

INTENSITAS SERANGAN DAN PERSENTASE KERUSAKAN TANAMAN JERUK TERSERANG CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) DI KABUPATEN KARANGASEM

I Made Asta Gunawan^{1*}, I Gusti Ayu Diah Yuniti², Putu Lasmi Yuliyanthi Sapanca²

¹Balai Penerapan Standar Instrumen Pertanian (BPSIP) Bali

²Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Bisnis Universitas Mahasaraswati Denpasar

*Email korespondensi: astagunawan10@gmail.com

ABSTRACT

Citrus are a local fruit that is widely available on the market. The quality of citrus fruit can be influenced by various factors, including attacks by Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD). CVPD is a disease of citrus plants, known as citrus greening, yellow shoot, leaf mottle (Philippines), likubin or decline (Taiwan), citrus dieback (India), blotchy-mottle or mottling disease (Africa); with the international name huanglongbing (China). CVPD disease is classified as one of the important diseases in citrus plants which has developed widely and is the main obstacle to efforts to develop and increase orange production in Bali. PCR analysis to detect the presence of CVPD disease is carried out using specific primers from 16S rDNA. Based on the results of observing symptoms in Karangasem Regency, the percentage of damage due to CVPD ranges from 61% to 87%. The average percentage of citrus plants showing symptoms of CVPD attack was 72.67%, the lowest percentage was experienced by tangerines and the highest was shown by Selayar oranges (87%).

Keywords : intensity, citrus, PCR, CVPD

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan buah yang digemari masyarakat baik sebagai buah segar maupun olahan. Sebagai komoditas yang bernilai ekonomi tinggi, pengembangan jeruk perlu mendapat perhatian yang besar mengingat kontribusinya yang besar pada perekonomian nasional (Simatupang, 2009). Peningkatan produksi jeruk belum mampu untuk memenuhi kebutuhan pasar dan belum mampu bersaing di pasar pariwisata karena dalam peningkatan produksi masih ada hambatannya terutama disebabkan oleh beberapa faktor antara lain faktor budidaya, adanya serangan hama dan patogen serta penanganan panen serta pasca panen (Wirawan *et al.*, 2014).

Tanaman jeruk (*Citrus spp.*) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang sangat penting dalam perekonomian masyarakat. Tanaman ini sudah lama dikenal dan dibudidayakan di Indonesia (Wahyuningsih, 2009). Jeruk selalu tersedia sepanjang tahun karena tanaman jeruk tidak mengenal musim berbunga yang khusus (Zubaidah, 2010). Jeruk adalah buah lokal yang cukup banyak beredar di pasaran, kualitas buah jeruk dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain serangan penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) (Wirawan *et al.*, 2014).

CVPD adalah salah satu penyakit tanaman jeruk, yang dikenal dengan *citrus greening, yellow shoot, leaf mottle* (Filipina), *likubin* atau *decline* (Taiwan), *citrus dieback* (India), *blotchy-mottle* atau *mottling disease* (Afrika); dengan nama internasional huanglongbing (China) (Zubaidah, 2010). Penyakit CVPD tergolong salah satu penyakit penting pada tanaman jeruk yang telah berkembang luas dan menjadi kendala utama usaha pengembangan dan peningkatan produksi jeruk di Bali (Wijaya, 2007). Penyakit CVPD menyebabkan kualitas buah menjadi kecil, rasanya masam yang banyak merugikan petani. Penyakit CVPD disebabkan oleh bakteri *Libeobacter asiaticum*, bakteri tersebut masuk ke dalam sel tanaman yaitu melalui tusukan serangga vektor *Diaphorina citri*, hal tersebut menyebabkan daun tanaman menguning (klorosis) dan buahnya kecil-kecil (Wirawan *et al.*, 2004). Disamping itu, standarisasi buah jeruk yang meliputi standar panen dan standar pasca panen seperti grading (pengelompokan) buah, keseragaman warna buah, pengemasan, penyimpanan, transportasi,

kadar air, kandungan vitamin C, dan kandungan buah yang beredar di pasar kurang mampu bersaing mengalahkan buah impor (Yuniti *et al.*, 2017).

Perkembangan penelitian bioteknologi berbasis biologi molekuler, telah banyak memberi percepatan terhadap kemajuan penelitian penyakit CVPD. Penyebab penyakit CVPD pada tanaman jeruk adalah bakteri *L. asiaticum* untuk di Asia dan *L. africanum* untuk di Afrika yang merupakan bakteri gram negatif dibuktikan dengan keberadaan sekuen 16S rDNA (Sandrine *et al.*, 1996).

PERMASALAHAN

Beberapa permasalahan yang dapat dirumuskan berkaitan dengan analisis situasi di atas yaitu sebagai berikut : 1. Apakah petani jeruk di Kabupaten Karangasem sudah mengetahui adanya penyakit CVPD. 2. Apakah petani jeruk di Kabupaten Karangasem mengetahui gejala serangan penyakit dan faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit CVPD.

METODOLOGI

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode diskriptif, melalui pengamatan persentase dan intensitas serangan penyakit CVPD di lapangan. Pengamatan pertanaman yang menunjukkan gejala penyakit CVPD dilakukan dengan mengamati 100 pohon tanaman jeruk dalam satu hamparan di Kabupaten Karangasem. Peubah yang diamati adalah persentase tanaman yang menunjukkan gejala penyakit CVPD dan intensitas kerusakan tanaman terserang. Persentase tanaman jeruk yang terserang CVPD dan intensitas kerusakan tanaman yang terserang CVPD dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Persentase serangan penyakit CVPD (Boggie dan Hans, 1995)

$$PP = \frac{X}{N} \times 100 \% \quad (1)$$

Keterangan : PP = Persentase tanaman jeruk yang terserang CVPD
X = Jumlah tanaman yang terserang CVPD
N = Jumlah tanaman yang diamati

Intensitas kerusakan tanaman yang terserang CVPD (Putra, 1986)

$$IP = \frac{\sum(n \times v)}{ZN} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan : IP = Intensitas tanaman jeruk yang terserang CVPD
n = Jumlah pucuk tanaman yang terserang CVPD
v = Nilai skala (harga numerik) dari setiap kategori
Z = Nilai skala dari kategori tertinggi
N = Jumlah pucuk tanaman keseluruhan yang diamati

Tabel 1. Intensitas Tanaman Terserang CVPD

Nilai	Tingkat serangan
0%	Tidak ada gejala CVPD
> 1% - 25%	Bergejala ringan
> 25% - 50%	Bergejala sedang
> 50% - 75%	Bergejala berat
> 75% - 100%	Bergejala sangat berat / puso

Tabel 2. Tabel skor (nilai numerik) intensitas tanaman jeruk terserang penyakit CVPD

Skor	Persentase Gejala CVPD dalam (%)
1	Tidak ada gejala CVPD 0% pucuk menunjukkan gejala CVPD
2	Bergejala ringan 1% - 25% pucuk menunjukkan gejala CVPD
3	Bergejala sedang 25% - 50% pucuk menunjukkan gejala CVPD
4	Bergejala berat 50% - 75% pucuk menunjukkan gejala CVPD
5	Bergejala sangat Berat / puso 75 % - 100% pucuk menunjukkan gejala CVPD

Deteksi penyakit CVPD dilakukan dengan menggunakan primer 16S rDNA, Forward Primer OI1 (5' GCG CGT ATG CAA TAC GAG CGG C 3') dan Reverse Primer OI2c (5' GCC TCG CGA CTT CGC AAC CCA T 3') melalui beberapa tahap, tahapan tersebut antara lain total DNA dari tanaman jeruk diisolasi menggunakan kit NucleoSpin® Plant II dari Marchery-Nagel dan sampel diambil dari tulang daun dengan pengamatan terhadap gejala serangan CVPD.

Analisis PCR untuk mendeteksi keberadaan penyakit CVPD dilakukan dengan menggunakan primer spesifik dari 16S rDNA. DNA hasil isolasi diamplifikasikan dengan reaksi PCR sebagai berikut: 2µl DNA sampel, 1µl forward primer OI1, dan 1µl reverse primer OI2c, 10 µl PCR master mix solution, dan 6 µl buffer TE. Menggunakan primer OI1 dan OI2c ukuran DNA yang teramplifikasi adalah 1160bp. Amplifikasi DNA dilakukan dengan program sebagai berikut: Pre-treatment pada suhu 920C selama 30 detik dengan 1 siklus ulangan, Bagian kedua menggunakan 40 siklus ulangan: 1) Denaturasi pada suhu 920C selama 60 detik, 2) Annealing pada suhu 600C selama 30 detik dan, 3) Elongation pada suhu 720C selama 90 detik dan Extention pada suhu 720C selama 90 detik dengan 1 siklus ulangan. Amplifikasi DNA dengan PCR.

Gel agarose terdiri dari 1% agarose dilarutkan dalam 100 ml TAE buffer (terdiri dari 40 mM tris asetat pH 7,9; 2 mM Sodium EDTA). Sampel DNA (8µl DNA + 2µl loading dye) masing-masing diisikan pada sumuran gel. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 100 volt selama ± 20 menit. Rendam dalam larutan EtBr selama ± 15 menit. Kemudian hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transiluminator untuk melihat posisi pita (band) DNA dari tiap sampel kemudian di dokumentasikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keadaan umum pertanaman jeruk berdasarkan hasil pengamatan lapangan di lokasi didapatkan beberapa jenis tanaman jeruk seperti jeruk Keprok, jeruk Selayar, jeruk Siam, namun jeruk Siam merupakan jenis yang mendominasi pertanaman jeruk di Kabupaten Karangasem. Umumnya petani lebih senang menanam jenis Siam karena lebih cepat berbuah dan produktivitasnya lebih tinggi serta rasa buahnya yang manis. Usia tanaman jeruk di areal pertanaman jeruk di Kabupaten Karangasem berkisar antara 2 – 15 tahun. Di Kabupaten Karangasem menunjukkan bahwa penyakit CVPD telah menyerang pertanaman jeruk. Hal ini terjadi karena para petani setempat menggunakan bibit dengan mata tempel yang kemungkinan bibit tersebut diambil dari tanaman induk yang telah terinfeksi penyakit CVPD. Hal tersebut didukung oleh Adiartayasa (2006) yang melaporkan bahwa pada tahun 2004 di desa Katung dan Belancan petani membuat bibit jeruk sebanyak 10.000 pohon yang terdiri dari jeruk Selayar, jeruk Siam, yang akan ditanam pada perkebunan di Kabupaten Karangasem.

Gejala Serangan Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk (*Citrus* sp.). Berdasarkan hasil pengamatan secara visual, gejala serangan penyakit CVPD pada daun jeruk Selayar dan Siam di Kabupaten Karangasem tampak gejala klorosis yang bervariasi. (Gambar 1)



Gambar 1: Daun jeruk di Kabupaten Karangasem yang bergejala

Daun jeruk yang terserang CVPD (gambar 1) memperlihatkan gejala klorosis berat dengan warna lamina yang menguning pada semua permukaan daun, dan warna tulang daun tetap hijau, serta daun menjadi tebal dan kaku. tulang daun hijau dengan lamina daun yang masih tetap hijau, daun menjadi tebal dan kaku.

Menurut Yuniti *et.al* (2018) menyatakan bahwa tanaman jeruk yang terserang CVPD memperlihatkan gejala daun menguning atau klorosis, warna tulang daun tetap hijau, ukuran daun menjadi kecil dan daun menjadi kaku. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Sarwono (1995) bahwa klorosis terjadi karena pembentukan klorofil pada daun berkurang.

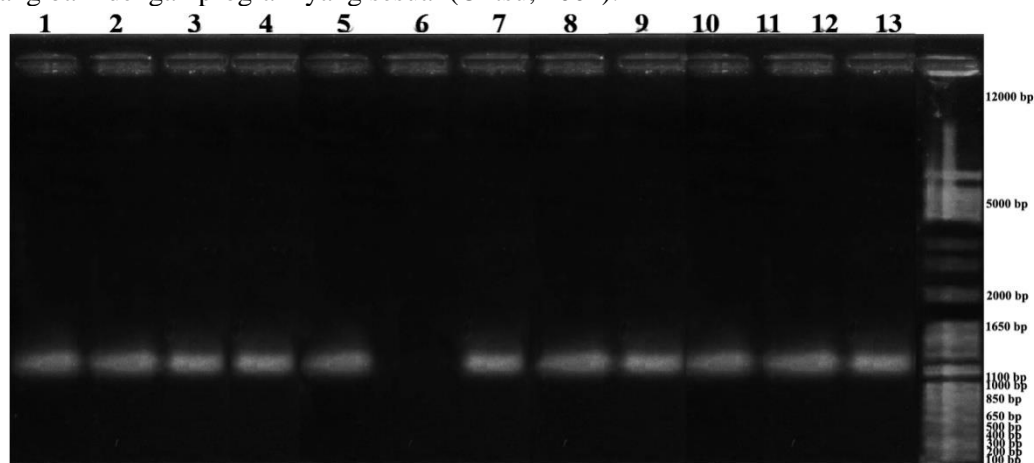
Intensitas serangan dan persentase kerusakan tanaman jeruk terserang CVPD berdasarkan hasil pengamatan gejala di Kabupaten Karangasem adalah persentase kerusakan CVPD berkisar antara 61% sampai dengan 87%. Hasil rata-rata persentase tanaman jeruk yang menunjukkan gejala serangan CVPD sebesar 72,67%, persentase terendah dialami oleh jeruk keprok dan tertinggi ditunjukkan oleh jeruk Selayar (87%) diperlihatkan dalam (Tabel 3).

Tabel 3. Intensitas dan Persentase Tanaman Jeruk Terserang CVPD

Jenis jeruk	Tanaman Jeruk Terserang CVPD (%)	
	Persentase Serangan (%)	Intensitas Serangan (%)
Jeruk Siem	70	42,2
Jeruk Keprok	61	44.4
Jeruk Selayar	87	55,5
Rata-rata	72,6	47,37

Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa penyakit CVPD telah menyerang sebagian besar pertanaman jeruk di Kabupaten Karangasem, oleh sebab itu sebaiknya segera dilakukan tindakan pengendalian untuk mencegah penyebaran penyakit semakin luas.

Deteksi Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk dengan PCR. Isolasi Total DNA Hasil isolasi total DNA pada daun tanaman jeruk Siem, Selayar dan keprok di Kabupaten Karangasem terlihat adanya lajur pita DNA pada elektroforesis gel agarose 1% (Gambar 2). Isolasi total DNA dilakukan untuk memperoleh DNA template yang berkualitas baik untuk melakukan amplifikasi PCR, karena seperti yang dinyatakan oleh Taylor (1993), amplifikasi dengan teknik PCR memerlukan kualitas DNA yang baik dengan program yang sesuai (Ohtsu, 2002).



Gambar 2: Hasil PCR dari daun jeruk Siem, Selayar dan Keprok di Kabupaten Karangasem

Visualisasi Hasil Amplifikasi PCR terhadap DNA yang diisolasi dari sampel daun tanaman jeruk tidak bergejala dan yang bergejala penyakit CVPD menunjukkan bahwa dari tigabelas sampel tanaman jeruk Selayar, Keprok dan Siam yang digunakan menunjukkan terlihat adanya pita DNA dengan ukuran 1160 bp yakni pada kolom 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8,9,10,11,12,13 (Gambar 2), hal itu berarti 12 sampel tersebut mengandung bakteri *Liberobacter* dimana patogen penyebab penyakit CVPD di Bali adalah bakteri *L. asiaticum* karena keberadaan bakteri ini terdeteksi,akan tetapi pada sampel enam tidak terdeteksi adanya bakteri *L.asiaticum*.

Sampel daun jeruk baik Selayar, Keprok maupun Siam yang bergejala CVPD akan menunjukkan pita DNA dengan ukuran 1160 bp pada hasil PCR yang berarti sampel tersebut positif mengandung bakteri *Liberobacter*, patogen penyebab penyakit CVPD. Tetapi tidak semua daun yang bergejala terinfeksi CVPD. Hal tersebut didukung oleh Wirawan, dkk (2003) yang menyatakan bahwa tidak semua daun-daun pada ranting yang menunjukkan gejala serangan CVPD positif mengandung bakteri *L. asiaticum*. Dapat terjadi daun bagian atas positif mengandung bakteri sedangkan daun bagian bawahnya negatif. Wirawan, *et.al* (2003) juga menyatakan bahwa penemuan ini menunjukkan bahwa tidak diperlukan adanya patogen pada bagian daun tanaman untuk memunculkan gejala penyakit atau dengan kata lain patogen yang berada pada daun tanaman lain dapat menyebabkan munculnya gejala pada daun disebelahnya atau diatas dan dibagian bawahnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Varietas jeruk yang damati di Kabupaten Karangasem yaitu Jeruk Siem, Keprok dan Selayar, ketiganya merupakan jenis jeruk yang mendominasi.
2. Penyakit CVPD masih tersebar luas di Kabupaten Karangasem. Gejala serangan penyakit CVPD pada daun tanaman jeruk Selayar, Keprok dan Siam menunjukkan gejala klorosis yang bervariasi.
3. Rata-rata persentase kerusakan adalah 72,67% dan rata-rata intensitas tanaman terserang penyakit CVPD adalah 47,37 %.
4. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan bahwa duabelas sampel daun tanaman terdapat pita DNA di ukuran 1.160 bp dan dapat dikatakan bereaksi positif dengan bakteri *L. asiaticum*.
5. Daun jeruk yang bergejala penyakit CVPD tidak selalu positif mengandung bakteri *L. asiaticum*.

REFERENSI

- Adiartayasa, W. 2006. Identifikasi Beberapa Varietas Jeruk dan Deteksi Patogen CVPD dengan PCR di Kecamatan Kintamani (tesis). Denpasar: Universitas Udayana.
- Boggie, L.M. & Person, H. 1988. Plant Roots and Their Environment. Development in Agricultural and Manajed, Forest, Uppsala Sweden. 560p.
- Ohtsu, Y. Nakashima, K. Prommintara M. and Tomiyasu, Y. 1998. Typical symptoms of citrus greening on Mandarin trees in Nepal, supported by detection and characterization of ribosomal DNA of the causal organisms. Annu. Phytopathol. Soc. Jpn. 64: 539-545.
- Putra, I.G.P.D. 1986. Cara Penilaian Serangan Penyakit di Lapangan. Petunjuk Praktikum Penyakit Tumbuhan. Bali: Fakultas Pertanian Universitas Udayana. 26 hal.
- Sandrine, J. Bove, J.M. and Garnier. 1996. PCR Detetion of The Two Candidatus *Liberobacter* Species Associated with Greening Disease of Citrus. Moleculer and celluler probes. 10:43-50
- Simatupang, S. 2009. Karakterisasi dan Pemanfaatan Plasma Nutfah Jeruk In Situ oleh Masyarakat Lokal Sumatera Utara. Sumatra Utara: Buletin Plasma Nutfah Vol.15 No.2 Th.2009. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Utara
- Soewarno, T.S. 1985. Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.
- Wahyuningsih, E. 2009. CVPD pada Jeruk (*Citrus spp*) dan Upaya Pengendaliannya. Jakarta: Vis Vitalis, Vol. 02 No. 2, September 2009. ISSN 1978-9513. Fakultas Biologi Universitas Nasional.
- Wijaya, I N. 2007. Penularan Penyakit CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) oleh *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) pada Tanaman Jeruk Siam. Agritrop .26(4):140-146.
- Wirawan, I G. P. Liliek, S. dan Wijaya. 2004. Penyakit CVPD Pada Tanaman Jeruk. Denpasar: Udayana University Press.
- Wirawan, I G.P. Julyasih, SM. Adiartayasa, W. Wijaya, N. dan Anom, P. 2014. Increasing Local Fruits Competitiveness In Entering The Tourism Market In Bali. International Journal Of Biosciences and Biotechnology, Vol. II No. 1 September 2014.

- Yuniti, IGAD., Putu Wirawan, I Gede; Wijaya, I Nyoman; Sritamin, Made. 2017. CVPD^r DNA Fragment Affect Differences In Resistant To Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) Disease, Nutrient Deficiencies And Quality Of Fruits. *International Journal Of Bioscience And Biotechnology*. 5(1) 69-79.
- Yuniti, IGAD., Putu Wirawan, I Gede; Wijaya, I Nyoman; Sritamin, Made. 2018. DNA Mutation in CVPD^r DNA Fragment of Bali Citrus, *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, ISSN : 1475-7192
- Zubaidah, S. 2010. Peningkatan Kemampuan Beberapa Antibiotik dalam Eliminasi Bakteri *Liberibacter asiaticus* untuk Mendapatkan Bibit Jeruk Bebas CVPD. Malang: *Jurnal ILMU DASAR* Vol. 11 No. 1, Januari 2010 : 45 – 54. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang.