

PERSENTASE PENYAKIT DAN INTENSITAS KERUSAKAN TANAMAN JERUK TERSERANG CVPD DI DESA PENGOTAN KABUPATEN BANGLI

OLEH: DRA. I GUSTI AYU DIAH YUNITI,MSI

Abstrak

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). 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). 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. Analisis PCR untuk mendeteksi keberadaan penyakit CVPD dilakukan dengan menggunakan primer spesifik dari 16S rDNA. Berdasarkan hasil pengamatan gejala di desa Pengotan persentase serangan 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%).

Kata Kunci: PCR, CVPD, *L. asiaticum*, Intensitas, Prosentase Serangan

I. 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 (Wirawan *et al.*, 2014).

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).

II. PERMASALAHAN

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

III. 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 desa Pengotan. 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)

$$PP = \frac{XX}{NN} \times 100 \% \quad (1)$$

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

Sumber : Sarwono, 1995

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

Sumber : Sarwono, 1995

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 Extension 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.

IV. 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 desa Pengotan. 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 desa Pengotan berkisar antara 2 – 15 tahun. Di desa Pengotan 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 desa Pengotan.

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 desa Pengotan tampak gejala klorosis yang bervariasi. (Gambar 1)



Gambar 1: Daun jeruk di desa Pengotan 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 Wijaya (2003) 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.

Persentase Serangan dan Intensitas Tanaman Terserang CVPD. Berdasarkan hasil pengamatan gejala di desa Pengotan persentase serangan 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. Persentase dan Intensitas Tanaman Jeruk Terserang CVPD

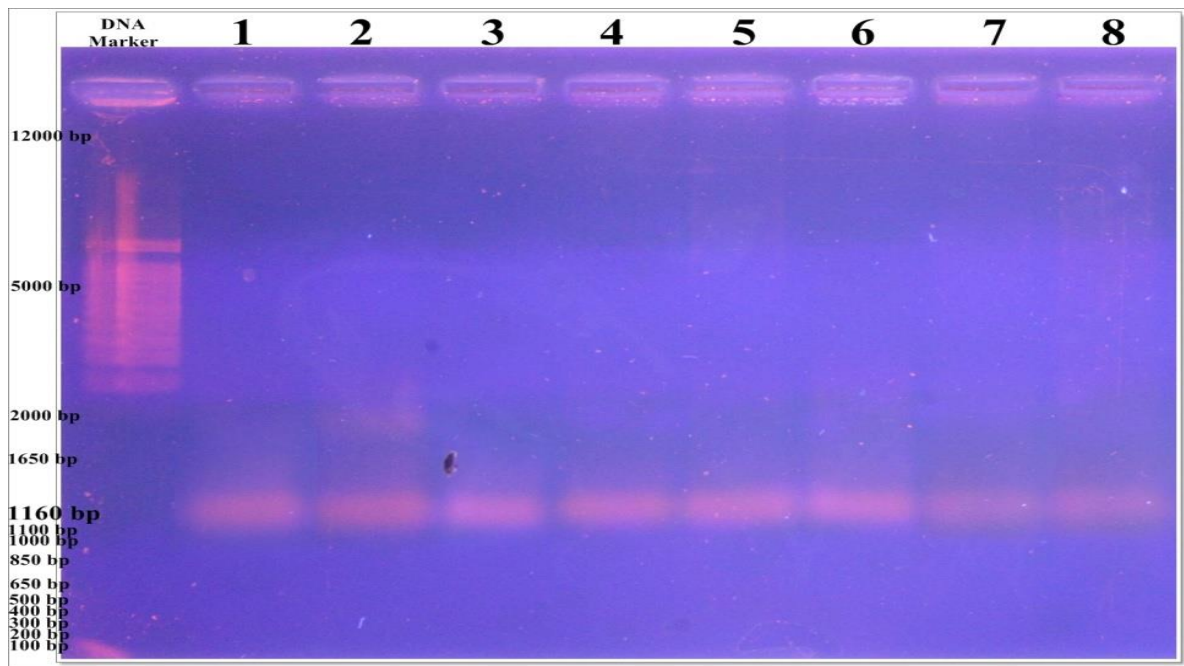
Jenis jeruk	Tanaman Jeruk Terserang CVPD (%)	
	Persentase Serangan (%)	Intensitas Serangan (%)
Jeruk Siem	70%	42,2 %
Jeruk Keprok	61%	44,4 %
Jeruk Selayar	87%	55,5 %
Rata-Rata	72,67%	47,37%

Sumber: Hasil Penelitian Yuniti, IGAD(2016)

Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa penyakit CVPD telah menyerang sebagian besar pertanaman jeruk di desa Pengotan, 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 desa Pengotan 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 desa Pengotan



Visualisasi Hasil Amplifikasi PCR terhadap DNA yang diisolasi dari sampel daun tanaman jeruk tidak bergejala dan yang bergejala penyakit CVPD menunjukkan bahwa dari delapan 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, 6, 7, 8, (Gambar 2), hal itu berarti delapan sampel tersebut mengandung bakteri *Liberobacter* dimana patogen penyebab penyakit CVPD di Bali adalah bakteri *L. asiaticum* karena keberadaan bakteri ini terdeteksi

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, dkk (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.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Varietas jeruk yang damati di desa Pengotan yaitu Jeruk Siem, Keprok dan Selayar, ketiganya merupakan jenis jeruk yang mendominasi.
2. Penyakit CVPD masih tersebar luas di desa Pengotan. Gejala serangan penyakit CVPD pada daun tanaman jeruk Selayar, keprok dan Siam menunjukkan gejala klorosis yang bervariasi.
3. Rata-rata persentase serangan adalah 72,67% dan rata-rata intensitas tanaman terserang penyakit CVPD adalah 47,37 %.
4. Hasil amplifikasi PCR menunjukkan bahwa delapan 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*.

DAFTAR PUSTAKA

- 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*. Sumatera 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.
- 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.