

ELIMINASI *Cymbidium mosaic virus* PADA *Protocorm likes bodies* ANGGREK *DENDROBIUM* MENGGUNAKAN ZAT ANTIVIRAL RIBAVIRIN

Melissa Syamsiah, S.Pd*

RINGKASAN

Anggrek merupakan tanaman hias yang memiliki tingkat permintaan yang cukup tinggi dan menduduki peringkat pertama dibandingkan tanaman hias lainnya. Keindahan tanaman anggrek pun dapat berkurang apabila tanaman tersebut terinfeksi virus patogen. Diantara patogen tersebut yang paling banyak menimbulkan kerugian adalah *Cymbidium mosaic virus* (CyMV). Virus tersebut merupakan salah satu patogen yang dominan menginfeksi tanaman anggrek di dunia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi optimum zat antiviral Ribavirin dalam eliminasi *Cymbidium mosaic virus* pada *protocorm-like bodies* (plbs) anggrek *Dendrobium*. Tahapan penelitian meliputi deteksi CyMV pada plbs anggrek *Dendrobium*, perbanyak plbs yang terinfeksi pada media *Vacin and Went* cair, eliminasi CyMV dengan perlakuan antiviral Ribavirin pada taraf konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm yang disusun menggunakan Rancangan Percobaan Acak Lengkap dengan banyaknya ulangan sebanyak tiga kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa plbs anggrek *Dendrobium* yang dipakai untuk perlakuan zat antiviral Ribavirin adalah plbs anggrek *Dendrobium* Jayakarta. CyMV mampu dibebaskan dengan antiviral Ribavirin pada plbs anggrek *Dendrobium* Jayakarta. Konsentrasi optimum antiviral Ribavirin 30 ppm dapat membebaskan CyMV pada plbs anggrek tersebut 100% tanpa mengganggu pertumbuhannya.

ABSTRACT

Orchid is an ornamental plant that has a fairly high level of demand and ranked first compared to other ornamental plants. The beauty of orchid plants can be reduced if infected by pathogenic virus like *Cymbidium mosaic virus* (CyMV). CyMV is the one of the dominant pathogen infecting orchid plant in the world. The aims of this study to determine the optimum concentration of Ribavirin antiviral agent on CyMV elimination in *Dendrobium* Jayakarta *protocorm-like bodies* (plbs). Stages of this study included to detect CyMV in *Dendrobium* plbs, infected plbs propagation in *Vacin and Went* liquid media, to eliminate CyMV by Ribavirin antiviral treatments in six concentrations (0, 10, 20, 30, 40 and 50 ppm) arranged in Randomized Completely Design with three replications. The results of this study showed that CyMV was eliminated by Ribavirin in *D. Jayakarta* plbs. The optimum concentration of Ribavirin to eliminate 100% CyMV without growth inhibition of the plbs was 30 ppm.

Keyword: *Cymbidium mosaic virus* elimination, *Dendrobium*, Ribavirin

*Dosen Fakultas Pertanian UNSUR

PENDAHULUAN

Tanaman tahunan atau tanaman yang diperbanyak secara vegetatif seperti kentang, strawberry dan tanaman hias selama pertumbuhan dan perkembangannya di lapangan tidak terlepas dari organisme pengganggu tanaman baik hama maupun penyakit, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus. Menurut Bos 1983 dalam Muis 2002, virus mempunyai pengaruh yang bermacam-macam terhadap tanaman, karena virus mempunyai daya tular yang tinggi sehingga infeksi pada tanaman budidaya berlangsung cepat dan dapat mencapai tingkat epidemik.

Salah satu tanaman hias yang banyak terserang virus adalah tanaman anggrek. Anggrek merupakan komoditas hortikultura yang banyak diminati masyarakat karena memiliki variasi warna dan bentuk bunga yang indah. Daerah sentra produksi anggrek di Indonesia adalah Jawa Barat, DKI Jakarta, Jawa Tengah, Jawa Timur dan Bali. Permintaan anggrek banyak digunakan untuk berbagai keperluan seperti upacara keagamaan, hiasan dekorasi ruangan, ucapan selamat serta ungkapan duka cita (Pranata 2007). Pada saat ini anggrek yang dominan diminati masyarakat adalah jenis *Dendrobium* (34%), *Oncidium Golden Shower* (26%), *Cattleya* (20%) dan *Vanda* (17%) serta anggrek lainnya (3%) (BPTP 2005).

Ketersediaan benih tanaman anggrek berasal dari produksi dalam negeri dan impor. Untuk benih anggrek diimpor dari luar negeri pada tahun 2005 sebesar 4,7 juta benih kemudian menurun pada tahun 2006 menjadi 2,9 juta dan tahun 2007 menjadi 2,7 juta benih. Menurunnya impor benih anggrek disebabkan

karena adanya peningkatan produksi benih anggrek di dalam negeri yaitu pada tahun 2005 dari 2,2 juta benih menjadi 10,2 juta benih pada tahun 2006, dan di tahun 2007 menjadi 11,2 juta benih (Dirjen Hortikultura 2008). Selain untuk memenuhi kebutuhan anggrek dalam negeri, Indonesia juga mengekspor tanaman anggrek ke beberapa Negara seperti Jepang, Belanda dan Amerika (Dirjen Hortikultura 2008). Pada perdagangan internasional sebenarnya tidak ada aturan baku mengenai standar mutu, akan tetapi lebih tergantung pada perusahaan pengimpor dari Negara tujuan ekspor. Negara-negara tujuan ekspor memberikan syarat harus bebas dari organisme pengganggu tanaman (OPT) baik berupa hama, penyakit, maupun gulma, sedangkan perusahaan pengimpor menghendaki standar mutu yang lebih dikaitkan dengan harga. Rendahnya standar mutu yang berorientasi harga tanpa mempertimbangkan standar mutu yang berorientasi bebas dari OPT akan memberikan dampak negatif bagi plasma nuffah Indonesia.

Keindahan tanaman anggrek dapat berkurang apabila tanaman tersebut terinfeksi virus patogen. Diantara patogen tersebut yang paling banyak menimbulkan kerugian adalah *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) dan *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV), disebutkan pula bahwa infeksi CyMV memberikan pengaruh yang lebih berat dibandingkan dengan infeksi ORSV (Pearson&Cole 2008). Hasil penelitian Tanaka *et al.* (1997) menunjukkan bahwa beberapa kultivar anggrek di Thailand terinfeksi *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) yaitu pada anggrek *Denrobium* (65.7%), *Cattleya* (45.5%), *Oncidium* (35%), *Phalaenopsis* (25%) dan *Vanda* (51%).

Penyakit tanaman anggrek yang disebabkan CyMV pertama kali diidentifikasi pada tahun 1950 oleh Jensen di California (ICTVdB 2002). Secara etiologi agen diidentifikasi sebagai virus yang dinamai CyMV. Sejak itu CyMV dilaporkan keberadaannya di beberapa Negara penghasil bunga potong di Eropa, Australia, Amerika, Afrika dan Asia. CyMV merupakan virus yang termasuk family *Flexiviridae* dan genus *Potexvirus* (Gara *et al* 1996). Gejala yang ditimbulkan oleh CyMV pada tanaman anggrek adalah terjadinya nekrosis (bintik-bintik, garis-garis atau lingkaran-lingkaran) pada bunga, virus tersebut umum ditemukan pada tanaman anggrek yang dibudidayakan, hal ini disebabkan virus tersebut dapat ditularkan melalui alat-alat pertanian, seperti gunting dan pot yang terkontaminasi dan tidak ditularkan oleh serangga ataupun biji (Wisler 1989).

Studi mikroskop elektron menunjukkan bahwa virion-virion CyMV berbentuk filamentous dengan diameter 480 x 13 nm yang tidak dibungkus oleh envelope dan mempunyai titik inaktivasi 60-70 °C selama 10 menit serta dapat bertahan pada cairan perasan tanaman selama 25 hari pada suhu ruang dalam kondisi in vitro. Genom CyMV merupakan ssRNA linear dan berukuran 8,1 kb. Genom CyMV pertama kali diisolasi oleh Frowd dan Tremaine (1977) dan mempunyai komposisi basa G 21.1%, A 28.9%, C24,4% dan U 25,6%.

Ribavirin merupakan zat kimia antiviral yang mempunyai rumus kimia 1,2,4-triazole-3-carboxamide dan memiliki nama lain Virazole dengan rumus molekul $C_8H_{12}N_4O_5$ dan massa molekul 244.206. Ribavirin merupakan analog guanosin dan adenosin yang

dimetabolisme menyerupai nukleotida RNA purin. Dimana mekanisme kerjanya adalah menghambat kerja RNA polimerase (Wu, *et al* 2003). Wu (2003) menyebutkan bahwa RNA virus akan berkompetisi dengan Ribavirin yang merupakan analog basa purin RNA untuk berikatan dengan RNA polimerase. Ikatan dengan Ribavirin lebih kuat yang menyebabkan virus tidak bisa melakukan replikasi karena kerja RNA polimerase untuk berikatan dengan RNA virus terhambat. Selain itu disebutkan pula bahwa Ribavirin (VIRAZOLE®), suatu analog nukleosida purin, mekanisme tindakannya dapat dilakukan dengan penghambatan inosin monofosfat dehidrogenase (IMPDH), sebuah enzim dalam jalur sintesis purin de novo. Ribavirin menghambat IMPDH melalui metabolit 5'-Ribavirin monofosfat (RMP)

Pembebasan CyMV pernah dilakukan menggunakan Ribavirin pada konsentrasi 5 – 25 ppm, akan tetapi Ribavirin pada kisaran konsentrasi tersebut belum mampu membebaskan CyMV pada anggrek *Dendrobium* (Widiastoety&Muharam 1988). Chang *et al.* (2004) melaporkan bahwa perlakuan Ribavirin pada konsentrasi 0-30 ppm dapat membebaskan CyMV sekitar 5-17% pada anggrek *Oncidium* dengan media dasar *Murashige and Skooge*. Pembebasan CyMV juga berhasil melalui kombinasi perlakuan Ribavirin dengan kultur meristem, dengan ukuran jaringan meristem 0,1 mm – 1.0 mm (Lim, *et al.* 2008) dengan lama perlakuan satu bulan.

Hasil penelitian Wannakraioj, *et al.* (2001) menyebutkan pemberantasan CyMV, virus yang paling umum di anggrek *Dendrobium*, dilakukan dengan menggunakan *dithiouracil* (DTU) dan Ribavirin pada *protocorm likes bodies*

(plbs) dari klon dari *cutflower* anggrek, *Dendrobium* Sonia BOM 17. Ditemukan bahwa konsentrasi DTU 0,1; 0,15 dan 0,2 mM mengurangi laju pertumbuhan plbs, tetapi tidak mampu menghilangkan virus setelah 7 minggu di kultur cair. Sementara Ribavirin 0,1; 0,15 dan 0,2 mM dalam media cair menyebabkan Plbs mulai mati setelah 2 minggu. Penerapan Ribavirin 0,2 mM dalam media padat selama 1 minggu dan 0,2 mM dalam media padat selama 12 minggu menyebabkan produksi 19,4 % plbs bebas CyMV.

Ribavirin telah diketahui dapat menghilangkan atau mengeliminasi *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) pada anggrek dengan perlakuan konsentrasi tertentu. Namun sampai saat ini, hasil penelitian mengenai kajian eliminasi CyMV pada anggrek *Dendrobium* menggunakan zat antiviral Ribavirin belum banyak dilakukan dan belum mendapatkan hasil eliminasi yang cukup besar.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan konsentrasi optimum zat antiviral Ribavirin dalam eliminasi CyMV pada *protocorm like bodies* (plbs) anggrek *Dendrobium*.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Desember 2010 hingga April 2011. Tempat pelaksanaannya di Laboratorium Virologi, Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung – Cianjur.

Bahan dan Alat

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah plbs (*protocorm like bodies*) anggrek *Dendrobium* yang sudah diketahui terinfeksi CyMV melalui deteksi dengan DAS-ELISA (*Double Antybody*

Sandwich- Enzyme Linked Immunosorbent Assay), tanaman anggrek *Dendrobium* yang positif terinfeksi CyMV dan tanaman anggrek *Dendrobium* yang negatif atau tidak terinfeksi CyMV. Bahan kimia lain yang digunakan IgG CyMV (*Immunoglobulin G Cymbidium mosaic virus*), IgG-AP CyMV (IgG-Alkalin posfatase CyMV), KH₂PO₄, diethanolamine, H₃BO₃, Alkohol 96%, Spiritus, Ribavirin, Sukrosa, agar, dll. Sedangkan alat yang digunakan pada penelitian eliminasi CyMV pada anggrek *Dendrobium* dengan menggunakan antiviral Ribavirin adalah plate ELISA, ELISA Reader, Beaker glass, gelas ukur, Bunsen, aluminium foil, pinset, petri dish, mikrotiter dan alat lainnya sebagai penunjang.

Metode Penelitian Deteksi CyMV pada plbs anggrek *Dendrobium* (Clark and Adam 1977)

Untuk mendapatkan plbs tanaman anggrek yang terinfeksi CyMV dilakukan deteksi terhadap plbs yang sudah tersedia di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung – Cianjur melalui teknik DAS ELISA. Plbs yang tidak terinfeksi CyMV digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan plbs yang terinfeksi digunakan sebagai kontrol positif dan sebagai materi yang akan diberi perlakuan.

Perbanyak plbs yang Terinfeksi CyMV pada Media VW (Vacin and Went) Cair (Diningsih *et al* 2009)

Perbanyak plbs terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi CyMV dilakukan pada media VW Cair. Kultur plbs diinkubasikan selama dua bulan dalam ruangan kultur (18°C) dengan intensitas cahaya 1000 lux sambil digoyang sehingga siap untuk diberi perlakuan.

Eliminasi CyMV dengan Perlakuan Antiviral Ribavirin (Widiastoeti & Muharam 1988; Lim et al 2008)

Plbs yang akan diberi perlakuan berukuran sekitar 5 mm kemudian ditanam pada media dasar Vacin and Went padat yang mengandung Ribavirin dengan 6 taraf perlakuan yaitu 0, 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Ribavirin dicampurkan ke dalam medium steril dengan cara difilter menggunakan saringan bakteri / milifore (Gelman science 0.22 μm). Botol kultur disimpan pada ruang kultur (18°C) dengan intensitas cahaya 1000 lux. Perlakuan dilakukan dengan 3 kali subkultur pada media yang sama masing-masing selama 18 hari dan pada akhir masa perlakuan sub kultur dilakukan kembali deteksi keberadaan CyMV dengan DAS ELISA.

Analisis Statistika

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan enam perlakuan (konsentrasi Ribavirin 0, 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm) dengan banyaknya ulangan tiga kali. Masing-masing botol perlakuan berisi lima buah plbs. Parameter yang diamati adalah % Hidup, dan % Bebas CyMV.

Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf 0.05 serta uji beda nyata dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi CyMV pada plbs Anggrek *Dendrobium*

Untuk mendapatkan plbs anggrek *Dendrobium* yang digunakan selanjutnya untuk perlakuan dengan antiviral Ribavirin, telah dilakukan

pengujian atau deteksi CyMV pada tiga jenis plbs yang terdapat di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Hias Cianjur. Plbs anggrek yang diuji adalah jenis *Dendrobium* Jayakarta (*D. Jayakarta*), *D. Polisema* dan *D. Sonia*. Berdasarkan hasil uji DAS-ELISA terhadap CyMV pada ketiga jenis plbs, diketahui bahwa plbs *D. Jayakarta* menunjukkan reaksi positif terhadap antiserum CyMV, artinya mengandung partikel CyMV, sedangkan plbs *D. Polisema* dan *D. Sonia* bereaksi negatif. Dengan demikian, plbs anggrek *D. Jayakarta* digunakan selanjutnya untuk perlakuan dengan antiviral Ribavirin.

ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) adalah suatu teknik deteksi dengan metode serologis yang berdasarkan atas reaksi spesifik antara antigen dan antibodi, mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Prinsip dasar ELISA (Burgess 1995) adalah analisis interaksi antara antigen dan antibodi yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabel enzim. Enzim ini akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi pada ELISA *plate reader*.

Prinsip pengujian virus dengan metode ELISA adalah antibodi (protein) virus yang spesifik teradsorpsi pada permukaan lubang "*polystyrene microtiter plate*". Antibodi tersebut akan menangkap antigen (virus yang terdapat pada sampel). Selanjutnya virus tersebut akan bereaksi dengan spesifik antibodi yang telah dilabel

dengan alkalin fosfatase. Ada tidaknya virus dalam sampel ditandai dengan berubahnya warna menjadi kuning setelah diberi penyangga substrat yang mengandung 4-nitrofenilfosfat. Perubahan warna terjadi karena 4-nitrofenil dirubah menjadi 4-nitrofenol yang intensitas warna kuningnya sebanding dengan banyaknya antigen yang tertangkap oleh antibodi (Clark & Adam 1977; BALITHI 2003).

Pengaruh Perlakuan Zat Antiviral Ribavirin Terhadap Keberadaan *Cymbidium mosaic virus* (CyMV) dalam plbs Anggrek *Dendrobium* Jakarta

Pada perlakuan tanpa zat antiviral Ribavirin (0 ppm) baik pada subkultur pertama, kedua maupun ketiga (18–54 hari setelah tanam), keberadaan CyMV masih terdeteksi (Tabel 1). Pada subkultur pertama dan kedua tampak bahwa setiap perlakuan zat antiviral Ribavirin belum menunjukkan perlakuan yang dapat membebaskan CyMV dalam plbs anggrek *D. Jakarta*. Dengan demikian pada subkultur pertama dan kedua pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa plbs terdeteksi masih mengandung atau terinfeksi CyMV. Penambahan zat antiviral Ribavirin tampak berpengaruh pada subkultur ketiga yaitu setelah 3 x 18 hari atau 54 hari setelah tanam.

Tabel 1 Persen Bebas CyMV dalam plbs anggrek *D. Jakarta* pada setiap subkultur

Perlakuan/ Konsentrasi Ribavirin (ppm)	% Bebas CyMV		
	Subkultu r 1	Subkultur 2	Subkultur 3
0	0 _a	0 _a	0 _a
10	0 _a	0 _a	33.33 _{ab}
20	0 _a	0 _a	33.33 _{ab}
30	0 _a	0 _a	100 _b
40	0 _a	0 _a	100 _b
50	0 _a	0 _a	100 _b

Keterangan :

Subkultur 1 = 18 hari setelah tanam; subkultur 2 = 36 hari setelah tanam dan subkultur 3 = 54 hari setelah tanam

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Pada subkultur ketiga perlakuan zat antiviral Ribavirin 10 ppm dan 20 ppm belum dapat mengeliminasi CyMV dengan sempurna. Hal ini tampak pada perlakuan tersebut dapat membebaskan CyMV pada plbs anggrek *D. Jakarta* sebesar 33.33% (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan eliminasi yang baik bila dibandingkan hasil penelitian sebelumnya yaitu Diningsih, *et al.* (2010), dimana perlakuan 10 ppm dan 20 ppm zat antiviral Ribavirin terhadap anggrek *D. Burana stripe* hanya dapat mengeliminasi CyMV sebesar 20%. Bahkan pada konsentrasi perlakuan 40 ppm juga belum dapat mengeliminasi sempurna CyMV dengan persen bebas virus 20%.

Eliminasi sempurna CyMV pada plbs anggrek *D. Jakarta* tampak pada subkultur ketiga dengan perlakuan konsentrasi zat antiviral Ribavirin 30, 40 dan 50 ppm. Persen bebas CyMV menunjukkan hasil 100% pada ketiga perlakuan tersebut. Pada konsentrasi tersebut dapat dikatakan bahwa zat antiviral Ribavirin telah mampu

mengeliminasi CyMV pada plbs anggrek *D. Jayakarta* dengan sempurna.

Dari ketiga subkultur, eliminasi CyMV pada plbs anggrek *D. Jayakarta* yang paling baik terdapat pada subkultur ketiga, pada konsentrasi zat antiviral Ribavirin 10 dan 20 ppm menghasilkan persen bebas sebesar 33.33% selanjutnya pada konsentrasi 30, 40 dan 50 ppm menghasilkan persen bebas sebesar 100%. Setelah dilakukan dengan uji ANOVA yang menunjukkan P value < 0.05 yang artinya perlakuan Ribavirin dapat membebaskan CyMV. Setelah dilakukan uji lanjut Duncan ($\alpha=0.05$) variasi tersebut hanya berbeda nyata terhadap konsentrasi perlakuan zat antiviral Ribavirin 0 ppm dengan persen bebas CyMV pada anggrek *D. Jayakarta* sebesar 0% (Tabel 1).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa zat antiviral Ribavirin pada taraf konsentrasi yang diuji memiliki aktivitas antiviral terhadap CyMV dengan kemampuan eliminasi berkisar antara 33.33 - 100%. Berdasarkan hal tersebut maka untuk mendapatkan tanaman anggrek yang bebas CyMV dengan jumlah yang memadai, dapat dilakukan perbanyakan dengan menggunakan plbs yang sudah bebas dari infeksi virus tersebut.

Hsu *et al.* (1992) mengemukakan bahwa disamping penggunaan zat antiviral, pengendalian infeksi virus dalam tanaman anggrek akan tergantung pada seleksi dan perbanyakan tanaman bebas virus serta eradikasi spesimen yang terinfeksi penyakit. Penggunaan zat antiviral Ribavirin dalam eliminasi virus juga dilaporkan oleh Albouy *et al.* (1996), bahwa penggunaan Virazole (nama dagang yang mengandung zat antiviral Ribavirin) pada konsentrasi 25 ppm menunjukkan 95% planlet tanaman

anggrek bebas virus dapat diperoleh setelah melakukan subkultur sebanyak lima kali ke dalam media padat yang sama yang mengandung Virazole 25 ppm, dan subkultur dilakukan setiap 18 hari. Sedangkan hasil penelitian ini pada konsentrasi Ribavirin 20 ppm dapat membebaskan CyMV pada plbs anggrek *D. Jayakarta* 33.33% dan pada konsentrasi 30 ppm sebesar 100% hanya dengan 3 kali subkultur, dan perlakuan subkultur yang sama yaitu setiap 18 hari. Sehingga hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan yang dilaporkan Albouy (1996). Selain penggunaan zat antiviral Ribavirin, Diningsih, *et al.* (2010) melakukan penelitian eliminasi CyMV pada anggrek *D. Burana Stipe* dengan Ribavirin. Hasil penelitiannya menunjukkan pada konsentrasi Ribavirin 40 ppm, plbs yang bebas virus sebesar 20% setelah kultur selama 2 bulan. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dimana pada konsentrasi Ribavirin 40 ppm ternyata plbs yang bebas CyMV adalah eliminasi yang sempurna sebesar 100% setelah dilakukan subkultur sebanyak 3 kali pada media padat yang sama dengan subkultur dilakukan setiap 18 hari, bahkan dengan pada perlakuan konsentrasi Ribavirin 20 ppm saja sudah dapat menghasilkan plbs anggrek *D. Jayakarta* sebanyak 33.33% bebas CyMV. Perbedaan hasil ini bisa disebabkan karena suplai nutrisi bagi pertumbuhan plbs juga mempengaruhi. Pada penelitian yang dilakukan Diningsih, *et al.* (2010) tidak dilakukan subkultur tetapi langsung proses kultur selama 2 bulan, dimana dimungkinkan tidak ada pembaruan pemberian nutrisi pada media yang menyebabkan absorpsi zat antiviral menjadi terhambat dan tidak merata.

Pengaruh Antiviral Ribavirin Terhadap Pertumbuhan plbs Anggrek *D. Jayakarta*

Pengaruh perlakuan antiviral Ribavirin terhadap persen hidup plbs anggrek *D. Jayakarta* pada masing-masing subkultur dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan tabel tersebut dapat dikatakan bahwa perlakuan Ribavirin terlihat memberikan pengaruh sangat kecil jika dilihat dari persen hidupnya yang tidak 100% pada beberapa perlakuan, akan tetapi setelah dilakukan uji ANOVA menunjukkan P value > 0.05 yang berarti perlakuan konsentrasi Ribavirin tidak mempengaruhi pertumbuhan plbs anggrek *D. Jayakarta*. Dan setelah dilakukan pengujian dengan uji Duncan membuktikan bahwa ternyata hasil % hidup tidak berbeda nyata untuk setiap perlakuan pada setiap subkultur yang artinya pemberian zat antiviral Ribavirin tidak mempengaruhi pertumbuhan plbs anggrek *D. Jayakarta*.



Gambar 1 Plbs yang tumbuh dengan baik saat perlakuan Ribavirin 30 ppm pada subkultur ke 2



Gambar 2 Plbs yang mengalami perubahan warna saat perlakuan Ribavirin 30 ppm pada subkultur ke 3

Hal ini disebabkan karena Ribavirin akan bekerja terhadap CyMV yang terdapat dalam plbs tanpa mengganggu pertumbuhannya. Dimana mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat kerja RNA polymerase pada virus sehingga sintesis RNA menjadi terhambat pula (Wu, *et al.* 2003). Walaupun dari hasil penelitian tampak ada sebagian kecil ulangan perlakuan Ribavirin pada plbs anggrek *D. Jayakarta* yang menunjukkan penurunan persen hidup menjadi 83.33 – 89.89% (Tabel 2), akan tetapi tetap masih menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. Hal ini terjadi dimungkinkan karena ada beberapa plbs anggrek *D. Jayakarta* yang daya tahannya menurun dan tidak mampu beradaptasi dengan media yang mengandung Ribavirin, sehingga memperlihatkan efek fitotoksiknya. Menurut McEvoy (2005) menyebutkan Ribavirin bersifat fitotoksik pada konsentrasi 100 ppm.

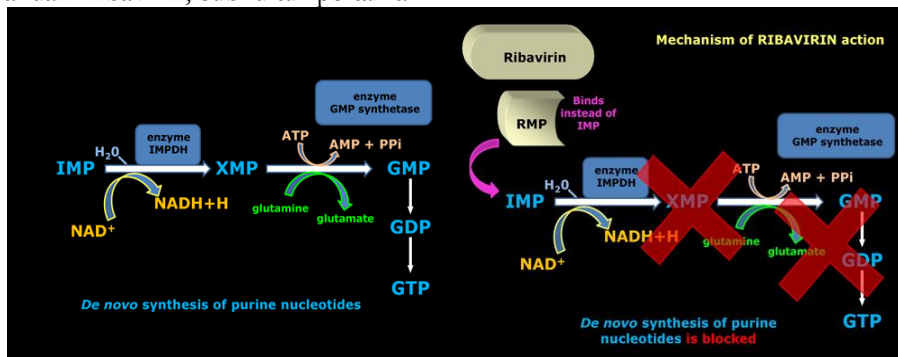
Tabel 2 Persen Hidup plbs anggrek *D. Jayakarta* pada setiap subkultur

Perlakuan/ Konsentrasi Ribavirin (ppm)	% Hidup		
	Subkultur 1	Subkultur 2	Subkultur 3
0	100 _a	100 _a	100 _a
10	100 _a	100 _a	100 _a
20	100 _a	100 _a	100 _a
30	100 _a	100 _a	88.89 _a
40	100 _a	100 _a	77.78 _a
50	100 _a	83.33 _a	88.89 _a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%

Berdasarkan hasil penelitian ini plbs yang ditanam dalam media yang mengandung Ribavirin diketahui tidak terganggu pertumbuhannya. Sebelum perlakuan Ribavirin, subkultur pertama

dan kedua deteksi dengan DAS-ELISA menunjukkan CyMV masih menginfeksi plbs anggrek *D. Jayakarta*. Sedangkan pada subkultur ketiga yaitu setelah 3 x 18 hari diketahui plbs bebas CyMV 33.33 -100%. Menurut Lehninger (2007) protein virus tidak terdeteksi atau tidak reaktif lagi dengan antibodi yang digunakan dalam DAS-ELISA, hal ini disebabkan CyMV tidak dapat melakukan perbanyakan virusnya karena proses replikasi dan sintesis RNA-nya terhambat, yang menyebabkan lama kelamaan virus tersebut mati dan tidak aktif lagi. Protein virus tersebut akan didegradasi menjadi asam-asam amino pembentuknya dan akan menjadi bahan untuk pertumbuhan perkembangan plbs.



Gambar 3 Mekanisme kerja agen antiviral

Target dari penggunaan Ribavirin adalah RNA CyMV, dimana pada batas konsentrasi tertentu dapat mengeliminasi CyMV secara optimum tanpa mengganggu pertumbuhan plbs anggrek *Dendrobium* sebagai inangnya. Ribavirin merupakan analog guanosisin dan adenosin yang dimetabolisme menyerupai nukleotida RNA purin. Dimana mekanisme kerjanya adalah menghambat kerja RNA polimerase

(Wu, *et al* 2003). Wu (2003) menyebutkan bahwa RNA virus akan berkompetisi dengan Ribavirin yang merupakan analog basa purin RNA untuk berikatan dengan RNA polimerase. Ikatan dengan Ribavirin lebih kuat yang menyebabkan virus tidak bisa melakukan replikasi karena kerja RNA polimerase untuk berikatan dengan RNA virus terhambat. Selain itu disebutkan pula bahwa Ribavirin (VIRAZOLE ®), suatu analog

nukleosida purin, mekanisme tindakannya dapat dilakukan dengan penghambatan inosin monofosfat dehidrogenase (IMPDH), sebuah enzim dalam jalur sintesis purin de novo. Ribavirin menghambat IMPDH melalui metabolit 5'-Ribavirin monofosfat (RMP) (Gambar 3).

SIMPULAN

Protocorm like bodies (plbs) anggrek *Dendrobium* Jayakarta yang digunakan untuk perlakuan eliminasi *Cymbidium mosaic virus* menggunakan zat antiviral Ribavirin positif terinfeksi CyMV. Konsentrasi optimum Ribavirin paling baik untuk eliminasi CyMV pada plbs anggrek *D.* Jayakarta sebesar 30 ppm setelah dilakukan tiga kali subkultur (masing-masing subkultur dilakukan selama 18 hari) dengan plbs bebas CyMV 100%. Konsentrasi optimum Ribavirin 30 ppm tidak mengganggu pertumbuhan plbs anggrek *D.* Jayakarta.

SARAN

Eliminasi CyMV pada plbs anggrek *Dendrobium* dapat menggunakan zat antiviral Ribavirin 30 ppm. Plbs anggrek *D.* Jayakarta yang telah bebas CyMV dapat diperbanyak untuk penyediaan benih anggrek *Dendrobium* Jayakarta bebas CyMV.

DAFTAR PUSTAKA

- Albouy J, Flouzat C, Kusiak C, Tronchet M. 1996. Eradication of orchid viruses by chemotherapy from in vitro cultures of *Cymbidium*. ISHS Acta Horticulturæ 234. 1988 : VII *International symposium on virus diseases of ornamental plants*.
- BALITHI. 2003. Instruksi kerja metode uji virus. Laboratorium pengujian BALITHI.
- BALITHI. 2003. Budidaya anggrek. Cianjur : BALITHI
- Bos L. 1983. Introduction to plant virology. PUDOC, Wageningen, the Netherlands. hlm 226
- BPTP [Balai Pengkajian Teknologi Pertanian]. 2005. Prospek dan arah pengembangan agribisnis anggrek. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Burgess GW. 1995. Prinsip dasar ELISA dan variasi konfigurasi, teknologi ELISA dalam diagnosis dan penelitian GW. Burgess (Ed) Wayan T. Ariana (terjemahan). Gajahmada University Press. Yogyakarta
- Chang CA, Lin MC, and Chen CC. 2004. Improvement of virus indexing and elimination techniques for the certification of *Oncidium* seedlings. Dept. of plant pathology, Taiwan Agricultural Research Institute. Taiwan
- Clark MF and Adam AN. 1977. Characteristics of the Microplate of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol 34 : 475 – 483.
- Diningsih E, Sulyo Y, Muharam A, Widiastoety D. 2009. Eliminasi *Cymbidium mosaic virus* dan *Odontoglossum ringspot virus* pada anggrek *Dendrobium* dengan Pemanasan dan antiviral amantadine. BALITHI.

- Diningsih E, Muharam A, Sulyo Y, Raharjo IB, Widiastoety D. 2010. Eliminasi *Cymbidium mosaic virus* (CYMV) pada anggrek *Dendrobium* dengan senyawa antiviral Amantadin dan Ribavirin. BALITTI
- Dirjen Hortikultura. 2008. Upaya perbaikan benih hortikultura untuk mengurangi impor benih serta pengembangan sentra produksi hortikultura. [http: www.deptan.go.id](http://www.deptan.go.id) (15 Mei 2008).
- Frowd, JA and Tremaine, JH. 1977. *Cymbidium mosaic virus* genomic RNA. *Phytopathology* 67:43.
- Gara IW, Kondo H, Maeda T, Mitsuhata K and Inouye N. 1996. Further characterization of *Cymbidium mosaic virus* from *Vanda* orchid. Research Institute for Bioresources. Okayama University.
- Hsu, H. T., D. Vongsasitorn, and R. H. Lawson. 1992. An improved method for serological detection of cymbidium mosaic potexvirus infection in orchids. *Techniques* 82(4):491-495.
- [ICTVdB] International Committee on Taxonomy of Viruses database Description. 2002. 00.056.0.01.007. *Cymbidium mosaic virus*. [http: www.Ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm](http://www.Ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm)
- Lehninger AL. 2004. *Principles of Biochemistry*. Amhrest: Elsevier Science.
- Lim ST, Wong SM, Goh CJ. 2008. Elimination of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* orchids by meristem culture and thin section culture with chemotherapy. *Annal of applied biology* 122 (2) : 289 – 297.
- McEvoy, G.K. (Ed.). American Hospital Service-information of drug formulation. Bethesda, MD: American Society of Health-Sistem Apoteker, Inc 2005 (Plus Suplemen), hal. 809]
- Muis A. 2002. *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) penyebab penyakit mosaik pada tanaman jagung di Sulawesi. *Jurnal Litbang Pertanian*, 21(2).
- Pranata A. 2007. Panduan budidaya dan perawatan anggrek. Jakarta: agromedia Pustaka.
- Pearson and Cole. 2008. The effects of *Cymbidium mosaic virus* and *Odontoglossum ringspot virus* on the growth of *Cymbidium* orchids. *J Phytopathology* 119 (3) : 193 – 197.
- Sutula CL, Gillet GM, Morrissey SM and Ramsdell DC. 1986. Interpreting ELISA Data and Establishing The Positive-Negative Threshold. *Plant Disease. Journal of the American Phytopathological Society*. Volume 70, Number 8 : 722-726.
- Tanaka S, Nishii H, Ito S, Iwaki MK. 1997. Detection of *Cymbidium mosaic virus* and *odontoglossum ringspot tobamovirus* from Thai orchids by rapid Immunofilter Paper Assay. *Plant disease* 81: 167-170
- Wannakrairoj S. and Gladpan S. 2001. Eradication of *Cymbidium Mosaic Virus* in *Dendrobium Sonia* BOM 17

by in vitro chemotherapy.
Agricultural Science Journal (Jan-Aug
2001)

Widiastoety and Muharam. 1988.
Teknik perbanyak benih anggrek
Dendrobium bebas virus. Kumpulan
laporan hasil penelitian tanaman
hias.

Wisler GC. 1989. How to control
orchid viruses : the complete guide
book. USA: Maupin House
Publisher.

Wu JZ., Lin CC, Hing Z. 2003.
Ribavirin, viramidine and
adenosine-deaminase-catalysed
drug activation: implication for
nucleoside prodrug design. *Journal
of Antimicrobial Chemotherapy* (2003)
52,543-546.

