agrios 2005).



Gambar 1. Grafik ketahanan *in vitro* sap TMV dan CMV pada waktu penyimpanan 0 jam, 6 jam, dan 24 jam

Pada sap CMV sudah tidak bersifat infeksius selama penyimpanan antara 6 jam sampai 24 jam (Gambar 2). Menurut Park *et al.* (1990), bahwa ketahanan *in vitro* CMV adalah selama 3-4 hari. Fawzy *et al.* (1992) menyebutkan bahwa ketahanan *in vitro* strain CMV adalah 48-60 jam. Kiranmai *et al.* (1997) menyatakan bahwa ketahanan *in vitro* CMV dalam 3-4 hari. Lee *et al.* (1997) menemukan ketahanan *in vitro* CMV adalah 2-3 hari. El-Baz (2004) menunjukkan bahwa ketahanan *in vitro* CMV adalah 4 hari, dan penelitian Megahed (2008) menyatakan ketahanan *in vitro* CMV adalah 4 hari. Shahwan (2010), pengaruh penyimpanan sap infeksius selama 10 hari pada suhu ( $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) menentukan infeksius CMV. Hasil yang diperoleh menyatakan CMV tetap bersifat infeksius selama 5 hari.

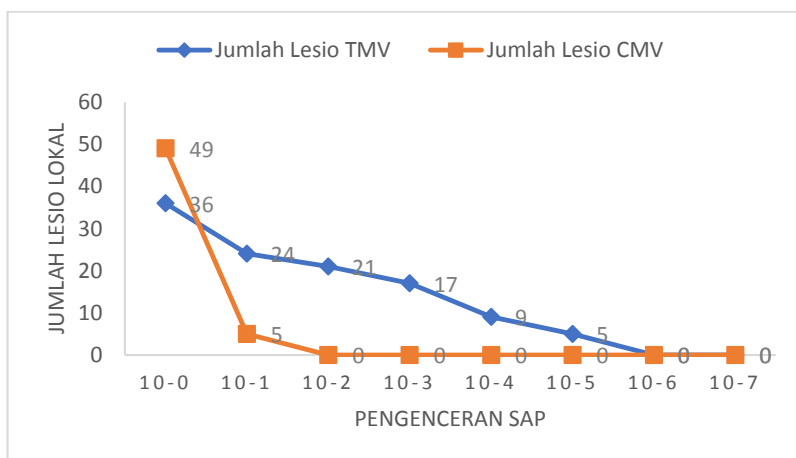


Gambar 2 Tanaman *Chaenopodium amaranticolor* yang diinokulasi TMV pada 5 HSI (Hari setelah inokulasi): (A) Kontrol (Tanpa inokulasi), (B) Waktu inkubasi 0 jam, (C) Waktu inkubasi 6 jam, dan (D) Waktu inkubasi 24 jam. Tanaman *Chaenopodium amaranticolor* yang diinokulasi CMV pada 7 HSI (Hari setelah inokulasi): (E) Kontrol (Tanpa inokulasi), (F) Waktu inkubasi 0 jam, (G) Waktu inkubasi 6 jam, dan (H) Waktu inkubasi 24 jam.

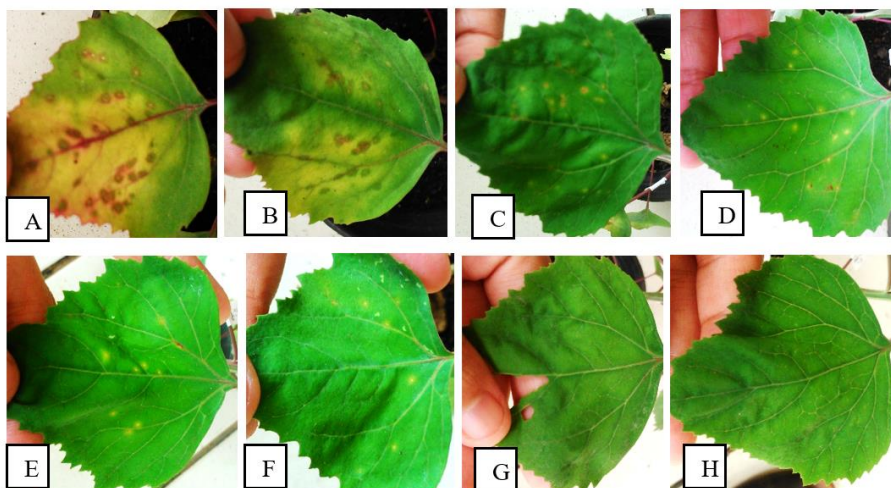
### Titik batas pengenceran (*Dilution end point/DEP*)

DEP adalah salah satu metode untuk melihat kemampuan virus dalam sap setelah dilakukan pengenceran untuk dapat menginfeksi tanaman. Setiap perlakuan pengenceran maka akan menyebabkan semakin menurunnya konsentrasi virus dalam cairan/sap sehingga menurunkan kemampuan virus dalam menginfeksi tanaman. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh titik batas pengenceran sap TMV adalah antara  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  (Gambar 3 dan Gambar 4). Pada pengenceran  $10^{-6}$ , sap TMV sudah tidak menimbulkan gejala pada tanaman indikator. Menurut Mughal *et al.* (2006), TMV masih bersifat infeksius pada pengenceran  $10^{-7}$ . Lana & Agrios (1974), sap TMV masih bersifat infeksius ketika pengenceran  $10^{-7}$ . Menurut Agrios (2005), TMV yang menginfeksi Tanaman tembakau mengandung 4 g virus per liter cairan/sap dan virus masih tetap menular meskipun diencerkan 1:1.000.000.

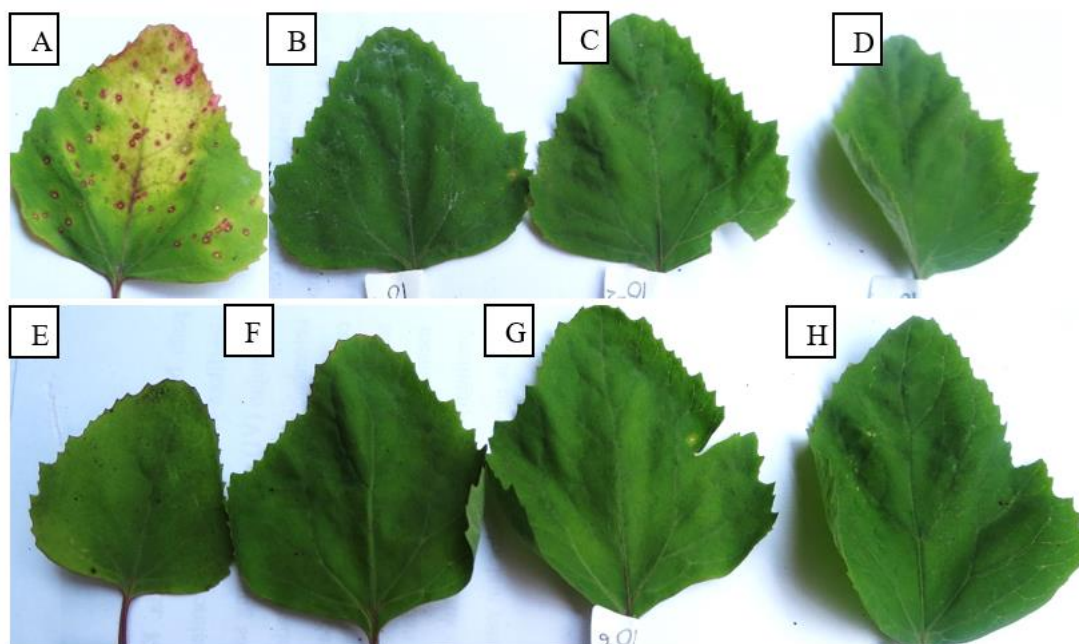
Sedangkan pada sap CMV sudah tidak dapat menimbulkan gejala pada tanaman indikator pada pengenceran antara  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$  (Gambar 5). Menurut Park *et al.* (1990) menyatakan bahwa titik batas pengenceran CMV adalah  $10^{-3}$ . Hal ini sesuai dengan penelitian Sugiura *et al.* (1975), titik batas pengenceran CMV antara 1:2000 dan 1:3000. Sedangkan Shahwan (2010), menyatakan bahwa CMV kehilangan infektivitas pada pengenceran  $10^{-4}$ .



Gambar 3. Grafik titik batas pengenceran sap TMV dan CMV pada pengenceran:  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$ .



Gambar 4 Tanaman *Chaenopodium amaranticolor* yang diinokulasi TMV pada 5 HSI (Hari setelah inokulasi): (A) Tanpa pengenceran, (B) Pengenceran  $10^{-1}$ , (C) Pengenceran  $10^{-2}$ , (D) Pengenceran  $10^{-3}$ , (E) Pengenceran  $10^{-4}$ , (F) Pengenceran  $10^{-5}$ , (G) Pengenceran  $10^{-6}$ , dan (H) Pengenceran  $10^{-7}$ .



Gambar 5 Tanaman *Chaenopodium amaranticolor* yang diinokulasi CMV pada 7 HSI (Hari setelah inokulasi): (A) Tanpa pengenceran, (B) Pengenceran 10<sup>-1</sup>, (C) Pengenceran 10<sup>-2</sup>, (D) Pengenceran 10<sup>-3</sup>, (E) Pengenceran 10<sup>-4</sup>, (F) Pengenceran 10<sup>-5</sup>, (G) Pengenceran 10<sup>-6</sup>, dan (H) Pengenceran 10<sup>-7</sup>.

#### Titik Panas Inaktivasi (*Thermal inactivation point/TIP*)

Pengujian TIP dilakukan untuk mengetahui kemampuan virus dalam sap apabila dipanaskan untuk tetap dapat menginfeksi tanaman. Semakin tinggi suhu cairan/sap yang digunakan maka akan menurunkan kemampuan virus dalam menginfeksi tanaman. Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, sap TMV masih bersifat infeksius pada perlakuan suhu 90°C (Gambar 6). Menurut Agrios (2005), TMV adalah salah satu virus yang paling termostabil dan titik inaktivasinya mencapai 93°C dalam cairan/sap. Virus yang terdapat pada daun terinfeksi yang kering tetap dapat menular meskipun dipanaskan pada suhu 120°C selama 30 menit.



Gambar 6. Grafik perlakuan suhu sap TMV dan CMV pada suhu 20°C, 50°C, 70°C, dan 90°C.

Sap CMV sudah tidak bersifat infeksius pada perlakuan suhu antara 20°C dan 50°C. CMV tidak stabil pada suhu yang beku atau panas. Zitikaite (2011), penyimpanan CMV jangka panjang yang stabil adalah dalam bentuk RNA pada suhu 20°C. Taufik *et al.* (2007) mengemukakan bahwa tingkat kejadian Tanaman terinfeksi CMV bergantung pada suhu rata-rata yang lebih rendah.

#### KESIMPULAN

TMV bersifat stabil dibandingkan dengan CMV. TMV masih bersifat infeksius pada penyimpanan sap 1 hari, sedangkan CMV sudah tidak bersifat infeksius antara 6 - 24 jam setelah inkubasi. Titik batas pengenceran sap TMV adalah antara 10<sup>-5</sup> dan 10<sup>-6</sup>, sedangkan CMV sudah tidak dapat menimbulkan gejala pada tanaman indikator di

pengenceran antara  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$ . TMV masih bersifat infeksius pada perlakuan suhu  $90^{\circ}\text{C}$ , sedangkan titik panas inaktivasi CMV adalah  $40^{\circ}\text{C}$  dan  $50^{\circ}\text{C}$ .

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Edisi ke-4. Academic Press. New York.
- El-Baz, Reham M. 2004. Physicochemical, physiological and histopathological studies on cucumber mosaic virus. [Thesis]. Fac. of Sci. Helwan Univ. Cairo. Egypt.
- Fawzy, R.N, Mahdy AMM, El-Mageed AMH. 1992. Identification of a strain of *cucumber mosaic virus* isolated from naturally infected *Philodendron selloum*. *Annals of Agric. Sci.* Moshtohor 30(3): 1219-1232.
- Kiranmai, G, Sreenivasul P, Nayudu MV. 1997.Characterization of *cucumber mosaic cucumovirus* isolates naturally infecting three solanaceous vegetable crops in Andhra Pradesh. *Indian Phytopathology* 50(3): 416-425.
- Lana, O, Agrios G.N. 1974. Properties of a strain of *Tobacco mosaic virus* isolated from white ash trees. *Phytopathology* 64:1490-1495.
- Lecoq, H, Wisler G,Pitrat M. 1998. Cucurbit Viruses : The classics and The Emerging. INRA, station de Pathologie Vegetable, Domaine Saint Maurice, BP 94, 84143 Montfavet cedex. France.
- Lee, S.Y, Park S.J, Choi J.K. 1997.Characterization of an ; isolate of *cucumber mosaic virus* from Forsythia (*Forsythia koreana nakai*). *Korean Journal of Plant Pathology*, 13(5): 358-363.
- Lucas, G.B. 1975. *Disease of Tobacco*. 3<sup>rd</sup> Ed. Raleigh-North Carolinal Biological Consult Assoc.
- Megahed, A.A. 2008.Effect of antiviral proteins produced by bacterial and fungal isolates on some viruses infecting vegetable crops [Thesis]. Faculty of Agriculture, Ain Shams University. Cairo, Egypt.
- Mughal, S.M, Zidgali S, Matrooshi A.R. 2006. Some biological serological, and physical properties of *Tobacco mosaic virus* (TMV) from the sultanate of Oman. *Pak. J. Agri. Sci.* Vol. 43(1-2).
- Nurhayati. 2012. *Virus penyebab penyakit tanaman*. Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Park, W.M, Ryu K.H, Choi J.K. 1990.Properties and purification of *cucumber mosaic virus* as new strain. *Korean Journal of Plant Pathology* 6(3): 393-401.
- Shahwan, E.S. 2010. *Inducing systemic resistance against some tomato virus diseases* [Dissertation]. Moshtohor: Banha university.
- Sugiura, M, Bandaranayake C.M, Hemachandra G.H. 1975. Chilli virus diseases in Sri Lanka. *Technic Bull* 8.
- Taufik, M, Hidayat S.H, Sujiprihati S, Suastika G, Mandang S.M. 2007. Ketahanan beberapa varietas cabai terhadap *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus*. *Jurnal HPT Tropika* 7 (2):130-139.
- Wahyuni. 2005. Dasar-dasar virologi tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- ZitikaiteI,J.S, Urbanaviciene L, Zizyte M. 2011. *Cucumber Mosaic Virus* Identification in Pumpkin Plants. *Zemdirbyste=Agriculture* 98 (4): 421–426. ISSN 1392-3196.