

Respon Pertumbuhan Planlet Tebu PRG *In-Vitro* Pada Media Kemoterapi Ribavirin

GMO Sugarcane Planlets Growth Response In-vitro on Media Ribavirin Chemoterapy

Fadrian Ramadhan, Parawita Dewanti*, Bambang Sugiharto**

Program Studi Agroteknologi, Jurusan Agronomi*, Fakultas Pertanian*, Jurusan Biologi**, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember
*E-mail : parawita@yahoo.co.id

ABSTRACT

Chemotherapy is a method of virus particle elimination biochemically on plant tissue with adding antiviral ribavirin. Ribavirin is an antiviral has mechanism to inhibit the occurrence of protein synthesis by inhibiting formation of the enzyme RNA polymerase. Inhibiting process of RNA polymerase formation it will inhibit virus particle multiplication on plant tissue. Application of ribavirin in high concentration lead symptoms disorder also called *phytotoxic*. *Phytotoxic* symptoms may include death of meristem tissue, the presence of marked growth retardation and chlorotic although necrotic. In this research, planting some event of GM sugarcane on media ribavirin chemotherapy, on some concentration 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm during 42 day after planting. Sugarcane planlets used that GM sugarcane overexpression *SoSUT1* gene. Growth response of the GM sugarcane event show the different result of each event. The Result observation is average number of bud. It can be concluded that *event 2* is GM sugarcane which has resistance to phytotoxic symptoms on media ribavirin chemotherapy.

Keywords: *Phytotoxic*; Ribavirin; SCMV; Virus

ABSTRAK

Kemoterapi merupakan sebuah upaya untuk mengeliminasi partikel virus pada jaringan tanaman secara biokimia dengan menambahkan antiviral ribavirin. Ribavirin merupakan antiviral yang memiliki mekanisme yang mampu menghambat terjadinya sintesa protein dengan cara menghambat pembentukan enzim RNA Polymerase. Terhambatnya RNA Polymerase maka akan menghambat multiplikasi partikel virus dalam jaringan tanaman. Penggunaan ribavirin dalam konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan gejala gangguan pertumbuhan pada tanaman atau yang disebut dengan *Phytotoxic*. Gejala *Phytotoxic* dapat berupa kematian jaringan meristem dengan ditandai adanya hambatan pertumbuhan dan juga muncul gejala klorosis maupun nekrosis pada gejala yang parah. Dalam penelitian ini dilakukan penanaman beberapa *event* tanaman tebu PRG dalam media kemoterapi ribavirin pada beberapa taraf konsentrasi yakni 0, 25, dan 50 ppm selama 42 HST. Planlet tebu yang digunakan adalah (*Saccharum officinarum*, *hybrid*) PRG Overekspresi gen *SoSUT1*. Respon pertumbuhan yang ditampilkan oleh masing-masing *event* tebu PRG menunjukkan adanya perbedaan antar masing-masing *event* tebu PRG. Dari hasil pengamatan rata-rata jumlah tunas, pada media kemoterapi, dapat disimpulkan bahwa *event 2* merupakan *event* tebu PRG yang memiliki ketahanan terhadap gejala *phytotoxic* pada media kemoterapi ribavirin.

Keywords: *Phytotoxic*; Ribavirin; SCMV; Virus

How to cite: Ramadhan, F., Dewanti, P., Sugiharto, B. 2014. Respon Pertumbuhan Planlet Tebu PRG *In-vitro* Pada Media Kemoterapi. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tanaman hasil transformasi gen *SoSUT1* tidak akan berproduksi maksimal sesuai dengan potensi genetik yang dimiliki bila dilapang terjadi gangguan dari organisme pengganggu tanaman. Banyak penyakit tanaman yang sesungguhnya disebabkan infeksi virus. Salah satu contohnya adalah penyakit mosaik daun. Penyakit mosaik yang sering ditemukan pada lahan komersial tanaman tebu adalah penyakit mosaik yang disebabkan oleh *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) yang menyerang bagian daun tanaman.

Sugarcane mosaic virus (SCMV), tergolong dalam genus potyvirus, family potyviridae, yang terdiri dari 7 virus yang menyerang beberapa tanaman dalam satu species yaitu *Poaceous*. Ketujuh virus yang dimaksud adalah SCMV, *sorghum mosaic virus* (SrMV), *sugarcane streak mosaic virus* (SCSMV), *johnsongrass mosaic virus* (JGMV), *maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *pennisetum mosaic virus* (Pen MV), dan *zea mosaic virus* (Ze MV). Walaupun tergolong dalam sub bagian SCMV,

empat virus terakhir telah dapat di isolasi dari tanaman tebu (Chatenet *et al.*, 2005).

Partikel virus SCMV berbentuk filamen lentur dengan panjang 730 nm dan diameter 13 nm. SCMV terdiri dari satu untai RNA positive sense, yang ujung 3' mengalami poliadenilasi. Genom RNA dikelilingi oleh protein capsid (coat protein = CP) yang tersusun heliks sehingga membentuk struktur virion lonjong (Goodman *et al.*, 1998; Xie *et al.*, 2009).

Eliminasi virus pada jaringan tanaman dapat dilakukan secara biokimia salah satunya dengan kemoterapi atau penambahan bahan kimia antivirus pada media pertumbuhan tanaman. Ribavirin merupakan senyawa antiviral yang memiliki spektrum lebar yang mampu melawan DNA atau RNA virus dengan cara menghambat enzim *RNA polymerase*, sehingga proses translasi mRNA terhambat (Al-Maarri, *et al.* 2012).

Sidwell *et al.*, (1972) menjelaskan bahwa, Ribavirin merupakan analog guanosisin, sehingga dapat mengganggu biosintesis dari guanosisin 5'- fosfat. Terganggunya biosintesis guanosisin 5'- fosfat dapat mengakibatkan terganggunya sintesis RNA dan DNA dalam sel yang terinfeksi. Terhambatnya sintesis RNA dan DNA pada sel yang

mengandung ribavirin otomatis akan menghambat replikasi RNA dari virus yang berada dalam jaringan terinfeksi.

Ribavirin dapat menghambat replikasi RNA dan DNA virus. (Wu et al. 2003). Ribavirin bersama dengan interferon merupakan agen antivirus yang menghambat sintesis RNA. Ribavirin merupakan analog guanosisin dan adenosine yang dimetabolisme menyerupai nukleotida RNA purin. Sebagai analog dari adenine atau guanine, ketika ribavirin bergabung dalam RNA, maka akan berpasangan dengan urasil atau cytosine sehingga memacu terjadinya mutasi pada replikasi RNA virus. Terjadinya hypermutasi akan berefek mematikan bagi virus (Elia et al., 2008, Schinkel et al., 2003).

Pada penelitian Danci et al. (2012), pengaplikasian ribavirin pada media kultur tanaman kentang menunjukkan perbedaan dalam regenerasi sel pada pucuk tunas, panjang batang, jumlah tunas, dan jumlah akar. Pada planlet yang ditanam pada media dengan ribavirin menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan kontrol. Membuktikan bahwa ribavirin dapat mengakibatkan *phytotoxic* pada tanaman. Satu penjelasan tentang ribavirin yakni ribavirin dapat mengurangi bahkan menghambat kegiatan sel pada tanaman bahkan kemungkinan dapat mempengaruhi sintesis RNA pada sel tanaman tergantung dari seberapa besar konsentrasi ribavirin yang digunakan. Menurut Al-Maarri et al., (2012), konsentrasi ribavirin yang tinggi dapat mengakibatkan *phytotoxic* yakni terjadi pertumbuhan yang melemah akibat kematian meristem atau penurunan proses metabolik seluler pada tanaman inang.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Eksplan. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa planlet dari hasil perbanyakan tunas lateral tebu (*Saccharum officinarum L.*) var. Bulu Lawang (BL) PRG overekspresi gen *SoSUT1 event 2* dan 20 yang ditumbuhkan pada media seleksi (MS + *Hygromycin* 20 mgL⁻¹) serta *Wild Type* yang ditumbuhkan pada media *Murashige & Skoog* (MS).

Perawatan dan Pengamatan Eksplan. Kegiatan perawatan eksplan planlet tebu meliputi subkultur setiap 3 minggu sekali dengan cara membersihkan dan memindah planlet ke media yang baru. Planlet yang telah disubkultur di inkubasi dengan diberi penyinaran dan suhu yang sesuai. Subkultur terus dilakukan sampai planlet in-vitro jumlahnya mencukupi dan siap untuk dipindah dalam media kemoterapi ribavirin. Selama kegiatan perawatan dilakukan secara bersamaan dilakukan juga pengamatan kondisi fisik planlet berdasarkan pertumbuhannya sebelum memasuki media kemoterapi. Pengamatan tersebut meliputi: jumlah tunas.

Pembuatan Media Kemoterapi Ribavirin. Pembuatan media kemoterapi ribavirin dilaksanakan apabila jumlah dan kondisi planlet telah mencukupi dan siap untuk mulai diberikan perlakuan kemoterapi menggunakan ribavirin sesuai dengan perlakuan konsentrasi yang akan diujikan. Pembuatan media kemoterapi ribavirin harus diawali dengan pembuatan stock ribavirin. Setelah stock ribavirin telah dibuat maka dapat diberikan pada saat pembuatan media seperti pada pembuatan media perbanyakan sesuai dengan jenis planlet.

Perawatan dan Pengamatan Eksplan. Kegiatan perawatan eksplan planlet tebu meliputi subkultur setiap 3 minggu sekali dengan cara membersihkan dan memindah planlet ke media yang baru. Kegiatan subkultur di lakukan 2 kali pada media kemoterapi. Planlet yang telah disubkultur di inkubasi dengan diberi penyinaran dan suhu yang sesuai. Setelah kegiatan perawatan dilakukan selama 6 minggu dilakukan pengamatan kondisi fisik planlet berdasarkan pertumbuhannya sebelum dilanjutkan uji serologi menggunakan ELISA. Pengamatan tersebut meliputi: jumlah tunas.

HASIL

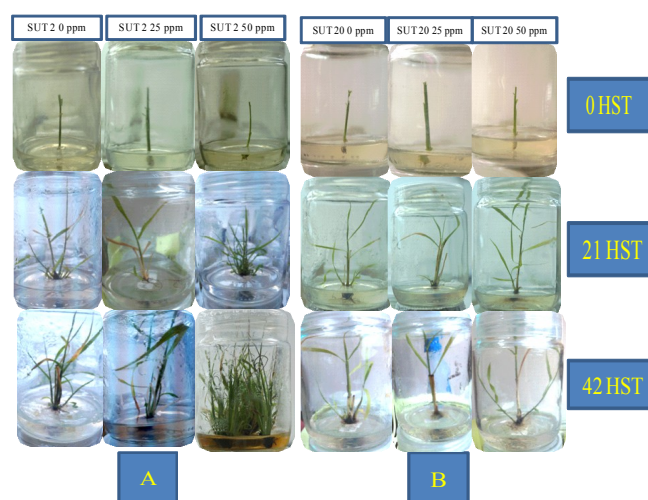
Pertumbuhan planlet pada media kemoterapi. Masing-masing planlet tebu PRG menunjukkan respon pertumbuhan yang berbeda-beda. Kecepatan pertumbuhan dari masing-masing planlet juga berbeda-beda

(Gambar 1). konsentrasi antiviral ribavirin juga mempengaruhi respon pertumbuhan pada masing-masing planlet.

Jumlah tunas masing-masing planlet tebu PRG. Respon pertumbuhan yang ditunjukkan oleh masing-masing planlet tebu PRG adalah pembentukan tunas baru. Pembentukan tunas baru masing-masing planlet tebu PRG dipengaruhi oleh konsentrasi antiviral ribavirin dalam media kemoterapi. (Gambar 2).

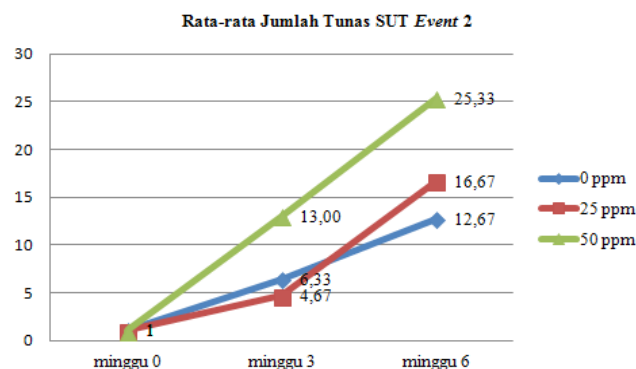
PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil respon pertumbuhan dari masing-masing planlet tebu PRG. Respon pertumbuhan masing-masing planlet ditunjukkan dengan penampakan pertumbuhan dari 0HST samapai dengan 42 HST dalam media kemoterapi dengan konsentrasi antiviral ribavirin yang berbeda. (gambar 1). Pertumbuhan kedua planlet tebu PRG menunjukkan bahwa masing-masing *event* tebu PRG memiliki respon pertumbuhan yang berbeda, pada *event 2* terlihat dari 0 HST sampai dengan 42 HST menunjukkan adanya peningkatan jumlah anakan baru yang terbentuk. Sedangkan pada *event 20* terlihat pertumbuhan mulai 0 HST sampai dengan 42 HST, penambahan jumlah anakan tidak terlalu banyak dibandingkan *event 2*.



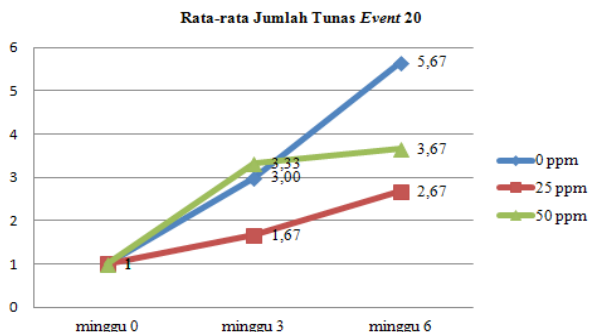
Gambar 1. Pertumbuhan masing-masing planlet tebu PRG (Event 2 (A), dan Event 20 (B)) dari hari 0HST sampai 42 HST.

Perbedaan respon pertumbuhan antara kedua *event* tebu PRG ditunjang dengan data hasil pengamatan jumlah tunas dari masing-masing *event* tebu PRG dari 0 HST sampai dengan 42 HST (Gambar 2 dan Gambar 3). Pada *event 2* terlihat bahwa pada konsentrasi antiviral ribavirin yang tinggi 50 ppm memberikan respon peningkatan pembentukan tunas baru dibandingkan konsentrasi 25 ppm dan kontrol (0 ppm). Respon *event 2* menunjukkan bahwa, *event 2* memiliki ketahanan terhadap *phytotoxic* yang diakibatkan oleh mekanisme antiviral ribavirin pada media kemoterapi, sehingga dalam konsentrasi antiviral ribavirin yang tinggi masih mampu tumbuh dengan baik.



Gambar 2. Grafik Rata-rata jumlah tunas SUT Event 2 umur 0 HST sampai 42 HST.

Respon pertumbuhan *event* 20 menunjukkan perbedaan dengan *event* 2, pada *event* 2 semakin tinggi konsentrasi antiviral ribavirin justru semakin meningkatkan pembentukan tunas baru, sedangkan pada *event* 20 terlihat pada konsentrasi ribavirin 25 ppm dan 50 ppm menunjukkan adanya hambatan pembentukan tunas baru bila dibandingkan dengan rata-rata jumlah tunas pada konsentrasi kontrol (0 ppm). Dari hasil respon pertumbuhan *event* 20 tersebut dapat disimpulkan bahwa, *event* 20 tidak memiliki ketahanan terhadap konsentrasi antiviral ribavirin tinggi dengan menunjukkan adanya gejala penghambatan pertumbuhan selama 42 HST dalam media kemoterapi.



Gambar 3. Grafik rata-rata jumlah tunas SUT *event* 20 umur 0 HST sampai 42 HST.

Munculnya gejala mutasi pada planlet yang ditanam dalam media kemoterapi bermacam-macam, seperti gangguan pertumbuhan dengan adanya pertumbuhan satu atau lebih organ tanaman yang tumbuh tidak sempurna. Hal tersebut juga terjadi pada penelitian Paunovic *et al.* (2007), terdapat gejala gangguan pertumbuhan pada tunas pucuk maupun tunas lateral tanaman anggur yang ditumbuhkan dalam media kemoterapi ribavirin dengan konsentrasi 60 mg/L. Gejala fitotoksitas terlihat secara sporadis pada media dengan konsentrasi ribavirin 60 mg/L, sedangkan pada media dengan 80 dan 100 mg/L ribavirin menunjukkan gejala khas *phytotoxic* yakni, terjadi kelainan bentuk daun, terjadi klorosis dan nekrosis pada daun dan seluruh bagian tunas.

Terjadinya gejala hambatan pertumbuhan pada planlet yang ditanam dalam media kemoterapi diduga juga dipengaruhi oleh ketahanan masing-masing tanaman terhadap kinerja ribavirin sebagai antivirus. Masing-masing tanaman memiliki batas maksimal ketahanan pada konsentrasi ribavirin dalam media tanamnya, bila konsentrasi ribavirin dalam media tanam melebihi kemampuan adaptasi tanaman maka tanaman akan menunjukkan gejala gangguan pertumbuhan atau *phytotoxic*.

Banyaknya jumlah tunas akan mempengaruhi pertumbuhan dari masing-masing tunas baru. Semakin banyak tunas menyebabkan terjadinya persaingan dalam penyerapan nutrisi dari media tanam semakin ketat, sehingga mempengaruhi pertumbuhan dari masing-masing tunas baru yang terbentuk yang umumnya berukuran pendek.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data pengamatan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, diantara kedua *event* tebu PRG memiliki perbedaan respon pertumbuhan. Pada pertumbuhan *event* 2 menunjukkan terjadi peningkatan pembentukan tunas baru pada konsentrasi ribavirin yang tinggi dibandingkan *event* 20, hal ini menyimpulkan bahwa planlet *event* 2 merupakan *event* tebu PRG yang memiliki ketahanan terhadap antiviral ribavirin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui proyek Unggulan Perguruan Tinggi (Desentralisasi) BP2M DIKTI pada tahun 2013 atas nama Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.

DAFTAR PUSTAKA

Al Maarri, K., R. Massa and F. AlBiski. 2012. Evaluation of some therapies and meristem culture to eliminate potato Y potyvirus from infected potato plants. *Plant Biotechnology* 29 : 237-243.

Chatenet M, Mazarin C, Girard JC, Fernandez E, Gargani D, Rao GP, Royer M, Lockhart BEL, Rott P., 2005. Detection of Sugarcane streak mosaic virus in sugarcane from several Asian countries. In : *Proceedings of the International Society of Sugarcane Technologists* 25, Guatemala City, Guatemala, pp 656-662.

Danci. M., Danci. O., Mike Luiza, Baicu Anca, Oлару Daniela, Petolescu Cerasela, Berbentea F., David I. 2012. Production Of Virus Free Potato Plantlets. *Journal Of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, Vol 16 (1), 232-238, 2012.

Elia, G., C. Belloli, and F. Cirone. 2008. In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral research* 77 (2) 108-113.

Goodman, B.S, D. MacDonald and B.I Hockett. 1998. A survey of South Africa sugarcane mosaic virus (SCMV) strains based on coat protein gene sequence analysis. *Proc. S. Afr. Sug. Tech. Ass.* 72 : 146-148.

Paunovic, P., Ruzic, D., Vujovic, T., Milenkovic, S., Jevremovic, D. 2007. In Vitro Production Of Plum Pox Virus - Free Plums By Chemotherapy With Ribavirin. *Biotechnol. & Biotechnol.* EQ. 21/2007/4.

Schinkel, Janke, Menno D. de Jong, Bas Bruning, Bart van Hoek, Willy JM Spaan and Aloys CM Kroes. 2003. The potentiating effect of ribavirin on interferon in the treatment of hepatitis C : lack of evidence for ribavirin-induced viral mutagenesis. *Antiviral therapy* 8 : 535-540.

Sidwell, R.W., Huffamn, J.H., Khare, G.P., Allen, L.B., Witkowski, J.T. and Robins, R.K. 1972. Broad-spectrum Antiviral Activity of Viravole: 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Science* 177:705-706.

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