

## DETEKSI *POTYVIRUS* PADA NILAM (*Pogostemon Cablin* (BLANCO) BENTH) DENGAN TEKNIK ELISA DI SULAWESI TENGGARA

### Detection of Potyvirus on Patchouli Plant (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) in Southeast Sulawesi using ELISA Technique

MUHAMMAD TAUFIK<sup>\*)</sup>, ASMAR HASAN, ANDI KHAERUNI, GUSNAWATY HS DAN SARAWA MAMMA

*Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo Kendari.*

#### ABSTRACT

Mosaic symptoms were observed on Patchouli (*Pogostemon cablin*) around North Kolaka and Kolaka, Southeast Sulawesi during surveys in early 2012. Indirect-ELISA based detection was conducted using symptomatic leaf samples. The objective of the research was to determine disease incidence of *Potyvirus* in several farms of Patchouli plant in Southeast Sulawesi. The results showed that Patchouli plant (*Pogostemon cablin*) was found to be infected with *Potyvirus* disease showing mosaic symptoms and malformation on the leaf samples i.e. in Amotowo and Boro-Boro Villages of subdistrict Boro-Boro, and Landabaro Village, Mowila subdistrict of South Konawe regency; Asinua Village of subdistrict Unaaha, Lambuya district of subdistrict Lambuya, and Bungguosu district, Konawe subdistrict of Konawe regency; and Anduonohu district, Poasia subdistrict of Kendari regency. This is the first report on *Potyvirus* infection on patchouli in Southeast Sulawesi.

Keywords: Indirect-ELISA, mosaic, *Potyvirus*, *Pogostemon cablin*

#### PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco)) adalah tanaman penghasil minyak atsiri yang dikenal dengan minyak nilam (*patchouli oil*) yang sangat bermanfaat sebagai bahan fiksatif pada industri parfum, kosmetik, bahan obat-obatan dan pestisida. Sebagai penghasil minyak atsiri, nilam menjadi komoditas ekspor nonmigas yang menghasilkan devisa bagi negara. Hanya sebagian kecil minyak nilam yang digunakan di dalam negeri, sebagian besar justru diekspor ke mancanegara (Rukmana, 2004). Peluang ekspor minyak nilam yang cukup besar menjadi pendorong bagi petani di Indonesia termasuk di Sulawesi Tenggara untuk membudidayakan nilam. Beberapa tahun terakhir tanaman nilam terlihat cukup intensif dibudidayakan oleh petani di Sulawesi Tenggara, walaupun harga hasil produksi baik dalam bentuk bahan kering tanaman maupun minyak atsiri kasar mengalami fluktuasi.

Seperti halnya tanaman lain, nilam juga diperhadapkan pada masalah infeksi virus. Natsuaki *et al.* (1994) melaporkan bahwa *Potyvirus* pada tanaman nilam telah dideteksi di beberapa kebun penelitian pertanian di Jepang dengan gejala dari hampir tidak ada atau hanya sedikit belang sampai mosaik. Noveriza *et al.* (2011) juga melaporkan adanya *Potyvirus* pada tanaman nilam yang bergejala mosaik pada beberapa sampel yang diperoleh dari Bogor. Sementara itu belum pernah ada laporan mengenai keberadaan penyakit virus pada pertanaman nilam di Sulawesi Tenggara, sehingga pada pertengahan bulan April 2012 dilakukanlah studi pendahuluan terbatas yang berlokasi di Kabupaten Kolaka dan Kolaka Utara untuk mendeteksi keberadaan virus nilam tersebut. Hasil studi pendahuluan menunjukkan bahwa beberapa sampel tanaman nilam ditemukan bergejala mosaik yang merupakan gejala khas tanaman terinfeksi virus dan terlihat sejak di pembibitan sampai di lapang. Selain itu juga ditemukan tanaman nilam yang mengalami kekerdilan atau malformasi daun, dan

<sup>\*)</sup> Alamat korespondensi:  
Email : taufik24@yahoo.com

dideterminasi gejala tersebut merupakan gejala lanjut tanaman terinfeksi oleh virus. Setelah dilakukan uji serologi di laboratorium, tanaman yang bergejala tersebut ternyata positif terinfeksi virus dari kelompok *Potyvirus* dan *Fabavirus* (Taufik *et al.*, 2012). Keberadaan virus pada tanaman nilam ini perlu dideteksi agar dapat dilakukan pengendalian sedini mungkin karena infeksi virus khususnya kelompok *Potyvirus* dapat menyebabkan tanaman nilam mengalami penurunan produksi dan kadar minyak (Noveriza *et al.*, 2012).

Salah satu teknik serologi untuk mendeteksi keberadaan virus pada tanaman adalah dengan teknik *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan berdasarkan pada mekanisme antigen dan antiserum. Interaksi antara keduanya dalam sumuran ELISA akan memberikan petunjuk positif keberadaan virus dalam jaringan daun tanaman nilam yang diuji. Beberapa hasil penelitian melaporkan penggunaan teknik ELISA untuk mendeteksi keberadaan virus dalam tanaman diantaranya yaitu mendeteksi keberadaan *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* (Taufik *et al.*, 2005a, 2005b, 2007, 2010) dan *Tobacco mosaic virus* (Taufik *et al.*, 2011) pada tanaman cabai serta mendeteksi *Patchouli mottle virus* pada tanaman nilam (Hartono dan Subandiyah, 2006). Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mendeteksi keberadaan dan sebaran *Potyvirus* pada tanaman nilam dengan teknik ELISA di Sulawesi Tenggara.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel di Lapangan.

Pengambilan sampel tanaman nilam dilakukan pada lokasi-lokasi yang menjadi sentra budidaya tanaman nilam di daerah Sulawesi Tenggara. Tanaman nilam yang dikoleksi dari lapang adalah tanaman yang menunjukkan gejala khas virus seperti gejala mosaik atau malformasi daun (Gambar 1). Daun tanaman yang telah diambil dimasukkan ke plastik sampel dan selanjutnya dimasukan ke kotak pendingin kemudian dibawa ke laboratorium untuk diuji secara serologi.

**Penyiapan Sampel.** Tahapan ini menggunakan beberapa sampel daun tanaman yang diambil pada tanaman nilam asal

lapangan maupun tanaman uji kisaran inang. Sampel daun tanaman dikompositkan kemudian dicacah dan ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian dimasukkan ke kantong plastik, setelah itu ditambahkan dengan larutan buffer *Indirect Sample Extraction* sebanyak 5 mL lalu digerus dengan menggunakan alat penggerus, sap tanaman yang diperoleh dari hasil gerusan daun tanaman uji digunakan sebagai antigen *Potyvirus*.

**Pengujian pada Plat Mikrotiter.** Plat mikrotiter sebelum digunakan terlebih dahulu diinkubasi dalam kotak plastik yang lembap selama 1 jam pada suhu ruang. Selanjutnya dimasukkan sap tanaman sebagai antigen ke dalam lubang sumuran plat mikrotiter sebanyak 100  $\mu$ L per lubang. Disertakan juga kontrol positif *Potyvirus* siap pakai dan kontrol negatif berupa larutan buffer ekstraksi, masing-masing sebanyak 100  $\mu$ L per sumuran kemudian plat mikrotiter diinkubasikan kembali dalam kotak plastik yang lembap selama 1 jam pada suhu ruang. Setelah itu plat mikrotiter dicuci menggunakan larutan PBST sebanyak 8 kali. Penyiapan antibodi dilakukan 10 menit sebelum digunakan, dengan melarutkan 100  $\mu$ L antibodi ke dalam 10 mL buffer ECI (1:100). Setelah itu, antibodi tersebut dimasukkan ke sumuran plat mikrotiter sebanyak 100  $\mu$ L per lubang. Plat mikrotiter kemudian diinkubasi dalam kotak plastik lembap selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah proses inkubasi selesai, plat mikrotiter dicuci dengan larutan PBST sebanyak 8 kali. Penyiapan antibodi kedua yaitu enzim konjugat (*Alkaline Phosphatase Enzyme Conjugate*) dipersiapkan 10 menit sebelum digunakan, dengan melarutkan 100  $\mu$ L antibodi ke dalam 10 mL buffer ECI (1:100). Setelah itu, antibodi tersebut dimasukkan ke sumuran plat mikrotiter sebanyak 100  $\mu$ L per lubang. Plat mikrotiter kemudian diinkubasi dalam kotak plastik lembap selama 1 jam pada suhu ruang. Setelah itu, plat mikrotiter dicuci lagi dengan PBST sebanyak 8 kali. Selanjutnya memasukkan tablet PNP (*P-Nitrophenyl Phosphatase*) ke dalam larutan buffer PNP (1 tablet/5 mL) dan dicampur secara merata. Sebanyak 100  $\mu$ L larutan PNP dimasukkan ke lubang plat mikrotiter dan diinkubasi dalam kotak plastik lembap selama 60 menit pada suhu ruang. Pengamatan perubahan warna

dilakukan pada setiap lubang sumuran plat mikrotiter setelah pemberian substrat PNP. Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning (dibandingkan dengan kontrol negatif), berarti sampel tersebut positif terinfeksi dengan virus. Data hasil pengamatan ditabulasi dan dinarasikan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

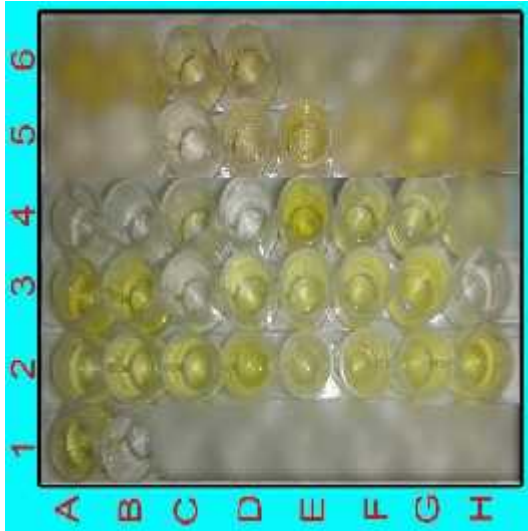
Berdasarkan hasil deteksi serologi menggunakan uji I-ELISA diketahui bahwa tanaman nilam yang terdapat di beberapa wilayah pengambilan sampel, telah positif terinfeksi oleh *Potyvirus* (Tabel 1), dengan visualisasi warna hasil pengujian I-ELISA adalah kuning agak terang (+), kuning (++), hingga kuning terang (+++) (Gambar 1).

Tabel 1. Visualisasi hasil pengujian I-ELISA sampel tanaman nilam

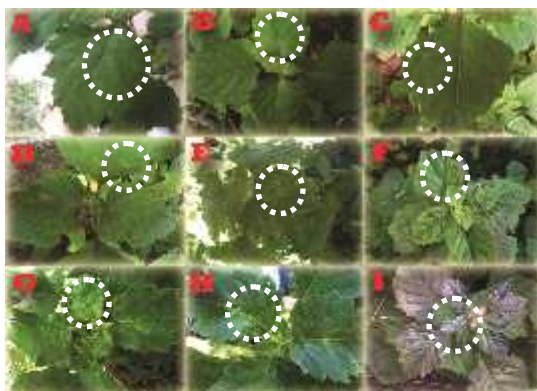
Lokasi Pengambilan Sampel	Visualisasi Warna
Kabupaten Konawe Selatan	
Desa Alebo, Kecamatan Konda	
Sampel 1	-
Sampel 2	-
Sampel 3	-
Sampel 4	-
Sampel 5	-
Desa Amotowo, Kecamatan Boro-Boro	
Sampel 1	+
Sampel 2	+++
Sampel 3	+++
Sampel 4	+++
Sampel 5	+++
Desa Boro-Boro, Kecamatan Boro-Boro	
Sampel 1	+++
Sampel 2	+++
Sampel 3	+++
Sampel 4	+++
Sampel 5	+++
Desa Landabaro, Kecamatan Mowila	
Sampel 1	-
Sampel 2	+++
Sampel 3	+++
Sampel 4	+++
Sampel 5	+++
Kabupaten Kolaka Timur (Kelurahan Lalolae)	
Kota Kendari (Kelurahan Anduonohu)	
Sampel 1	+++
Sampel 2	++
Sampel 3	+++
Kabupaten Konawe	
Kelurahan Lambuya Kecamatan Lambuya	+++
Desa Asinua Kecamatan Unaaha	++
Kelurahan Bungguosu Kecamatan Konawe	++

Keterangan: - = tidak ada perubahan warna, + = perubahan warna kuning agak terang, ++ = perubahan warna kuning, +++ = perubahan warna kuning terang

Deteksi serologi Potyvirus sebagai penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam dilakukan guna mendeteksi keberadaan dan penyebaran Potyvirus di beberapa sentra penanaman nilam di Sulawesi Tenggara seperti Kabupaten Kolaka, Kolaka Utara, Konawe, dan Konawe Selatan. Metode serologi yang digunakan adalah metode ELISA yaitu Indirect ELISA atau ELISA tidak langsung.



Gambar 1. Visualisasi hasil uji I-ELISA sampel nilam. A1 = Kontrol positif; B1 = Kontrol negatif; A2, B2, C2, D2, E2 = sampel asal Desa Amotowo; F2, G2, H2, A3, B3 = sampel asal Desa Boro-Boro; D3, E3, F3, G3, H3, C4 = sampel asal Desa Landabaro; C3, H3, A4, B4, D4 = sampel asal Desa Alebo; E4 = sampel asal Bogor; F4, E5, C6 = sampel asal Kelurahan Anduonohu; G4 = sampel asal Kelurahan Bungguosu; C5 = sampel asal Kelurahan Lalolae; D5 = sampel asal Desa Asinua; D6 = sampel asal Kelurahan Lambuya



Gambar 2. Gejala infeksi Potyvirus pada tanaman nilam di lapangan. A, B, C, dan D (Mosaik lemah), E, F, G, dan H (Mosaik

berat), I (Malformasi daun/*Leaf cupping*/berbentuk seperti mangkok).

Berdasarkan hasil uji serologi diketahui bahwa tanaman nilam yang diperoleh dari lapangan dan bergejala mosaik, baik mosaik lemah (*mild mosaic*) maupun berat (*severe mosaic*) serta gejala malformasi daun (*leaf cupping* atau daun berbentuk seperti mangkok) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2, menunjukkan positif terinfeksi *Potyvirus*. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning pada sampel yang diuji. Wilayah-wilayah pengambilan sampel tanaman nilam yang dimaksud meliputi wilayah Desa Amotowo dan Boro-boro Kecamatan Boro-Boro, Desa Landabaro Kecamatan Mowila Kabupaten Konawe Selatan; Desa Asinua Kecamatan Unaaha, Kelurahan Lambuya Kecamatan Lambuya, dan Kelurahan Bungguosu Kecamatan Konawe Kabupaten Konawe; serta Kelurahan Anduonohu Kecamatan Poasia Kota Kendari, dengan tingkat kekuningan warna hasil pengujian adalah kuning agak terang (+), kuning (++), hingga kuning terang (+++), sedangkan wilayah Desa Alebo, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan dan Kelurahan Lalolae, Kabupaten Kolaka Timur belum terdeteksi ada *Potyvirus* yang menginfeksi sampel tanaman nilam.

Menurut Wahyuni (2005) bahwa perbedaan intensitas perubahan warna pada hasil uji ELISA dapat mencerminkan konsentrasi partikel virus yang terkandung dalam sap, sehingga intensitas warna kuning yang lebih terang mengindikasikan bahwa pada sap tersebut terkandung partikel virus yang lebih banyak dibanding dengan intensitas warna kuning yang lebih rendah, namun pada dasarnya semua sampel yang menunjukkan perubahan warna menjadi kuning adalah positif mengandung *Potyvirus*.

## SIMPULAN

Teknik I-ELISA yang digunakan berhasil membuktikan keberadaan *Potyvirus* pada tanaman nilam bergejala mosaik dan malformasi daun yang terdapat di Sulawesi Tenggara yaitu Kabupaten Konawe Selatan dan Kota Kendari.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada pihak Universitas Halu Oleo melalui program Dana BOPTN UNHALU/IX/2012, 12 September 2012 atas pendanaan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Hartono S, Subandiyah S. 2006. Pemurnian dan deteksi serologi *Patchouli mottle virus* pada tanaman nilam. *Jurnal Perlindungan Tanaman* 12 (2): 74-82.
- Natsuaki KT, Tomaru K, Ushiku S, Ichikawa Y, Sugimura Y, Natsuaki T, Okuda S, Teranaka M. 1994. Characterization of two viruses isolated from patchouli in Japan. *Plant Disease* 78: 1094-1097.
- Noveriza R, Suastika G, Hidayat SH, Kartosuwondo U.. 2011. Identification of a *Potyvirus* associated with mosaic disease on patchouli plants in Indonesia. *J. ISSAAS*. 17(1): 227-273.
- Noveriza R, Suastika G, Hidayat SH, Kartosuwondo U. 2012. *Potyvirus* associated with mosaic disease on patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) plants in Indonesia. *J. ISSAAS*. 18(1):131-146
- Rukmana R. 2004. *Nilam: Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya*. Kanisius. Yogyakarta.
- Taufik M, Astuti AP, Hidayat SH. 2005<sup>a</sup>. Survei infeksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* pada tanaman cabai dan seleksi ketahanan beberapa kultivar cabai. *Jurnal Agrikultura* 16(3): 146-152.
- Taufik M, Hidayat SH, Suastika G, Sumaraw SM, Sujiprihati S. 2005<sup>b</sup>. Kajian beberapa isolat *plant growth promoting rhizobacteria* sebagai agens proteksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* pada tanaman cabai. *Jurnal Hayati* 12(4): 139-144.
- Taufik M., Hidayat SH, Sujiprihati S, Suastika G, Mandang SM. 2007. Ketahanan Beberapa Varietas Cabai Terhadap *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tropika* 7 (2): 130 - 139.
- Taufik M, Rahman A, Wahab A, Hidayat SH. 2010. Mekanisme ketahanan terinduksi oleh PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) pada tanaman cabai terinfeksi CMV (*Cucumber mosaic virus*). *Jurnal Hortikultura* 20(3): 273-283
- Taufik M, Khaeruni A, Rombe WS. 2011. Penggunaan ELISA untuk mendeteksi *Cucumber mosaic virus* dan *Tobacco mosaic virus* pada tanaman cabai. *Jurnal Fitomedika* 7(3): 195-200
- Taufik M, Hasan A, Noveriza R. 2012. Informasi Baru: Keberadaan Penyakit Virus pada Tanaman Nilam di Sulawesi Tenggara. Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Komda Sultra, Tema "Optimalisasi Pengelolaan Organisme Pengganggu Tumbuhan dalam Meningkatkan Produksi Pertanian untuk Menjaga Ketahanan dan Keamanan Pangan Nasional" Hotel Attaya, Kendari 22-23 Mei 2012. Penyelenggara Komda PFI Sultra.
- Wahyuni WS. 2005. *Dasar-Dasar Virologi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta