

## **Uji Efikasi Teknik Kultur Meristem dan Kemoterapi untuk Eliminasi *Sugarcane Streak Mosaic Virus (SCSMV)* pada Tebu** *Efficacy of Meristem Culture and Chemotherapy for Elimination of Sugarcane Streak Mosaic Virus (SCSMV) on Sugarcane*

**Ika Roostika<sup>1)</sup>, Sedyo Harsono<sup>2)</sup>, Darda Efendi<sup>3)</sup>, Deden Sukmadjaja<sup>1)</sup>,  
dan Cece Suhara<sup>4)</sup>**

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian<sup>1)</sup>

Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta<sup>2)</sup>

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor<sup>3)</sup>

Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat<sup>4)</sup>

E-mail: ikatambunan@yahoo.com

Diterima: 6 Januari 2016; direvisi: 15 Juli 2016; disetujui: 3 Agustus 2016

### **ABSTRAK**

Penggunaan benih bebas virus merupakan salah satu cara pengendalian penyakit virus. Jaringan tanaman dapat dibebaskan dari virus melalui aplikasi teknik eliminasi virus, seperti termoterapi, kemoterapi, kultur meristem, dan krioterapi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji respon varietas tebu terhadap perlakuan teknik kultur meristem dan kemoterapi dengan bahan antiviral, serta untuk mengetahui efektivitasnya dalam mengeliminasi virus *sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV) pada tebu. Penelitian ini dilakukan pada April–November 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian dan Laboratorium Virologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Penelitian terdiri atas tiga tahap, yaitu 1) Deteksi virus dari tanaman induk, 2) Aplikasi teknik kultur meristem dan kemoterapi, serta 3) Indeksing virus. Bahan tanaman yang digunakan adalah sebelas varietas tebu (GMP3, PS865, dan Kentung asal Bogor, PS862 dan Cening asal Cirebon, PS881 asal Jember, PSJK922 asal Malang, serta PS864, PS881, PSJK922, PSJT941 asal Pati). Deteksi virus dilakukan secara RT-PCR dengan primer universal MJ dan primer spesifik SCSMV. Bahan antiviral yang digunakan untuk kemoterapi adalah Ribavirin (0 dan 25 µg/l). Hasil uji RT-PCR menggunakan primer universal MJ menunjukkan bahwa empat varietas (GMP3 asal Bogor, PS864 dan PSJT941 asal Pati, serta Cening asal Cirebon) terinfeksi oleh *Potyvirus*. Empat varietas lainnya (PS862 asal Cirebon, PS881 asal Jember, PSJK922 asal Malang, dan Kentung asal Bogor) terbukti terserang virus SCSMV berdasarkan uji RT-PCR dengan primer spesifik. Seluruh meristem mampu beregenerasi membentuk tunas. Penggunaan Ribavirin 25 µg/l tidak menyebabkan penurunan daya tumbuh meristem (50–100%), bahkan seluruh varietas mampu bermultiplikasi tunasnya dibandingkan dengan kontrol yang hanya memiliki daya tumbuh 0–100%, dan tidak semua varietas mampu bermultiplikasi tunasnya. Secara tunggal, aplikasi teknik kultur meristem tidak mampu mengeliminasi virus SCSMV, namun jika dikombinasikan dengan perlakuan kemoterapi maka virus SCSMV dapat tereliminasi dengan efikasi sebesar 44,4%.

Kata kunci: Tebu, Ribavirin, *Potyvirus*, SCSMV, RT-PCR

### **ABSTRACT**

The use of virus-free seedling is an option for controlling viral disease that can be obtained through the application of viral elimination method. Plant tissues can be eliminated from virus infection by applying virus thermotherapy, chemotherapy, meristem culture, and cryotherapy. The research objectives were to examine the response of sugarcane varieties to meristem culture treatments and antiviral agent and also to determine the efficacy rate of both techniques in eliminating SCSMV disease. The study was conducted at Tissue Culture Laboratory, Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development, and also at Virology Laboratory, Faculty of Agriculture, Gadjah Mada University. This study consisted of three activities: 1) Virus detection of the mother plants, 2) Application of meristem culture and

chemotherapy, and 3) Virus indexing. The plant material used was eleven varieties of sugarcane (GMP3, PS865, and Kentung from Bogor, PS862 and Cening from Cirebon, PS881 from Jember, Malang PSJK922 origin, as well as the PS864, PS881, PSJK922, PSJT941 from Pati). Virus detection was performed by RT-PCR assay with universal primer of MJ and specific primers of SCSMV. Antiviral used for chemotherapy was Ribavirin (0 and 25 µg/l). The result of RT-PCR using universal primers MJ showed that four varieties (GMP3 from Bogor, PS864 and PSJT941 from Pati, and Cening from Cirebon) were infected by Potyvirus. Based on RT-PCR assay with specific primer, four other varieties (PS862 from Cirebon, PS881 from Jember, PSJK922 from Malang, and Kentung from Bogor) were infected by SCSMV. All of meristems were able to regenerate to form shoots. The use of Ribavirin (25µg/l) did not decrease the growth rate of meristems and the shoots of all of the varieties could be multiplied compared to control where the shoots could not be multiplied in all varieties. The application of meristem culture technique was not able to eliminate the SCSMV, but when it was combined with chemotherapy treatment, the SCSMV virus could be eliminated with the efficacy rate of 44.4%.

Keywords: Sugarcane, Ribavirin, Potyvirus, SCSMV, RT-PCR

## PENDAHULUAN

Penyakit mosaik merupakan salah satu penyakit penting pada pertanaman tebu di Jawa (Kristini *et al.* 2008), yang disebabkan oleh virus *sugarcane mosaic virus* (SCMV) dan *sugarcane streak mosaic virus* SCSMV. Dilaporkan bahwa virus SCSMV ditemukan di pertanaman tebu milik semua pabrik gula dengan tingkat serangan hingga 62,2% dan menyerang hampir semua varietas tebu komersial (Putra & Damayanti 2009). Infeksi virus mosaik menyebabkan terhambatnya pertumbuhan batang sehingga tanaman mengalami penurunan produksi 20–30% (Bailey 2004). Pada tebu varietas PS864, penyakit virus mosaik dapat menurunkan potensi hasil hingga 22% (Asnawi 2009).

Tanaman tebu merupakan tanaman yang diperbanyak secara vegetatif sehingga virus semakin terakumulasi dengan bertambahnya jumlah *ratoon* dan siklus penanaman. Kegiatan *ratoon* dapat memperparah penyakit tersebut dan berisiko pada penurunan rendemen gula 10–20% (Putra & Damayanti 2009). Hu *et al.* (2012) menyarankan untuk menggunakan benih bebas virus sebagai cara untuk mengendalikan patogen virus tersebut. Beberapa metode yang dapat diterapkan untuk mengeliminasi virus adalah termoterapi, kemoterapi, kultur apeks, dan kultur meristem.

Kultur meristem merupakan metode yang umum digunakan dalam mengeliminasi virus, namun memiliki daya regenerasi yang

rendah (Wang & Valkonen 2012; Ramgareeb *et al.* 2010; Alam *et al.* 2010; Retheesh & Bhat 2010). Jenis virus tertentu juga sulit dieliminasi sehingga memerlukan kombinasi perlakuan tertentu (Wang & Valkonen 2012). Torres *et al.* (2000) melaporkan bahwa perlakuan termoterapi atau kultur meristem yang diaplikasikan secara tunggal tidak dapat mengeliminasi virus pada bawang putih, namun ketika kedua perlakuan tersebut dikombinasikan maka eliminasi virus dapat terjadi. Eliminasi virus juga terjadi pada kentang yang diberi kombinasi perlakuan termoterapi dan kultur meristem (Ali *et al.* 2013).

Dilaporkan, teknik kultur meristem dan kemoterapi memiliki tingkat efikasi yang bervariasi, tergantung pada tanaman dan virus patogen yang menyerang. Al-Thaleb *et al.* (2011) berhasil mengeliminasi *potato virus Y* (PVY) pada kentang dengan teknik kultur meristem dengan tingkat keberhasilan 100%, sedangkan Alam *et al.* (2010) berhasil menerapkan teknik kultur meristem pada ubijalar untuk mengeliminasi *sweetpotato feathery mottle virus* (SPFMV) dengan tingkat efikasi mencapai 97%. Kemoterapi dilaporkan berhasil mengeliminasi sembilan famili atau genus virus pada berbagai jaringan tanaman herba-seus dan tanaman keras, yaitu famili Closteroviridae, Comoviridae, Potyviridae, Geminiviridae, Secoviridae, Flexiviridae, Bromoviridae, dan Tobamovirus dengan tingkat efikasi 81,1–98,1%. Bahan antiviral yang umum

digunakan adalah Ribavirin (Panattoni *et al.* 2013).

Keberhasilan teknik kultur meristem ditentukan oleh kecilnya ukuran eksplan yang diisolasi, jenis tanaman, dan jenis virus. Ukuran eksplan yang terlalu kecil menyebabkan kendala teknis dalam proses regenerasi jaringan menjadi tanaman utuh atau planlet (Wang & Valkonen 2012). Kendala teknis tersebut dapat diatasi dengan menggunakan senyawa antioksidan, seperti *polyvinyl-pyrrolidone* (PVP) dan *diethyldithiocarbamic acid* (DIECA) yang ditambahkan dalam media tumbuh. Roostika *et al.* (2015) menyarankan menggunakan PVP 300 mg/l untuk menekan pencokelatan eksplan meristem tebu sehingga proses regenerasinya dapat terpacu. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji tingkat efektivitas teknik kultur meristem dan kemoterapi dengan bahan antiviral Ribavirin dalam mengeliminasi virus SCSMV pada sebelas varietas tebu.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan mulai bulan April hingga November 2015 di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor dan Laboratorium Virologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian ini terdiri atas tiga tahapan, yaitu 1) Deteksi virus dari tanaman induk, 2) Aplikasi teknik kultur meristem dan kemoterapi, serta 3) Indeksi virus dari regenerasi hasil perlakuan kultur meristem dan kemoterapi. Bahan tanaman yang digunakan adalah sebelas varietas tebu, yaitu

GMP3, PS865, dan Kentung asal Bogor (GMP3-Bgr, PS865-Bgr, dan Kentung-Bgr), PS862 dan Cening asal Cirebon (PS862-Crb dan Cening-Crb), PS881 asal Jember (PS881-Jbr), PSJK922 asal Malang (PSJK922-Mlg), serta PS864, PS881, PSJK922, PSJT941 asal Pati (PS864-Pati, PS881-Pati, PSJK922-Pati, dan PSJT941-Pati). Kegiatan kultur jaringan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, BB Biogen, Bogor. Kegiatan deteksi virus dilakukan di Laboratorium Virologi, FP-UGM, Yogyakarta.

### Deteksi Virus dari Tanaman Induk

Bahan tanaman yang digunakan adalah tanaman tebu di rumah kaca. Sampel daun muda diambil secara *bulk* dari masing-masing varietas. Deteksi virus dilakukan secara *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* RT-PCR menggunakan primer universal MJ1 dan MJ2 dengan target *Core Coat Protein* (Marie-Jeanne *et al.* 2000; Babu *et al.* 2012) untuk mengetahui apakah terdapat infeksi oleh virus mosaik atau genus *Potyvirus*. Secara spesifik, deteksi virus dilakukan menggunakan primer spesifik SCSMV dengan target gen *Coat Protein* (Hema *et al.* 2003; Damayanti & Putra 2011) untuk membuktikan bahwa infeksi tersebut disebabkan oleh virus SCSMV. Adapun sekuens primer secara lengkap disajikan pada Tabel 1.

Isolasi RNA total dari sampel planlet tebu dilakukan dengan menggunakan *RNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen) dan *RNA Extraction Kit* (GenAid) mengikuti petunjuk dari pabrikan. RNA hasil ekstraksi kemudian digunakan sebagai *template* untuk membentuk DNA komplementer (cDNA) menggunakan *RevertAid cDNA Synthesis Kit* (Thermo Scientific). DNA komple-

Tabel 1. Jenis primer yang digunakan untuk deteksi virus mosaik tanaman tebu

No.	Jenis primer	Sekuen primer (5'-3')	Posisi	Ukuran (bp)	Referensi
1.	MJ1 MJ2	TGGTHTGGTGYATHGARAAYGG TGCTGCKGCGYTTTCATYTG	<i>Coat protein</i>	327	Marie-Jeanne <i>et al.</i> (2000); Babu <i>et al.</i> (2012)
2.	SCSMV cpF SCSMV-AP3	GTGGGTTTCAGTTCTCGGTTTC TTTTTCTCCTCACGGGGCAGGTTGATTG	<i>Coat protein</i>	500	Hema <i>et al.</i> (2003); Damayanti & Putra (2011)

menter yang terbentuk selanjutnya digunakan sebagai template untuk PCR menggunakan *Go Taq Green PCR Kit* (KAPA) dan Ready to Go PCR kit (GE Healthcare) dengan primer universal MJ1 dan MJ2 serta primer spesifik SCSMV (Tabel 1). Campuran cDNA dan primer didenaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, kemudian reaksi dilanjutkan dengan 35 siklus pada 94°C–30 detik, 45–53°C–5 detik, dan 74°C–30 detik dengan tahapan akhir berupa perpanjangan untai DNA pada 74°C selama 5 menit. Hasil PCR divisualisasi pada gel agarosa dan dielektroforesis di dalam buffer trisboric acide-EDTA (TBE). Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan pengecatan etidium bromida dan didokumentasi dengan difoto di atas Geldoc.

### **Aplikasi Teknik Kultur Meristem dan Kemoterapi**

Tunas dari lapang disterilisasi dengan menggunakan alkohol 70% dan NaOCl, kemudian meristem diisolasi di bawah mikroskop. Pertama kali, tunas dibuang pelepahnya satu-persatu secara hati-hati, dan disisakan bagian *dome* atau struktur kubah dan satu primordia daun. Eksplan ditanam pada media regenerasi, yaitu media MS yang mengandung *benzyl adenine* (BA) 0,3 mg/l, *indole butyric acid* (IBA) 0,5 mg/l, *polyvinylpyrrolidone* (PVP) 300 mg/l dan ditambah dengan bahan antiviral Ribavirin (0 dan 25 µg/l) sesuai penelitian Wati (2014). Eksplan diinkubasi selama 40 hari pada ruang kultur dengan suhu 25°C, pencahayaan 1000 lux, dan fotoperiodisitas 16 jam. Setelah itu, biakan disubkultur pada media regenerasi yang tidak mengandung Ribavirin untuk pemulihan dan proliferasi tunas. Peubah yang diamati adalah jumlah eksplan yang mengalami pencokelatan, jumlah eksplan yang tumbuh, jumlah tunas dan jumlah daun yang terbentuk. Tunas-tunas yang terbentuk kemudi-

an digunakan sebagai sampel untuk kegiatan indeksing virus SCSMV.

### **Indeksing Virus dari Regeneran Hasil Perlakuan Kultur Meristem dan Kemoterapi**

Bahan tanaman yang digunakan tiga varietas tebu yang telah terbukti terinfeksi virus SCSMV berdasarkan uji RT-PCR pada tahapan penelitian pertama dan berhasil ber-regenerasi membentuk tunas, yaitu PS862-Crb, PS881-Jbr, dan PSJK922-Mlg. Sampel yang digunakan adalah tunas tebu yang berhasil beregenerasi pasca-perlakuan teknik kultur meristem dan kemoterapi. Umur regeneran yang diuji adalah sekitar 6 bulan setelah isolasi meristem dan tanam. Indeksing virus mosaik dilakukan dengan metode RT-PCR menggunakan primer spesifik SCSMV seperti yang dijelaskan pada tahapan penelitian pertama (Deteksi Virus dari Tanaman Induk) sebagaimana hasil penelitian Roostika *et al.* (2014).

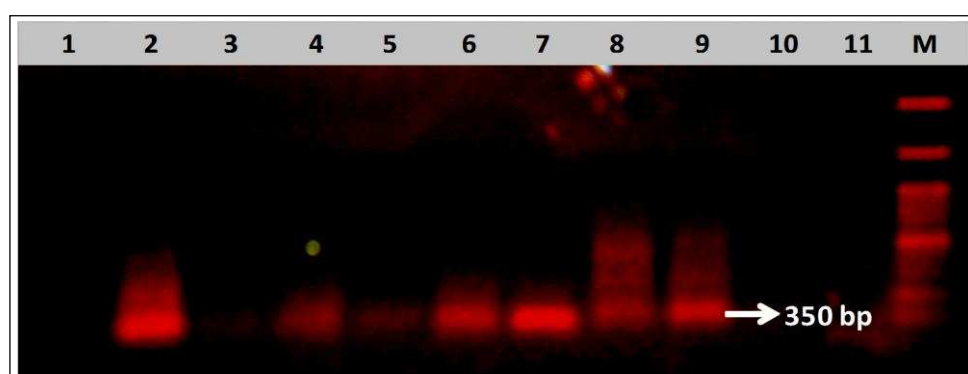
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Deteksi Virus dari Tanaman Induk**

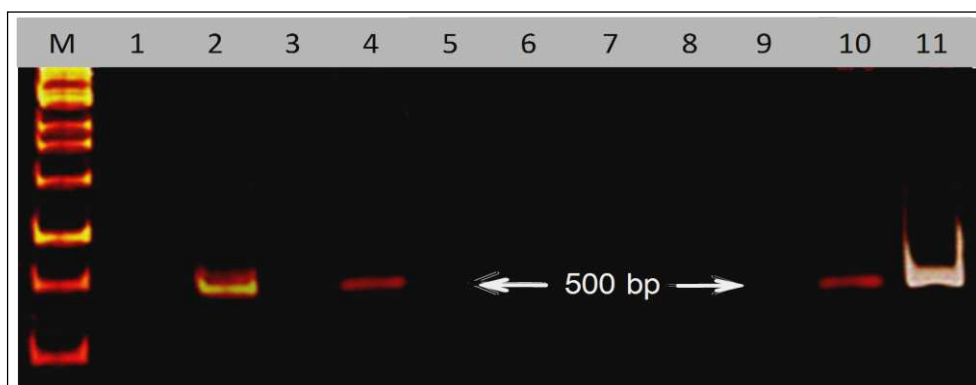
Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya tiga varietas yang terbukti bebas dari infeksi virus mosaik, yaitu PS922-Pati, PS881-Pati, dan PS865-Bgr. Hasil uji RT-PCR menggunakan primer universal MJ menunjukkan bahwa empat varietas terinfeksi oleh *Potyvirus*, yaitu GMP3-Bgr, PS864-Pati, PSJT941-Pati, dan Cening-Crb (Gambar 1 dan Tabel 2). Keempat varietas tersebut diduga terserang oleh virus selain SCSMV karena uji RT-PCR menggunakan primer spesifik SCSMV, terbukti bereaksi negatif (Gambar 2). Keempat varietas tersebut kemungkinan terinfeksi oleh *mild strain* dari genus *Potyvirus* yang bersifat avirulen atau tidak menimbulkan gejala penyakit.

Tabel 2. Daftar sampel tanaman tebu yang terinfeksi virus SCSMV dan *Potyvirus* lainnya berdasarkan uji RT-PCR

No	Nama sampel	Primer		Keterangan
		SCSMV	MJ	
1	PSJK922-Pati	-	-	Negatif
2	PSJK922-Mlg	+	+	Positif SCSMV
3	PS881-Pati	-	-	Negatif
4	PS862-Crb	+	-	Positif SCSMV
5	PS865-Bgr	-	-	Negatif
6	GMP3-Bgr	-	+	Positif Potyvirus lain
7	PS864-Pati	-	+	Positif Potyvirus lain
8	PSJT941-Pati	-	+	Positif Potyvirus lain
9	Cening-Crb	-	+	Positif Potyvirus lain
10	Kentung-Pati	+	-	Positif SCSMV
11	PS881-Jbr	+	-	Positif SCSMV



Gambar 1. Pita spesifik hasil uji RT-PCR menggunakan primer spesifik universal MJ: 1) PSJK922-Pati, 2) PSJK22-Mlg, 3) PS881-Pati, 4) PS862-Crb, 5) PS865-Bgr, 6) GMP3-Bgr, 7) PS864-Pati, 8) PSJT 941-Pati, 9) Cening-Crb, 10) Kentung-Bgr, dan 11) PS881-Jbr, Marka (M)



Gambar 2. Pita spesifik hasil uji RT-PCR menggunakan primer spesifik SCSMV: 1) PSJK 922-Pati, 2) PSJK22-Mlg, 3) PS881-Pati, 4) PS862-Crb, 5) PS865-Bgr, 6) GMP3-Bgr, 7) PS864-Pati, 8) PSJT941-Pati, 9) Cening-Crb, 10) Kentung-Bgr, 11) PS881-Jbr, dan Marka (M),

Empat varietas lainnya terbukti terinfeksi virus SCSMV, yaitu PSJK922-Mlg, PS862-Crb, Kentung-Bgr, dan PS881-Jbr (Gambar 2 dan Tabel 2). Dilaporkan oleh Putra & Damayanti (2009) bahwa penyakit mosaik pada tebu di Indonesia disebabkan oleh virus SCMV,

namun laporan terakhir menunjukkan bahwa virus SCSMV lebih banyak mendominasi pertanaman tebu di Indonesia dibanding virus SCMV (Damayanti & Putra 2011). Uji ketahanan terhadap virus SCSMV yang telah dilakukan pada sepuluh varietas tebu

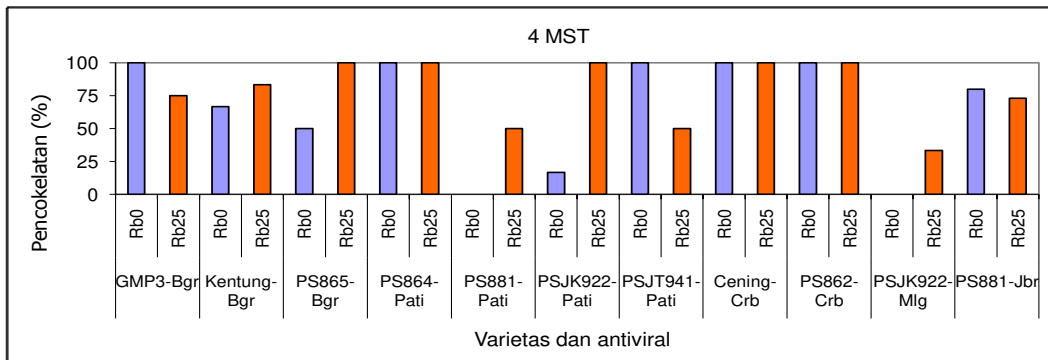
menunjukkan bahwa varietas PS862 termasuk dalam kelompok sedang, varietas PS881, PSJT941, dan Kentung termasuk dalam kelompok rentan, sedangkan varietas PS864 termasuk dalam kelompok yang sangat rentan (Putra & Damayanti 2009). Penyakit tersebut mudah sekali tertular ke tanaman lain melalui luka secara mekanis atau melalui vektor kutu bulu putih (Putra & Damayanti 2009).

### Aplikasi Teknik Kultur Meristem dan Kemoterapi

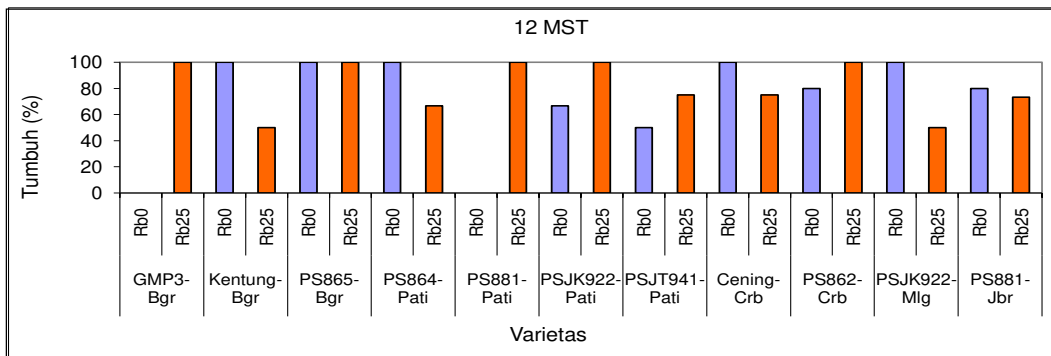
Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapatnya korelasi antara sumber eksplan atau tanaman induk yang terserang virus dengan respon *in vitro* atau pertumbuhan meristem. Berdasarkan pengamatan, seluruh eksplan meristem dari 11 varietas tebu mengalami pencokelatan. Tingkat pencokelatan terendah dijumpai pada varietas PS881-Pati dan PSJK922-Mlg (Gambar 3). Namun demikian, pencokelatan tersebut tidak selalu menimbulkan kematian meristem, yang ditandai de-

ngan tumbuhnya meristem. Cokelatnya jaringan tanaman pada umumnya disebabkan oleh terjadinya oksidasi senyawa fenol yang disebabkan oleh enzim polifenol oksidase (PPO).

Huang *et al.* (2002) membuktikan bahwa pencokelatan berkorelasi positif dengan aktivitas PPO. Kondisi demikian dapat terjadi sebagai akibat dari pelukaan pada saat isolasi maupun tingginya kandungan senyawa fenolik dalam jaringan meristem yang berubah menjadi quinon. Akumulasi senyawa quinon dapat menghambat pertumbuhan biakan, namun tidak demikian pada penelitian ini. Senyawa tersebut muncul ketika biakan mendapatkan cekaman atau stres, salah satunya berupa luka pada jaringan, seperti meristem (Sari *et al.* 2013). Pada penelitian ini, pencokelatan tidak menyebabkan penghambatan pertumbuhan biakan. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya PVP di dalam media yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga proses oksidasi senyawa polifenol tidak terjadi berkelanjutan. Menurut Roostika *et al.* (2015), pencokelatan pada biakan tebu dapat diatasi dengan mem-



Gambar 3. Tingkat pencokelatan meristem dari 11 varietas tebu setelah perlakuan kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 0 µg (Rb0) atau Ribavirin 25 µg/l (Rb25)



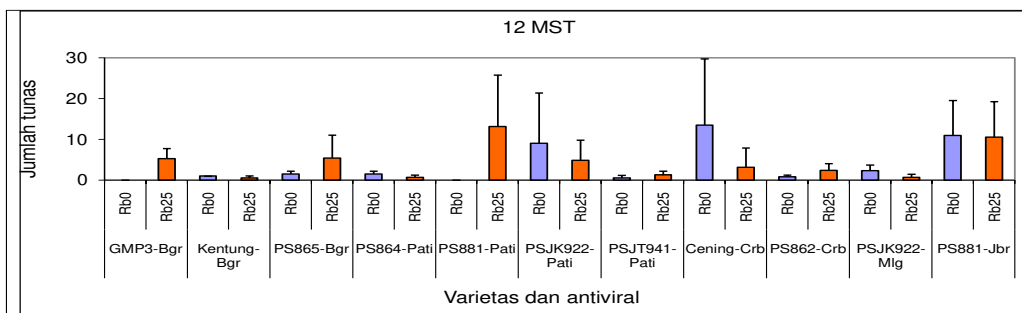
Gambar 4. Daya tumbuh meristem dari 11 varietas tebu setelah perlakuan kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 0 µg (Rb0) atau Ribavirin 25 µg/l (Rb25)

berikan senyawa antioksidan *polyvinyl-pyrrolidone* (PVP) 300 mg/l.

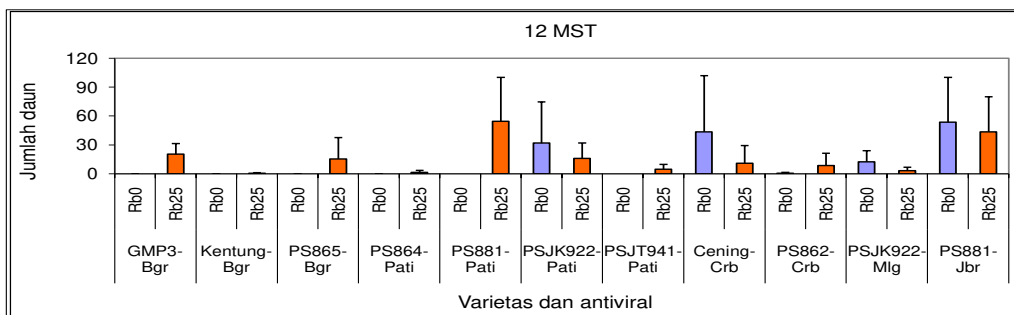
Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa meristem dari seluruh varietas dapat tumbuh (Gambar 4). Penambahan Ribavirin 25 µg/l pada media regenerasi tampak tidak berpengaruh negatif terhadap daya tumbuh meristem. Tidak tumbuhnya meristem PS881-Pati diduga dipengaruhi oleh kecilnya ukuran meristem sehingga sulit beregenerasi lebih lanjut. Menurut Wang & Valkonen (2012), keberha-

silan teknik kultur meristem ditentukan oleh ukuran eksplan yang diisolasi dan jenis tanaman. Ukuran eksplan yang terlalu kecil menyebabkan kendala teknis dalam proses regenerasi jaringan menjadi tanaman utuh atau planlet.

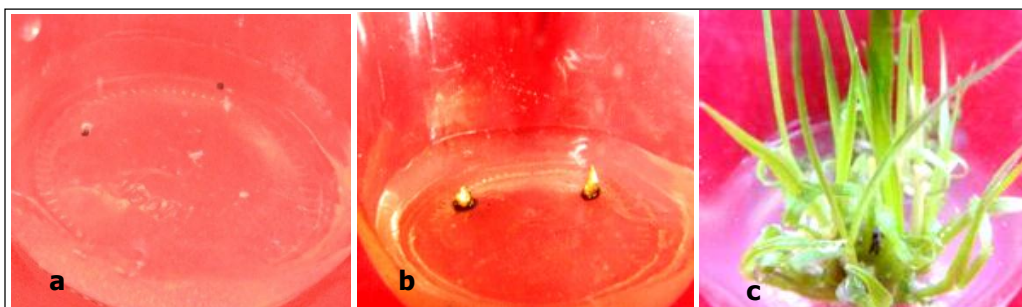
Meristem dari seluruh varietas yang diuji mampu beregenerasi membentuk tunas (Gambar 5). Pada 4 MST, jumlah tunas yang terbentuk dari meristem tersebut mencapai 3 tunas/eksplan (Gambar 6) dan mampu ber-



Gambar 5. Tingkat multiplikasi tunas dari eksplan meristem dari 11 varietas tebu setelah perlakuan kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 0 µg (Rb0) atau Ribavirin 25 µg/l (Rb25)



Gambar 6. Jumlah daun yang terbentuk dari eksplan meristem 11 varietas tebu setelah perlakuan kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 0 µg (Rb0) atau Ribavirin 25 µg/l (Rb25)



Gambar 7. Tahapan pertumbuhan meristem tebu yang ditanam pada media regenerasi yang mengandung Ribavirin 25 µg/l: respon awal dari meristem (a), meristem yang sudah tumbuh (b), dan tunas-tunas yang terbentuk dari eksplan meristem (c).

proliferasi lebih lanjut membentuk banyak tunas (Gambar 7).

### Indeksing Virus dari Biakan Hasil Perlakuan Kultur Meristem dan Kemoterapi

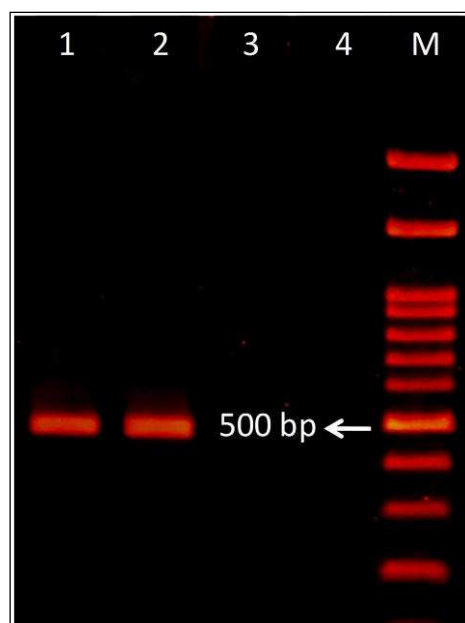
Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa secara tunggal, teknik kultur meristem tidak dapat mengeliminasi virus SCSMV (Tabel 3 dan Gambar 8). Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Naz *et al.* (2009) bahwa kultur meristem dapat mengeliminasi virus SCMV pada tebu tanpa tambahan perlakuan lainnya. Dalam hal ini, keberhasilan teknik kultur meristem ditentukan oleh kecilnya ukuran eksplan yang diisolasi, jenis tanaman, dan jenis virus (Wang & Valkonen 2012). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi teknik kultur meristem dan perlakuan Ribavirin 25 µg/l mampu mengeliminasi virus SCSMV (Tabel 4 dan Gambar 8). Menurut Panattoni *et al.* (2013), Ribavirin adalah analog nukleosida sintetik dari guanosisin. Ribavirin memiliki molekul turunan berupa inhibitor *inosine monophosphate dehydrogenase* (IMPDH) yang merupakan enzim yang dapat mengkatalisis konversi *inosine 5'-monophosphate* (IMP) dan mengubah jalur biosintesis guanosisin mono- di- dan trifosfat. Inhibitor tersebut berperan dengan cara menurunkan *intracellular pool* dari guanosisin dan mencegah sintesis RNA virus.

Tabel 3. Data indeksing virus untuk biakan hasil kultur meristem pada media yang tidak diberi Ribavirin

No	Nama sampel	Skoring pita DNA	Keterangan
1	PSJK922-Mlg KMer 1	+	Positif SCSMV
2	PSJK922-Mlg KMer 4	+	Positif SCSMV
3	PSJK922-Mlg KMer5	+	Positif SCSMV
4	PS862-Crb KMer 4	+	Positif SCSMV
5	PS862-Crb KMer 5	+	Positif SCSMV
6	PS862-Crb KMer 7	+	Positif SCSMV
7	PS881-Jbr KMer 1	+	Positif SCSMV
8	PS881-Jbr KMer 2	+	Positif SCSMV
9	PS881-Jbr KMer 3	+	Positif SCSMV

Keterangan: K = kontrol (tanpa Ribavirin 25 µg/l), Mer = kultur meristem

Berdasarkan rekapitulasi hasil skoring pita DNA (Tabel 5) diketahui bahwa kombinasi



Gambar 8. Pita DNA yang dihasilkan dari uji RT-PCR dengan primer spesifik SCSMV dari sampel tebu pascaperlakuan kultur meristem (1 dan 2) serta kombinasi kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 25 µg/l (3 dan 4), Marka (M)

Tabel 4. Data indeksing virus SCSMV untuk biakan hasil kultur meristem yang dikombinasikan dengan kemoterapi dengan Ribavirin 25 µg/l

No	Nama Sampel	Skoring pita DNA	Keterangan
1	PSJK922-Mlg Rb Mer 1	-	Negatif
2	PSJK922-Mlg Rb Mer 3	+	Positif SCSMV
3	PSJK922-Mlg Rb Mer 2	+	Positif SCSMV
4	PS862-Crb Rb Mer1	+	Positif SCSMV
5	PS862-Crb Rb Mer2	+	Positif SCSMV
6	PS862-Crb Rb Mer3	+	Positif SCSMV
7	PS881-Jbr Rb Mer 3	-	Negatif SCSMV
8	PS881-Jbr Rb Mer 2	-	Negatif SCSMV
9	PS881-Jbr Rb Mer 5	-	Negatif SCSMV

Keterangan: Rb = Ribavirin 25 µg/l, Mer = kultur meristem

perlakuan kultur meristem dan kemoterapi mampu mengeliminasi virus SCSMV dengan tingkat keberhasilan 44,4% (Tabel 5). Tingkat eliminasi virus dipengaruhi oleh ukuran eksplan. Ketika ukurannya 0,2–3,0 mm maka seluruh tanaman yang dihasilkan terbebas dari infeksi virus, sedangkan jika ukuran eksplan lebih besar (4–5 mm) maka beberapa tanaman yang dihasilkan masih mengandung partikel



virus (Naz *et al.* 2009). Jika dipertimbangkan dari daya hidup meristem yang masih tinggi (50–100%) pasca-perlakuan kemoterapi dengan Ribavirin 25 µg/l maka disarankan untuk meningkatkan dosis Ribavirin untuk meningkatkan efikasi eliminasi virus SCSMV.

Tabel 5. Tingkat keberhasilan metode eliminasi virus mosaik pada tebu

No	Perlakuan	SCSMV	
		Jumlah yang tereliminasi	Proporsi biakan yang tereliminasi (%)
1	Kultur meristem	0/9	0
2	Kultur meristem yang dikombinasikan dengan kemoterapi dengan Ribavirin 25 µg/l	4/9	44,4

Metode eliminasi virus yang dihasilkan dari penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk penyediaan benih tebu yang bermutu, yaitu yang sudah terbebas dari infeksi virus SCSMV. Metode tersebut dapat diaplikasikan di laboratorium swasta komersial maupun Unit Pengelola Benih Sumber (UPBS).

## KESIMPULAN

Hasil uji RT-PCR menggunakan primer universal MJ menunjukkan bahwa empat varietas, yaitu GMP3-Bgr, PS864-Pati, PSJT 941-Pati, dan Cening-Crb terinfeksi oleh *Potyvirus*. Empat varietas lainnya terbukti terinfeksi virus SCSMV berdasarkan uji RT-PCR dengan primer spesifik SCSMV, yaitu PSJK922-Mlg, PS862-Crb, Kentung-Bgr, dan PS881-Jbr. Seluruh meristem mengalami pencokelatan, namun tidak menyebabkan penghambatan pertumbuhan biakan. Penambahan Ribavirin 25 µg/l pada media regenerasi tidak berpengaruh negatif terhadap daya tumbuh meristem. Secara tunggal, teknik kultur meristem tidak dapat mengeliminasi virus SCSMV. Kombinasi teknik kultur meristem dan kemoterapi dengan Ribavirin 25 µg/l mampu mengeliminasi virus SCSMV dengan tingkat eli-

minasi sebesar 44,4%. Disarankan untuk meningkatkan dosis Ribavirin untuk meningkatkan efektivitas eliminasi virus SCSMV.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah mendanai penelitian ini dari Program Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) 2014.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alam, I, Sharmin, SA, Naher, MK, Alam, MJ, Anisuzzaman, M & Alam MF 2010, Effect of growth regulators on meristem culture and plantlet establishment in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.], *Plant Omics Journal* 3(2):35–39.
- Ali, MA, Nasiruddin, KM, Haque, MS & Faisal, SM 2013, Virus elimination in potato through meristem culture followed by thermotherapy, *SAARC J. Agri.* 11(1):71–80.
- Al-Thaleb, MM, Hassawi, DS & Abu-Romman, SM 2011, Production of virus free potato plants using meristem culture from cultivars grown under Jordanian environment, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 11(4):467–472.
- Asnawi, AH 2009, *Growth and production of sugarcane (Saccharum officinarum) PS 864 variety at various infection level of Sugarcane streak mosaic virus (SCSMV)*, Thesis, Universitas Brawijaya, Malang, 44 p.
- Babu, B, Hegde, V, Makesh Kumar, T & Jeeva, ML 2012, Rapid and sensitive detection of potyvirus infecting tropical tuber crops using genus specific primers and probes, *African Journal of Biotechnology* 11(5):1023–1027.
- Bailey, RA 2004, Sugarcane, in James, G (ed.), Blackwell Publishing Company, Iowa-USA,
- Damayanti, TA & Putra, LK 2011, First occurrence of Sugarcane streak mosaic virus infecting sugarcane in Indonesia, *J. Genetic Plant Pathol.* 77:72–74.
- Hema, M, Kirthi, N, Sreenivasulu, P & Savithri, HS 2003, Development of recombinant coat protein antibody based IC-RT-PCR for de-

- tection and discrimination of Sugarcane streak mosaic virus isolates from Southern India, *Arch Virol.* 148(6):1185–1193.
- Hu, GJ, Hong, N, Wang, LP, Hu, HJ & Wang, GP 2012, Efficacy of virus elimination from in vitro-cultured sand pear (*Pyrus pyrifolia*) by chemotherapy combined with chemotherapy, *Crop Protection* 37:20–25.
- Huang, LC, Lee, YL, Huang, BL, Kuo, CI & Shaw, AF 2002, High polyphenol oxidase activity and low titratable acidity in browning bamboo tissue culture, *In Vitro Cell. Dev. Biology Plant* 38:358–365.
- Kristini, A, Achadian, EM, Irawan, Putra, LK, Dianpratiwi, T, Mulyadi, M & Murwandono 2008, Potret penyakit tebu di Jawa: Distribusi dan dominasi penyakit-penyakit tebu penting, *Majalah Penelitian Gula* 44(4):205–218.
- Marie-Jeanne, V, Loos, R, Peyre, J, Alliot, B & Signoret, P 2000, Differentiation of poaceae potyviruses by reverse transcription polymerase chain reaction and restriction analysis, *Journal of Phytopathology* 148:141–151.
- Naz, S, Siddiqui, F, Ali, A & Iqbal, J 2009, Virus indexation of in vitro regenerated sugarcane plants, *Pakistan Journal of Botany* 41(4):1931–1939.
- Panattoni, A, Luvisi, A & Triolo, E 2013, Review, Elimination of viruses in plants: Twenty years of progress, *Spanish Journal of Agricultural Research* 11(1):173–188.
- Putra, LK & Damayanti, TA, 2009, *Penyakit streak mosaic pada tebu di Indonesia: Survei la-pang, deteksi virus, uji penularan, kisaran inang, dan ketahanan varietas*, *Majalah Penelitian Gula* 45(1):19–35.
- Ramgareeb, S, Snyman, SJ, Antwerpen, TV & Rutherford, RS 2010, Elimination of virus and rapid propagation of disease-free sugarcane (*Saccharum* spp. cultivar NCo376) using apical meristem culture, *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 100:175–181.
- Retheesh, ST & Bhat, AI 2010, Simultaneous elimination of cucumber mosaic virus and cymbidium mosaic virus infecting *Vanilla planifolia* through meristem culture, *Crop Protection* 29:1214–1217.
- Roostika, I, Hartono, S, Efendi, D, Sukmadjaja, D 2014, Aplikasi teknologi kultur jaringan dan cryoterapi untuk produksi benih tebu bebas virus dalam mendukung program swasembada gula, Laporan Hasil Kegiatan KKP3N, Balitbangtan, Jakarta.
- Roostika, I, Wati, RPD & Sukmadjaja, D 2015, Pengaruh PVP dan DIECA terhadap regenerasi kultur meristem tebu, *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri* 7(1):9–14.
- Sari N, Ratnasari, E & Isnawati 2013, Pengaruh Penambahan Berbagai Kombinasi konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Bensil Aminopurin (BAP) pada media MS terhadap tekstur dan warna kalus eksplan batang jati (*Tectona grandis* Linn. (F.)), *Lentera Bio* 2(1):69–73.
- Torres, AC, Fajardo, TV, Dusi, AN Resende, RO & Buso, JA 2000, Shoot tip culture and chemotherapy for recovering virus-free plants of garlic, *Horticultura Brasileira* 18(3):192–195.
- Wang, Q & Valkonen, JPT 2012, Cryopreservation of shoot tips: novel pathogen eradication method, *Trends in Science* 14(3):119–122.
- Wati, RPD 2014, *Optimasi beberapa metode eliminasi virus pada apeks dan meristem tebu (Saccharum officinarum L.)*, Thesis, Institut Pertanian Bogor, 47 p.