

Deteksi *Chrysanthemum B* Carlavirus (CVB) pada Tanaman Krisan di Indonesia

IG. R. M. TEMAJA¹, G. SUASTIKA², SH. HIDAYAT², DAN
U. KARTOSUWONDO²

¹Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80232

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga Bogor

ABSTRACT

Detection of *Chrysanthemum B* Carlavirus (CVB) on *Chrysanthemum* in Indonesia

In a survey of chrysanthemum growing fields and greenhouses in Brastagi, Sumatera Utara; Cianjur, Jawa Barat; Malang, Jawa Timur; and Tabanan and Buleleng, Bali, some chrysanthemum cultivars were found showing mild leaf mottling, vein-clearing or vein banding of leaves and slight loss of flower quality. Out of 287 samples surveyed, the disease incidence ranged between 7.50% and 67.44%. Through DAS-ELISA, the saps extracted from diseased plant samples, 34.84% were found to be positively reacted with serum anti-CVB, but not with sera anti- CMV, -TSWV, -PVY and -TMV. The virus isolate was then designed as CVB Indonesian isolate. The virus was sap-transmissible to narrow host range. The virus induced systemic symptom on *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. tabacum* var. Burley, *N. tabacum* var. Havana; local necrotic lesion on *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* and both local and systemic symptom on *Petunia hybrida*.

Keywords: *Chrysanthemum B carlavirus (CVB) Indonesian isolate, chrysanthemum, host range*

PENDAHULUAN

Chrysanthemum virus B (CVB) merupakan salah satu agens utama penyebab penyakit virus pada tanaman krisan menyebabkan berbagai manifestasi gejala pada tanaman krisan. *Motling* daun atau *vein-clearing* yang sangat *mild* adalah gejala yang paling umum (Hollings, 1957; Hollings & Stones, 1972; Moran, 1987). Beberapa varietas terinfeksi menunjukkan penurunan kualitas bunga dibandingkan dengan tanaman yang bebas virus. Penurunan kualitas bunga terutama karena pada tanaman terinfeksi warna mahkota bunga terputus-putus (*flower breaks*), mengalami distorsi dan kerdil. Kadang-kadang pada krisan terinfeksi CVB berkembang *necrotic streaks* coklat pada floret, dan sering kali tanaman terinfeksi tidak menunjukkan gejala (*symptomless*). Survei Verma *et al.* (2003) di Himachal Pradesh (India) menemukan bahwa tanaman krisan diserang CVB menunjukkan gejala *vein banding*, *mosaic*, *mottling*, dan *vein clearing* yang lemah. Pada tanaman dengan daun menunjukkan

gejala *mosaic* yang keras, bunganya juga mengalami malformasi. Sedangkan pengamatan Suastika *et al.* (1997) pada tanaman *Gymnaster savatieri* menemukan CVB menyebabkan gejala *mild mottle* pada daun dan *colour breaking* pada bunga.

CVB dapat ditularkan melalui inokulasi mekanik dan *grafting*, di lapang virus ini dapat ditularkan secara non persisten oleh kutudaun *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aulacorthum solani*, *Coloradoa rufomaculata* dan *Macrosiphoniella sanborni* (Suastika *et al.* 1997; Moran, 1987; Hollings & Stones, 1972). Sedangkan penyebaran jarak jauh CVB terutama terjadi melalui bahan perbanyakan vegetatif tanaman. Di sentra pertanaman krisan di Sumatera Utara, Jawa Barat, Jawa Timur dan Bali ditemukan gejala penyakit *mild motling* dan *vein-clearing* pada daun, mirip gejala yang disebabkan oleh infeksi CVB. Penyakit ini diduga disebabkan oleh virus. Di Indonesia, belum ada dilaporkan infeksi CVB pada tanaman krisan.

Oleh karena itu penelitian mengenai status penyakit di lapangan; identifikasi virus penyebab penyakit melalui pengujian sifat-sifat biologi; serta deteksi dan indentifikasi virus melalui kajian serologi sangat penting dilakukan dalam usaha menemukan pengendalian CVB pada tanaman krisan.

BAHAN DAN METODE

Pengamatan gejala dan kejadian penyakit

Pengamatan gejala infeksi dilakukan pada areal pertanaman krisan di Kabupaten Brastagi (Sumatera Utara); Cibadak dan Cipanas Kabupaten Cianjur, Jawa Barat; Kota Batu dan Pujon Kabupaten Malang, Jawa Timur; dan Baturiti Kabupaten Tabanan dan Pancasari Kabupaten Buleleng, Bali. Pengamatan dilakukan pada bagian daun dan bunga. Pada saat yang bersamaan dilakukan penghitungan kejadian penyakit melalui pengambilan sampel secara acak minimal 10% dari populasi tanaman.

Deteksi melalui enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Sampel tanaman diuji dengan metode *double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay* (DAS-ELISA) atau *indirect enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA) mengikuti prosedur produsen, menggunakan antiserum CVB, CMV, TSWV, PVY dan TMV berdasarkan metode Clark & Adams (1977). Pengamatan secara kuantitatif dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm. Kontrol negatif yang digunakan adalah tanaman sehat dan bufer. Sampel yang terinfeksi hanya oleh CVB selanjutnya disimpan dan ditularkan ke tanaman *N. benthamiana* untuk perbanyakan isolat virus.

Penularan ke tanaman indikator

Bibit tanaman uji berasal dari biji sehat, ditanam dalam *polybag* berisi tanah steril yang mengandung humus (dengan perbandingan 4:1). Tanaman yang diuji adalah dari famili (1) Solanaceae yaitu tomat (*Lycopersicon esculentum*), kecubung (*Datura stramonium*), cabai

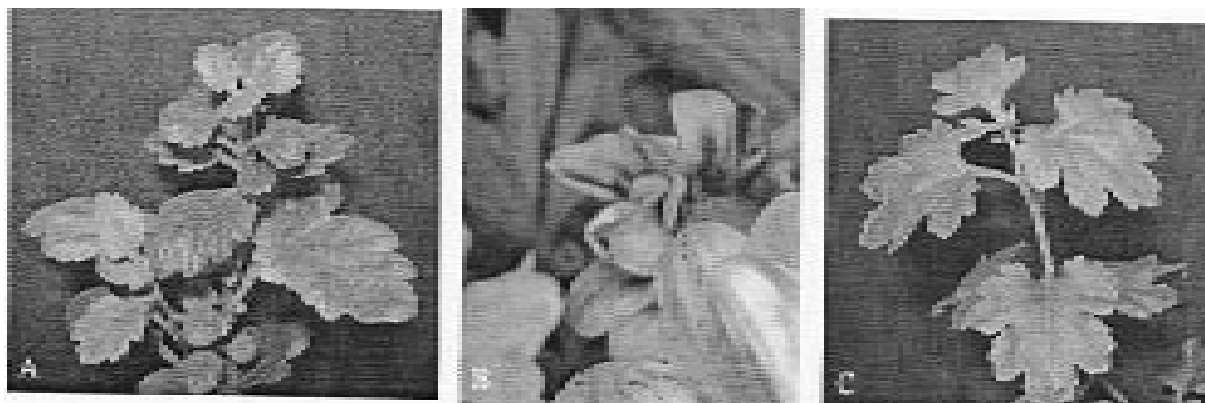
rawit (*Capsicum frutescens*), cabai besar (*C. annuum*), terong (*Solanum melongena*), *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* var. Burley, *N. tabacum* var. Xanthi, *N. tabacum* var. Havana, dan *Petunia hybrida*; (2) Leguminosae yaitu kedelai (*Glycine max*), kacang panjang (*Vigna unguiculata*), kacang hijau (*V. radiatus*), dan kacang tanah (*Arachis hypogaea*); (3) Cucurbitaceae yaitu mentimun (*Cucumis sativus*), melon (*C. melo*), semangka (*Citrulus radiatus*), dan labu (*Cucurbita moschata*); (4) Chenopodiaceae yaitu *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*; (5) Cruciferae yaitu kubis (*Brassica oleracea*), sawi hijau (*B. juncea*), dan Caisin (*B. campestris*); dan (6) Amaranthaceae yaitu *Gomphrena globosa*.

Pengujian respon tanaman indikator dilakukan dengan inokulasi secara mekanis. Daun tanaman *N. benthamiana* yang terinfeksi CVB digerus dalam mortar dan pistil steril ditambahkan larutan bufer fosfat 0,01 M, pH 7,0 (1:5 b/v). Cairan perasan inokulum ini segera diinokulasikan dengan mengoleskan ke bagian daun atau kotiledon tanaman uji. Sebelum diinokulasi, jaringan permukaan tanaman dilukai dengan karborundum 600 mesh. Masing-masing tanaman uji terdiri atas 10 ulangan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama dua bulan, meliputi gejala dan variasi gejala yang timbul. Persentase kejadian penyakit ditentukan berdasarkan hasil deteksi dengan ELISA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala CVB pada tanaman krisan dan kejadian penyakit

Berdasarkan hasil pengamatan dari berbagai lokasi di daerah pertanaman krisan di Brastagi, Cibadak, Cipanas, Kota Batu, Pujon, Baturiti dan Pancasari ditemukan gejala yang mirip dengan infeksi CVB yaitu gejala *mild mottle*, *mild mosaic*, *vein-clearing* dan *vein-banding* pada daun, dan terjadi malformasi daun yaitu ukuran daun kecil, tebal dan menggulung ke atas. Pada bunga menunjukkan gejala *color breaking* (Gambar 1)



Gambar 1. Gejala infeksi CVB pada tanaman krisan: *mild mosaic* dan malformasi pada daun (A), dan *color breaking* pada bunga (B), dibandingkan dengan tanaman sehat (C)

Hasil survei lapang menunjukkan CVB ditemukan pada lima lokasi dari tujuh lokasi survei, dengan populasi kejadian penyakit berbeda-beda untuk masing-masing tempat (Tabel 1). Hal ini menunjukkan telah terjadi infeksi CVB cukup luas, yang sebelumnya belum pernah dilaporkan adanya infeksi CVB pada tanaman krisan di Indonesia. Tidak ditemukan infeksi CVB pada lokasi survei di Pujon dan Baturiti, walaupun hasil pengamatan ditemukan gejala yang mirip akibat infeksi CVB yaitu *mild mosaic*, *mild mottle* dan *malformation* daun. Hasil uji ELISA menunjukkan adanya infeksi *cucumber mosaic virus* (CMV) pada beberapa sampel dari kedua daerah tersebut (Tabel 2). Telah dilaporkan bahwa selain CVB, krisan juga dapat diinfeksi oleh *Tomato aspermy*

dan *Cucumber mosaic cucumovirus*; *Tomato spotted wilt tospovirus* (Bouween & Zaayen, 1995); *Turnip mosaic potyvirus* (Chen *et al.*, 2000); dan *Tobacco mosaic tobamovirus*, *Potato Y potyvirus*, dan *Potato X potexvirus* (Navalinskiene & Samuitiene, 1996). Di samping virus, budidaya krisan juga menghadapi kendala serangan viroid yaitu *chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) yang menyebabkan berbagai gejala seperti pertumbuhan tanaman menjadi terhambat (*stunting*), daun berukuran kecil (*malformation*) dan berwarna hijau pucat (Diener & Lawson, 1973; Randles, 2004).

Tabel 1. Kejadian penyakit oleh CVB pada sentra produksi krisan di Indonesia

No.	Lokasi	Kejadian Penyakit ¹	Gejala ²	Varietas
	 %		
1	Sumatera Utara			
	a. Brastagi	62.22	vb, ma, cb	Fuji white
2	Jawa Barat			
	a. Cibadak, Cianjur	7.50	mmo, ma	Pingpong
	b. Cipanas, Cianjur	67.44	vc, ma, cb	Stalion yellow
3	Jawa Timur			
	a. Kota Batu, Malang	43.18	vb, mm, ma, cb	Lilac Elionora
	b. Pujon, Malang	0	mm, mmo	Puma Sunny
4	Bali			
	a. Baturiti, Tabanan	0	mm, ma	Pingpong
	b. Pancasari, Buleleng	52.50	mm, vb, ma, cb	Lilac Elionora

¹Kejadian Penyakit ditentukan berdasarkan hasil deteksi dengan ELISA

²vc: *vein clearing*

vb: *vein banding*

mmo: *mild mottle*

cb: *color breaking*

ma: *malformation*

mm: *mild mosaic*

Hasil uji ELISA pada 287 sampel bergejala yang dikumpulkan dari tujuh lokasi survei menunjukkan bahwa sebanyak 34.84% terinfeksi oleh CVB. Kejadian penyakit pada masing-masing lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 1. Kejadian penyakit CVB berasal dari lokasi pengambilan sampel Cipanas (67.44%) dan Brastagi (62.22%), sedangkan di Pujon dan Pancasari tidak ditemukan CVB. Tampaknya proporsi kejadian penyakit atau tingkat serangan virus ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya cara bercocok tanam dan tanaman inang yaitu varietas krisan yang rentan. Teknik bercocok tanam krisan sangat membantu penyebaran CVB yang bersifat sistemik. Pembibitan dengan stek pucuk, pemangkasan pucuk pada saat pembibitan, pembuangan mata tunas dan penyiangan merupakan kegiatan yang sering mengakibatkan berpindahnya virus dari satu tanaman ke tanaman lain. Hull (2002) menyatakan bahwa praktek bertani melalui perbanyakan dengan stek dan umbi menyebabkan virus yang sistemik mudah ditularkan dan disebarkan ke tempat lain yang jauh. Pada umumnya varietas krisan yang diusahakan, rentan terhadap infeksi CVB. Penelitian Verma *et al.* (2003) menemukan dari 36 varietas krisan yang diuji, hanya tujuh yang ditemukan negatif terhadap CVB.

Reaksi virus terhadap berbagai antiserum

Uji serologi dengan metode DAS-ELISA untuk antiserum CVB, TSWV dan CMV; dan I-ELISA untuk antiserum PVY dan TMV dilakukan untuk mengetahui

reaksi virus terhadap berbagai antiserum. Sampel dari Brastagi, Cibadak, Cipanas, Kota Batu dan Pancasari menunjukkan reaksi positif terhadap antiserum CVB. Uji serologi ini menemukan bahwa ternyata isolat-isolat tersebut diinfeksi oleh CVB secara tunggal (Tabel 2). Sampel dari Pujon dan Baturiti tidak menunjukkan reaksi positif terhadap antiserum CVB, tetapi beberapa sampel positif terhadap antiserum CMV.

Sampel-sampel pada penelitian ini menunjukkan nilai absorbansi yang bervariasi pada panjang gelombang 405 nm. Sampel yang menunjukkan reaksi positif terinfeksi CVB mempunyai nilai absorbansi rata-rata tujuh kali kontrol negatif. Verma *et al.* (2003) menandai nilai absorbansi tiga kali nilai kontrol negatif pada ELISA reader sebagai adanya infeksi CVB. Nilai ELISA reader yang sebanding dengan kontrol positif, setengah dari kontrol positif dan sekitar tiga kali kontrol negatif, masing-masing dikategorikan sebagai reaksi kuat, sedang dan lemah.

Respon tanaman indikator terhadap infeksi CVB

CVB yang diisolasi dari tanaman krisan di Cipanas, Cianjur, Jawa Barat menginfeksi hanya lima spesies tanaman dari famili solanaceae dan dua spesies chenopodiaceae, tetapi tidak menginfeksi 19 spesies lain dari famili leguminosae, cucurbitaceae, cruciferae dan amaranthaceae, seperti ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Respon berbagai tanaman indikator terhadap infeksi CVB isolat Cipanas

Tabel 2. Nilai absorbansi (405 nm) sampel pada reaksi ELISA dengan menggunakan beberapa antiserum

Lokasi	No. sampel	Antiserum				
		CVB	TSWV	CMV	PVY	TMV
Brastagi	1	0.983	0.143	0.128	0.197	0.223
	2	1.046	0.132	0.134	0.186	0.216
	3	1.008	0.128	0.146	0.199	0.195
	4	0.136	0.133	0.139	0.194	0.197
	5	0.987	0.141	0.138	0.186	0.206
Cibadak	1	0.147	0.128	0.139	0.211	0.217
	2	0.924	0.144	0.141	0.198	0.209
	3	0.899	0.126	0.138	0.197	0.196
	4	0.151	0.139	0.137	0.183	0.219
	5	0.133	0.131	0.143	0.192	0.190
Cipanas	1	1.099	0.122	0.142	0.189	0.197
	2	0.975	0.140	0.152	0.194	0.196
	3	0.982	0.126	0.156	0.185	0.214
	4	0.979	0.134	0.134	0.209	0.190
	5	1.085	0.125	0.148	0.198	0.214
Kota Batu	1	0.993	0.140	0.137	0.192	0.203
	2	0.945	0.130	0.144	0.180	0.198
	3	0.142	0.125	0.146	0.186	0.214
	4	0.957	0.142	0.149	0.194	0.226
	5	0.154	0.126	0.151	0.195	0.199
Pujon	1	0.152	0.134	0.141	0.210	0.210
	2	0.147	0.138	0.398	0.195	0.195
	3	0.131	0.126	0.427	0.192	0.186
	4	0.149	0.129	0.146	0.186	0.212
	5	0.150	0.144	0.139	0.214	0.194
Baturiti	1	0.162	0.126	0.356	0.199	0.197
	2	0.146	0.123	0.134	0.216	0.213
	3	0.149	0.141	0.308	0.185	0.189
	4	0.139	0.138	0.297	0.197	0.190
	5	0.141	0.137	0.143	0.186	0.192
Pancasari	1	0.973	0.127	0.144	0.221	0.215
	2	0.152	0.135	0.139	0.184	0.186
	3	0.138	0.125	0.145	0.196	0.214
	4	0.992	0.128	0.140	0.199	0.191
	5	0.927	0.130	0.150	0.211	0.211
Kontrol negatif (tanaman sehat)		0.142	0.125	0.140	0.189	0.199

Famili dan spesies tanaman	Kejadian penyakit %	Variasi gejala ¹
Solanaceae		
Tomat (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	-	-
Kecubung (<i>Datura stramonium</i>)	-	-
Cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i>)	-	-
Cabai besar (<i>C. annuum</i>)	-	-
Terong (<i>Solanum melongena</i>)	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	100	vc, mmo
<i>N. clevelandii</i>	100	mmo, ma
<i>N. glutinosa</i>	-	-
<i>N. tabacum</i> var. Burley	60	vc
<i>N. tabacum</i> var. Xanthi	-	-
<i>N. tabacum</i> var. Havana	100	vc, mmo
<i>Petunia hybrida</i>	100	ll, vb
Leguminosae		
Kedelai (<i>Glycine max</i>)	-	-
Kacang panjang (<i>Vigna unguiculata</i>)	-	-
Kacang hijau (<i>V. radiatus</i>)	-	-
Kacang tanah (<i>Arachis hypogaea</i>)	-	-
Cucurbitaceae		
Mentimun (<i>Cucumis sativus</i>)	-	-
Semangka (<i>Citrulus radiatus</i>)	-	-
Labu (<i>Cucurbita moschata</i>)	-	-
Melon (<i>Cucumis melo</i>)	-	-
Chenopodiaceae		
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	100	ll
<i>C. quinoa</i>	100	ll
Cruciferae		
Kubis (<i>Brassica oleracea</i>)	-	-
Sawi hijau (<i>B. juncea</i>)	-	-
Caisin (<i>B. campestris</i>)	-	-
Amaranthaceae		
<i>Gomphrena globosa</i>	-	-

¹vc: vein clearing mmo: mild mottle vb: vein banding ll: local lesion ma: malformation

Gejala lesio lokal klorotik atau nekrotik tanpa gejala sistemik ditemukan pada tanaman *C. amaranticolor* dan *C. quinoa*, sedangkan lesio lokal disertai gejala sistemik (*vein banding*) ditemukan pada tanaman *P. hybrida*.

Gejala infeksi sistemik tanpa menunjukkan gejala lokal terjadi pada tanaman *N. benthamiana* dan *N. tabacum* var. Havana yang menunjukkan gejala *vein clearing* dan *mild mottle*; pada tanaman *N. clevelandii* menunjukkan gejala *mild mottle* dan *malformation*; dan pada tanaman *N. tabacum* var. Burley menunjukkan gejala *vein clearing*.

Hasil penelitian Verma *et al.* (2003) juga menemukan kisaran inang CVB yang sempit, yaitu virus ini hanya menginfeksi 5 spesies (*N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *P. hybrida* dan *Vicia faba*) dari 22 spesies tanaman yang diuji. Sedangkan penelitian Suastika *et al.* (1997) menemukan bahwa dari 24 spesies tanaman yang diuji, CVB mampu menginfeksi tanaman *G. savatieri*, *N. clevelandii*, *N. benthamiana*, *N. occidentalis*, *P. hybrida*, *Helichrysum bracteatum*, *Zinnia elegans*, *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *Sesamum indicum* dan *Tetragonia expansa*.

KESIMPULAN

Melalui uji serologi dan respon tanaman indikator, terdeteksi adanya infeksi CVB pada tanaman krisan yang menunjukkan gejala *mild mottle*, *mild mosaic*, *vein-clearing* dan *vein-banding* pada daun, dan *color breaking* pada bunga.

DAFTAR PUSTAKA

- Bouwen, L. & A.V. Zaayen. 1995. Chrysanthemum. *In*: Loebenstein, G., R.H. Lawson, A.A. Brunt. (Eds.), *Virus and Virus-like Diseases of bulb and flower crops*. John Wiley, Chichester, UK. pp. 396 – 408.
- Chen, T.M, M.J. Chen, & S.D. Yeh. 2000. Characterization of the coat protein *gene* of a turnip mosaic virus isolates infecting garland chrysanthemum. *Plant Prot. Bull. Taipei*. 42: 83 – 96.
- Clark, M.F. & A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Virol. Methods*. 34: 475 – 483.
- Diener, T.O. & R.H. Lawson. 1973. Chrysanthemum stunt: a viroid disease. *Virology* 51: 94 – 101.
- Hollings, M. 1957. Investigation of chrysanthemum viruses. II. Virus B (mild mosaic) and chrysanthemum latent virus. *Ann. Appl. Biol.* 45: 589 – 602.
- Hollings, M. & O.M. Stone. 1972. Chrysanthemum virus B. CMI/AAB Description of Plant Viruses No. 110.
- Hull, R. 2002. *Matthews' Plant Virology*. Fourth Ed. San Diego. Academic Press.
- Moran, J.R. 1987. Chrysanthemum B carlavirus. Cite this publication as: Brunt, A.A., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, L. Watson, and E.J. Zurcher. (eds) (1996 onwards). 'Plant Viruses Online Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996'.
- Navalinskiene, M. & M. Samuitiene. 1996. Viral diseases of flower plants. 9. Results of identification of viruses affecting chrysanthemums. *Biologija*. 4: 66 – 74.
- Randles. 2004. Economic impact of viroid diseases. *In*: Hadidi, A., R. Flores, J.W. Randles, and J.S. Semanick (Eds.), *Viroids*. CSIRO, Collingwood, Australia, pp. 3 – 11.
- Suastika G, J. Kurihara, K.T. Natsuaki, & K. Tomaru. 1997. A strain of Chrysanthemum B carlavirus causing flower colour breaking on *Gymnaster savatieri* (Makino) Kitamura. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*. 63:1 – 7.
- Verma N, A. Sharma, R. Ram, V. Hallan, A.A. Zaidi, & I.D. Garg. 2003. Detection, identification and incidence of *Chrysanthemum B carlavirus* in chrysanthemum in India. *Crop Protect.* 22: 415 – 429.