

# **Histopatologi Tulang Daun Jeruk Siam (*Citrus nobilis*) yang Terinfeksi Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD)* Pada Tingkat Serangan Ringan, Sedang dan Berat**

MUSLIM

I GEDE PUTU WIRAWAN<sup>\*)</sup>

MADE SRITAMIN

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar Bali 80231

<sup>\*)</sup>Email: igpwirawan@unud.ac.id

## **ABSTRACT**

### **Histopatology Siamese Citrus Leaves (*Citrus nobilis*) Infected by *Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD)* at mild, moderate and severe attacks.**

Aims of this study is to identify the presence of the bacteria *Liberobacter asiaticum*, cause of CPVD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) disease and to know the differences in the histology of Siamese citrus plant tissue that is attacked by mild, moderate and severe attacks. This research was in the Laboratory of Plant Structure and Development of the Faculty of Biology, University of Gajah Mada and conducted at the UPT of the Genetic and Molecular Biology Laboratory of Udayana University. Field observations and sampling were carried out in the Wanasari Banjar, Kintamani Village, Kintamani Sub-District, Bangli District, Bali Province. There are several symptomatic citrus plants and attacked by CVPD with various levels of severity by visual appearance. On the observed land it were found that the attack percentage was 70% and the intensity of the attack was 46.4%. PCR (*Polymerization chain reaction*) identification method using OI1 and OI2 specific primers. The DNA band 1160 bp was found in mild, moderate, and severe chlorosis symptomatic samples. Leaves without symptoms do not change shape in the epidermis, cortex, xylem and phloem, while form changes occur in phloem, xylem and cortex in symptomatic citrus plants.

Keywords: CVPD, Histopatology, *Liberobacter asiaticum*, PCR

## **1. Pendahuluan**

### **1.1 Latar Belakang**

Penyakit *Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD)* merupakan salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman jeruk dan dapat menurunkan produksi tanaman jeruk. CVPD menyerang hampir semua kultivar jeruk, menyebabkan produksi berkurang atau gagal, memperpendek masa hidup tanaman jeruk dan dapat mematikan tanaman jeruk dalam waktu 1 – 2 tahun (da Graca, 1991). Wijaya (2003)

melaporkan bahwa tanaman jeruk yang terserang CVPD memperlihatkan gejala daun menguning atau klorosis, warna tulang daun tetap hijau, ukuran daun menjadi kecil dan daun menjadi kaku. Sarwono (1995) menyatakan bahwa klorosis terjadi karena pembentukan klorofil pada daun berkurang. Pengamatan di lapangan, tanaman jeruk yang diduga terserang penyakit CVPD memiliki gejala korosis yang bervariasi, dari gejala klorosis ringan sedang hingga berat. Daun tanaman dengan gejala spesifik CVPD, yaitu klorosis, dengan berbagai tingkat kerusakan yaitu ringan, dan berat di duga secara morfologi dapat dipastikan merupakan serangan CVPD. Adanya perubahan morfologi yang terjadi akibat penyakit CVPD diduga juga diiringi adanya perubahan anatomi pada tanaman

*Fan et al.*(2013) menyatakan bahwa anatomi akar, batang serta daun jeruk lemon dan jeruk manis yang terinfeksi patogen *Liberibacter asiaticus* mengalami perubahan anatomi, seperti rusaknya jaringan floem, tersumbatnya pembuluh tapis dan terjadi akumulasi pati.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 Waktu dan Tempat

Tanaman Jeruk yang diamati berada di Banjar Wanasari, desa Kintamani, Kecamatan Kintamani Kabupaten Bangli. Selanjutnya pembuatan preparat awetan dengan metode embedding dilaksanakan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Pengamatan struktur jaringan sayatan melintang dan deteksi penyakit CVPD pada daun jeruk siam dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan di UPT laboratorium Sumber Daya Genetika dan Biomolekuler Universitas Udayana Denpasar. Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2018 sampai dengan bulan September 2018.

### 2.2 Alat dan Bahan

Alat Isolasi Total DNA dan PCR yaitu : Mortar, *ependorf tube*, *water bath*, mesin PCR, seperangkat alat elektroforesis (BioRad), mikrosentrifuse, UV *transilluminator*, *microwave*, pipet mikro, kertas parafilm, *GD Column*, *collection tube*, *filter column*, timbangan analitik, alat *vortex*, *erlenmeyer*, alat inkubasi, plastik, kertas label. Alat pembuatan preparat awetan ; Alat Pengiris Mikrotom, Alat Pengeblokan, Holder, Baker Glass, Hot Plate, Inkubator, Gelas Benda, Penutup, Kertas Label, Dan Botol Flakon.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tulang daun tanpa gejala, tulang daun bergejala CVPD ringan, sedang dan berat. Bahan isolasi dan PCR yaitu : Aquades, Nitrogen cair, Lysis Buffer PL-1, Wash Buffer (PW-1 dan PW-2), RNase Elution Buffer, Nucleon Spin (green ring, violet ring), PCR Kit (2x PCR Master Solution (*i-Taq*<sup>TM</sup>), *i-Taq*<sup>TM</sup> DNA Polymerase (5 $\mu$ / $\mu$ l), PCR Reaction Buffer), F Primer O11 (5' GCG CGT ATG CAA TAC GAG CGG C 3') dan R Primer O12b (5' GCC TCG CGA CTT CGC AAC CCA T 3'), Etidium Bromida, Loading Dye, TAE

Buffer 1%, Agarose. Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat : Canada Balsam, parafin, safranin 1%, formalin 10%, dan *xylol*, albumin, larutan fiksatif FAA, asam asetat glasial, alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 96%, dan 100%.

### 2.3 Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan penelitian diawali dengan pengamatan tanaman jeruk di satu areal (100 pohon). dilakukan skoring lalu mendapatkan nilai persentase dan intensitas tingkat gejala serangan. kemudian sampel yang diambil berupa helaian daun tanaman jeruk yang secara visual menunjukkan adanya gejala CPVD baik secara ringan, sedang, dan berat.

Deteksi keberadaan *Liberibacter asiaticus* penyebab CVPD dilakukan secara molekuler yaitu dengan teknik PCR, meliputi tiga tahapan yaitu isolasi DNA total, amplifikasi DNA dan visualisasi hasil PCR. Isolasi total DNA dilakukan dengan menghaluskan daun sebanyak  $\pm 10$  mg dengan nitrogen cair, kemudian disuspensi menggunakan DNA Kit sehingga didapatkan pellet DNA untuk diamplifikasi. Analisis PCR untuk mendeteksi keberadaan patogen penyakit CVPD dilakukan dengan menggunakan primer spesifik dari 16S rDNA. Reaksi PCR terdiri dari 2  $\mu$ l DNA sampel, 1  $\mu$ l forward primer, dan 1  $\mu$ l reserve primer, 10  $\mu$ l PCR master mix solution, dan 6  $\mu$ l buffer TE. Amplifikasi DNA terdiri dari a) Perlakuan awal pada suhu 92°C selama 30 detik dengan satu siklus ulangan, b) Empat puluh siklus yang terdiri atas pemisahan utas DNA (Denaturasi) pada suhu 92°C selama 60 detik, penempelan primer pada DNA (Annealing) pada suhu 60°C selama 30 detik dan sintesis DNA (Elongation) pada suhu 72°C selama 90 detik, c) Penyesuaian utas atas dan bawah (Extension) pada suhu 72°C selama 90 detik dengan satu siklus ulangan. Fragmen DNA hasil amplifikasi PCR dielektroforesis pada gel agarose 1%, penyangga untuk elektroforesis digunakan penyangga TAE 1% yang mengandung 40 mM sodium EDTA. Elektroforesis dilakukan pada 100 volt selama 1 jam Selanjutnya dilihat dengan transilluminator UV.

Pembuatan sayatan melintang tulang menggunakan metode parafin meliputi : fiksasi, pencucian, pewarnaan I, dehidrasi, dealkoholisasi, parafinasi, pembenaman, penyayatan, penjernihan, pewarnaan II, penutupan dan pelabelan. Variabel yang diamati adalah persentase dan intensitas yang menunjukkan gejala dan pengamatan bentuk dan struktur jaringan tulang daun jeruk dari luar ke dalam yaitu jaringan, epidermis, jaringan korteks dan mesofil, jaringan pembuluh yaitu xilem dan floem serta pengamatan pati pada jaringan dasar.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Kondisi Umum Lahan Jeruk Siam Kintamani, Bangli

Pengamatan lapangan dilakukan di kebun jeruk milik I Wayan Sawit Banjar Wanasari, Desa Kintamani, Kecamatan Kintamani Kabupaten Bangli Provinsi Bali dengan ketinggian tempat 1500m dpl. Jumlah Tanaman yang diamati sebanyak 100

tanaman dengan luas lahan produktif untuk pengamatan ini  $\pm 30$  are dan jarak tanam 3,5 m x 3,5 m dan diketahui persentase serangan pada lahan tersebut (Gambar 1.A) sebesar 70%, dengan rincian 70 tanaman menunjukkan gejala, baik pucuk yang menunjukkan gejala, ringan, pucuk yang menunjukkan gejala sedang, pucuk yang menunjukkan gejala berat dan pucuk yang menunjukkan gejala sangat berat, sedangkan 30 Tanaman Lain tidak menunjukkan Gejala serangan atau sehat. Sedangkan Intensitas serangan 46.4% dengan rincian tanaman tidak bergejala CPVD dengan skor (0%) yaitu berjumlah 30 tanaman, tanaman bergejala ringan dengan jumlah skor (1%-25%) sebanyak 27 tanaman, tanaman menunjukkan gejala sedang dengan jumlah skor (25%-50%) sebanyak 27 tanaman, tanaman yang menunjukkan gejala berat dengan jumlah skor (50%-75%) sebanyak 13 tanaman, sedangkan tanaman yang bergejala sangat berat dengan jumlah skor (75%-100%) yaitu terdapat 3 tanaman.



Gambar 1. 1.A. Kondisi Hambaran lahan Penelitian Kebun Jeruk Kintamani  
1.B. Kondisi Tanaman yang menunjukkan Gejala CPVD

### 3.2 Gejala penyakit CVPD pada tanaman jeruk

Hasil pengamatan dilapangan menunjukkan gejala yang bervariasi dan intensitas berbeda-beda pada tiap Tanaman Jeruk Siam. (Gambar 2.A) menunjukkan Pucuk bergejala Ringan pada setiap helaian daun, sedangkan Gejala klorosis berat pada tiap helaian daun dapat dilihat pada gambar (Gambar 2.B) berdasarkan pengamatan Putra dkk (2013), bahwa di Kecamatan Kintamani didapatkan sembilan jenis tanaman jeruk dengan gejala penyakit CVPD secara visual pada masing-masing tanaman jeruk memiliki variasi gejala klorosis dari ringan sampai berat.



Gambar 2. Tanaman jeruk siam yang menunjukkan gejala penyakit CVPD  
2.A. Gejala klorosis ringan pada tiap helaian daun  
2.B. Gejala klorosis Berat pada tiap helaian daun

Berdasarkan pengamatan Putra dkk (2013) bahwa terdapat terdapat 3 tipe gejala klorosis, yaitu klorosis ringan, klorosis sedang dan klorosis berat. 1. Daun yang menunjukkan gejala klorosis ringan memiliki warna tulang daun hijau dengan lamina daun yang masih tetap hijau, daun menjadi tebal dan kaku (Gambar 3.B). 2. Daun yang menunjukkan gejala klorosis sedang warna lamina menguning pada sebagian permukaan daun, tulang daun warnanya tetap hijau, daun menjadi lebih tebal dan kaku (Gambar 3.C). 3. Sedangkan daun yang memiliki gejala klorosis berat memiliki warna lamina yang menjadi kuning pada semua permukaan daun, dan warna tulang daun tetap hijau, serta daun menjadi kaku dapat dilihat pada (gambar 3.D).



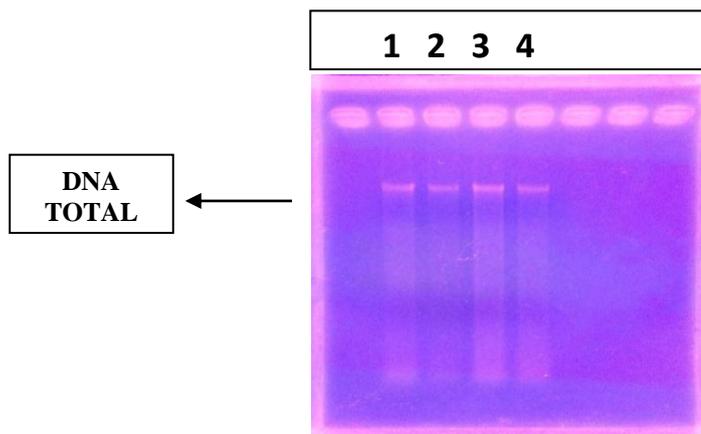
Gambar 3. Sampel daun jeruk siam (A) Daun tanpa gejala (B) Daun bergejala ringan (C) Daun bergejala sedang (D) Daun bergejala Berat.

Daun pada tanaman yang terinfeksi mengalami pengerasan pada bagian tulang daun sehingga ketika diraba maka daun akan terasa lebih kaku dan cenderung lebih melengkung kedua tepinya ke arah dalam. Daun baru yang muncul tidak mengalami pengerasan pada bagian tulang daun, namun ukurannya lebih kecil jika dibandingkan

dengan daun baru pada tanaman sehat. Hal ini disebabkan oleh kurangnya hara yang dibutuhkan untuk membentuk daun baru dengan ukuran normal. Menurut Su dan Huang (1990), pengerasan tulang daun berhubungan dengan xilem primer yang mengalami penonjolan ke epidermis.

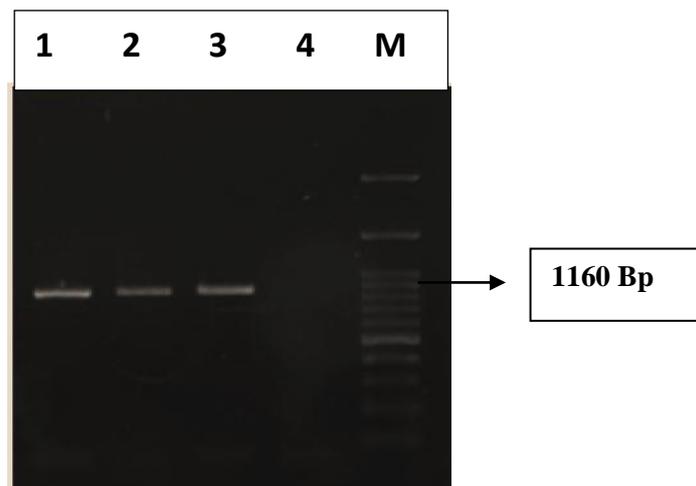
### 3.3 Deteksi Patogen Penyebab Penyakit CPVD

Hasil isolasi DNA pada tulang daun tanaman jeruk didapatkan DNA total. DNA total adalah seluruh DNA yang terkandung dalam tanaman. Hasil isolasi DNA total tanaman dielektroforesis menggunakan gel agarose 1% tampak pita DNA pada kolom 1; 2; 3; 4. Adanya pita DNA pada hasil elektroforesis menunjukkan DNA total daun tanaman jeruk sudah terisolasi.



Gambar 4. Hasil elektroforesis DNA total daun jeruk siam. 1. Tanpa Gejala sampel daun Tanaman (A) 2. Bergejala Ringan sampel daun Tanaman (B) 3. Bergejala Sedang sampel daun tanaman (C) 4. Bergejala Berat sampel daun Tanaman (D).

Hasil DNA teramplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer spesifik 16S rDNA, OI1 (*forward*) dan OI2c (*reverse*) dielektroforesis pada gel agarose 1% menunjukkan hasil elektroforesis DNA ditemukan pita DNA dengan ukuran 1160 bp pada line 1, 2, dan 3 (Gambar 5). Menurut Jagouiex *et al.* (1994) hasil PCR dengan primer spesifik 16S rDNA, F: OI1 dan R: OI2c menghasilkan band 1160bp yang dimiliki oleh *L. asiaticus*. Oleh karena *L. asiaticus* merupakan penyebab penyakit CVPD maka ke empat sampel yang menunjukkan pola gejala klorosis berbeda pada daun jeruk siam baik ringan sedang dan berat telah terinfeksi oleh penyakit CVPD (Gambar 5). Sedangkan, pita DNA 1160bp tidak ditemukan pada kolom 4 yaitu sampel A maka sampel tersebut negatif yang berarti tidak terinfeksi CVPD.

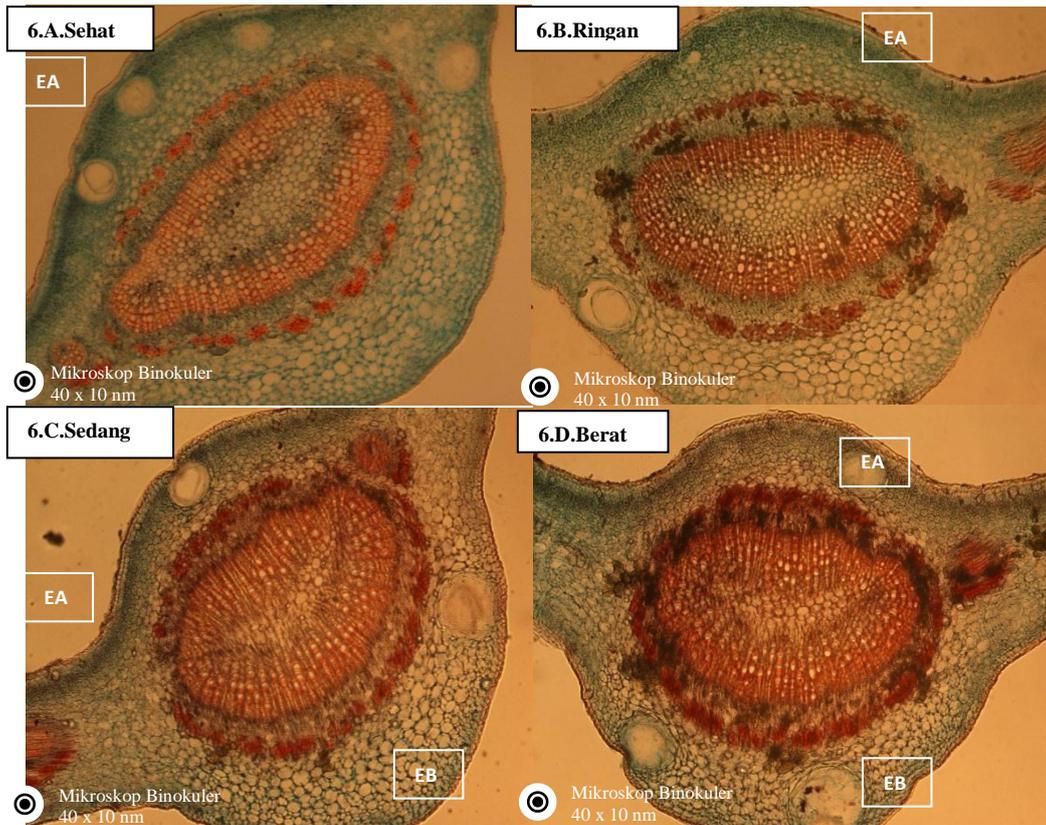


Gambar 5. Hasil PCR DNA *L. asiaticum* dari Sampel Tanaman Jeruk Siam menggunakan Primer 16S rDNA pada Gel Agarose 1% Keterangan : 1. Sampel tulang daun bergelaja ringan 2. Sampel tulang daun bergejala sedang 3. Sampel daun bergejala berat 4. Sampel tulang daun tanpa gejala (M) Marker

Hasil amplifikasi dari 4 sampel tulang daun jeruk Siam di desa Kintamani, Banjar Wanasari terbukti menunjukkan adanya penyakit CVPD, hal ini ditunjukkan dengan adanya pita DNA pada ukuran 1160bp. Hasil ini membuktikan bahwa penggunaan PCR telah dapat mendeteksi keberadaan bakteri *L. asiaticum* pada tanaman jeruk siam yang bergejala CPVD.

### 3.4 Histopatologi Tulang daun jeruk Siam

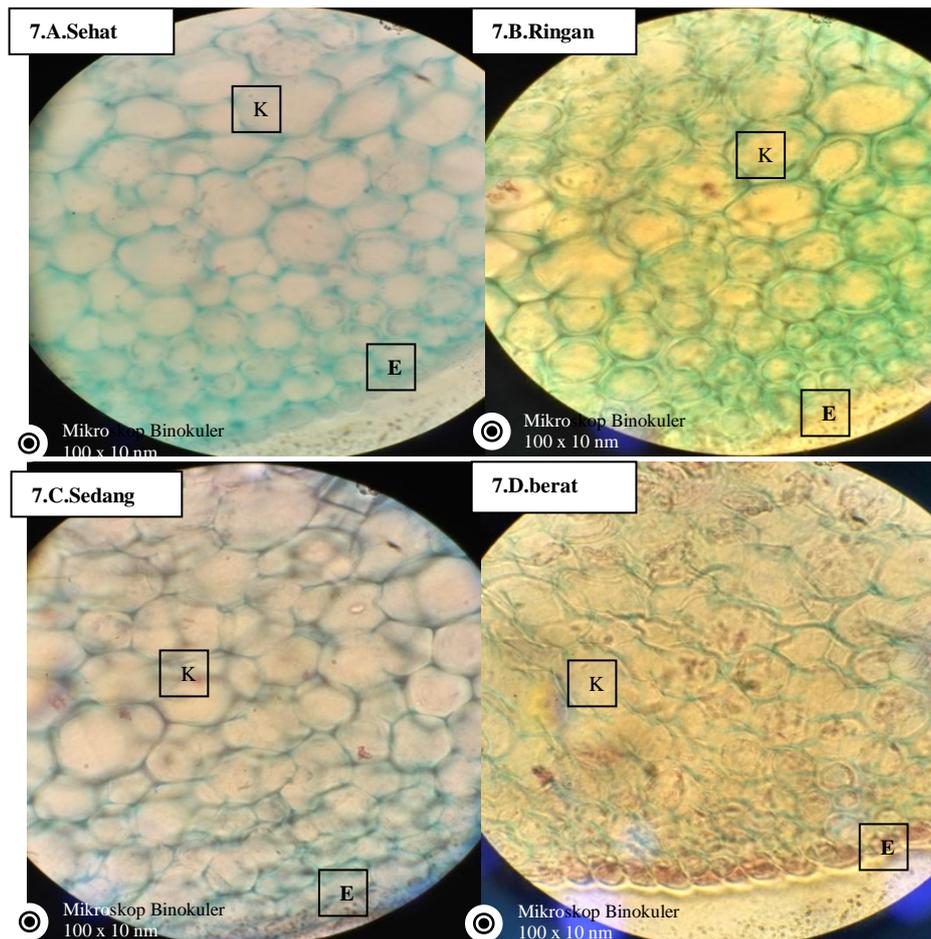
Setelah melalui proses PCR selanjutnya sampel tulang daun tanpa gejala dan sampel tulang daun yang terinfeksi penyakit CVPD dari semua tingkat serangan dibuat preparat awetan dengan metode parafin. Lalu diamati bentuk sel dan struktur jaringan jeruk siam dari luar kedalam yaitu jaringan dermal, jaringan pembuluh dan jaringan dasar serta pengamatan pati pada jaringan korteks dan mesofil. (Gambar 6) merupakan hasil preparat awetan dengan tebal irisan 6  $\mu\text{m}$  menggunakan rotary mikrotom. Dengan pembesaran 400x struktur Histologi tulang daun dapat dilihat keseluruhan jaringan namun bagian-bagian sel yang akan diamati tidak dapat dilihat secara jelas. Ada sebuah tren dimana semakin berat gejala serangan CVPD zat pewarnaan (*Fast Green*) semakin sedikit. Diduga zat pewarnaan tidak dapat menempel dan menyatu dengan baik pada jaringan-jaringan yang mengalami kerusakan. Sedangkan pada irisan melintang tulang daun tanpa gejala ( Gambar 6.A) zat pewarna terlihat jelas. *fast Green* biasa digunakan untuk mewarnai dinding sel berselulosa dan sitoplasma namun diketahui ruang *intercelluler* pada tingkat serangan sedang dan berat mengalami kerusakan sehingga pewarnaan tidak dapat berfungsi dengan baik.



Gambar 6. Sayatan penampang melintang tulang daun jeruk siam *Citrus nobilis* pembesaran 100x EA. Jaringan epidermis atas EB. Jaringan epidermis bawah 6.A. jeruk siam tanpa gejala 6.B. Jeruk siam bergejala ringan 6.C. Jeruk siam bergejala sedang 6.D. Jeruk siam bergejala Berat

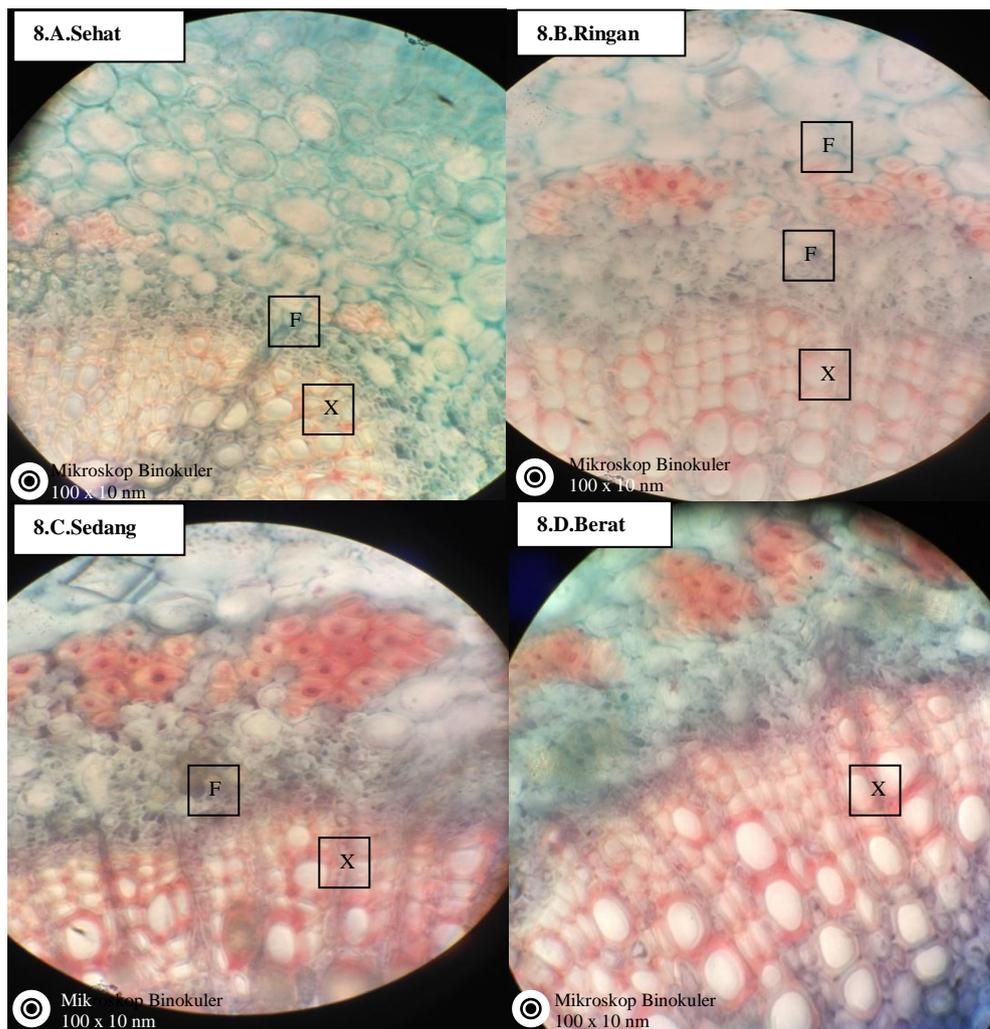
Hasil foto preparat menunjukkan terdapat adanya perbedaan struktur dan bentuk jaringan epidermis dan korteks antara tulang daun tanpa gejala dengan tulang daun daun bergejala penyakit CVPD. perbedaan nyata dapat terlihat jelas pada bentuk sel epidermis yang tipis (gambar 6.A) tanpa gejala dengan (gambar 6.D) bergejala berat yang mengalami penebalan pada dinding sel. Sedangkan pada jaringan floem pada semua tingkatan gejala mengalami perubahan dan terjadi pembekakan pada jaringan.

Hasil pengamatan sayatan melintang tulang daun sehat pada bagian jaringan epidermis (Gambar 7.A) secara anatomi menunjukkan jaringan epidermis berbentuk lempengan dan memanjang sejajar pada permukaan terluar tulang daun dan bentuk epidermis tidak mengalami perubahan. Sedangkan epidermis bergejala ringan (Gambar 7.B) mengalami perubahan bentuk sel dan terjadi penebalan dinding sel. Penebalan dinding sel juga terjadi pada jaringan epidermis yang bergejala sedang dan berat (Gambar 7.C dan 7.D). Agrios (1996) menyatakan bahwa ketebalan dan kekuatan dinding sel epidermis merupakan faktor penting untuk ketahanan tanaman karena epidermis adalah jaringan terluar dari tumbuhan sebagai tempat penetrasi patogen.



Gambar 7. Sayatan penampang melintang jaringan Korteks dan epidermis jeruk siam  
Pembesaran 1000x Keterangan : E. Jaringan Epidermis K. Jaringan Korteks

Bagian sebelah dalam epidermis terdapat korteks yang tersusun atas jaringan parenkim yang berperan menyimpan cadangan makanan, pada jaringan korteks tanpa gejala (Gambar 7.A) bentuk sel segi enam (*hexagonal*) dan relatif bulat (*isodiametris*) dan ruang interseluler yang jelas. sedangkan bentuk korteks yang bergejala ringan mengalami penebalan pada dinding sel (Gambar 7.B) Penebalan dinding sel yang terjadi sebagai mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen yang melakukan penetrasi pada organ. bagian korteks bergejala sedang (Gambar 7.C) sel korteks mengalami perubahan dengan ditandai bentuk sel yang tidak beraturan dan ruang interseluler yang tidak jelas. sedangkan korteks yang bergejala berat (Gambar 7.D) terjadi perubahan yang signifikan dengan ditandai sel korteks yang tidak beraturan, sebagian ruang interseluler yang hilang sehingga antara sel korteks bergabung dengan sel korteks yang lain dan terjadi akumulasi pati. Menurut Hidayat (1995), pada sel floem yang mengalami kerusakan, kalosa dan p protein akan mengendap dan menyumbat pori tapis. Jumlah pati yang terdapat pada jaringan dasar akan meningkat seiring dengan peningkatan gejala. Berdasarkan penelitian pada batang dan tangkai jeruk manis (*Citrus sinensis*) yang terserang CVPD ditemukan adanya butiran-butiran pati pada jaringan korteks.

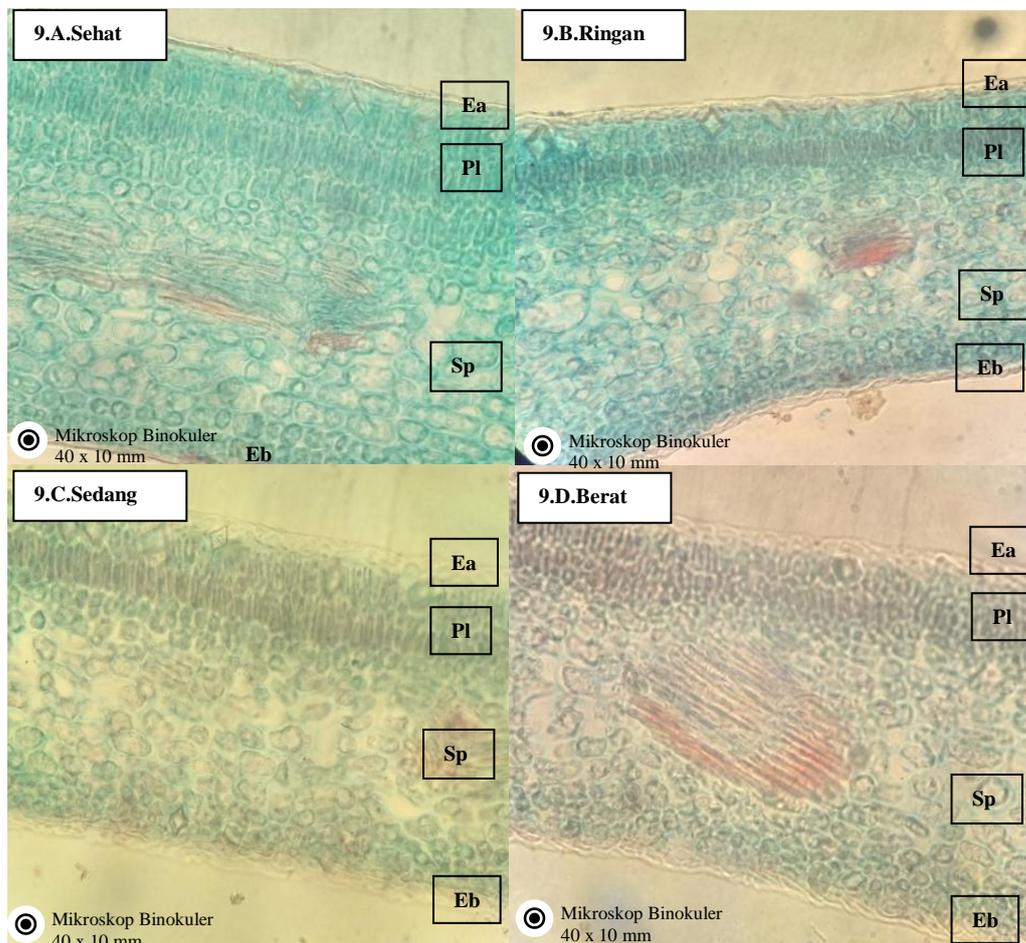


Gambar 8. Sayatan penampang melintang Tulang daun Bagian Jaringan Floem dan Xilem yang terserang CVPD dengan pembesaran 1000x Keterangan : F. Jaringan Floem, K. Jaringan Korteks, X. Jaringan Xilem

Setelah masuk kedalam sel-sel floem tanaman jeruk, bakteri CVPD. *L.asiaticum* akan berkembang biak dengan mengambil mengambil sumber karbon dan nitrogen sebagai makanan dari metabolisme sel-sel floem tanaman jeruk. Masuknya patogen kedalam sel floem menyebabkan terjadinya reaksi tingkat molekul protein virulensinya yang masuk kedalam sel floem. Karena serangan penyakit CVPD, maka menyebabkan tanaman kekurangan unsur Zn, Mn, dan Ca, sehingga ada indikasi yang menunjukkan bahwa infeksi penyakit CVPD pada tanaman jeruk dan mengganggu mekanisme tranport mineral atau ion-ion seperti Zn, Mn, dan Ca kedalam sel-sel floem tanaman jeruk (Wirawan *et., al* 2004).

Pada jaringan floem tanpa gejala, Floem tersusun sejajar pada bagian luar xilem dan tidak mengalami perubahan (Gambar 8.A) sedangkan pada tulang daun bergejala Sedang Floem mengalami perubahan dengan ditandai munculnya ruang-ruang yang tidak beraturan ditengah-tengah floem (Gambar 8.B) Berdasarkan

penelitian Folimonova (2010), perubahan anatomi pertama yang terjadi setelah invasi patogen pada jeruk manis yang terserang CVPD yaitu pembengkakan lamela tengah antara dinding sel di sekitar jaringan tapis. Pembengkakan tersebut menyebabkan pembuluh tapis tertekan, selanjutnya menyebabkan floem menjadi rusak (*nekrosis*). pada tingkatan sedang (Gambar 8.C) floem menjadi tidak beraturan dan atau rusak diduga akibat dari patogen yang menyumbat sel floem dan sel floem tidak dapat mendistribusikan zat-zat makanan hasil fotosintesis dari daun ke bagian tumbuhan yang lain. hal serupa juga terjadi pada floem yang bergejala berat (Gambar 8.D) dan terjadi nekrosis yang parah hal tersebut terjadi karena Kekurangan hara mikro dan masuknya patogen ke dalam sel floem menyebabkan reaksi molekuler antara floem dan patogen Diduga *L. asiaticum*. Menurut Semangun (1989), gejala khas tanaman yang terserang penyakit CVPD adalah degenerasi floem (*nekrosis*).



Gambar 9. sayatan penampang melintang Tulang Daun Bagian Jaringan Palisade dan Spons dengan pembesaran 400x Ea. Jaringan Epidermis atas Pl. Jaringan Palisade Sp. Jaringan Spons Eb. Jaringan Epidermis bawah

Gambar sayatan melintang Tulang daun pada jaringan Mesofil (Gambar 9) bagian tersebut terdiri dari satu lapis sel epidermis atas (*adaksial*) dan epidermis bawah (*abaksial*), Jaringan palisade terdapat pada permukaan atas dan spons pada

permukaan bawah. Berdasarkan hasil pengamatan pada sel epidermis atas (*adaksial*) tanpa gejala (Gambar 9.A) tidak terjadi penebalan dinding sel hal serupa juga tampak pada sel epidermis bawah (*abaksial*), akan tetapi penebalan dinding sel epidermis atas (*adaksial*) dan penebalan dinding sel epidermis bawah (*abaksial*) terjadi pada jaringan mesofil yang bergejala ringan (Gambar 9.B) penebalan dinding sel tampak jelas pada jaringan mesofil bergejala Sedang (Gambar 9.C) dan bergejala berat (Gambar 9.D) Menurut Agrios (1996) Perubahan bentuk jaringan dasar disebabkan oleh enzim yang dikeluarkan oleh bakteri patogen untuk masuk ke dalam sel.

Jaringan palisade berbentuk persegi panjang tersusun rapat dan saling berhubungan antara sel palisade (gambar 9.A) sedangkan pada jaringan spons sehat tersusun rapi, longgar dan tidak terdapat pati pada jaringan mesofil. Daun bergejala ringan, sedang dan berat menunjukkan penebalan pada dinding sel epidermis, bentuk palisade, sel spons tidak beraturan dan serta terjadi akumulasi pati pada mesofil (Gambar (9.B, 9.C, 9.D)).

#### 4. Kesimpulan dan Saran

##### 4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pada Daun Jeruk Siam bergejala CVPD ringan, sedang dan berat terjadi penebalan pada sel epidermis dan tidak terjadi penebalan sel epidermis pada tanaman sehat, sedangkan pada korteks jeruk Siam yang bergejala ringan, terjadi penebalan dinding sel, pada korteks bergejala sedang terjadi kerusakan pada ruang *interaseluler*, pada jaringan korteks bergejala berat ruang *interaseluler* terjadi kerusakan berat dan jaringan korteks menjadi tidak beraturan baik susunan dan bentuknya (*abnormal*) dan terjadi akumulasi pati, sedangkan penebalan dinding sel, kerusakan *interaseluler* dan akumulasi pati tidak ditemukan pada tanaman jaringan jeruk Siam tanpa gejala.
2. Pada Daun tanpa gejala tidak mengalami perubahan pada jaringan floem, sedangkan pada jaringan floem bergejala ringan muncul ruang ditengah-tengah jaringan floem, jaringan floem bergejala sedang, bentuk dan susunan jaringan floem tidak beraturan, hal serupa juga terjadi pada jaringan floem bergejala berat, jaringan floem menjadi tidak beraturan dan kerusakan berat (nekrosis). floem pada semua tingkatan gejala mengalami pembengkakan pada jaringan, sedangkan jaringan floem pada daun jeruk siam tanpa gejala tidak mengalami pembengkakan dan perubahan .
3. Pada sel epidermis atas (*adaksial*) tanpa gejala tidak terjadi penebalan dinding sel hal serupa juga tampak pada sel epidermis bawah (*abaksial*), akan tetapi penebalan dinding sel epidermis atas (*adaksial*) dan penebalan dinding sel epidermis bawah (*abaksial*) terjadi pada jaringan mesofil yang bergejala ringan, penebalan dinding sel tampak jelas pada jaringan mesofil bergejala

Sedang dan bergejala berat. sedangkan pada jaringan spons sehat tersusun rapi, longgar dan tidak terdapat pati pada jaringan mesofil. Daun bergejala ringan, sedang dan berat menunjukkan penebalan pada dinding sel epidermis, bentuk palisade, jaringan spons tidak beraturan dan serta terjadi akumulasi pati pada mesofil.

4. Lahan pertanian jeruk siam di desa Kintamani, Banjar Wanasari terinfeksi penyakit CVPD dengan persentase sebesar 70% dan intensitas serangan CVPD sebesar 46,4%. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan adanya pita DNA 1160 bp pada sampel tulang daun jeruk yang bergejala ringan sedang dan berat. Oleh karena itu sampel tulang daun jeruk siam positif terinfeksi oleh bakteri *liberobacter asiaticum*.

#### 4.2 Saran

Penelitian lebih lanjut sebaiknya tidak hanya menggunakan satu macam tanaman jeruk, melainkan dengan variasi jeruk yang berbeda.

#### Daftar Pustaka

- Agrios, GN, 1996, *Ilmu penyakit tumbuhan*, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Da Graca, J.V. 1991. Citrus greening disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 20: 109 – 36.
- Fan, J. C, Chunxian, AS, Diann, BH, Ron, LG, Zheng, GJ, Fred. 2013. Differential anatomical responses of tolerant and susceptible citrus species to the infection of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', *Physiological and Molecular Plant Pathology* vol.30,hal.1-6, diakses 25 Juli 2016, <http://www.Sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576513000313>
- Folimonova. 2010. Early events of citrus greening (Huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. *Phytopathology.* 100(9):949-58
- Hidayat, EB . 1995. *Anatomi tumbuhan berbiji*, ITB, Bandung
- Putra, GP., Dintya, W. Adi, M. Sritamin. 2013. *Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Terhadap Variasi Gejala Penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) pada Beberapa Jenis Daun Tanaman Jeruk.* Jurnal Agroekoteknologi Tropika Vol. 2, No. 2
- Sarwono, B. 1995. *Jeruk dan Kerabatnya*, PT. Penebar Swadaya, Jakarta
- Semangun, H. 1994. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia.* Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- \_\_\_\_\_, H. 1989, *Penyakit-penyakit tanaman hortikultura di Indonesia*, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta
- Su, HJ dan Huang AL. 1990. *The nature of Likubin Organism, life cycle, morphology, and possible strains.* Proceedings of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. 4-10. Chiangmay (TL). hlm 106-110
- Wijaya, IN. 2003. *Diaphorina citri* KUW (*Homoptera : Psyllidae*) : Bioteknologi dan Peranannya Sebagai Vektor Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) Pada Tanaman Jeruk Siam. [Disertasi] Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Wirawan, I G P, L Sulistyowati dan I Ny Wijaya. 2004. *Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk: Analisis Baru Berbasis Bioteknologi*. Udayana University Press: Denpasar.