

M E N G E N A L
ANGGREK PHALAENOPSIS
&
PENYAKIT VIRUS TANAMAN

"Mengenal Anggrek Phalaenopsis dan Penyakit Virus Tanaman" merupakan buku teks yang diperlukan dalam mata kuliah wajib dan pilihan Orchidologi, Pengantar Virologi, Botani Ekonomi dan Etnobotani, dan Biologi Molekuler pada Program Studi Biologi. Mengingat belum adanya buku sejenis, Penulis berharap buku ini nantinya akan mempermudah mahasiswa dalam memahami konsep Botani Tanaman Anggrek Phalaenopsis dikaitkan dengan Ilmu Genetika (Molekuler) dan Virologi Tumbuhan.

M E N G E N A L
ANGGREK PHALAENOPSIS
&
PENYAKIT VIRUS TANAMAN



f Aura-Publishing
www.aura-publishing.com
@redaksiaura



MAHFUT

M E N G E N A L
ANGGREK PHALAENOPSIS
&
PENYAKIT VIRUS TANAMAN

Hak cipta pada penulis
Hak penerbitan pada penerbit
Tidak boleh diproduksi sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun
Tanpa izin tertulis dari pengarang dan/atau penerbit

Kutipan Pasal 72 :

Sanksi pelanggaran Undang-undang Hak Cipta (UU No. 10 Tahun 2012)

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal (49) ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau hasil barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)

M E N G E N A L
ANGGREK PHALAENOPSIS
&
PENYAKIT VIRUS TANAMAN

Dr. MAHFUT, S.Si., M.Sc.



Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**MENGENAL ANGGREK PHALAEOPSIS
DAN
PENYAKIT VIRUS TANAMAN**

Penulis:

Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.

Desain Cover & Layout

Team Aura Creative

Penerbit

AURA

CV. Anugrah Utama Raharja

Anggota IKAPI

No.003/LPU/2013

viii + 44 hal : 15,5 x 23 cm

Cetakan, November 2019

ISBN: 978-623-211-139-4

Alamat

Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro, No 19 D

Gedongmeneng Bandar Lampung

HP. 081281430268

082282148711

E-mail : redaksiaura@gmail.com

Website : www.aura-publishing.com

Hak Cipta dilindungi Undang-undang

KATA PENGANTAR

“Mengenal Anggrek *Phalaenopsis* dan Penyakit Virus Tanaman” merupakan buku teks yang diperlukan dalam mata kuliah wajib dan pilihan Orchidologi, Pengantar Virologi, Botani Ekonomi dan Etnobotani, dan Biologi Molekuler pada Program Studi Biologi. Mengingat belum adanya buku sejenis, Penulis berharap buku ini nantinya akan mempermudah mahasiswa dalam memahami konsep Botani Tanaman Anggrek *Phalaenopsis* dikaitkan dengan Ilmu Genetika (Molekuler) dan Virologi Tumbuhan.

Melalui kesempatan ini, Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang membantu dalam penyusunan buku ini. Termasuk kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) melalui Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Universitas Lampung melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta Jurusan Biologi.

Dengan ini, Penulis mengharapkan kritik serta saran dari para pembaca untuk menyempurnakan buku ini pada masa yang akan datang.

Penulis

DAFTAR ISI

I MENGENAL ANGGREK PHALAEOPSIS

1.1. Sejarah.....	1
2. Klasifikasi.....	2
3. Botani	4
4. Manfaat	6
5. Jenis anggrek Phalaenopsis	7
6. Hama dan Penyakit.....	9
7. Konservasi Anggrek (Insitu dan Eksitu).....	13

II VIROLOGI TUMBUHAN

2.1. Sejarah	15
2.2. Cara Infeksi dan Penyebaran Virus	16
2.3. Siklus Hidup Virus Tanaman.....	16
2.4. Fisiologi Tanaman Terganggu.....	23

III VIRUS TANAMAN ANGGREK

3.1. Jenis Virus Tanaman Anggrek.....	25
3.2. Metode Identifikasi dan Karakterisasi Virus.....	25
3.3. Odontoglossum ringspot virus (ORSV).....	34
3.3.1. Sejarah dan Distribusi	34
3.3.2 Karakteristik	34
3.3.3 Gejala Infeksi	35
3.3.4 Organisasi Genom.....	38

DAFTAR PUSTAKA.....	39
----------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keanekaragaman spesies anggrek Phalaenopsis sp. Alam di Indonesia	3
Tabel 2. Beberapa jenis virus yang menginfeksi anggrek	12
Tabel 3. Jenis tanaman indikator dan gejala terhadap infeksi ORSV	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Bagian-bagian bunga <i>Phalaenopsis stuartiana</i> Susanna	5
Gambar 2.	Bentuk bunga <i>Phalaenopsis</i> sp.....	6
Gambar 3.	Poses penetrasi partikel virus TMV	17
Gambar 4.	Macam-macam gejala infeksi virus pada tanaman....	20
Gambar 5.	Mekanisme translokasi cell to cell movement TMV pada tanaman.....	21
Gambar 6.	Ilustrasi proses infeksi dan penyebaran virus dalam tubuh tanaman	22
Gambar 7.	Model skematis daun dalam penurunan efektifitas penyerapan cahaya	24
Gambar 8.	Peta distribusi geografis ORSV di dunia	34
Gambar 9.	Ultra struktur ORSV	35
Gambar 10.	Beberapa gejala ORSV	36
Gambar 11.	Gejala ORSV pada bunga anggrek	37
Gambar 12.	Gejala infeksi ganda CymMV dan ORSV.....	37
Gambar 13.	Organisasi genom ORSV.....	38

I. MENGENAL ANGGREK PHALAEOPSIS

1.1 Sejarah

Nama *Phalaeopsis* berasal dari bahasa Yunani, yaitu *phalaenos* (ngengat atau kupu-kupu) dan *opsis* (menyerupai atau penampakan) (Setiawan dan Setiawan, 2002; Iswanto, 2005). C. L. Blume, seorang ahli botani berkebangsaan Belanda yang memberi nama genus anggrek ini dengan nama *Phalaeopsis* pada tahun 1825. Nama tersebut muncul pada saat ia menemukan untuk pertama kalinya di dalam hutan dan mengira telah melihat sekawan kupu-kupu putih yang hinggap pada sebatang ranting kayu (Suryowinoto, 1988; Iswanto, 2005).

Phalaeopsis amabilis (L.) Blume merupakan salah satu spesies yang dianggap memiliki peran paling penting sebagai induk persilangan. Sejarah penemuan anggrek ini terjadi pada abad ke-17 (Rukmana, 2000) di Ambon oleh Georgius Everhardus Rumphius dalam penjelajahannya ke Maluku. Rumphius telah mempublikasikan *Herbarium Amboinense* yang berisi gambar dan deskripsi anggrek ini di Amsterdam volume 6 pada tahun 1750 (Arditi, 1999) dan memberi nama anggrek temuannya dengan *Angraecum albus majus* (de Witt, 1977 dalam Padolina, 2006). Selanjutnya pada tahun 1752 Osbeck mengkoleksi tanaman yang mirip dengan *Angraecum* di Pulau Jawa. Osbeck meingirimkan kepada Linnaeus dan memberikan nama *Epidendrum amabile* (Linnaeus, 1753 dalam Padolina, 2006). *Epidendrum* kemudian dimasukkan kedalam genus *Phalaeopsis* oleh Blume, seorang ahli botani dari Belanda pada tahun 1825 setelah mengumpulkan spesimen di pulau Nusa Kambangan, Indonesia. Blume memberikan nama baru pada spesimen tersebut yaitu *Phalaeopsis amabilis* (Padolina, 2006).

Di Indonesia, anggrek *Phalaenopsis amabilis* dikenal dengan berbagai nama, diantaranya anggrek menor (Jawa Barat), anggrek wulan (Maluku), anggrek terbang (Maluku), dan sebutan umum yang paling populer adalah anggrek bulan. Sebagai sosok sejarah, anggrek ini sudah ditemukan dalam relief candi-candi, ukiran keris, maupun motif batik tradisional kuno (Iswanto, 2005).

2. Klasifikasi

Klasifikasi *Phalaenopsis* menurut Arditi (1992) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Sub Divisio : *Angiospermae*
Classis : *Monocotyledoneae*
Ordo : *Orchidales*
Sub Ordo : *Orchidineae*
Family : *Orchidaceae*
Sub Family : *Epidendroideae*
Tribe : *Vandeae* Lindley
Sub Tribe : *Aeridinae* Pfitzer
Genus : *Phalaenopsis* Blume

Genus *Phalaenopsis* terdiri dari 36 spesies anggrek alam yang tersebar diseluruh dunia (Tom and Sheehan, 1994) dan 21 spesies diantaranya terdapat di Indonesia (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 1999; Rukmana, 2000) yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Keanekaragaman spesies anggrek *Phalaenopsis* sp. Alam di Indonesia

No	Nama Latin	Daerah Asal
1.	<i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Blume	Jawa, Kalimantan, Sumatera, Kep. Mentawai, Pulau Nusakambangan, Maluku (Seram, Buru, Ambon, Jamdena, Tanimbar), dan Sulawesi
2.	<i>P. gigantea</i> J.J. Smith	Kalimantan (endemik)
3.	<i>P. maculata</i> Rchb.f.	Kalimantan
4.	<i>P. viridis</i> J.J. Smith	Sumatera
5.	<i>P. sumatrana</i> Korth. & Rchb.f.	Sumatera, Kalimantan, Jawa, dan Kep. Mentawai
6.	<i>P. violacea</i> Witte	Sumatera, Kalimantan, dan Kep. Mentawai
7.	<i>P. amboinensis</i> J.J. Smith	Maluku (Seram, Buru, Ambon), Sulawesi, Flores, Sumatera, dan Irian
8.	<i>P. fuscata</i> Rchb.f.	Kalimantan, Jawa, dan Sumatera
9.	<i>P. venosa</i> P.S. Shim & Fowlie	Sulawesi (endemik)
10.	<i>P. modesta</i> J.J. Smith	Kalimantan (endemik)
11.	<i>P. cornucervi</i> (Breda) Bl. & Rchb.f	Kalimantan, Jawa, dan Sumatera
12.	<i>P. celebensis</i> Sweet	Sulawesi (endemik)
13.	<i>P. javanica</i> J.J. Smith	Jawa Barat (endemik)
14.	<i>P. fimbriata</i> J.J. Smith	Sumatera, Jawa Barat, dan Jawa Timur
15.	<i>P. intercrepsiosinensis</i>	Sumatera Barat
16.	<i>P. tetraspis</i>	Bengkulu
17.	<i>P. kunstleri</i>	Kalimantan Timur dan Jawa Barat
18.	<i>P. schillerana</i>	Cianjur
19.	<i>P. corningiana</i>	Kalimantan
20.	<i>P. pelehari</i>	Kalimantan Selatan
21.	<i>P. denesiana</i>	Kalimantan Timur

Sumber: Puspitaningtyas dan Mursidawati (1999); Sutater, dkk. (1994) dan Puslitbang Holtikultura (1994) dalam Rukmana, (2000)

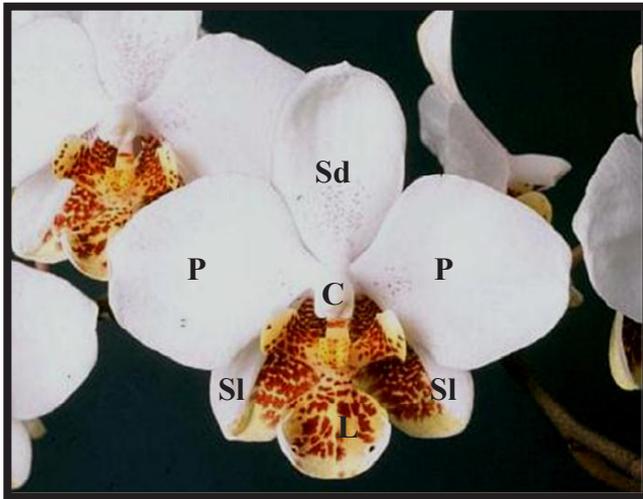
Keseleuruhan anggrek *Phalaenopsis* tersebut merupakan anggrek spesies asli Indonesia. Anggrek spesies umumnya disebut juga anggrek alam (Soetopo, 2009) yang memegang peranan penting sebagai induk persilangan dalam pemuliaan tanaman (Sarwono, 2002). Pemuliaan anggrek bertujuan untuk memperluas keragaman genetik pada bentuk dan warna bunga yang unik, frekuensi berbunga yang tinggi, serta tahan terhadap patogen penyebab penyakit, dan cekaman lingkungan (Soedjono, 1997).

3. Botani

Anggrek *Phalaenopsis* merupakan anggrek dihabitat aslinya hidup epifit, ditandai dengan seluruh bagian tumbuhannya yaitu akar, batang, dan daunnya melekat pada permukaan kulit pohon (Setiawan dan Setiawan, 2002). Berdasarkan pertumbuhan batangnya *Phalaenopsis* termasuk dalam anggrek monopodial.

Phalaenopsis mempunyai ciri-ciri morfologi yang meliputi (1) akar tidak berambut tetapi memiliki jaringan velamen yang berperan memudahkan penyerapan air yang jatuh pada kulit pohon inang; (2) batang terdiri dari satu batang utama, tidak memiliki umbi semu (*pseudobulb*), dan di sepanjang batang terdapat akar udara yang berperan untuk mencari makan dan melekatkan diri pada benda-benda di sekitar agar batang tetap tegak; (2) daun berwarna hijau dengan tekstur tebal dan berdaging sebagai tempat menyimpan cadangan air dan makanan, panjang 20-30 cm, lebar 5-10 cm, posisi bertunggangan dan berderet dalam dua baris yang rapat berhadapan; (3) bunga tersusun dalam rangkaian berbentuk tandan menurut pola baku (Gambar 2), yaitu terdiri dari tiga buah kelopak bunga (sepala) dan tiga buah petala (mahkota bunga); satu buah sepala yang terletak dibagian atas disebut *sepalum dorsale*, sedangkan dua lainnya di samping kiri kanan dinamakan *sepalum lateralis*; posisi petala berselang-seling dengan sepala, dimana salah satu petala ada yang berubah sehingga memiliki bentuk yang berlainan, yang disebut *labelum* (bibir); *labellum Phalaenopsis* memiliki bentuk unik yang berbeda pada setiap spesies sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman jenis;

bentuk tepung sarinya juga tidak kalah spesifik, yaitu berupa dua bulatan kecil berwarna kuning dan bersayap; (4) buah berbentuk jorong bergaris-garis dengan panjang mencapai 10 cm; (5) biji seperti tepung dan berwarna kekuningan atau kecoklatan (Batchelor, 1982; Rukmana, 2000; Setiawan dan Setiawan, 2002; Iswanto, 2005).



Gambar 1. Bagian-bagian bunga *Phalaenopsis stuartiana* Susanna
Sd: *Sepalum dorsal*, P: *Petala*, C: *Column*, Sl: *Sepalum lateral*, L: *Labellum* (Batchelor, 1982)

Berdasarkan bentuk bunga, *Phalaenopsis* dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu: *Euphalaenopsis* dan *Strauroglottis*. *Euphalaenopsis* merupakan kelompok *Phalaenopsis* yang mempunyai bunga berbentuk bulat (*round shape*) dengan petala berukuran lebih lebar dibandingkan sepala, contoh: *Phalaenopsis amabilis*, *P. schilleriana*, *P. Aphrodite*, dan *P. stuartiana*. *Strauroglottis* merupakan kelompok yang bunganya berbentuk seperti bintang dengan petala berukuran hampir sama dengan sepala, contoh: *Phalaenopsis violacea*, *P. amboinensis*, *P. cochlearis*, *P. cornu-cervi*, *P. equestris*, *P. fimbriata*, dan *P. gigantea* (Setiawan dan Setiawan, 2006). Bentuk bunga *Phalaenopsis* sp. ditampilkan pada Gambar 2.



A

B

Gambar 2. Bentuk bunga *Phalaenopsis* sp. (A). *Euphalaenopsis*, contoh gambar *Phalaenopsis amabilis*; (B). *Strauroglottis*, contoh gambar *Phalaenopsis violacea* (Setiawan dan Setiawan, 2006)

4. Manfaat

Pada umumnya anggrek *Phalaenopsis* digunakan sebagai tanaman hias karena memiliki kombinasi dan variasi warna bunga yang menarik (Iswanto, 2005). Selain itu, bentuk bunga anggrek *Phalaenopsis* yang unik dan khas karena menyerupai sayap lebah atau kupu-kupu menjadikan anggrek ini sangat diminati sebagai tanaman hias dalam pot maupun bunga potong. Bahkan salah satu jenisnya yaitu *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume telah mendapat julukan sebagai “Puspa Pesona Indonesia” oleh pemerintah Indonesia (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 1999; Rukmana, 2000). Keindahan dan keawetan bunganya menjadikan anggrek ini sebagai lambang jati diri bangsa Indonesia (Setiawan dan Setiawan, 2006).

Herbarium Amboinense hasil publikasi Rumphius di Amsterdam volume 6 pada tahun 1950 mendeskripsikan bahwa daun anggrek ini dapat digunakan sebagai penambah cita rasa masakan, pengganti rempah-rempah (*flavoring*). Di Singapura bunga anggrek *Phalaenopsis* digunakan sebagai motif untuk pembuatan model perhiasan dari berbagai jenis bahan logam. Di Indonesia sendiri *Phalaenopsis gigantea* pernah dijadikan sebagai gambar perangko pada tahun 1979. Selain itu, daun anggrek *Phalaenopsis* juga dapat digunakan sebagai bahan makanan oleh beberapa penduduk di dunia (Arditi, 1992).

5. Jenis Anggrek *Phalaeopsis*

Saat ini, *Phalaenopsis* memiliki berbagai macam spesies yang sudah menyebar diberbagai negara yang ada di dunia tidak terkecuali Indonesia. Tidak hanya *Phalaenopsis* alam, *Phalaenopsis* hibrida juga memiliki berbagai macam jenis yang akan menarik orang untuk menyukai tanaman ini. Telah disebutkan di atas bahwa *Phalaenopsis* memiliki ragam jenisnya. Beberapa jenis yang terkenal seperti *Phalaenopsis schilleriana*, *Phalaenopsis equestris*, *Phalaenopsis stuartiana*, dan *Phalaenopsis amabilis*.

Phalaenopsis schilleriana

Tanaman anggrek ini pertama kalinya diperkenalkan oleh warga Jerman. Namun, walaupun pertama kali diperkenalkan oleh salah satu warga Jerman, bukan berarti tanaman ini berasal dari Jerman. Anggrek *Phalaenopsis schilleriana* lebih banyak di temukan di kawasan Filipina dan merupakan anggrek hasil silangan.

Phalaenopsis equestris

Seperti *phalaenopsis schilleriana*, jenis ini juga banyak ditemukan di kawasan Filipina. *Phalaenopsis equestris* ditemukan di kawasan Filipina dan pada akhirnya menyebar keseluruh pelosok dunia. Ciri-ciri anggrek ini adalah pada bagian bunganya memiliki kombinasi antara warna putih, merah, dan ungu. Ketiga warna ini bercampur menjadi satu dan membentuk bunga yang sangat indah.

Anggrek ini juga memiliki batang yang pendek. Pada bagian daunnya, anggrek ini memiliki daun yang berwarna hijau dan cukup panjang.

Phalaenopsis stuartiana

Anggrek *Phalaenopsis stuartiana* hanya dapat ditemukan di Indonesia tepatnya di kawasan Lombok dan di Filipina. Anggrek ini mempunyai ciri-ciri yaitu memiliki bentuk bunga bulat. Selain itu, pada bagian ujung bunga berbentuk tumpul, warna bunga anggrek memiliki kombinasi warna bunga diantaranya adalah putih, cokelat, dan merah. Sedangkan daunnya memiliki motif lurik marut dengan warnanya kehijauan.

Phalaenopsis amabilis

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* menjadi salah satu ikon Indonesia yang diharapkan mampu mewakili karakter bangsa. Dengan kecantikannya, jenis anggrek bulan ini digelari sebagai Puspa Pesona, bersandingan tepat dengan bunga melati sebagai Puspa Bangsa dan Padma Raksasa sebagai Puspa Langka. Penetapan *Phalaenopsis amabilis* sebagai Bunga Nasional Indonesia tentu tidak main-main dengan melihat seluruh nilai lebih yang dimilikinya. Dan kabar baiknya, anggrek ini masih banyak dijumpai di tempat para kolektor, pecinta anggrek maupun di habitat aslinya yang menyebar di seluruh Indonesia.

Saat ini kami juga menangkap 2 jenis spesies anggrek *Phalaenopsis amabilis*. Pertama spesies yang memiliki bunga bentuk kupu-kupu bulat (sepal petal terlihat sejajar bulat) dan bunga bentuk kupu-kupu lancip (bentuk petal agak lancip). Keduanya, memiliki karakter lidah sama yaitu kuning bintik coklat kemerahan. Untuk bunga kupu-kupu lancip diameter bunganya lebih kecil, lebih tipis dan tepi bunga terdapat corak ungu tipis. Pada umumnya bunga *amabilis* berdiameter 10 cm dengan warna putih bersih.

Selain yang disebutkan di atas, bunga anggrek bulan memiliki dua sulur di ujung bibir bunga sehingga tampak unik. Pada tanaman dewasa bunga akan muncul tanpa henti sepanjang tahun selama kondisi tanaman sehat. Bunga tersebut mekar hingga berbulan-bulan. Selain itu, anggrek ini sangat mudah dirawat karena memiliki daya tahan tinggi dan mudah beradaptasi termasuk terhadap cahaya.

Pada dasarnya anggrek adalah tanaman epifit yang tumbuh menempel pohon lain. Ia dapat dijumpai di hutan-hutan daratan rendah hingga di ketinggian 1.500 dpl. Dengan demikian, perlakuannya ketika di budidayakan di rumah juga tidak seribet jenis anggrek lainnya. Ia dapat tumbuh di berbagai media termasuk pakis glondongan, pakis cacah, pohon hidup, potongan kayu, hingga pada sphagnum moss di dalam pot.

Tangkai bunga anggrek *Phalaenopsis amabilis* menjulur panjang dan menggantung hingga panjang 1 meter. Terdapat *bract* (daun mungil) pada tangkai bunga dan tangkai dapat bercabang-cabang. Uniknya lagi, tangkai tersebut bisa menumbuhkan keiki pada setiap buku-bukunya.

6. Hama dan Penyakit

Hama dan penyakit merupakan salah satu faktor pembatas terpenting dalam peningkatan produksi anggrek. Efek dari hama dan penyakit ini bermacam-macam dari mulai terganggu pertumbuhannya, gagal berbunga, hingga mati. Terkadang pencinta anggrek hanya berfikir anggrek cukup disiram dan diberi pupuk saja pasti akan berbunga.

Ancaman patogen yang menginfeksi anggrek umumnya disebabkan oleh jamur, bakteri, dan virus. Berbagai penyakit anggrek tersebut akan semakin mudah menyerang tanaman anggrek jika kondisi lingkungan kurang mendukung. Sebagai contoh terlalu lembab, sanitasi dan kebersihan yang kurang, aliran udara yang tidak baik, dan intensitas sinar matahari yang tidak mencukupi. Boleh dikatakan faktor primer kesehatan anggrek adalah pada lingkungan. Jika lingkungan kondusif maka tanaman anggrek lebih tahan terhadap infeksi penyakit.

Infeksi jamur pada tanaman anggrek menyebabkan busuk pada akar dan daun anggrek. Jaringan pada daun akan mengalami kerusakan. Penyakit anggrek yang disebabkan jamur masuk ke dalam jaringan tanaman melalui stomata atau luka pada tanaman. Adanya infeksi jamur pada tanaman akan terlihat pada saat spora tumbuh.

Ciri-ciri tanaman anggrek terinfeksi penyakit jamur adalah munculnya hifa (benang halus berwarna putih) disekitar organ yang mengalami pembusukan. Pada daun bagian bawah terlihat nodanoda warna kuning dan spora jamur terlihat sebagai bintik-bintik warna coklat kehitaman. Ciri lain adalah daun tampak masih segar, tapi tiba-tiba terlepas karena pangkalnya membusuk dan berlendir. Beberapa jamur penyebab penyakit anggrek, adalah:

1. *Phytophthora cactorum* dan *Pythium ultimum*

Infeksi jamur ini menunjukkan gejala warna daun hitam kecoklatan dan di sekelilingnya berwarna kuning. Penyakit akibat jamur ini sering disebut penyakit busuk hitam.

2. *Fusarium oxiporum*

Infeksi jamur ini sering disebut dengan busuk *Fusarium*. Penyakit ini menginfeksi tanaman melalui luka bekas potong dalam kegiatan perbanyakan vegetatif atau pemanenan bunga. Setelah infeksi jamur, tanaman akan mengalami kemunduran pertumbuhan. Jika tidak segera dikendalikan maka tanaman akan mengalami kematian. Gejala infeksi berupa daun anggrek menguning dan menggulung. Beberapa jenis anggrek yang umumnya terinfeksi adalah anggrek *Cattleya*, *Dendrobium*, dan *Phalaenopsis*.

3. *Rhizoctonia solani*

Penyakit jamur ini sering disebut dengan busuk akar dengan gejala infeksi berupa daun berwarna kekuningan. Pada infeksi yang cukup parah, daun mengalami kerontokan. Media tanaman seperti pakis mudah sekali menjadi sumber inokulum. Busuk akar biasanya terjadi karena media tanam yang terlalu lembab.

4. *Botrytis cinerea*

Penyakit ini menginfeksi bagian bunga anggrek dengan gejala munculnya bintik-bintik kecil berwarna coklat bercampur jingga di bagian kelopak dan mahkota bunga. Penyebab infeksi ini adalah lingkungan dengan kelembaban tinggi dan sirkulasi udara yang kurang baik. Penyakit ini banyak ditemukan pada anggrek *Phalaenopsis*, *Cattleya*, *Dendrobium*, *Vanda*, dan *Oncidium*.

5. *Cescospora odonyoglossi*

Infeksi jamur ini umumnya terjadi pada anggrek *Cattleya* dan *Oncidium*. Gejala infeksi berupa munculnya bintik-bintik berwarna coklat tua di bagian atas dan bawah daun. Pada infeksi parah, daun akan mengalami kerontokan.

6. *Cescospora dendrobii*

Penyakit ini banyak menginfeksi anggrek *Dendrobium* dan *Odontoglossum*. Gejala infeksi berupa bintik-bintik hitam pada permukaan atas dan bawah daun. Pada infeksi yang parah, daun juga mengalami kerontokan.

7. *Sclerotium rolfsii*

Infeksi penyakit ini menyebabkan busuk pada bagian pucuk tanaman anggrek. Jamur ini menginfeksi hampir semua jenis anggrek. Gejala penyakit adalah bagian akar dan pangkal daun yang terinfeksi akan berwarna kekuningan yang selanjutnya berubah menjadi coklat.

Penyakit bakteri pada tanaman anggrek umumnya berupa bercak coklat, busuk cokelat, dan busuk lunak. Bercak coklat merupakan jenis penyakit yang berasal dari bakteri *Pseudomonas* sp. Jenis bakteri ini menginfeksi tanaman pada waktu suhu udara meningkat sehingga pada saat musim kemarau kita tidak boleh menyiram tanaman dengan air yang terlalu banyak. Perlu diketahui bahwa penyebaran penyakit bakteri ini dapat melalui air

Penyakit busuk coklat disebabkan oleh bakteri *Erwinia cypripedii* yang menyebabkan tanaman anggrek mengalami kematian pasca infeksi. Bakteri ini sangat berbahaya, tetapi dapat menjadi tidak berbahaya apabila penanganan dan perawatan pada tanaman dilakukan dengan baik dan tepat.

Awal infeksi penyakit ini adalah pada batang anggrek, apabila batang tanaman terdapat bintik-bintik bulat berair maka harus segera dilakukan pemberantasan secara cepat agar tidak menjalar kemana-mana. Selanjutnya pada penyakit busuk lunak di sebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora*, sama seperti yang lainnya jenis bakteri ini tidak terlalu berbahaya. Tetapi jika perawatan dan pemeliharaan tanamana anggrek tidak dilakukan dengan baik, maka infeksi bakteri ini sangatlah berbahaya.

Pada infeksi penyakit virus pada tanaman anggrek dilaporkan 50 jenis virus dapat menginfeksi anggrek (Zettler et al., 1990; Navalinskiene and Samuitiene, 2005; Chang et al., 2005; Zettler et al., 2010). Beberapa diantaranya disajikan pada Tabel 2. Infeksi penyakit virus pada tanaman anggrek ini selengkapny akan dibahas pada bab berikutnya.

Tabel 2. Beberapa jenis virus yang menginfeksi anggrek

No	Jenis virus	Kelompok virus	Vektor
1.	<i>Cymbidium mosaic virus (CymMV)</i>	Potexvirus	Belum diketahui
2.	<i>Odontoglossum ringspot virus (ORSV)</i>	Tobamovirus	Belum diketahui
3.	<i>Cymbidium ringspot virus (CRSV)</i>	Tombusvirus	Belum diketahui
4.	<i>Cucumber mosaic virus (CMV)</i>	Cucumovirus	Aphids
5.	<i>Orchid fleck virus (OFV)</i>	Rhabdovirus	Aphids
6.	<i>Bean yellow mosaic virus (BYMV)</i>	Potyvirus	Aphids
7.	<i>Vanilla mosaic virus (VMV)</i>	Potyvirus	Aphids
8.	<i>Tomato ringspot virus (TRSV)</i>	Nepovirus	Nematoda
9.	<i>Dendrobium mosaic virus.</i>	Potyvirus	Aphids
10.	<i>Clover yellow vein virus.</i>	Potyvirus	Aphids
11.	<i>Dendrobium vein necrosis virus.</i>	Closterovirus	Aphids
12.	<i>Brazilian baciliform virus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
13.	<i>Turnip mosaic virus.</i>	Potyvirus	Aphids
14.	<i>Tobacco rattle virus.</i>	Tobravirus	Nematoda
15.	<i>Cymbidium mild mosaic virus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
16.	<i>Clover yellow vein virus</i>	Potyvirus	Aphids
17.	<i>Dendrobium rhabdovirus</i>	Rhabdovirus	Aphids
18.	<i>Short orchid rhabdovirus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
19.	<i>Long orchid rhabdovirus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
20.	<i>Laelia red leafspot virus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
21.	<i>Filamentous Cypripedium virus.</i>	Potyvirus	Alphids
22.	<i>Filamentous orchids virus.</i>	Belum diketahui	Belum diketahui
23.	<i>Isometric Masdevalia virus.</i>	Belum diketahui	Belum diketahui
24.	<i>Grammatophyllum bacilliform virus.</i>	Rhabdovirus	Aphids
25.	<i>Phalaenopsis chlorotic spot virus</i>	Rhabdovirus	Aphids

(Zettler et al., 1990; Lawson, 1995; Kondo et al., 2006; Zheng et al., 2008)

7. Konservasi Anggrek

Keberadaan anggrek *Phalaenopsis* yang tersebar di berbagai kepulauan Indonesia, seperti Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, Maluku, dan Irian Jaya, namun saat ini keberadaan anggrek tersebut mulai terancam punah dikarenakan jumlah dan keberagaman yang mulai menurun. Sehingga perlu adanya langkah strategis untuk menjaga keberadaan anggrek ini tetap lestari dan terjaga melalui upaya konservasi *in situ* maupun *ex situ*.

Konservasi anggrek *in situ* di habitat aslinya dalam bentuk hutan lindung dan hutan konservasi terus dilakukan. Selain itu, konservasi anggrek *ex situ* di luar kawasan harus pula dikembangkan karena dapat dijadikan *back up* dari populasi anggrek di alam. Bayangkan saja jika konservasi *in situ* yang selama ini telah dilakukan di kawasan hutan Gunung Merapi dengan sekejap hancur akibat erupsi gunung tersebut. Oleh karena itu penting diusahakan konservasi *ex situ* di luar kawasan. Tentunya harus didukung oleh informasi kesesuaian tempat tumbuh anggrek tersebut.

Upaya pemerintah selama ini memberikan tanggung jawab identifikasi, eksplorasi, koleksi, dan konservasi di pundak balai penelitian pemerintah dengan unit pelaksanaannya. Keberadaannya sangat nyata dalam hal pengembangan ilmu pengetahuan khususnya anggrek, seperti Kebun Raya Bogor, Kebun Raya Cibodas, Kebun Raya Purwodadi, dan Kebun Raya Eka Karya di Bali. Kegiatan pelestarian anggrek di lingkup institusi merupakan bagian dari koleksi spesies tanaman dari berbagai wilayah di Indonesia dalam bentuk kebun raya, cagar alam, kebun koleksi spesies, kebun koleksi plasma nutfah, dan arboretum.

Konservasi *ex situ* dapat pula dilakukan oleh universitas dengan lembaga atau organisasi yang terkait. Laboratorium, *green house*, dan instalasi konservasi yang dimiliki oleh institusi tersebut setidaknya harus berjauhan dengan kawasan konservasi *in situ* yang rawan bencana alam. Hal tersebut untuk menghindari dampak yang sama dari kerusakan bencana alam. Sebut saja usaha perbanyak spesies anggrek dengan perbanyak melalui kultur *in vitro*. Dari satu buah anggrek dapat dihasilkan beribu-ribu bibit yang tumbuh dalam media khusus.

Selain itu konservasi dengan teknik cryopreservation, di mana organ tanaman dalam bentuk polen, biji anggrek dapat dibekukan dalam suhu dan ruang tertentu. Kegiatan konservasi tersebut sangat mungkin dilakukan oleh universitas.

Peran universitas yang salah satu fungsinya pengabdian pada masyarakat dapat ikut serta dalam upaya pelestarian dan konservasi anggrek di habitatnya. Konservasi bukan hanya menjadi obyek penelitian dan upaya pelestarian saja. Namun di tangan para peneliti di universitas penyebaran informasi kepada masyarakat dalam bentuk penyuluhan, desa binaan, kerjasama pengabdian masyarakat dapat dicapai. Selain itu aspek pemanfaatan potensi dan pengembangan anggrek untuk mencegah kepunahan, dan meningkatkan nilai ekonomis tanpa bertentangan dengan tujuan konservasi terlaksana dengan sinergis.

Kesadaran konservasi anggrek di masyarakat harus didukung oleh segenap pihak. Institusi penelitian dan pendidikan dapat memberikan informasi kepada masyarakat. Selain itu para *stake holder* yang dalam hal ini konsumen, pengusaha, petani dan hobiis anggrek dapat berkontribusi dalam usaha konservasi. Karena tidak dapat dipungkiri bahwa *stake holder* inilah yang mampu menjadikan anggrek bernilai ekonomis. Program konservasi yang dilakukan oleh institusi pemerintah dan universistas harus dapat menyentuh dan mengikutsertakan masyarakat di sekitar hutan.

II. VIROLOGI TUMBUHAN

2.1 Sejarah

Virus merupakan agen penginfeksi dengan ukuran sangat kecil (submikroskopis) yang tersusun atas komposisi protein dan asam nukleat. Virus tidak mampu berkembang biak kecuali dalam sel hidup inangnya (Bawden, 1964) sehingga sifat hidupnya maka virus dimasukkan sebagai parasit obligat. Di dalam siklus hidupnya, virus memiliki kemampuan untuk memanfaatkan protein tanaman yang digunakan dalam aktivitasnya (Dawson *and* Hilf, 1992). Secara umum virus tanaman masuk ke dalam sel tumbuhan melalui luka yang terjadi secara mekanis atau yang disebabkan serangga vektor. Hal ini disebabkan karena virus tanaman tidak memiliki alat penetrasi untuk menembus dinding sel tanaman (Akin, 2006).

Berdasarkan perannya, virus dapat bertindak sebagai agen penyakit dan agen pewaris sifat. Sebagai agen penyakit, virus memasuki sel dan menyebabkan perubahan-perubahan yang membahayakan bagi sel, yang akhirnya dapat merusak atau bahkan menyebabkan kematian pada sel yang diinfeksi. Sedangkan sebagai agen pewaris sifat, virus memasuki sel dan tinggal di dalam sel tersebut secara permanen (Elis *et al.*, 2008; Foster *et al.*, 2008).

Virus pada tanaman sudah ditemukan lebih dari satu abad yang lalu bersamaan dengan terlahirnya ilmu virologi (Agrios, 2004). Virus tumbuhan pertama kali ditemukan tahun 1576 pada bunga tulip di Belanda dengan gejala perubahan warna mahkota menjadi bercak bergaris. Infeksi virus ini sangat merugikan secara ekonomi karena dapat menurunkan nilai jual tanaman yang terinfeksi (Akin, 2006).

2.2 Cara Infeksi dan Penyebaran Virus

Protein virus terdiri dari asam amino yang tersusun secara spesifik (Akin, 2006). Setelah partikel virus masuk ke dalam sel tanaman, RNA virus keluar dari selubung protein dan bergerak mengikuti aliran protoplasma ke dalam nukleus atau sitoplasma yang merupakan tempat sintesis protein tanaman (Dawson *and* Hilf, 1992).

Penyebaran partikel virus selanjutnya terjadi melalui plasmodesmata yang menghubungkan antara dua sel yang berdekatan. Pergerakan virus di dalam tubuh tanaman dalam jarak jauh melalui berkas pengangkut (Duriat, 1999).

2.3. Siklus Hidup Virus Tanaman

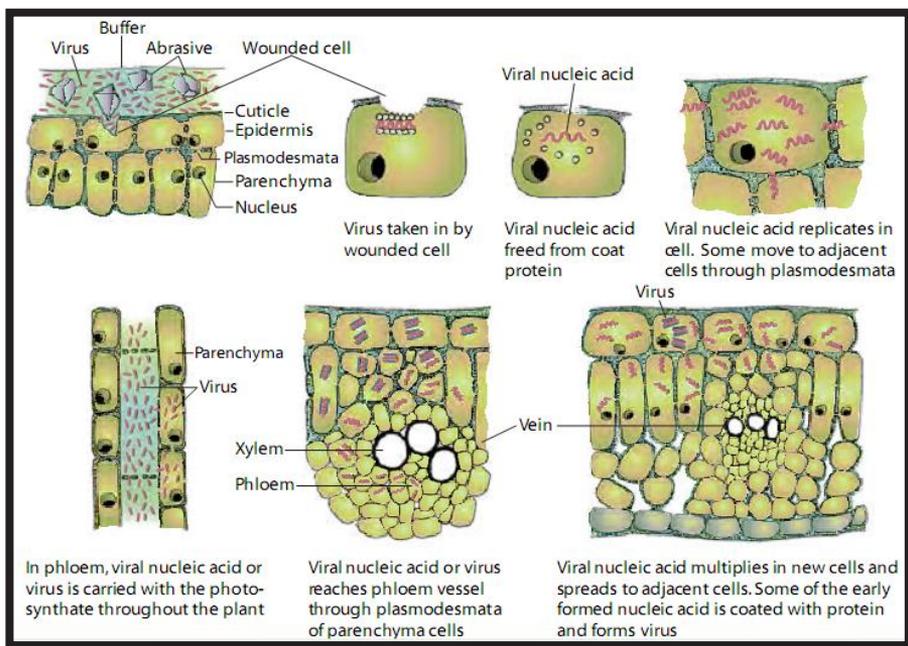
Dalam proses penularan virus terhadap tanaman inangnya, terdapat aktivitas virus yang sangat berpengaruh penting yaitu siklus hidup virus. Rangkaian aktivitas virus tersebut berperan penting dalam perkembangan patogen dan perkembangan penyakit (Elis *et al.*, 2008). Siklus hidup virus meliputi reproduksi virus serta perubahan-perubahan pada tubuh tanaman inang (Agrios, 2004). Urutan aktivitas penting dalam siklus hidup virus tanaman meliputi inokulasi (penularan), penetrasi (masuk ke dalam tubuh), infeksi (pemanfaatan nutrien inang), invasi (perluasan serangan ke jaringan lain), dan penyebaran ke tempat lain.

a. Inokulasi

Tahap ini merupakan tahap kontak pertama antara virus dan tanaman. Bagian dari virus atau virus yang terbawa agen tertentu dan mengadakan kontak dengan tanaman disebut inokulum. Dengan demikian inokulum merupakan bagian dari virus atau virus itu sendiri yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Inokulum virus sampai ke permukaan tubuh tanaman inang melalui inokulasi mekanis, perantara angin, air, serangga, dan sebagainya (Elis *et al.*, 2008).

b. Penetrasi

Merupakan proses masuknya virus atau bagian dari virus ke dalam sel, jaringan atau tubuh tanaman inang (Elis *et al.*, 2008). Secara umum, virus melakukan penetrasi dari permukaan tanaman ke dalam sel, jaringan atau tubuh tanaman inang melalui empat macam cara, yaitu: secara langsung menembus permukaan tubuh tanaman, melalui lubang-lubang alami, melalui perlukaan mekanis, dan melalui serangga perantara (vektor) (Rhee *et al.*, 2000). Sebagai contoh, berikut adalah proses penetrasi partikel virus TMV melalui inokulasi secara mekanis disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Poses penetrasi partikel virus TMV (Agrios, 2004)

c. Infeksi

Merupakan suatu proses dimana virus memanfaatkan nutrisi dari tanaman inang untuk reproduksi (Stewart, *et al.*, 2013). Infeksi yang terjadi pada tanaman inang, akan menghasilkan gejala penyakit yang tampak dari luar (*symptom*) (Agrios, 2004). Selama proses infeksi, patogen akan tumbuh dan berkembang di dalam jaringan tanaman (Elis *et al.*, 2008). Macam-macam gejala infeksi virus pada tanaman ditampilkan pada Gambar 5.

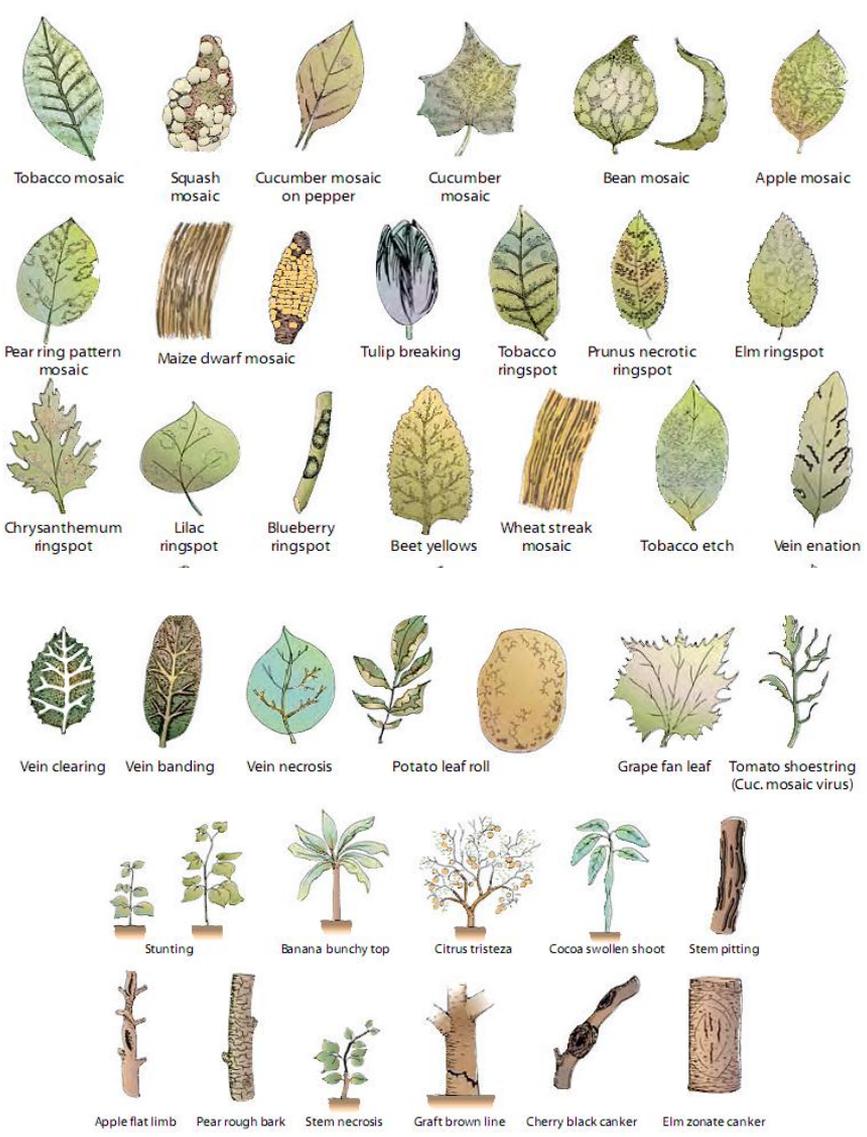
Setelah virus masuk ke dalam sel tanaman, selanjutnya terjadi beberapa aktivitas virus antara lain:

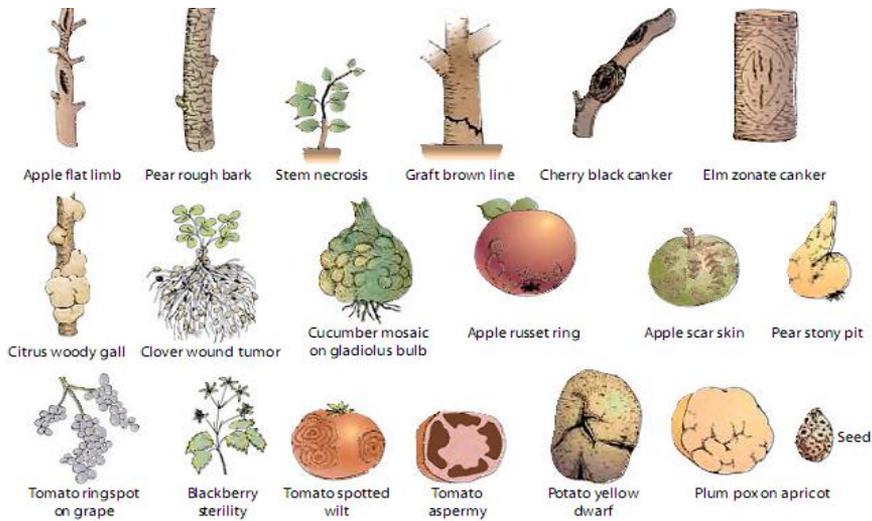
1. *Uncoating* dan replikasi

Merupakan tahap penting dalam siklus hidup virus. Proses ini meliputi pelepasan *coat protein* (*uncoating*) genom virus yang selanjutnya digunakan dalam proses replikasi untuk membentuk RNA virus yang baru (Foster *et al.*, 2008). Proses ini sangat dipengaruhi oleh suhu dan paling efisien terjadi pada suhu 37°C. Selanjutnya, tahap replikasi dilakukan dengan mensintesis semua komponen yang diperlukan dan membentuk lebih banyak partikel virus (Dawson *and* Hilf, 1992).

2. Perakitan partikel virus

Merupakan tahap perakitan komponen-komponen hasil replikasi virus membentuk partikel virus yang baru dan selanjutnya keluar dari sel inang untuk menginfeksi sel tanaman lainnya (Dawson *and* Hilf, 1992).

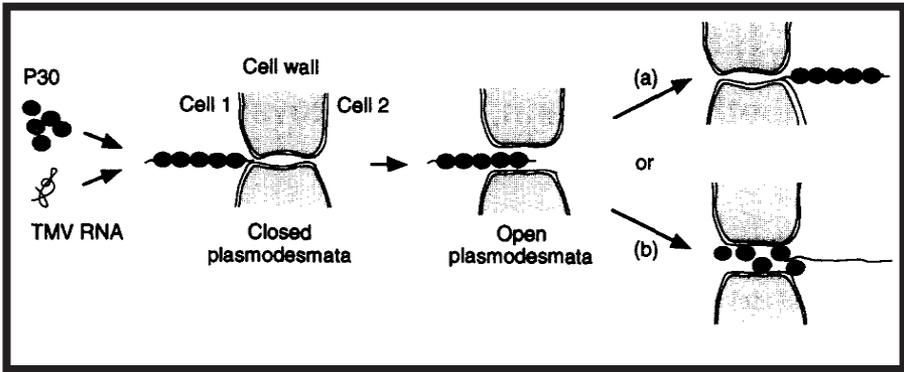




Gambar 4. Macam-macam gejala infeksi virus pada tanaman (Agrios, 2004)

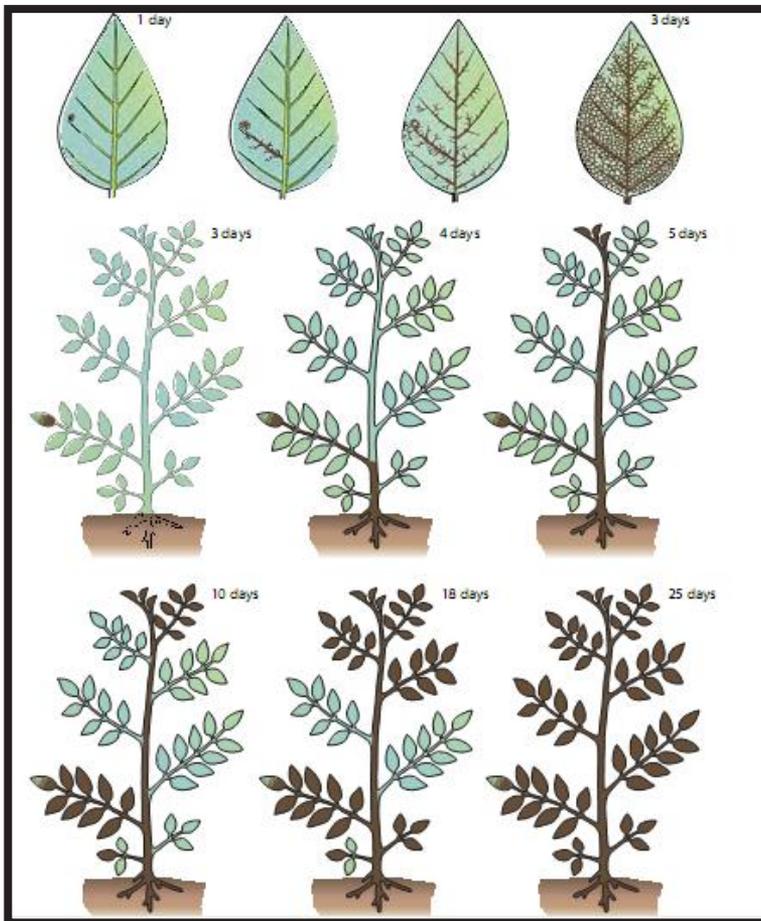
3. Penyebaran virus

Keturunan patogen hasil perakitan tersebut akan menyebar dan berpindah secara pasif ke dalam sel-sel jaringan lain melalui dua mekanisme, yaitu *cell to cell movement* dan *long distance movement in plant*. *Cell to cell movement* merupakan pergerakan virus dari satu sel ke sel lain dengan jarak yang dekat yaitu 1 mm/hari (8-10 sel) pada tanaman (Rhee *et al.*, 2000). Proses ini dilakukan melalui plasmodesmata dan difasilitasi oleh protein *movement protein* (MP) (Harries and Nelson, 2008). Secara umum, mekanisme translokasi *cell to cell movement* TMV dalam tubuh tanaman ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Mekanisme translokasi *cell to cell movement* TMV pada tubuh tanaman; (a) kompleks ribonukleoprotein dan (b) RNA bebas (McLean, 1993)

Long distance movement in plant merupakan pergerakan virus dengan jarak jauh dari keberadaan virus dalam tanaman sebagai inangnya (Rhee *et al.*, 2000). Pergerakan tersebut berlangsung dengan cepat melalui pembuluh floem tanaman inang (Agrios, 2004; Harries and Nelson, 2008) Secara lengkap, translokasi virus dari satu bagian tanaman ke bagian tanaman yang lain disajikan pada Gambar 7.



Gambar 6. Ilustrasi proses infeksi dan penyebaran virus dalam tubuh tanaman (Agrios, 2004)

d. Transmisi ke tanaman inang lainnya

Merupakan proses berpindahnya patogen atau inokulum dari sumbernya ke tanaman lain yang dapat berperan sebagai inang. Penyebaran patogen tersebut dapat terjadi secara aktif maupun pasif. Penyebaran pasif dapat dilakukan dengan perantara angin, air, hewan (terutama serangga), dan manusia (Agrios, 2004).

Beberapa patogen dapat melakukan penyebaran secara aktif, misalnya hewan arthropoda yang dapat berperan sebagai vektor antara lain *Aphids*, *mites*, *whiteflies*. Berikut mekanisme transmisi yang melalui perantara hewan arthropoda sebagai vektor (Dawson and Hilf, 1992).

2.4. Proses Fisiologi Tanaman Terganggu

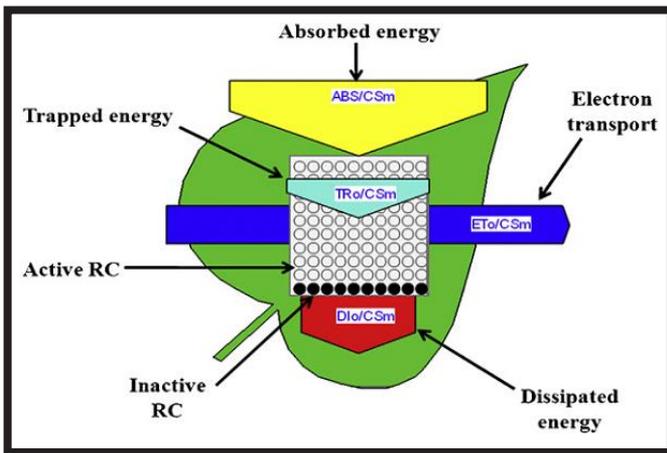
Setelah virus masuk ke dalam tanaman, maka virus akan melakukan replikasi sampai dengan jumlah yang mencukupi untuk menguasai tubuh tanaman. Pada saat proses ini terjadi, tanaman akan mengalami peningkatan laju fotosintesis dan kandungan pati. Tetapi, setelah laju replikasi virus menurun maka laju fotosintesis dan kandungan pati dalam daun akan menurun. Perubahan ini ditunjukkan dengan terjadinya klorosis pada daun (Funayama and Terashima, 2006).

Kloroplas merupakan organel utama yang diserang oleh virus tumbuhan. Penurunan laju fotosintesis disebabkan karena bentuk kloroplas yang tidak normal, yaitu ukurannya menjadi relatif lebih kecil (Funayama and Terashima, 2006).

Klorosis atau warna daun menguning pada tanaman yang terinfeksi terjadi karena beberapa sebab. Funayama and Terashima (2006) menjelaskan bahwa selain menyebabkan perubahan bentuk kloroplas menjadi tidak normal, infeksi virus juga mampu menghambat pembentukan klorofil sehingga laju pembentukan klorofil lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasi klorofil. Hal ini mengakibatkan akumulasi gula sehingga daun mengalami klorosis (Funayama and Terashima, 2006;).

Selain menyebabkan perubahan bentuk kloroplas dan gejala klorosis, tanaman yang terinfeksi virus juga akan mempunyai bentuk daun yang tidak normal. Hal ini akan mempengaruhi indeks luas daun tanaman. Jika indeks luas daun dan kandungan klorofilnya rendah maka jumlah fotosintat yang dihasilkan untuk pertumbuhan tanaman juga akan menurun. Dalam kondisi ini, hasil fotosintesis tidak hanya digunakan oleh tanaman untuk pertumbuhan tetapi sebagian besar energinya dipakai oleh virus untuk hidup dan terus melakukan replikasi diri (Funayama *and* Terashima, 2006).

Kundu *and* Pal (2012) lebih lanjut menjelaskan bahwa kerusakan utama tanaman akibat infeksi virus adalah berkurangnya daerah pusat reaksi fotosintesis (*reaction centres*) yang mempengaruhi efektifitas penyerapan cahaya dan berakibat pada penurunan laju fotosintesis seperti yang disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Model skematis daun dalam penurunan efektifitas penyerapan cahaya akibat infeksi virus; ABS (*absorption maxima*), TRo (*trapped energy*), ETo (*electron transported*), DIo (*dissipation maxima*), CSm (*cross section*), RC (*reaction centres*) (Kundu *and* Pal., 2012)

III. VIRUS TANAMAN ANGGREK

3.1. Jenis Virus Tanaman Anggrek

Virus tanaman merupakan salah satu masalah dalam budidaya dan pengembangan tanaman anggrek. Beberapa laporan menyatakan bahwa tanaman anggrek dapat diinfeksi oleh lebih dari 50 jenis virus (Zettler *et al.*, 1990; Chang *et al.*, 2005). Dua jenis virus penting pada tanaman anggrek yang banyak diteliti adalah *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) dan *Cymbidium mosaic virus* (CymMV). Selain itu beberapa laporan menyebutkan tiga virus lainnya yang menginfeksi anggrek di beberapa negara yaitu *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potyvirus*, dan *Tospovirus*.

3.2 Metode Identifikasi dan Karakterisasi Virus

Choi *et al.* (2002) menjelaskan bahwa identifikasi virus dapat dilakukan melalui pengamatan morfologi partikel virus dan metode serologi. Karakterisasi dilakukan dengan pengujian berdasarkan sifat asam nukleat.

A. Uji Infektivitas dan Uji Efektifitas (Kisaran Inang)

Gejala penyakit virus di lapangan merupakan data pertama yang diperlukan untuk identifikasi virus. Demikian juga di laboratorium, gejala penyakit yang ditimbulkan pada suatu seri tanaman indikator merupakan informasi yang diperlukan untuk identifikasi virus tumbuhan. Gejala penyakit merupakan aspek yang sangat penting untuk menentukan tindakan pengendalian penyakit terutama untuk para petani dan petugas pertanian (Akin, 2006).

Tumbuhan indikator adalah tumbuhan yang dapat cepat memberikan gejala dengan jelas. Dalam praktek, pengamatan gejala saja tidak cukup digunakan untuk mendiagnosis atau mengidentifikasi penyakit, karena beberapa virus memberikan gejala yang sama pada satu jenis inang. Bahkan satu jenis virus dapat memberikan gejala yang berbeda pada satu jenis inang pada musim yang berbeda (Wahyuni, 2005).

Meskipun beberapa tumbuhan indikator yang digunakan untuk pengujian virus telah diketahui dan ditetapkan, tetapi hasil pengujian antar laboratorium sering tidak sama. Hal ini karena terdapat perbedaan kondisi rumah kaca, faktor lingkungan, jenis inang, jenis dan strain virus, dan cara inokulasi. Tumbuhan indikator yang sering digunakan untuk pengujian ini adalah *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, dan *C. murale*, beberapa jenis dari kultivar *Solanum*, *Nicotiana*, *Brassica*, *Vicia*, *Vigna*, *Phaseolus*, dan *Cucumber* (Wahyuni, 2005).

Uji efektifitas dilakukan dengan inokulasi virus secara mekanis ke tanaman indikator. Inokulasi ini dilakukan dengan mengoleskan sap (ekstrak daun) pada permukaan daun yang mengalami luka mikro (Wahyuni, 2005) dengan penambahan zat abrasif, seperti karborundum.

Keberhasilan uji efektifitas ini tergantung pada konsentrasi virus dalam sap, sumber inokulum, metode penyiapan inokulum, ketahanan virus dalam sap, jenis tanaman inang, dan kondisi lingkungan sebelum dan sesudah inokulasi seperti suhu dan cahaya (Isnawati, 2009; Syahierah, 2010).

Gejala yang muncul pada tanaman indikator bervariasi antar spesies tanaman dan jenis inokulum virus (Isnawati, 2009). Lakani *et al.* (2010) dan Syahierah (2010) melaporkan bahwa respon tanaman indikator yang digunakan untuk uji efektifitas ORSV menyebabkan gejala klorosis, bercak nekrotik, sampai nekrotik berbentuk cincin (*ringspot*) pada bagian daun. Jenis tanaman indikator dan gejala yang muncul terhadap infeksi ORSV adalah sebagai berikut (Tabel 3).

Tabel 3. Jenis tanaman indikator dan gejala terhadap infeksi ORSV

No	Jenis tanaman	Gejala	Masa inkubasi (hari)
1.	<i>Nicotiana bethamiana</i>	RS	9
2.	<i>Datura stramonium</i>	LL	21
3.	<i>Dendrobium nindii</i>	RS	10
4.	<i>Dendrobium lasiantera</i>	RS	8
5.	<i>Dendrobium liniae</i>	RS	13-18
6.	<i>Dendrobium sculleri</i>	RS	4-7
7.	<i>Dendrobium discolor</i>	K,RS	6-8
8.	<i>Dendrobium stratiotes</i>	K,M	10
9.	<i>Phalaenopsis violacea</i>	TG	39
10.	<i>Coelogyne pandurata</i>	K,RS, N	13-15
11.	<i>Grammatophyllum scriptum</i>	K	65
12.	<i>Oncidium Golden Shower</i>	N	21
13.	<i>Cattleya Blc. Lucky Man x Blc. Lijinan Pearl</i>	RS	54

(Lakani et al., 2010; Syahierah, 2010).

Keterangan:

RS = Ringspot

LL = Local Lesion

K = Klorosis

M = Mosaik

N = Nekrotik

TG = Tidak bergejala

B. Analisis Struktur Partikel Virus

Metode analisis untuk pengamatan morfologi yang paling memungkinkan untuk visualisasi virus adalah mikroskop elektron atau *Electron microscopic* (EM). Visualisasi EM dilakukan dengan pewarnaan negatif pada berbagai macam virus yang ingin diketahui ukuran morfologinya. Pada mulanya, pewarnaan negatif EM sukses dilakukan pada Orthopoxvirus dengan rata-rata 95% virus dapat diamati (Anonimus, 2006). Namun, pada akhirnya diketahui sangat sulit membedakan morfologi suatu virus yang masih berada pada genus yang sama.

Low voltage electron microscope (LV TEM) dapat digunakan untuk mendeteksi partikel kecil, yang ukurannya kurang dari 20 nm, seperti partikel virus, resin, dan pengamatan partikel dengan pewarnaan negatif. Karbon film yang diperlukan untuk LV TEM adalah pada kisaran 3 – 10 nm (Bielnicova, 2008).

Mikroskop elektron pada dasarnya ada dua macam yaitu mikroskop elektron transmisi (*Transmission electron microscope*, TEM) dan *scanning* (*Scanning electron microscope*, SEM). Dengan menggunakan kedua mikroskop ini, ukuran asli preparat (spesimen) dapat diperbesar menjadi ratusan sampai ribuan kali dengan struktur yang detail, tergantung pada tipe mikroskop elektron, cara preparasi spesimen, dan cat yang digunakan. Mikroskop elektron transmisi dapat digunakan untuk mengamati struktur dan arsitektur virus, atau kristal virus dengan bantuan difraksi sinar X (Wahyuni, 2005).

Prinsip kerja mikroskop elektron transmisi (TEM) adalah perubahan energi listrik menjadi elektron-elektron yang akan dipenetrasikan ke dalam spesimen yang telah dicat dengan logam berat, lalu diemisikan menjadi energi sinar. Sinar-elektron ditransmisikan dan diabsorpsi oleh seluruh spesimen, dan dengan kontras yang dipancarkan, bayangan keseluruhan struktur spesimen secara detail dapat ditangkap dalam dua atau tiga dimensi oleh layar monitor. Pada mikroskop elektron *scanning* (SEM), sinar elektron yang diemisikan hanya ditangkap oleh permukaan spesimen, sehingga bayangan gambar spesimen yang ditangkap pada layar monitor hanyalah topografi permukaannya saja (Wahyuni, 2005).

Metode analisis melalui pengamatan morfologi yang umum dilakukan adalah menggunakan Mikroskop elektron transmisi (*Transmission electron microscope*, TEM) yang dapat memperbesar ukuran asli spesimen yang telah dicat dengan logam berat menjadi ratusan hingga ribuan kali. Wahyuni (2005) menjelaskan bahwa mikroskop elektron transmisi digunakan untuk mengamati struktur atau kristal virus dengan bantuan difraksi sinar-X.

C. Analisis Sifat Protein Virus

1. Uji Serologi

Cara yang paling sering digunakan untuk mendeteksi gejala yang disebabkan oleh virus ialah dengan uji serologi. Cara ini telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi patogen antara lain *barley yellow dwarf virus*, *citrus tristeza virus*, dan *banana streak disease* (Lee et al. 1987 dalam Manzila et al., 2005).

Analisis serologi digunakan karena dapat menghasilkan data yang spesifik, cepat dan memiliki standarisasi. Banyak jenis analisis serologi konvensional yang tidak dapat diaplikasikan karena beberapa keterbatasan, seperti jumlah sampel yang sedikit (konsentrasi virus rendah), ukuran morfologi yang tidak sesuai, atau adanya aktivator dan inhibitor pada ekstrak tanaman. Keterbatasan ini dapat diatasi dengan menggunakan metode *microplate* dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Karakteristik metode ini adalah dapat digunakan untuk mendeteksi dan menguji virus tanaman menggunakan antibodi yang spesifik (Clark & Adams, 1977; Takahashi et al., 1989).

ELISA digunakan pertama kali pada tahun 1969 untuk deteksi virus. Ikatan kovalen antara molekul immunoglobulin dan enzim dapat digunakan untuk mengamplifikasi reaksi antigen-antibodi. Penemuan ini telah membawa dampak yang sangat besar dalam meningkatkan daya deteksi serologi. Pada virus tumbuhan, ELISA pertama kali digunakan oleh Clark and Adam pada tahun 1977. ELISA telah digunakan untuk mendeteksi antigen yang berasal dari tanaman seperti virus tumbuhan, mikoplasma (MLO), bakteri, dan jamur (Akin, 2006).

Teknik ini mempunyai kelebihan, yaitu dapat mengidentifikasi banyak sampel sekaligus dengan biaya yang relatif murah dan cepat dilakukan. *Polystyrene microtiter plate* selain sebagai wadah, sekaligus juga sebagai substrat pengikat antigen-antibodi karena permukaannya mempunyai molekul-molekul yang bermuatan positif. Teknik ini memerlukan sejumlah reagen yang berfungsi untuk mendukung terjadinya reaksi antibodi dengan antigen. Reagen tersebut adalah enzim konjugat yang melabel molekul IgG/IgM secara spesifik agar dapat lebih mengenali determinan

antigenik secara spesifik dan mengikatnya dengan lebih mantap. Enzim konjugat tersebut misalnya *alkalin phosphatase* (APase) atau *horseradishperoxidase* (HRPase). Reagen lain adalah enzim substrat yang akan menghidrolisis kompleks antigen-antibodi yang sudah terikat oleh konjugat. Jenis antibodi yang digunakan untuk mendeteksi sampel dapat berupa antibodi monoklonal atau poliklonal (Wahyuni, 2005).

Teknik ELISA ada dua macam, yaitu ELISA langsung (*direct-ELISA*), misalnya *double antibody sandwich*, DAS) dan tidak langsung (*indirect-ELISA*). Pada ELISA langsung, antigen diapit (*di-sandwich*) oleh satu jenis antibodi. Tahap pertama, *plate di-precoating* dengan IgG yang diperoleh dari suatu antiserum tertentu. Setelah ditambahkan antigen, ditambahkan IgG sejenis yang sudah dikonjugasi, misalnya dengan enzim APase (Wahyuni, 2005).

Reaksi positif antara antigen dan antibodi ditandai dengan perubahan warna cairan kompleks antigen dan antibodi yang terkonjugasi menjadi kuning atau biru toska, tergantung pada macam enzim substrat yang digunakan. Misalnya, *p-nitrophenil phosphatase* menghidrolisis substrat menjadi berwarna kuning. Intensitas warna yang bervariasi mencerminkan konsentrasi virus yang terkandung dalam cairan tersebut. Intensitas warna yang terjadi dikonversikan menjadi angka oleh spektrum cahaya pada $\lambda_{405\text{ nm}}$ dan alat untuk membacanya disebut *ELISA-reader*. Inkubasi dengan enzim substrat berkisar 20-40 menit, dan tidak boleh lebih dari dua jam, karena kontrol negatif akan ikut sedikit berubah warnanya (Wahyuni, 2005).

Hasil analisis serologi dapat dipurifikasi dengan penambahan gliserol dan disimpan pada suhu 2°C. Cara ini setidaknya dapat mempertahankan kondisi serologis virus minimal 6 tahun (Hollings, 1975).

2. SDS-PAGE dan Western blot

Teknik ini memerlukan sampel protein murni dari virus. Sampel protein diperoleh dengan cara mendisosiasi protein dari partikel utuh dengan buffer pengekstrak yang mengandung LiCl atau SDS. Sampel yang diuji dielektroforesis untuk memisahkan subunit protein menjadi beberapa fragmen. Elektroforesis dilakukan pada gel *poliacrilamide*, biasanya dengan sistem gel diskontinu. Pemisahan fragmen subunit protein terjadi oleh gaya listrik yang mengalir dalam buffer 'pelari' menjadi fragmen-fragmen protein berdasarkan pada berat bobot molekulnya. Makin besar molekul, mobilitasnya makin lambat dan posisinya dalam gel terletak makin lebih dekat ke sumuran (*well*) sampel. Hasil elektroforesis kemudian di-*trans blot* ke membran nitroselulosa dan diperlakukan dengan antibodi spesifik. Bila reaksinya positif maka fragmen yang berupa pita-pita dari sampel protein yang terdeteksi atau terikat oleh antibodi spesifik tersebut tampak berwarna merah-kecoklatan pada membran nitroselulosa (Wahyuni, 2005).

Gel yang telah di-*trans blot* masih dapat dicat, karena tidak semua subunit protein dipindahkan ke membran. Gel berwarna kuning-kecoklatan dengan pita-pita protein berwarna coklat gelap bila gel dicat dengan AgNO_3 atau gel berwarna kebiruan dengan pita-pita protein berwarna biru bila gel dicat dengan *commassie blue* (Wahyuni, 2005).

3. Analisis Sifat Asam Nukleat

Metode dilakukan dengan teknik molekuler yang didasarkan pada sifat asam nukleat (RNA atau DNA) sebagai pembawa informasi genetik yang diperlukan makhluk hidup untuk melangsungkan hidup dan berkembang biak (Wahyuni, 2005).

a. Isolasi RNA

Isolasi RNA dilakukan dengan penghancuran sel secara mekanik melalui penggerusan sampel daun tanaman yang menunjukkan gejala terinfeksi secara mekanik yang bertujuan untuk menghancurkan membran sel dan mengoptimalkan reaksi antara reagen dengan bagian-bagian sel (Dawson & Gannon, 1996).

Proses isolasi dilanjutkan purifikasi RNA dengan menambahkan larutan penyangga yang dapat meningkatkan pengikatan molekul RNA sehingga mengoptimalkan hasil isolasi yang diperoleh. Larutan penyangga pencuci (*wash buffer*) yang digunakan pada isolasi RNA akan mengoptimalkan hasil isolasi dengan cara menghilangkan molekul-molekul protein dan garam (Guo *et al.*, 2009).

b. Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

RT-PCR merupakan variasi dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sebuah teknik laboratorium yang biasanya digunakan dalam bidang biologi molekular untuk menghasilkan penggandaan untai DNA. Dalam RT-PCR, untai RNA pertama-tama di transkripsi balik menjadi *complementary DNA* (cDNA) menggunakan enzim *reverse transcriptase* dan digandakan seperti PCR pada umumnya.

RT-PCR menggunakan sepasang primer yang komplemen dengan sekuens dua untai cDNA. Primer tersebut kemudian diperpanjang menggunakan enzim DNA *polymerase* sehingga akan dihasilkan untai ganda DNA (Yuwono, 2006).

c. Elektroforesis Gel Agarosa

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan makromolekul seperti protein dan asam nukleat berdasarkan perbedaan ukuran (berat molekul), sifat elektrik dan ciri fisik molekulnya. Dalam elektroforesis gel agarosa, sampel molekul yang ditempatkan dalam sumuran (*well*) gel dan dialiri arus listrik akan bergerak ke arah salah satu kutub listrik sesuai dengan muatannya. Pada analisis asam nukleat khususnya DNA, arah pergerakannya menuju elektroda positif karena adanya muatan negatif alami pada rangka gula-fosfat (Alberts *et al.*, 2008).

d. Sekuensing

Sekuensing merupakan penentuan seperangkat molekul /fragmen DNA yang berbeda-beda ukurannya tetapi salah satu ujungnya selalu sama. Dua metode telah dikembangkan yaitu metode Maxam-Gilbert dan metode Sanger (Sanger *et al.*, 1977; Sambrook and Russel, 2001).

Metode Maxam-Gilbert (*chemical sequencing*) merupakan metode sekuensing yang didasarkan pada pemotongan DNA di daerah spesifik oleh zat-zat kimia selain enzim (Sambrook and Russel, 2001). Metode Sanger (*dideoxynucleotides*) merupakan metode sekuensing menggunakan *dideoxynucleotide triphosphates* (ddNTPs) yang berperan sebagai penghenti rantai dalam suatu reaksi sintesis dan memiliki sebuah H pada karbon-3 dari gula ribosa. Hasil replikasi *template* DNA memiliki panjang yang bervariasi, masing-masing berhenti pada *dideoxynucleotide* yang dilabel. (Sanger *et al.*, 1977).

e. Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan menggunakan hasil sekuen total genom yang digunakan sebagai pertimbangan untuk klasifikasi virus yang didasarkan pada asam nukleat pembentuk genom, bentuk simetri, eksistensi selaput, dan lain-lain (Utama, 2003).

Pangkalan data utama untuk sekuens asam nukleat saat ini adalah *GenBank* (Amerika Serikat), *EMBL* (*The European Molecular Biology Laboratory*, Eropa), dan *DDBJ* (*DNA Data Bank of Japan*, Jepang) (Baxevanis & Oeulette, 2005). Perangkat bioinformatika yang berkaitan erat dengan penggunaan pangkalan data sekuens Biologi ialah *BLAST* (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang digunakan untuk mencari sekuens genom virus baik asam nukleat maupun protein yang memiliki kemiripan dengan sekuens genom virus tertentu (Utama, 2003).

3.3 *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV)

3.3.1 Sejarah dan Distribusi

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) dilaporkan telah menyerang anggrek di Amerika Serikat (Corbett, 1967) dan sudah menyebar ke negara-negara lain seperti Jerman (Smith, 1957), Singapura (Sanderson and Yong, 1972), Malaysia (Poh and Hua, 1970) dan Indonesia (Suseno, 1979).



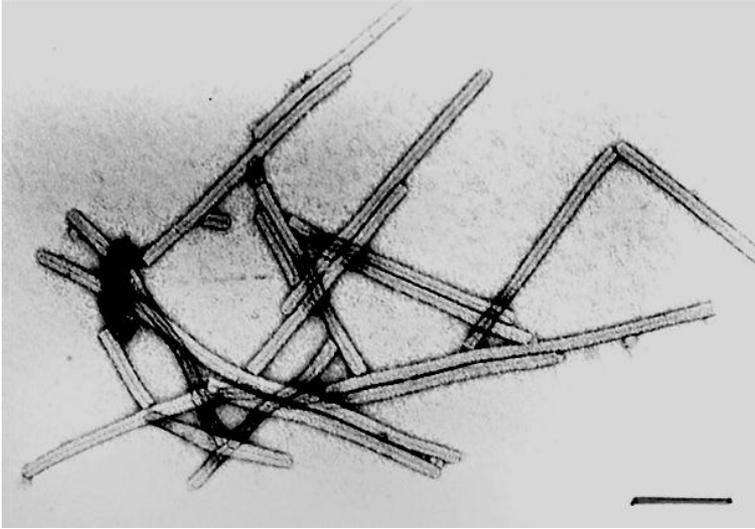
Gambar 8. Peta distribusi geografis ORSV di dunia

Sumber: www.google_map world
(tanggal akses 8 April 2019)

 : Daerah distribusi ORSV

3.3.2 Karakteristik ORSV

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) atau disebut juga sebagai *Tobacco mosaic virus orchid strain* (TMV-O) merupakan salah satu virus yang termasuk anggota Familia *Virgaviridae*. Partikel virus ini berbentuk batang kaku memanjang 300 nm x 18 nm, tidak diselubungi *enveloped*, dan terdiri atas molekul +ssRNA berukuran 6,6 kb (Jensen and Gold, 1951; Choi *et al.*, 2002; Srifah *et al.*, 2006).



Gambar 9. Ultra struktur ORSV (Bar = 100 nm)
(Navalinskiene *et al.*, 2005)

3.3.3. Gejala Infeksi ORSV

Gejala infeksi adalah perubahan-perubahan sebagai akibat dari terdapatnya penyakit yang ditunjukkan pada tumbuhan itu sendiri. Infeksi ORSV dapat menimbulkan gejala yang berbeda-beda pada anggrek. Jensen & Gold (1951) melaporkan bahwa ORSV menyebabkan gejala bercak bercincin (*ringspot*) pada daun anggrek *Odontoglossum*, dimana strain virus ini pertama kali diisolasi. Pada beberapa jenis anggrek seperti *Cattleya sp.* gejala infeksi berupa garis atau bercak klorotik, nekrotik, dan bercak bercincin (*ringspot*), sedangkan pada *Oncidium sp.* berupa bercak nekrotik berwarna hitam yang terlihat pada permukaan bawah daun (Isnawati, 2009). Lakani *et al.* (2010) melaporkan bahwa anggrek *Dendrobium sp.* yang positif terinfeksi dapat menunjukkan gejala tidak terinfeksi (*symptomless*) atau gejala laten.

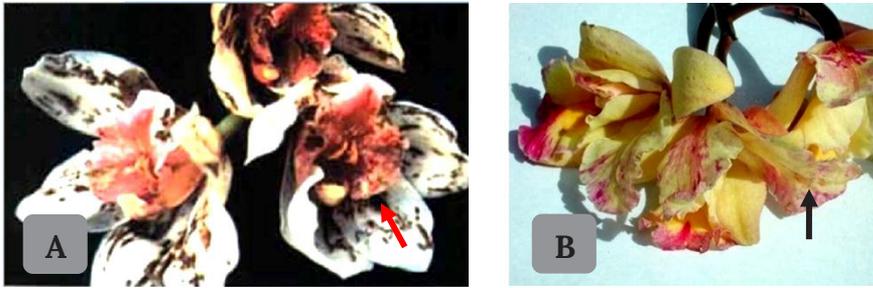
Bawden (1964) dan Withner (1959) menjelaskan bahwa virus dapat menimbulkan gejala yang berlainan pada tanaman yang berbeda, sementara virus yang berbeda dapat menyebabkan gejala yang hampir sama pada tanaman inang yang sama.

Gejala yang disebabkan oleh infeksi ORSV pada anggrek sangat bervariasi tergantung pada strain virus, kultivar anggrek, dan kondisi lingkungan (Navalinskiene & Samuitiene, 2005).



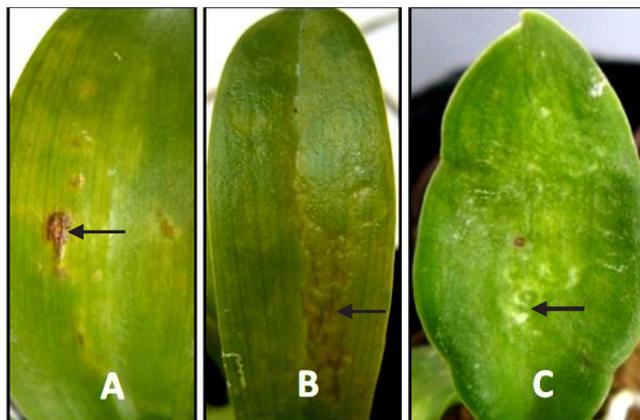
Gambar 10. Beberapa gejala ORSV pada permukaan atas daun anggrek *Dendrobium* sp.; (A) dan (B) bercak bercincin (*ringspot*), (C) malformasi daun, (D) mosaik, (E) *symptomless*/gejala laten (tanda panah: gejala infeksi) (Lakani et al., 2010; Syahierah, 2010)

Robert & Vendrame (2005) menjelaskan bahwa ORSV juga menyebabkan bercak nekrotik, pecahnya warna (*color breaking*), malformasi, distorsi bentuk, dan abnormalitas pigmen sepal dan petal pada bunga anggrek *Cattleya* sp., *Encyclia* sp., dan *Phalaenopsis* sp. Hal ini menyebabkan kerugian secara ekonomi karena harga jual anggrek menjadi rendah sebagai akibat menurunnya kualitas bunga anggrek (Isnawati, 2009).



Gambar 11. Gejala ORSV pada bunga anggrek; (A). Malformasi dan distorsi bentuk bunga pada anggrek *Cymbidium* sp. (B). *Color breaking* pada anggrek *Cattleya* sp., abnormalitas pigmen pada warna sepal dan petal (tanda panah: gejala infeksi) (Robert & Vendrame, 2005).

ORSV juga dapat menginfeksi anggrek secara bersama-sama dengan virus lain yaitu CymMV yang disebut infeksi ganda (Inouye & Gara, 1996). Syahierah (2010) menjelaskan bahwa infeksi ganda CymMV dan ORSV lebih parah dibandingkan infeksi tunggal masing-masing virus. Demikian juga masa inkubasi infeksi ganda terlihat lebih awal dan kejadian penyakit infeksi ganda pada tanaman lebih besar dibandingkan infeksi tunggal masing-masing virus.



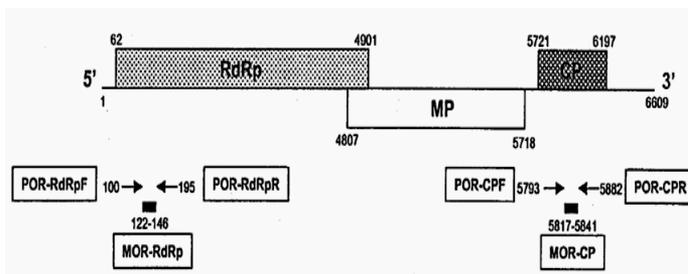
Gambar 12. Gejala infeksi ganda CymMV dan ORSV pada permukaan atas daun anggrek *Dendrobium* (A) *D. woxin*, (B) *D. kyosimori*, dan (C) *D. burana jade* x *D. nindii*. (tanda panah: gejala infeksi ganda) (Syahierah, 2010)

3.3.4. Organisasi Genom ORSV

Park *et al.*, (1990) dalam Srifah *et al.*, (2006) mengklasifikasikan ORSV kedalam subgrup I dari anggota genus Tobamovirus bersama dengan virus lain yang menginfeksi *Solanaceae* berdasarkan lokasi awal penyusunan materi genetik. Anggota dari subgrup I terdiri atas jenis virus yang titik awal penyusunan materi genetiknya terletak pada *Open reading frame* (ORF) dari *Movement protein* (MP) *gene*.

Genom anggota genus Tobamovirus dikode oleh empat protein yang terdiri dari; Mr 126 kDa dan 183 kDa (replikasi/Rd-Rp), 30 kDa (*Movement protein*), dan 17,5 kDa (*Coat protein*) dengan urutan 5' ke 3' (Murphy *et al.*, 1995). Total genom ORSV terdiri dari 6618 nukleotida yang berisi lima *Open reading frames* (ORF) yang dikode protein pada Mr 126 kDa, 181 kDa, 34 kDa, 18 kDa, dan 52 kDa. Analisis sekuen genom ORSV memiliki kekerabatan yang dekat dengan anggota TMV lainnya seperti *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV), *Pepper mild mottle virus* (PMMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), dan *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) (Ryu and Park, 1995). *Movement protein* (MP) berukuran 52 kDa (Ryu *et al.*, 1995), sedangkan ujung-3' terdiri dari 414 nukleotida dan 210 nukleotida dan merupakan daerah *Coat Protein* (CP) yang bersifat lestari (Srifah *et al.*, 2006).

Eun and Wong (1999) melaporkan bahwa dalam organisasi genom ORSV telah diketahui keberadaan empat pasang primer yang digunakan dalam RT-PCR (POR-RdRpF dan POR-RdRpR, POR-CPF dan POR-CPR), dan dua *molecular beacons* (MOR-RdRp dan MOR-CP) (Gambar 13).



Gambar 13. Organisasi genom ORSV; RNA-dependent RNA polymerase (RdRp); Movement Protein (MP); Coat Protein (CP) (Eun and Wong, 1999).

DAFTAR PUSTAKA

- Akin, H. M. 2006. *Virologi Tumbuhan*. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. pp: 449-469.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. 2008. *Molecular Biology of The Cell*. Garland Science, Taylor & Francis Group. New York. p : 233-239.
- Anonim. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Anggrek*. Jakarta: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP). p: 20-26.
- Barry, K., Hu, J. S., Kuehnle, A. R., and Sughii, N. 1996. Sequence Analysis and Detection Using Immunocapture-PCR of Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus in Hawaiian Orchids. *J. phytopathology*: 144. 179-186 (1996).
- Bawden, F. C. 1964. *Plant Viruses and Virus Diseases*. New York: Ronald Press. pp: 222-240.
- Baxevanis, A. D. and Oeulette, B. F. F. 2005. *Bioinformatics*. Willey. p: 4-5.
- Chang, C., Chen, C. Y, Hsu, Y. H, Wu, J. T, Hu, C. C, Chang, W. C. and Lin, N. S. 2005. Transgenic Resistance to Cymbidium Mosaic Virus in Dendrobium Expressing The Viral Capsid Protein Gene. *Transgenic Res*. 14:41-46.
- Choi, S. K., Choi, S. H., Ryu, K. H., Choi, C. W., Choi, J. K., and Park, W. M. 2002. Identification and Characterization of a Ringspot Isolate of Odontoglossum Ringspot Virus from Cymbidium var. 'Grace Kelly'. *Plant Pathol Journal*. 18(6) : 317-322.
- Corbett, K. N. 1967. Some Distinguish Characteristhic of The Orchid Strain of Tobacco Mosaic Virus. In Lawson, R. H. and Ali, S. The Handbook on Orchid Pest and Disease. *American Orchid Soc. No. 4*: 62-100.

- Darmono, D.W. 2003. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Jakarta: Penebar Swadaya. p: 1-42.
- Dawson, M. T., R. Powell and Gannon, F. 1996. *Gene Technology*. Bios. Scientific Publisher. p: 46-48.
- Duriat, A. S. 1999. Prosiding Seminar Ilmiah Nasional Komoditas Sayuran. *Crop Science*. Bandung. Hal: 10-16.
- Eun, A. J. C. and Wong, S. M. 1999. Detection of Cymbidium Mosaic Potexvirus and Odontoglossum Ringspot Tobamovirus Using Immuno-Capillary Zone Electrophoresis. *The American Phytopathological Society*. Vol. 89, No. 6, 1999. p: 522-528.
- Eun, A. J. C. and Wong, S. M. 2000. Molecular Beacons: A New Approach to Plant Virus Detection. 1999. *Phytopathology*. 90: 269-275.
- Guo, W., Jiang, L., Bhasin, S., Khan, S.M., and Swerdlow, R.H. 2009. DNA Extraction Procedures Meaningfully Influence qPCR-Based mtDNA Copy Number Determination. *Mitochondrion*. 9 (4): 261-265.
- Hanum, C. 2008. *Teknik Budidaya Tanaman Jilid 2*. Depdiknas. Jakarta. 341-388.
- http://www.google_map_world (tanggal akses 8 April 2019).
- Inouye, N and Gara, I. W. 1996. Detection and Identification of Viruses of Orchid in Indonesia. *Bull, Res, Inst. Bioresour: Okayama Univ*. 4: 109-118.
- Isnawati, L. 2009. *Deteksi dan Identifikasi Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV Pada Tanaman Anggrek*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. p: 1-23.
- Jensen, D. D. and Gold, H. A. 1951. A Virus Ringspot of *Odontoglossum Orchid*, *Symptoms, Transmission and Electron Microscopy*. In Lawson & Sahfqat Ali. *The Handbook on Orchid Pests and Disease*. American Orchid Soc. 4: 62-100.
- Khentry, Y., Paradormuwat, A., Tantiwitat, S., Phansiri, S., and Thaveechai, N. 2006. Incidence of Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Protection* 25: 925-932.

- Kondo, H., Maeda, T., Shirako, Y. and Tamada, T. 2006. Orchid Pleck Virus is a Rhabdovirus with an Anual Bipartite Genom. *Journal of General Virology*. 87: 2413-2421.
- Lakani, I., Suastika. G., Mattjik, N., and Damayanti, T. A. 2010. Identification and Molecular Characterization of Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV) from Bogor, Indonesia. *Hayati Journal of Biosciences*. Vol. 17 No. 2. p: 101-104.
- Lawson, R, H. 1995. *Viruses and Their Control*. in: *Orchid Pests and Diseases*. American Orchid Society. West Palm Beach. Florida. p: 74-104.
- Lee, S. C., and Chang, Y. C. 2006. Multiplex RT-PCR Detection of Two Orchid Viruses with an Internal Control of Plant nad5 mRNA. *Plant Pathol. Bull.* 15:187-196.
- Mahfut. 2011. *Deteksi dan Karakterisasi Molekuler Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV) Isolat Jawa dan Bali*. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Menisa, F. 2009. *Deteksi dan Identifikasi Cymbidium Mosaik Virus (CyMV) pada Tanaman Anggrek*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. p: 1-17.
- Moreira, A. S. F. and Isaias, R. M. S. 2008. Comparative Anatomy of The Absorption Roots of Terrestrial and Epiphytic Orchids. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51 (1): 83-93.
- Munawaroh, E., Hidayat, S., dan Astuti, I. P. 2001. Anggrek Langka di Kawasan Taman Wisata Alam Candi Sirenreng, Bone dan Cagar Alam Faruhumpenai, Luwu Utara, Sulawesi Selatan. *Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI*. Bogor. p: 1-11.
- Narayanansamy, P. 2008. *Molecular Biology in Plant Pathogenesis and Disease Management Volume 1*. Springer Science Business Media B. V. India. p: 15-25.
- Navalinskiene, M. J. and Samuitiene, M. 2005. Viral Disease of Flower Plants. Identification of Viruses Affecting Orchids (*Cymbidium Sw.*). *Biology*. 2: 29-34.
- Nugroho, L. H., Purnomo, dan Issirep, S. 2006. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal: 20-57.

- Pataky, N. R. 1990. *Common Virus Diseases of Orchids: Report On Plant Disease*. Department of Sciences. University of Illinois at Urbana-Champaign. RPD No. 164. p: 1-4.
- Poh, T. W. and Hua, H. T. 1970. *Disease and Pests of Orchid*. Ministry of Agriculture and Land Malaysia. p: 1-19.
- Purwantoro, A., Ambarwati, E., dan Setyaningsih, F. 2005. Kekerabatan Antar Anggrek Spesies Berdasarkan Sifat Morfologi Tanaman dan Bunga. *Ilmu Pertanian*. 12 (1): 1-11.
- Robert, T. M. and Vendrame, W. A. 2005. Color Break in Orchid Flowers. *Proc. Fla. State and Hort. Soc.* 118: 287-288.
- Ryu, K. H. and Park, W. M. 1995. The Complete Nucleotide Sequence and Genome Organization of *Odontoglossum Ringspot Tobamovirus* RNA. *Arch. Virol.* 140: 1577-1587 (1995).
- Ryu, K. H, Choi, C. W, Kim, S. J., and Park, W. M. 1995. The 52 kD Protein Gene of *Odontoglossum Ringspot Virus* Containing RNA-Dependent RNA Polymerase Motifs and Comparisons with Other Tobamoviruses. *J. Plant Biol.* 38(2): 129-136 (1995).
- Salunkhe, D. K., Bhaf, N.R. and Desai, B. B. 1990. *Postharvest Biotechnology of Flowers and Ornamental Plant*. New York. Springer VBH. pp: 62.
- Sambrook, J. and Russel, D. W. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. Third edition. Cold Spring Harbor Laboratory press. 12. pp : 3-9.
- Sandara, E. 2002. *Membuat Anggrek Rajin Berbunga*. Agro Media Pustaka. pp: 1-2.
- Sanderson and Yong, T. A. 1972. *Disease and Pests of Orchid in Singapore*. Agriculture Handbook. 1:15.
- Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A. R. 1977. DNA Sequencing with Chain Terminating Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 5463-5467.
- Syahierah, P. 2010. *Respon Berbagai Jenis Anggrek (Orchidaceae) terhadap Infeksi Cymbidium Mosaic virus (CyMV) dan Odontoglossum Ringspot Virus (ORSV)*. Skripsi. Institut pertanian Bogor. p: 11-45.

- Sherpa, A. R., Hallan, V. and Zaidi, A. A. 2004. Cloning and Sequencing of Coat Protein Gene of an Indian *Odontoglossum* Ringspot Isolate: *Acta Virol.* 48: 267-269.
- Smith, K. M. 1957. *A Textbook of Plant Virus Diseases 3rd Edition.* Brown Company. Boston. p: 652.
- Soetopo, L. 2009. *Keanekaragaman dan Pelestarian Tanaman Anggrek.* Penerbit Citra. Malang. pp : 9-15; 27-45.
- Srifah, P., Rungroj, N., and Keeratiyaangul, S. 2006. Identification of The Conserved Sequences at The Species Level of *Odontoglossum* Ringspot Virus and Other Members of Tobamovirus by its Coat Protein Sequences Analysis. *Kasetrat J. (Nat. Sci.)* 40: 370-381.
- Suseno, H. R. 1976. *Virus Mosaik Cymbidium pada Cattleya spp.* di Indonesia. Prosiding Seminar Kongres Nasional PFI ke VI. Bandung. p: 20-21.
- Tanaka S, Nishii, H., Ito, S., Kameya-Iwaki, M. and Sommartya, P. 1997. Detection of *Cymbidium Mosaic Potexvirus* and *Odontoglossum Ringspot Tobamovirus* from Thai Orchids by Rapid Immunofilter Paper Assay. *Plant Dis.* 81:167-170.
- Utama, A. 2003. *Aplikasi Bioinformatika dalam Virologi.* Artikel Populer Ilmu Komputer. <http://ilmukomputer.org/bioinformatika-dalam-virologi/>. Tanggal akses 8 Januari 2019.
- Wahyuni, W. S. 2005. *Dasar-Dasar Virologi Tumbuhan.* Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. p: 234.
- Withner, C. L. 1959. *The Orchid. a Scientific Studies.* New York: Brooklyn. pp: 60-315.
- Wisler, G.C. 1989. *How to Control Orchid Viruses: The Complete Guidebook.* Maupin House Publishers. Gainesville, Florida. p: 119.
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction.* Yogyakarta: Andi Offset. pp: 1-25, 151-152.

- Zettler, F. W., Ko, N. J., Wisler, G. C., Elliot, M. S. and Wong, S. M. 1990. Viruses of Orchids and Their Control. *Plant Dis.* 74 : 621-626.
- Zheng Y. X., Chen C. C. and Jan F. J. 2008. Identification and Characterization of Three New Phalaenopsis Orchid Infecting Virus. *The 1212 International Symposium On Virus Diseases Of Ornamental Plant.* Haarlem. Netherlands. p: 28-29.