

Eliminasi Sweet Potato Feathery Mottle Virus (SPFMV) pada Empat Kultivar Ubijalar Unggul Lokal Asal Papua melalui Teknik Kultur Meristem

Sweet Potato Feathery Mottle Virus (SPFMV) Elimination of Four Sweet Potato Local Superior Varieties of Papua Origin by Using Meristem Culture Technique

Barahima, Wasgito Purnomo¹⁾

Diterima 15 April 2003 / Disetujui 18 Juli 2003

ABSTRACT

The objective of this research was to eliminate Sweet Potato Feathery Mottle Virus (SPFMV) infection from local superior sweet potato varieties (PN-11, Maria, Seri, and Numfor) by using meristem culture technique. Shoot tips of sweet potato were grown on solid MS modified medium enriched with naphthalene acetic acid (NAA) and benzyl adenine (BA) with various concentrations. Growth and development of explants were recorded for three months. The results showed that elimination of SPFMV infection of four varieties by using shoot tip explants were successfully achieved. Shoot tips were the best explants used to eliminate SPFMV infection. Murashige and Skoog (MS) modification called Ub1 medium, which enriched with NAA (0.02 mg/l) and BA (0.2 mg/l) is the best medium for developing meristem segment of sweet potato. Nitrocellulose membrane-enzyme linked immunosorbent assay (NCM-ELISA) analysis showed that plantlets produced from shoot tip explants of four varieties, tested were free from SPFMV infection. The plantlets of four varieties were maintained in in vitro culture in Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, State University of Papua (UNIPA), Manokwari.

Key words : Sweet potato, SPFMV, Meristem culture technique

PENDAHULUAN

Ubijalar (*Ipomoea batatas* (L) Lamb) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil karbohidrat yang perlu dikembangkan untuk menunjang program diversifikasi pangan non-beras. Tanaman ubijalar memiliki potensi untuk dikembangkan karena mengandung pati, sukrosa 53.4 – 67.8% (Noda *et al.*, 1994) dan protein 3.5% (Chen *et al.*, 1994). α dan β amilase yang terdapat pada ubijalar merupakan enzim yang sangat berguna untuk memproduksi sirup dengan maltosa tinggi (Shaw, 1994). Di samping itu ubijalar yang diformulasikan dengan kacang-kacangan, baik untuk makanan bayi (Ameny *et al.*, 1994) dan di dalam umbi ubijalar ditemukan 3-(6,6-caffeoylferulyso-phoroside)-5-glucoside sebagai antimutagenik (Yoshimoto *et al.*, 1998).

Melihat beberapa komponen penting yang dikandung, maka tanaman ubijalar perlu mendapat

prioritas untuk dikembangkan sebagai sumber bahan makanan alternatif selain beras dan yang terpenting menjadikan bahan baku industri, terutama industri makanan bayi.

Masyarakat di Indonesia bagian barat menggunakan ubijalar sebagai makanan sampingan, tetapi di Indonesia bagian timur khususnya di Papua ubijalar di jadikan sebagai makanan pokok oleh sebagian besar masyarakat yang bermukim di daerah pedalaman. Dengan demikian kultivar-kultivar ubijalar unggul lokal Papua yang terinfeksi patogen khususnya penyakit yang disebabkan oleh virus dan fitoplasma perlu dilakukan eliminasi. Eliminasi patogen yang menginfeksi ubijalar merupakan usaha untuk mengantisipasi terjadinya kekurangan pangan akibat ubijalar tidak dapat berproduksi dengan baik. Kultivar ubijalar unggul lokal yang terinfeksi patogen dipilih untuk eliminasi karena di samping sudah beradaptasi baik dengan alam Papua

¹⁾ Staf Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Papua, Jalan Gunung Salju, Manokwari, Kode Pos 98314, Telp. (0986)214210; Fax. (0986)211455, E-mail: barahimaabbas@plasa.com

juga disenangi masyarakat (rasanya enak) dan dapat berproduksi relatif tinggi pada lahan-lahan marginal.

Pusat Studi Ubi-ubian dan Sagu (PSUS) Universitas Negeri Papua telah mengkoleksi plasma nutfah ubijalar dari berbagai kabupaten di Papua. Koleksi-koleksi Papua juga untuk tujuan riset dan sumber bibit bagi masyarakat. Masalah yang timbul dalam mempertahankan plasma nutfah yaitu serangan penyakit di kebun koleksi. Penyakit yang dilaporkan banyak menyerang kebun koleksi ubijalar PSUS dan kebun ubijalar masyarakat di Papua yaitu penyakit yang disebabkan oleh fitoplasma, *Elisinoe batatas* (Paiki, 1998) dan virus (Mulyadi dan Putu, 1998). Virus yang telah dilaporkan menginfeksi ubijalar yaitu *Sweet Potato Feathery Mottle Virus* (SPFMV) (Machmud, 1998).

Penelitian tentang virus di Papua khususnya virus yang menginfeksi ubijalar sangat kurang sehingga belum ditemukan laporan yang merinci jenis-jenis virus yang menginfeksi ubijalar di daerah ini. Salah satu virus yang ditemukan menginfeksi pertanaman ubijalar masyarakat di Papua yaitu SPFMV termasuk di kebun koleksi ubijalar PSUS (Widyastuti, 1998). Penurunan produksi ubijalar akibat infeksi SPFMV di Papua belum diteliti, tetapi di Cina dilaporkan bahwa penurunan produksi ubijalar akibat infeksi SPFMV mencapai 30 % (Nakano *et al.*, 1994).

Penyakit ubijalar yang disebabkan oleh SPFMV atau sering disebut *Russet crack virus*, *Sweet potato internal cork virus*, *Sweet potato chlorotic leaf spot virus*, dan *sweet potato virus A* dapat ditularkan oleh berbagai jenis aphid dan melalui cara mekanik. Virus ini ditemukan tersebar luas di dunia (Machmud, 1998). Selama ini upaya penanggulangan penyakit yang dilakukan di kebun koleksi plasmanutfah ubijalar PSUS yaitu dengan cara pemusnahan tanaman yang terinfeksi. Akibatnya koleksi plasma nutfah ubijalar yang dimiliki semakin berkurang sehingga diperlukan upaya penanggulangan melalui eliminasi patogen. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk eliminasi patogen yang menginfeksi tanaman yaitu dengan cara kultur meristem.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UNIPA Manokwari. Bahan tanaman yang digunakan adalah plasma nutfah ubijalar unggul lokal Papua (cv. PN-11, Maria, Seri, dan Nunfor) yang telah dikoleksi secara *ex situ* oleh Pusat Studi Ubi-ubian dan Sagu (PSUS) Universitas Negeri Papua. Penampakan morfologi dari ke empat kultivar tersebut memperlihatkan bercak-bercak klorotik pada daun dan terlihat abnormal.

Pengujian dengan NCM-ELISA dari ke empat varietas tersebut di atas dilakukan dengan menggunakan

antiserum spesifik SPFMV. Hasil pengujian awal dengan antiserum spesifik SPFMV menunjukkan bahwa keempat kultivar tersebut bereaksi positif terhadap antiserum SPFMV. Dengan demikian memperkuat keyakinan bahwa keempat kultivar ubijalar unggul lokal tersebut telah terinfeksi SPFMV dan kemungkinan juga terinfeksi fitoplasma atau virus lainnya karena di samping ditemukan gejala infeksi SPFMV juga ditemukan gejala infeksi fitoplasma seperti tangkai daun, batang dan daun mengecil. Pengujian fitoplasma dan virus selain SPFMV belum dilakukan pada penelitian ini.

Untuk pembebasan infeksi SPFMV dan penyakit sistemik lainnya pada ubijalar dapat dilakukan melalui kultur meristem (Ohkoshi, 1991). Bagian meristem tanaman yang dikulturkan dapat mengalami regenerasi secara langsung dan juga dapat mengalami regenerasi melalui pembentukan kalus (regenerasi tidak langsung). Regenerasi langsung sangat penting dilakukan untuk menghindari terjadinya mutasi planlet yang dihasilkan. Proses regenerasi sangat ditentukan oleh ukuran eksplan dan komposisi media yang digunakan. Ukuran eksplan yang digunakan yaitu antara 1-2 mm yang diambil dari bagian meristem (tunas pucuk) dan bakal tunas aksilar (tunas aksilar dorman yang posisinya berada di ketiak daun) dengan menggunakan mikroskop binokuler pembesaran 40 kali.

Medium dasar yang digunakan adalah medium MS (Murashige dan Skoog, 1962) yang dimodifikasi {(NH₄NO₃ (1650 mg/l), KNO₃ (1900 mg/l), H₃BO₃ (31 mg/l), KH₂PO₄ (170 mg/l), KI (0.415 mg/l), Na₂MoO₄.2H₂O (0.125 mg/l), CoCl₂ (0.0125 mg/l), CaCl₂ (440 mg/l), MgSO₄.7H₂O (550 mg/l), MnSO₄.4H₂O (11.13 mg/l), ZnSO₄.7H₂O (4.3 mg/l), CuSO₄.5H₂O (0.0125 mg/l), Na₂EDTA (18.625 mg/l), FeSO₄.7H₂O (13.925 mg/l), Thiamin HCl (0.05 mg/l), Nicotinic Acid (0.5 mg/l), Pyridoksin HCl (0.5 mg/l), Glycin (2 mg/l), Myoinositol (100 mg/l)} dan sukrosa (30 g/l). Komposisi media ini disebut media Ub1 (Barahima, 1999). Ke dalam media Ub1 ditambahkan berbagai macam kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA dan BA. Kombinasi konsentrasi NAA dan BA yang digunakan pada penelitian ini yaitu: (a) 0.2 mg/l BA, (b) 0.02 mg/l NAA + 0.2 mg/l BA, (c) 0.05 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA, (d) 0.05 mg/l NAA + 1 mg/l BA, (e) 0.1 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA, (f) 0.1 mg/l NAA + 1 mg/l BA, dan (g) tanpa penambahan NAA dan BA (Kontrol). Pengujian kombinasi konsentrasi ini dilakukan untuk mendapatkan media yang dapat menginduksi regenerasi tunas langsung dari eksplan meristem tunas pucuk atau tunas aksilar ubijalar membentuk planlet. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga seluruhnya terdapat 192 satuan percobaan dan tiap satuan percobaan dikulturkan 2 eksplan.

Keberhasilan dari penelitian ini dinilai dari : (1) kemampuan menumbuhkan bagian meristem (tunas

pucuk dan tunas aksilar) membentuk planlet, (2) planlet yang dihasilkan tidak memunculkan gejala infeksi patogen, misalnya fenotip bebas gejala bercak-bercak klorotik pada daun *ringspot disease*, daun menggulung dan kecil-kecil, dan (3) pengujian planlet yang dihasilkan dari media tumbuh yang menginduksi regenerasi langsung dengan NCM-ELISA bereaksi negatif yang berarti tidak ada infeksi SPMV. Deteksi virus dengan teknik NCM-ELISA dilakukan mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Machmud (1999).

Pengamatan pertumbuhan dan perkembangan meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar dilakukan selama 3 bulan. Planlet yang dihasilkan dari meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar dari media tumbuh yang menginduksi regenerasi langsung diperbanyak secara *in vitro* selama 2 bulan untuk dilakukan pengujian NCM-ELISA dengan antiserum spesifik SPMV. Planlet lainnya dari media tumbuh yang tidak mengalami regenerasi langsung tidak dilakukan pengujian NCM-ELISA. NCM-ELISA Kit dan Antiserumnya diperoleh dari International Potato Center (CIP). Planlet yang bereaksi negatif terhadap antiserum SPMV dari masing-masing kultivar diaklimatisasi untuk dinilai penampakan morfologinya dan gejala

infeksi penyakitnya. Aklimatisasi dilakukan selama 3 bulan di rumah plastik yang terkontrol.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa bagian meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar yang digunakan sebagai eksplan dapat mengalami regenerasi membentuk planlet pada media MS yang dimodifikasi (Ub1) yang diperkaya dengan NAA dan BA. Pada penelitian ini respon pertumbuhan kualitatif (proses regenerasinya) yang dipentingkan dan bukan respon pertumbuhan kuantitatif, sehingga data pengamatan jumlah eksplan yang mengalami regenerasi dan jumlah tunas yang dihasilkan tidak disajikan.

Komposisi media yang digunakan yaitu perlakuan A, B, C, dan, D dapat mendorong pertumbuhan eksplan membentuk planlet (akar, batang, dan tunas), sedang perlakuan F hanya dapat menginduksi pembentukan kalus dan perlakuan G eksplan tidak berkembang kemudian mati (Tabel 1).

Tabel 1. Pertumbuhan dan perkembangan meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar yang dikultur pada media Ub1 dan diperkaya dengan berbagai konsentrasi NAA dan BA.

Kode perlakuan	Perlakuan penambahan NAA dan BA pada media pertumbuhan Ub1	Respon pertumbuhan dari eksplan meristem tunas pucuk	Respon pertumbuhan dari eksplan meristem bakal tunas aksilar
A	0.2 mg/l BA	Kalus, tunas, dan batang	Kalus, tunas, dan batang
B	0.02 mg/l NAA + 0.2 mg/l BA	Akar, tunas dan batang	Akar, tunas dan batang
C	0.05 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA	Kalus, akar, tunas, dan batang	Kalus, akar, tunas, dan batang
D	0.05 mg/l NAA + 1 mg/l BA	Kalus, akar, tunas, dan batang	Kalus, akar, tunas, dan batang
E	0.1 mg/l NAA + 0.5 mg/l BA	Kalus, akar, tunas, dan batang	Kalus, akar, tunas, dan batang
F	0.1 mg/l NAA + 1 mg/l BA	Kalus	Kalus
G	Kontrol (tanpa NAA dan BA)	Eksplan tidak berkembang kemudian mati	Eksplan tidak berkembang kemudian mati

Keterangan : Pengamatan kualitatif ini dilakukan saat tiga bulan setelah dikulturkan

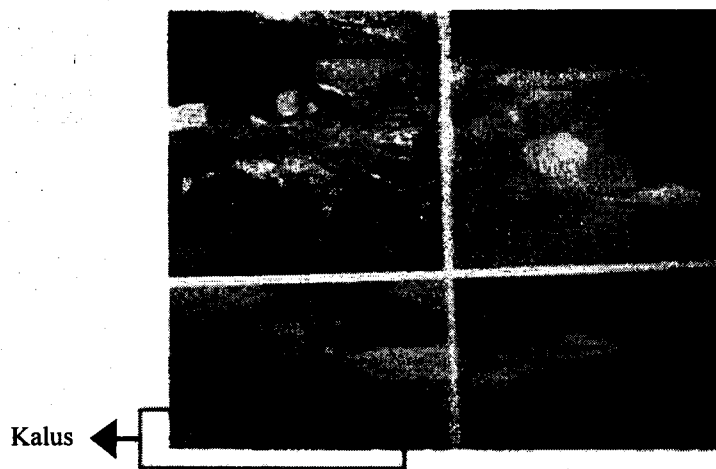
Perlakuan media tidak memberikan perbedaan terhadap respon pertumbuhan baik pada eksplan meristem tunas pucuk maupun meristem bakal tunas aksilar. Eksplan meristem tunas pucuk dan meristem bakal tunas aksilar keduanya dapat mengalami regenerasi membentuk planlet. Respon pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikultur pada media Ub1 dengan penambahan berbagai macam kombinasi konsentrasi NAA dan BA terlihat bervariasi (Gambar 1) sesuai dengan data pada Tabel 1. Media yang dapat menginduksi pertumbuhan terbaik dari bagian meristem yang dikulturkan yaitu perlakuan B (Gambar 1a). Media tumbuh Ub1 yang diperkaya 0.02 mg/l NAA dan 0.2 mg/l BA (perlakuan B) dapat menginduksi

terjadinya regenerasi langsung bagian meristem tunas pucuk dan meristem bakal tunas aksilar dari ke empat kultivar ubijalar yang dikulturkan.

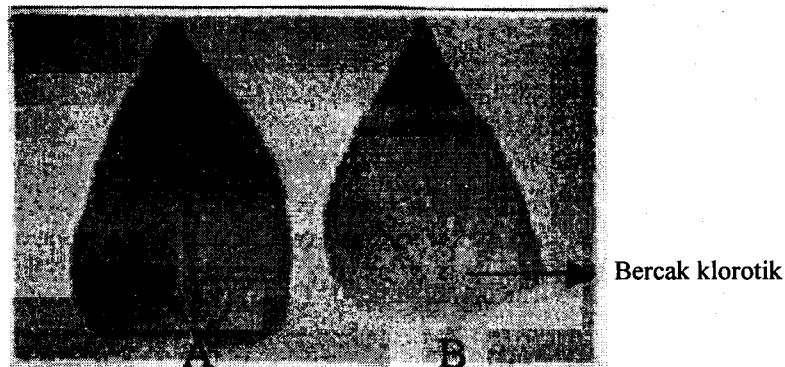
Planlet yang terbentuk dari hasil kultur meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar dievaluasi dengan cara membandingkan daun yang terbentuk dari tanaman hasil kultur meristem dengan daun yang terbentuk dari tanaman yang belum mengalami kultur meristem (ada infeksi penyakit). Penampakan morfologi dalam kultur *in vitro* dari daun tanaman yang belum mengalami kultur meristem berbeda dengan daun yang sudah mengalami kultur meristem tunas pucuk (Gambar 2). Daun tanaman ubijalar yang belum mengalami kultur meristem tunas pucuk memperlihatkan bercak-bercak

klorotik pada permukaan bagian lamina daun, sebaliknya planlet yang dihasilkan dari kultur meristem tunas pucuk tidak ditemukan bercak-bercak klorotik lagi. Planlet hasil kultur meristem tunas pucuk tidak menunjukkan bercak-bercak klorotik, daun tidak kriting, terlihat sehat dan normal. Sedang tanaman yang belum mengalami kultur meristem memperlihatkan morfologi daun kecil-kecil, keriting, terdapat banyak bercak-bercak klorotik dan terlihat abnormal (Gambar 3). Planlet hasil kultur meristem bakal tunas aksilar masih terdapat bercak-bercak klorotik pada permukaan daunnya (ada infeksi penyakit).

Berdasarkan hasil uji NCM-ELISA dari 5 sampel planlet tiap-tiap kultivar menunjukkan bahwa planlet hasil kultur meristem tunas pucuk dari kultivar PN-11, Maria, Seri, dan Nunfor yang diujikan bereaksi negatif terhadap antiserum SPFMV atau dengan kata lain bebas dari infeksi SPFMV, tetapi sampel planlet (5 sampel tiap-tiap kultivar) hasil kultur bakal tunas aksilar dari ke empat kultivar ubijalar tersebut semuanya menunjukkan reaksi positif terhadap antiserum SPFMV (ada infeksi). Sampel analisis NCM-ELISA dari hasil kultur meristem kultivar-kultivar ubijalar yang telah dilakukan disajikan pada Gambar 4.



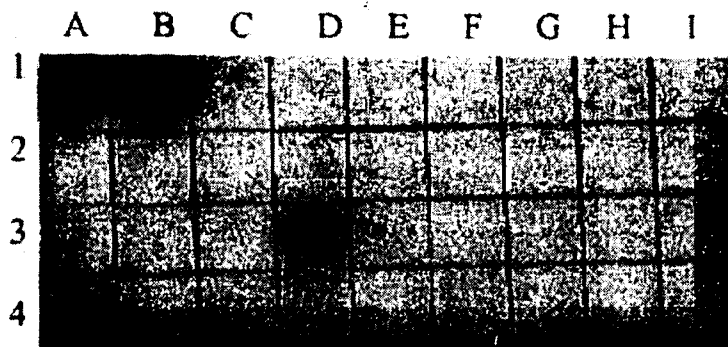
Gambar 1. Pertumbuhan dan perkembangan bagian meristem tunas pucuk ubijalar yang dikulturkan pada berbagai macam media yang dicobakan. (a) regenerasi langsung (planlet normal) (perlakuan B), (b) regenerasi yang diawali dengan pembentukan kalus (tidak terbentuk akar) (perlakuan A), (c) regenerasi yang diawali dengan pembentukan kalus (terbentuk akar, kalus, batang dan daun) (perlakuan C, D, dan E), dan (d) hanya tumbuh kalus (perlakuan F).



Gambar 2. Perbandingan morfologi daun dalam kultur *in vitro* yang terinfeksi penyakit dan yang telah mengalami kultur meristem. (A) daun ubijalar yang sehat (hasil kultur meristem) dan (B) daun ubijalar yang terinfeksi penyakit (ubijalar sakit).



Gambar 3. Perbandingan morfologi daun ubijalar setelah diaklimatisasi. (A) tanaman yang telah mengalami kultur meristem (sehat) dan (B) tanaman yang belum mengalami kultur meristem (sakit) dan kemungkinan bukan hanya diinfeksi oleh SPFMV tetapi juga diinfeksi oleh fitoplasma dan virus lainnya.



Gambar 4. Contoh hasil deteksi virus dengan NCM-ELISA. Ubin baris 1 kolom A adalah kontrol (+), ubin baris 1 kolom B adalah Kontrol tanaman belum mengalami kultur meristem, ubin baris 3 kolom D adalah sampel tanaman hasil kultur meristem bakal tunas aksilar, dan ubin-ubin yang lain adalah sampel tanaman hasil kultur meristem tunas pucuk. Reaksi positif ditunjukkan oleh bulatan warna ungu pada ubin.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, meristem tunas pucuk dan bakal tunas aksilar yang digunakan sebagai eksplan berhasil diregenerasikan membentuk planlet pada media tumbuh Ub1 yang diperkaya dengan NAA dan BA (perlakuan A, B, C, D, dan E). Perlakuan lainnya yaitu perlakuan F dan G, tidak menginduksi pembentukan planlet. Proses regenerasi eksplan membentuk planlet dari masing-masing media tumbuh yang digunakan bervariasi. Eksplan mengalami regenerasi langsung (tidak diawali dengan pembentukan kalus) dan regenerasi yang diawali dengan pembentukan kalus

(regenerasi tidak langsung). Untuk tujuan eliminasi patogen dari plasma nutfah yang terinfeksi, planlet yang terbentuk dari kalus tidak dikehendaki karena kestabilan genetik planlet asal kalus tidak dijamin memiliki sifat sama dengan tetuanya. Pierik (1987) menyatakan bahwa tanaman hasil regenerasi dari kalus memiliki sifat yang bervariasi.

Eksplan yang dikulturkan pada media tanpa zat pengatur tumbuh tidak mengalami pertumbuhan dan perkembangan dan akhirnya mengalami kematian. Media yang terbaik untuk pertumbuhan meristem tunas pucuk ubijalar kultivar PN-11, Maria, Seri, dan Nunfor adalah media MS yang dimodifikasi (Ub1) dan

diperkaya dengan 0.02 mg/liter IAA dan 0.2 mg/liter BA (Tabel 1 perlakuan B). Untuk perlakuan 1 mg/liter NAA + 1 mg/liter BA (perlakuan F) hanya tumbuh kalus saja, sedang akar dan tunas tidak terbentuk. Hal ini sejalan dengan teori keseimbangan auksin dan sitokinin yang menyatakan bila auksin dan sitokinin berada dalam keadaan seimbang maka akan terbentuk kalus (George dan Sherrington, 1984). Sedang untuk perlakuan lainnya (A, C, D dan E) masing-masing terbentuk kalus, akar, batang, dan tunas. Meskipun terbentuk akar, batang dan tunas pada perlakuan ini tetap tidak dikehendaki karena proses regenerasinya diawali dengan pembentukan kalus sehingga kestabilan genetiknya diragukan. Dengan demikian planlet yang dihasilkan pada perlakuan ini tidak dipertahankan untuk dijadikan sumber bibit.

Kultivar-kultivar yang belum mengalami kultur meristem secara morfologi terlihat ada bercak-bercak klorotik pada permukaan bagian atas daun, daun kecil-kecil, dan menggulung. Setelah mengalami pengujian NCM-ELISA menunjukkan bahwa kultivar-kultivar yang memperlihatkan bercak-bercak klorotik bereaksi positif antiserum SPFMV. Kemungkinan ke empat kultivar ubijalar yang dicobakan pada penelitian ini tidak hanya diinfeksi oleh SPFMV tetapi juga diinfeksi oleh fitoplasma dan virus kompleks ubijalar lainnya. Gejala serangan yang terjadi bukan hanya gejala serangan SPFMV saja tetapi juga gejala serangan fitoplasma. Machmud (1998) menyatakan gejala penyakit SPFMV pada tanaman ubijalar yang terinfeksi kadang-kadang tidak nampak, tetapi beberapa varietas ubijalar menunjukkan gejala bercak klorotik yang samar-samar dan kadang-kadang tepi daun berwarna ungu, *vein clearing*, dan nekrosis. Sedang gejala serangan fitoplasma yaitu tangkai daun dan batang mengecil, serta daun mengecil dan terlipat (Paiki, 1998). Gejala klorotik, nekrosis, daun kecil dan terlipat nampak pada tanaman yang belum mengalami kultur meristem tunas pucuk.

Planlet yang dihasilkan dari kultur meristem tunas pucuk, gejala tersebut di atas tidak ditemukan lagi tetapi planlet yang dihasilkan dari meristem bakal tunas aksilar masih menunjukkan gejala klorotik pada permukaan daun. Green *et al.* (1992) menyatakan klon ubijalar yang telah mengalami kultur meristem terbukti bebas dari penyakit virus dan penyakit sistemik lainnya serta dapat berproduksi lebih tinggi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa planlet yang dihasilkan dari kultur meristem tunas pucuk dari empat kultivar ubijalar unggul lokal yang dicobakan bebas dari infeksi SPFMV. Regenerasi meristem tunas pucuk menghasilkan planlet bebas virus karena proliferasi sel-sel meristem tunas pucuk jauh lebih cepat dibanding dengan proliferasi partikel virus sehingga menyebabkan sel-selnya belum mengalami transmisi virus. Planlet yang dihasilkan dari sel-sel tidak mengalami transmisi virus menghasilkan planlet bebas virus. Untuk menyatakan bahwa planlet

yang dihasilkan ini juga bebas dari patogen lainnya seperti fitoplasma, masih perlu dilakukan pengujian lebih lanjut.

Gejala klorotik yang muncul pada planlet yang dihasilkan dari eksplan meristem bakal tunas aksilar diduga disebabkan bakal tunas aksilar yang terdapat di ketiak daun dalam keadaan dorman atau dengan kata lain tidak aktif dalam proses pembelahan dan replikasi sel, sedang replikasi virus berjalan terus-menerus sehingga sel-sel bakal tunas aksilar yang dorman mengalami transmisi virus dari sel-sel sekitarnya yang sudah terinfeksi. Dengan demikian bakal pucuk aksilar yang berada di ketiak daun tidak dapat digunakan sebagai bahan eksplan untuk tujuan eliminasi virus dan penyakit sistemik lainnya.

Berdasarkan hasil uji NCM-ELISA yang telah dilakukan menunjukkan bahwa planlet yang dihasilkan dari kultur meristem tunas pucuk (cv. PN-11, Maria, Seri, dan Nunfor) bebas dari SPFMV. Sampel analisis NCM-ELISA dari hasil kultur meristem kultivar-kultivar ubijalar tersebut disajikan pada Gambar 2. Planlet yang dihasilkan dari kultur meristem tunas pucuk selain bebas dari infeksi SPFMV, diduga kemungkinan juga bebas dari penyakit sistemik lainnya seperti *Sweet potato little leaf* (SPLL) yang disebabkan oleh fitoplasma atau juga sering disebut *witches broom* atau "sapu setan". Di samping penyakit virus, penyakit SPLL juga dilaporkan banyak menginfeksi kebun koleksi plasma nutfah ubijalar PSUS-Uncen (Rusmadi *et al.*, 1998) dan kebun ubijalar masyarakat di Papua 741 (Paiki, 1998). Planlet-planlet dari empat kultivar yang dicobakan pada penelitian ini telah dibuktikan bebas dari infeksi SPFMV melalui pengujian NCM-ELISA. Untuk menyatakan bahwa planlet-planlet ini juga bebas dari infeksi virus ubijalar lainnya dan fitoplasma masih perlu dilakukan pengujian dengan antiserum untuk virus ubijalar yang lain, *grafting* dengan *Ipomoea setosa* dan analisis *polymerase chain reaction* (PCR).

Meskipun tidak dilakukan pengujian berbagai macam penyakit, selain SPFMV dapat diduga bahwa planlet-planlet hasil kultur meristem pucuk tersebut juga bebas dari infeksi fitoplasma karena daerah infeksi fitoplasma yaitu pada jaringan silem dan floem (Agrios, 1995; dan Nakashima *et al.*, 1999). Bagian meristem tunas pucuk yang digunakan sebagai eksplan pada penelitian ini belum terbentuk jaringan pembuluh (xilem dan floem). Dengan demikian transmisi fitoplasma belum sampai ke bagian tanaman yang dijadikan eksplan, sehingga planlet yang dihasilkan diduga bebas dari infeksi fitoplasma dan didukung oleh data penampakan morfologi hasil kultur meristem pucuk yang telah diaklimatisasi tidak menimbulkan gejala infeksi penyakit (tumbuh sehat).

KESIMPULAN

Pengujian NCM ELISA pada planlet yang berasal dari eksplan pucuk tunas menunjukkan tidak adanya infeksi SPFMV, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pucuk tunas sebagai bahan eksplan terbukti dapat mengeliminasi SPFMV pada perbanyakan kultur jaringan ubijalar. Kombinasi perlakuan yang terdiri dari Media MS yang diperkaya dengan NAA (0.02 mg/l) dan BA (0.2 mg/l) merupakan media terbaik untuk pembentukan segmen meristem kultur jaringan ubijalar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada pengelola Proyek Pengembangan Sebelas Lembaga Pendidikan Tinggi (ADB Loan No. 1253-INO) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan atas dukungan dana yang diberikan melalui proyek Starter Grant No. 211/HEP/VIII/C.SP.99/SG. 1999, CIP (Central International Potato) yang bersedia mengirimkan ELISA Kit untuk deteksi penyakit ubijalar, dan Dr. Muhammad Machmud (BALITBIO) yang telah memberi petunjuk untuk deteksi virus dengan NCM-ELISA.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1995. Plant pathology: Plant disease caused by mollicutes (Phytoplasmas and spiroplasmas. 4th edition. Academic Press. p. 457-470.
- Ameny, M.A., P.W. Wilson, M. Hegsted. 1994. Protein quality wearing baby food from African White Fleshes sweet potato varieties and Apios Americana with pigeon peas added as a complementary protein.
- Barahima. 1999. Konservasi plasma nutfah ubijalar asal Irian Jaya secara *in vitro*. Irian Jaya Agro. 6(2): 25-35.
- Chen, F.X., W.X. Lin, Z.W. Xiu. 1994. Sweet potato cultivar Jinshan 57. Fujian Agricultural University. 23(3): 243-248.
- George, O.L., P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Hand Book and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Ltd., England. 790p.
- Green, S.K., S.C.S. Tsou, S.F. Wu. 1992. The effect of meristeming on yield, quality and on virus reinfection of sweet potato. Plant Protection Bulletin Taipei. 34(3): 192-201.
- Machmud, M. 1998. Penyakit virus pada ubijalar. CIP-ESEAP, Bogor. p. 29-37.
- _____. 1999. Teknik NCM-ELISA untuk deteksi *Ralstonia solanacearum*. BALIT-BIO Bogor. 9p.
- Mulyadi, I. D. Putu S. 1998. Beberapa hama dan penyakit ubijalar yang ditemukan di lahan pertanian di kabupaten Jayawijaya. BALIT-BIO Bogor. p. 11-15.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A reviced medium for rapid growth and bioassay with tobacco culture. Plant Physiol. 15:473-497.
- Nakano, M., S. Fuentes, L.F. Salazar. 1994. Sweet potato virus diseases detected in the tropics of South and Central America and South East Asia. JIRCAS. 1:58-65.
- Nakashima, K., P. Wongkaew, W. Chaleeprom, P. Sirithorn, T. Hayashi. 1999. Molecular detection and characterization of phytoplasmas that cause sugarcane white leaf disease. JIRCAS. Okinawa Japan. 7:1-17.
- Noda, T., Y. Takahata, T. Sato. 1994. Sugar composition on cell wall material from sweet potato differing and stages development, Tissue zone and variety. Applied Glucocine. 41 (3): 311-316.
- Ohkoshi, K. 1991. Production of virus-free plant by meristem culture vegetable and ornamental plants. Food and Fertilizer Technology Centre. The Biological Control of Plant Diseases. 42:87-95.
- Paiki, F.A. 1998. Status penyakit ubijalar di Irian Jaya. CIP-ESEAP, Bogor. p. 1-6.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* Cultur of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. Netherlands. 344p.
- Rusmadi, M. Machmud, D. Erari, C.A. Widyastuti, F.A. Paiki. Reaksi plasma nutfah ubijalar koleksi PSUS terhadap penyakit daun kecil ubijalar. CIP-ESEAP, Bogor. p. 38-42.

Shaw, J.F. 1994. Production of high-maltosa syrup and high protein by product from material that contain starch and protein by enzymatic process. National Science Council. 4: 69-79.

Widyastuti, C.A. 1998. Pengetahuan petani tentang hama dan penyakit ubijalar. CIP-ESEAP, Bogor. p. 7-10.

Yoshimoto, M., S. Okuno, M. Yashinaga, O. Yamakawa. 1998. Antimutagenic activity of water extract from sweetpotato. Trop. Agric. (Trinidad) 75 (2):308-313.