

**DETEKSI DAN KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *TrAP* DAN *Rep*
BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN TOMAT (*Solanum
lycopersicum* L.) DI LAMPUNG SELATAN**

Skripsi

Oleh

**AZ-ZAHRA SEPTIANA
1857021005**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

DETEKSI DAN KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *TrAP* DAN *Rep* BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN TOMAT (*Solanum lycopersicum* L.) DI LAMPUNG SELATAN

Oleh

AZ-ZAHRA SEPTIANA

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) ialah salah satu tanaman pertanian bernilai ekonomi tinggi dan banyak dibudidayakan di Lampung. Dalam proses budidaya tanaman tomat petani seringkali menemukan hambatan, salah satunya adalah infeksi Begomovirus. Infeksi virus ini dapat mengakibatkan penurunan hasil pertanian tanaman tomat. Begomovirus termasuk ke dalam famili Geminiviridae (kelompok Geminivirus) yang ditularkan oleh kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn.). Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan Begomovirus pada tanaman tomat di Lampung Selatan, mengetahui karakteristik molekuler gen *TrAP* dan *Rep* pada Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan, dan menganalisis hubungan kekerabatan Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan dengan isolat Begomovirus asal negara lain berdasarkan sekuen gen *TrAP* dan *Rep*. Deteksi dan karakterisasi dilakukan melalui amplifikasi gen *TrAP* dan *Rep* menggunakan *Polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer universal Begomovirus yaitu SPG1 dan SPG2. Hasil elektroforesis tanaman tomat yang terinfeksi Begomovirus akan menunjukkan pita spesifik berukuran ± 912 bp. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Hama dan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan September - Desember 2021. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Begomovirus menginfeksi tanaman tomat pada tiga daerah di Kabupaten Lampung Selatan, yaitu Desa Agom (T2) dan Desa Kedaton (T3), Kecamatan Kalianda, serta Desa Takabau (T12), Kecamatan Penengahan. Masing-masing isolat teridentifikasi sebagai *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCSV) dengan homologi sebesar 86,98%-98,27%. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan isolat T3 dan T12 berada pada cabang yang sama dan membentuk satu kelompok yang memiliki hubungan kekerabatan yang cukup jauh dengan isolat Begomovirus lainnya karena isolat TYLCSV dari Indonesia ini telah mengalami spesiasi sebagai adaptasi terhadap lingkungan.

Kata kunci: Begomovirus, gen *TrAP* dan *Rep*, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), Tomat (*Solanum lycopersicum* L.), TYLCSV.

**DETEKSI DAN KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *TrAP* DAN *Rep*
BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN TOMAT (*Solanum
lycopersicum* L.) DI LAMPUNG SELATAN**

Oleh

AZ-ZAHRA SEPTIANA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **DETEKSI DAN KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *TrAP* DAN *Rep* BEGOMOVIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN TOMAT (*Solanum lycopersicum* L.) DI LAMPUNG SELATAN**

Nama Mahasiswa : **Az-Zahra Septiana**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1857021005

Jurusan : Biologi

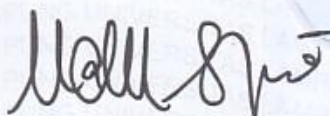
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.
NIP 19810909 201404 1 001



Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.
NIP 19580624 198403 2 002

2. Ketua Jurusan Biologi

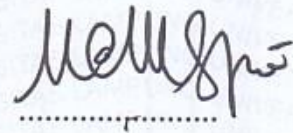


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

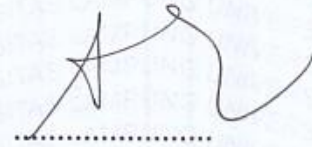
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

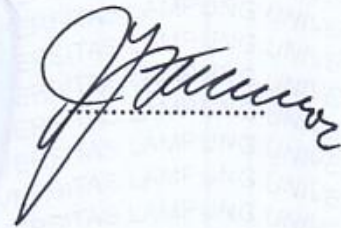
Ketua : **Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.**



Sekretaris : **Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Drs. Suratman, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **03 Juni 2022**

SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Az-Zahra Septiana

NPM : 1857021005

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis di dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya penulis berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah penulis dapatkan. Karya ilmiah ini memuat materi dari karya ilmiah yang telah dipublikasikan sebelumnya yang sudah diolah melalui proses parafrase dan bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini penulis buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka penulis siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 10 Juni 2022

Yang menyatakan,



Az-Zahra Septiana

NPM. 1857021005

RIWAYAT HIDUP



Az-Zahra Septiana, atau yang biasa disapa Azza atau Ara, lahir di Tanjung Karang pada tanggal 2 September 2000. Penulis ialah anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Utoro dan Ibu Nana Keristiana.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Masjid Agung Kalianda pada tahun 2005 dan melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN 2 Kalianda tahun pada 2006-2012. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikannya di SMPN 1 Kalianda pada tahun 2012-2015. Kemudian penulis melanjutkan Pendidikan sekolah menengah atas di SMAN 2 Bandar Lampung pada tahun 2015-2018. Setelah itu penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat (SMMPTN-Barat) pada tahun 2018.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah diamanahkan menjadi asisten pada mata kuliah Struktur Perkembangan Hewan, Fisiologi Hewan, dan Teknik Bioinformatika. Selain itu, penulis juga aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai anggota biro Kesekretariatan dan Logistik periode 2019-2020.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Fitoplankton, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung (BBPBL Lampung) pada bulan Juli – Agustus 2021 dengan judul **“Kepadatan Sel dan Laju**

Pertumbuhan *Porphyridium* sp. yang Diberi Jenis Pupuk Berbeda pada Kultur Skala Laboratorium di Laboratorium Fitoplankton Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung” dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Putra Daerah di Desa Sukaraja, Kecamatan Rajabasa, Kabupaten Lampung Selatan, pada bulan Januari – Februari 2021. Setelah itu penulis melaksanakan penelitian pada bulan September - Desember 2021 di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Hama dan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT dan dengan mengucapkan syukur kepada-NYA, karya ini penulis persembahkan dan dedikasikan dengan kesungguhan hati sebagai bentuk rasa syukur dan terima kasih kepada:

Dua orang paling berharga dalam hidup penulis, Ayahanda Utoro dan Ibunda Nana Keristiana yang telah membesarkan penulis dan memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, serta selalu menyertai setiap langkah penulis dengan do'a yang tak pernah putus hingga penulis dapat melangkah sampai saat ini;

Kakakku tersayang Muthia Utriana dan adikku tersayang Muhammad Harits Putra serta seluruh keluarga besar Alm. Agus Tjik dan Alm. Tugiman yang senantiasa memberikan dukungan dalam berbagai bentuk selama penulis menempuh pendidikan hingga sampai di tahap ini;

Dosen-dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak pernah berhenti memberikan ilmu serta membimbing penulis dengan sabar, tulus, dan ikhlas hingga penulis berhasil mendapatkan gelar sarjana;

Sahabat dan teman-teman yang telah memberikan dukungan dan berjuang bersama dari awal sampai saat ini;

Almamater tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

“Allah akan mengangkat derajat orang-orang yang beriman dan orang-orang yang
berilmu di antara kamu sekalian.”

(Q.S. Al-Mujadilah: 11)

*In life, we have to learn how to find the sweetness in the bitterness, find some
happiness in difficult times, and earnestly pass everyday.*

(Huang Renjun)

*It's not always easy. But that's life. Be strong because there are better days
ahead.*

(Lee Minhyung)

Semua orang berproses. Cepat atau lambatnya kita mencapai garis tujuan kita
bergantung pada diri kita sendiri bukan pada orang lain. *In the end of the day it
isn't anyone but yourself.*

(Penulis)

You are the main character of your life.

(Kim Doyoung)

*Never regret a day in your life. Good days give happiness, bad days give
experiences, the worst days give lessons, and the best days give memories.*

(Unknown)

SANWACANA

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat, dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul **“Deteksi dan Karakterisasi Molekuler Gen *TrAP* dan *Rep* Begomovirus yang Menginfeksi Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Lampung Selatan”** ini dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan menjadi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Dalam proses penyusunannya, karya ini tidak luput dari arahan, kritik, saran, dukungan, dan bimbingan dari banyak pihak sehingga dapat terselesaikan tepat waktu. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, Ayah Utoro dan Ibu Nana Keristiana, Kakak dan adik tersayang Muthia dan Harits yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, motivasi, serta do'a yang tulus dan tak pernah putus dalam setiap perjalanan hidup penulis sampai saat ini;
2. Bapak Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc., selaku Pembimbing I dan Pembimbing Akademik atas waktu dan tenaganya yang telah tcurahkan untuk memberikan arahan, bimbingan, serta masukan selama penulis menempuh pendidikan S1 dan dalam proses penelitian serta penyusunan skripsi ini;

3. Ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani, M.S., selaku Pembimbing II yang telah memberikan masukan, arahan, kritik, dan saran kepada penulis selama melakukan penelitian dan penyusunan karya ini;
4. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., selaku Pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik;
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan nasehat kehidupan yang bermanfaat;
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
7. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
9. Universitas Lampung, almamater tercinta.
10. Sahabat-sahabat tercinta Lyonie Prientika Arie, Sasyita Nurul Almega, dan Salma Salsabiila yang telah mendukung, mendengarkan keluh-kesah, dan menghibur penulis selama penyusunan skripsi ini;
11. Teman-teman *Holi-yay is Star*, Antika Febiola Utami, Khoirunisa, Lydia Septaria Sinurat, Mazoni Firda Safitri, Nur Indah Sari, Novia Amorita, Rizka Dewi Yuliana, Sriana Putri, dan Yeni Mitasari;
12. Teman-teman Biologi Angkatan 2018. Terima kasih untuk perjuangan, rasa kekeluargaan, dan cerita yang sudah dibagi selama ini;
13. Terakhir, terimakasih untuk diri penulis sendiri yang sudah bertahan dan tetap kuat sehingga akhirnya sampai di tahap ini.

Semoga Allah SWT memberikan rahmat dan hidayah kepada kita semua. Penulis juga berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat untuk pembaca.

Bandar Lampung, 10 Juni 2022

Penulis,

Az-Zahra Septiana

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
SAMPUL DALAM	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
SURAT PERNYATAAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pemikiran	4
1.5 Hipotesis Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Tomat	7
2.1.1 Klasifikasi	7
2.1.2 Deskripsi	8
2.1.3 Syarat Tumbuh	12
2.2 Begomovirus	13
2.2.1 Deskripsi	13

2.2.2 Gejala Infeksi	14
2.2.3 Penyebaran Virus	16
2.3 Gen <i>TrAP</i> dan <i>Rep</i>	19
2.4 Metode Deteksi Virus	20
2.5 Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	21
III. METODE PENELITIAN	26
3.1 Waktu dan Tempat	26
3.2 Alat dan Bahan	26
3.2.1 Alat-alat Penelitian	26
3.2.2 Bahan-Bahan Penelitian	27
3.3 Diagram Alur Penelitian	27
3.4 Prosedur Kerja	28
3.4.1 Koleksi Sampel	28
3.4.2 Ekstraksi DNA Sampel	28
3.4.3 Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA	30
3.4.4 Amplifikasi DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	31
3.4.5 Visualisasi Hasil PCR dengan Elektroforesis	33
3.4.6 Sekuensing	33
3.4.7 Analisis Data	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil Penelitian	35
4.1.1 Lokasi Koleksi Sampel Tanaman	35
4.1.2 Gejala Infeksi Begomovirus di Lapangan	36
4.1.3 Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA	38
4.1.4 Amplifikasi DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	38
4.1.5 Analisis Filogenetik	39
4.2 Pembahasan	45
V. KESIMPULAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Deskripsi gejala pada tanaman tomat (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) yang diduga terinfeksi Begomovirus yang ditemukan di Indonesia	16
2. Sekuen nukleotida primer yang digunakan dalam reaksi PCR	31
3. Komposisi reaktan untuk satu kali reaksi ampifikasi dengan metode PCR	32
4. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR	32
5. Deskripsi gejala infeksi Begomovirus yang di temukan pada tanaman tomat di Lampung Selatan	37
6. Nilai absorbansi ketiga sampel hasil uji kuantitatif Kemurnian hasil ekstraksi DNA	38
7. Matriks persentase identitas sepuluh isolat Begomovirus	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman tomat (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	8
2. Morfologi daun tanaman tomat	9
3. Morfologi batang tanaman tomat	9
4. Morfologi bunga tanaman tomat	10
5. Morfologi buah tanaman tomat	10
6. Variasi gejala pada tanaman tomat yang diduga terinfeksi Begomovirus di beberapa daerah	15
7. Peta persebaran Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat	17
8. Kutu kebul (<i>Bemisia tabaci</i> Genn.) dewasa	18
9. Penampang bagian genom Begomovirus	20
10. Siklus <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	24
11. Diagram alur penelitian	27
12. Tahapan koleksi sampel penelitian	28
13. Tahapan ekstraksi DNA sampel	30
14. Tahapan uji kuantitatif hasil ekstraksi DNA	31
15. Tahapan amplifikasi DNA dengan PCR	32
16. Tahapan visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis	33
17. Peta lokasi koleksi sampel penelitian	35
18. Variasi gejala pada tanaman tomat yang diduga terinfeksi oleh Begomovirus di Lampung Selatan	37
19. Variasi gejala pada daun tanaman tomat yang diduga terinfeksi oleh Begomovirus di Lampung Selatan	38
20. Visualisasi hasil amplifikasi PCR DNA ketiga sampel dengan elektroforesis	39

21.	Sekuen nukleotida T2 (Agom), T3 (Takabau), dan T12 (Kedaton)	40
22.	Hasil pencarian homologi sekuen sampel T2 dengan program BLAST	41
23.	Hasil pensejajaran (<i>alignment</i>) sepuluh isolat Begomovirus	44
24.	Pohon filogenetik isolat Begomovirus menggunakan 1000 kali <i>bootstrap</i>	45

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) merupakan salah satu komoditas sayuran penting di Indonesia karena memiliki kandungan gizi berupa protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral. Permintaan terhadap tomat terus meningkat sejalan dengan meningkatnya konsumsi tomat di beberapa negara dan meningkatnya jumlah penduduk (Sudiono *et al.*, 2004). Tanaman tomat termasuk komoditas multiguna karena selain berfungsi sebagai sayuran dan buah, tomat juga dijadikan pelengkap bumbu masak, minuman segar, sumber vitamin dan mineral, pewarna alami, serta bahan dasar kosmetik dan obat-obatan (Purwati dan Khairunisa, 2007). Jenis tanaman ini banyak dibudidayakan di Indonesia dan termasuk dalam lima besar komoditas sayuran penting selain kubis, bawang putih, kacang kapri, dan cabai.

Provinsi Lampung adalah salah satu daerah produsen tomat di Indonesia dengan hasil yang cukup melimpah. Tanaman tomat menempati urutan ketiga dari komoditas hortikultura yang di produksi di Lampung menurut Dinas Ketahanan Pangan, Tanaman Pangan, dan Hortikultura Provinsi Lampung (2018). Menurut Badan Pusat Statistik (2020), Provinsi Lampung adalah daerah produksi hortikultura, khususnya tanaman tomat dengan jumlah produksi pada urutan kedua belas di Indonesia. Namun, sejak tahun 2018-2019 jumlah produksi tomat di Lampung mengalami penurunan. Salah satu hal yang menjadi penyebab menurunnya hasil produksi tomat adalah karena serangan hama dan penyakit.

Salah satu hambatan dalam budidaya tanaman tomat adalah infeksi hama dan penyakit tanaman termasuk virus tanaman (Kurniawati *et al.*, 2015). Infeksi virus tanaman menjadi faktor sulitnya meningkatkan produksi tomat sehingga mengakibatkan kerugian yang cukup signifikan. Di Indonesia, tercatat terdapat 5 virus yang telah menginfeksi tanaman tomat antara lain Gemini virus, *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potato virus y* (PVY), *Potato virus x* (PVX), dan *Tomato ringspot virus* (TRSV) (Sugiarman dan Hidayat, 2000).

Salah satu jenis virus yang banyak ditemukan menginfeksi tanaman tomat adalah *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Virus ini termasuk ke dalam genus Begomovirus dari famili Geminiviridae yang menyebabkan penyakit keriting daun. Gejala umum yang ditimbulkan virus ini antara lain tanaman kerdil (*stunting*), pengurangan ukuran daun, penggulungan daun ke atas, klorosis, burik (*mottling*), dan pengguguran bunga (Santoso, 2013^b).

TYLCV dapat menginfeksi tanaman muda ataupun tua, di lapangan terbuka ataupun dalam rumah kaca. Infeksi virus ini dapat menyebabkan penurunan hasil produksi tomat hingga 100% apabila infeksi terjadi saat tanaman masih muda. Virus ini tercatat ditemukan pada beberapa negara mediterania, tropis, dan subtropis seperti negara-negara di Afrika, Asia Tenggara, Eropa Barat Daya, Kepulauan Karibia, dan Timur Tengah, bahkan di daerah lain yang beriklim sedang dengan intensitas kejadian antara 20-100% yang dapat menyebabkan penurunan hasil hingga 100% (Moriones and Navas, 2000). Di Indonesia sendiri infeksi virus ini termasuk dalam kategori berat hingga mencapai 90-100% dan menurunkan produksi tomat antara 50-100% (AVRDC, 2003).

Menurut laporan Hasyim *et al.* (2016), serangga *Bemisia tabaci* atau kutu kebul ialah vektor Begomovirus yang berperan penting pada penularan virus ini dari tanaman sakit ke tanaman yang sehat. Penularan virus ini sangat dipengaruhi oleh lamanya masa akuisisi kutu kebul pada tanaman sakit,

jumlah serangga, dan lamanya periode inokulasi yang terjadi pada tanaman sehat (Hidayat, 2003). Virus ini ditularkan dengan cara penularan persisten sirkulatif (Brown and Czosnek, 2002). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi Begomovirus adalah melalui amplifikasi gen *TrAP* dan *Rep* menggunakan teknik PCR.

Gen *Rep* (*Replication-associated protein*) atau protein yang berhubungan dengan replikasi adalah protein yang hanya berperan dalam proses replikasi virus (Desbiez *et al.*, 1995). Gen *TrAP* (*Transcriptional activator protein*) atau protein untuk aktivasi transkripsi adalah protein yang berperan dalam pengaktifan proses transkripsi dari promoter protein selubung. Protein ini terpusat pada inti dan berperan pada patogenisitas virus (van Wezel *et al.*, 2001). Pasangan primer universal SPG1/SPG2 yang digunakan oleh Li *et al.* (2004) mengamplifikasi basa nukleotida pada daerah *Open Reading Frame* (ORF) AC2 dan AC1. Bagian gen AC2 mengkode *Transcriptional activator protein* (*TrAp*) dan gen AC1 mengkode *Replication-associated protein* (*Rep*). Produk PCR target yang dihasilkan oleh pasangan primer ini berukuran ± 912 bp.

Hasil penelitian sebelumnya (Gunaeni dan Purwati, 2013) menunjukkan bahwa infeksi virus Begomovirus dapat terjadi pada beberapa tanaman sayuran termasuk tanaman tomat akan tetapi, penelitian terkait tentang informasi mengenai infeksi dan deteksi molekuler Begomovirus pada tanaman tomat di Lampung Selatan dengan menggunakan teknik PCR belum pernah dilakukan. Oleh karena itu diperlukan penelitian ini untuk memberikan data dan informasi terkait infeksi Begomovirus di Lampung Selatan, serta untuk mengetahui kekerabatan Begomovirus isolat Lampung Selatan dengan isolat dari negara lain. Lebih lanjut, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalamantisipasi penyebaran dan pencegahan virus ini sedini mungkin.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendeteksi keberadaan Begomovirus pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Lampung Selatan.
2. Mengetahui karakteristik molekuler gen *TrAP* dan *Rep* pada Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan.
3. Menganalisis hubungan kekerabatan Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan dengan isolat Begomovirus asal negara lain berdasarkan sekuen gen *TrAP* dan *Rep*.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan data dan informasi mengenai Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Lampung Selatan.
2. Dapat digunakan sebagai acuan penelitian lanjutan mengenai Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di daerah lain.

1.4 Kerangka Pemikiran

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) adalah salah satu komoditas sayuran yang sangat potensial untuk dikembangkan. Tomat termasuk dalam komoditi penting karena mempunyai kandungan gizi berupa protein, karbohidrat, lemak, vitamin, serta mineral. Tanaman tomat menempati urutan ketiga dari komoditas hortikultura yang di produksi di Lampung. Provinsi Lampung merupakan salah satu daerah penghasil tomat di Indonesia dengan hasil yang cukup melimpah. Produksi tomat di Lampung pada tahun 2020 menempati peringkat kedua belas di Indonesia. Di samping memiliki jumlah produksi yang cukup besar, jumlah produksi tomat di Lampung juga pernah

mengalami penurunan. Salah satu penyebab terjadinya penurunan ini adalah adanya serangan hama dan penyakit.

Salah satu kendala yang mengakibatkan terjadinya penurunan produksi tomat adalah adanya infeksi Begomovirus. Begomovirus adalah virus yang ditularkan melalui vektor kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn.) yang termasuk dalam famili Aleyrodidae dengan cara persisten sirkulatif. Penularan dan penyebaran virus ini dipengaruhi oleh aktivitas vektor saat menginfeksi tanaman satu ke tanaman yang lain atau berpindah dari tempat satu ke tempat yang lain. Tanaman yang terinfeksi virus ini menunjukkan gejala mirip seperti infeksi *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) yang termasuk dalam genus Begomovirus. Infeksi Begomovirus di beberapa daerah berpotensi menjadi ancaman yang serius. Beberapa teknik telah digunakan untuk mendeteksi infeksi Begomovirus dan akumulasinya pada jaringan tanaman, salah satunya ialah menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis virus penyebab penyakit keriting kuning pada tanaman tomat di Lampung Selatan dan kedekatan sekuen nukleotida Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan dengan sekuen Begomovirus dari negara lain. Hasil PCR kemudian akan divisualisasikan menggunakan gel agarosa pada elektroforesis dan dilanjutkan dengan perunutatan sekuen (sekuensing) gen *TrAP* dan *Rep* virus ini untuk dianalisis kedekatannya dengan beberapa isolat lain yang ada pada *GeneBank*.

1.5 Hipotesis Penelitian

Pada penelitian ini diambil beberapa hipotesis, yaitu sebagai berikut:

1. Begomovirus dapat dideteksi menginfeksi tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Lampung Selatan.
2. Hasil sekuensing gen *TrAP* dan *Rep* Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan menunjukkan pita spesifik berukuran ± 912 bp.
3. Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Lampung Selatan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan isolat Begomovirus asal negara lain.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tomat

2.1.1 Klasifikasi

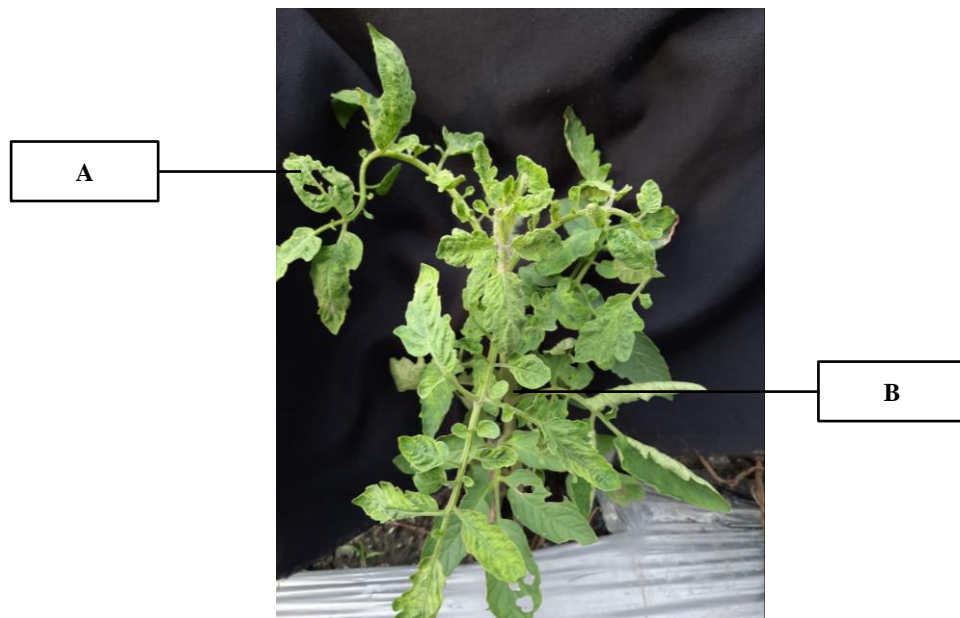
Klasifikasi tanaman tomat menurut Cronquist (1981) adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Solanales
Family : Solanaceae
Genus : *Solanum*
Species : *Solanum lycopersicum* L.

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) adalah salah satu tanaman anggota famili *Solanaceae* yang merupakan tanaman asli asal Amerika Tengah dan Selatan. Tomat memiliki siklus hidup yang singkat karena hanya bereproduksi satu kali selama masa tanam lalu akan mati (Rinaldi, 2019). Tanaman tomat merupakan tanaman sayuran yang telah dibudidayakan sejak ratusan tahun lalu, tetapi masih belum diketahui secara pasti awal penyebarannya. Awalnya, tanaman tomat dikenal sebagai tanaman pengganggu. Namun, seiring berjalannya waktu, tomat mulai ditanam, di lahan ataupun pekarangan rumah sebagai tanaman budidaya atau tanaman konsumsi (Purwati dan Khairunisa, 2007).

2.1.2 Deskripsi

Tanaman tomat hidup tegak atau bersandar pada tanaman lain, berbau khas, dan memiliki tinggi antara 30-90 cm. Batang tanaman ini berbentuk bulat, permukaannya kasar, memiliki trikoma, agak rapuh, dan bercabang-cabang. Daunnya majemuk ganjil berselang seling dengan pertulangan daun menyirip serta helaian dan tangkai daunnya dilengkapi dengan trikoma (Cahyono, 2008). Bunga tanaman tomat berkelamin dua (hermaprodit). Kelopaknya terdiri dari 5 helai berwarna hijau dan memiliki trikoma, sedangkan mahkotanya berjumlah 5 helai berwarna kuning.



Gambar 1. Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.): (A) Daun dan (B) Batang (Dokumentasi pribadi, 2021)

Tanaman ini memiliki tipe perakaran tunggang dengan akar cabang dan akar serabut berwarna keputih-putihan dan berbau khas. Perakaran tanaman ini tidak terlalu dalam tetapi dapat mencapai kedalaman 60-70 cm dan menyebar ke semua arah. Akar tanaman berguna untuk menompang berdirinya tanaman tomat serta untuk menyerap air dan unsur hara yang ada dalam tanah. Oleh karena itu, kesuburan tanah di bagian atas sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman tomat serta produksi buah dan benih tanaman tomat (Pitojo, 2005).

Daun tanaman tomat memiliki bentuk yang khas, yaitu berbentuk oval dengan tepi bergerigi dan mempunyai celah yang menyirip berwarna hijau. Permukaannya berbulu dengan panjang sekitar 20-30 cm dan lebar 15-20 cm. Daun tanaman tomat adalah daun majemuk ganjil berjumlah 5-7 helaian daun (Fitriani, 2012). Sedangkan, tangkai daunnya berbentuk bulat, memanjang sekitar 7-10 cm dengan ketebalan 0,3-0,5 mm (Wiryanta, 2004).



Gambar 2. Morfologi daun tanaman tomat (Pladias, 2021)

Batang tanaman ini berbentuk persegi empat hingga bulat dengan tekstur lunak namun cukup kuat, berwarna hijau, ruas-ruasnya mengalami penebalan, dan tumbuh akar-akar pendek pada ruas bagian bawahnya (Fitriani, 2012). Batang tanaman tomat agak rapuh, dapat tumbuh tegak atau bersandar pada turus, dan bercabang sehingga secara keseluruhan dapat disebut berhabitus perdu (Rismunandar, 2001).



Gambar 3. Morfologi batang tanaman tomat (Pladias, 2021)

Bunga tanaman tomat tersusun dalam rangkaian dengan jumlah 5-10 bunga per rangkaian berwarna kuning. Kuntum bunganya tersusun atas lima helai kelopak dan lima helai mahkota. Bunga tanaman tomat berumah satu dan berkelamin dua (hermaprodit) sehingga dapat melakukan penyerbukan sendiri. Pada bagian kepala sari terdapat kantung yang melekat menjadi satu dengan bunga membentuk suatu struktur seperti bumbung (Wiryanta, 2004).



Gambar 4. Morfologi bunga tanaman tomat (Pladias, 2021)

Buah tomat merupakan buah buni yang berwarna hijau, berbulu serta relatif keras ketika muda dan berwarna merah, jingga atau kuning cerah, mengkilat serta relatif lunak setelah tua. Bentuk buah tomat bervariasi antara lain bulat, oval, ataupun lonjong dengan diameter antara 2-15 cm (bergantung varietasnya). Pada bagian buah tomat masih terdapat kelopak serta tangkai bunga yang berubah fungsi menjadi tangkai buah (Pitojo, 2005).



Gambar 5. Morfologi buah tanaman tomat (Pladias, 2021)

Biji buah tomat berbentuk pipih dan berbulu berwarna putih kekuningan atau coklat muda. Panjangnya sekitar 3-5 mm dengan lebar sekitar 2-4 mm. Biji buah tomat melekat satu sama lain dan berkumpul menjadi satu yang diselimuti oleh daging buah. Jumlah biji tomat beragam bergantung pada varietas dan lingkungannya, paling banyak 200 biji perbuah (Agromedia, 2007).

Tomat bermanfaat bagi manusia karena mengandung vitamin dan mineral yang penting bagi pertumbuhan dan kesehatan. Buah tomat juga mengandung karbohidrat, protein, lemak, dan kalori yang berperan sebagai zat pembangun jaringan tubuh manusia dan zat yang dapat meningkatkan energi untuk bergerak dan berpikir. Buah tomat merupakan sumber vitamin yang sangat baik untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit, seperti sariawan karena kekurangan vitamin C, Xerophthalmia karena kekurangan vitamin A pada mata, serta bibir merah dan radang lidah karena kekurangan vitamin D. Sebagai sumber mineral, buah tomat juga bermanfaat pada pembentukan tulang dan gigi karena zat kapur dan fosfor yang dikandungnya. Sedangkan zat besi yang terdapat dalam buah tomat berperan dalam pembentukan sel darah atau hemoglobin (Cahyono, 2008).

Tomat memiliki kandungan gizi yang lengkap dan penting untuk manusia. Buah ini kaya akan vitamin C dan beberapa antioksidan, di antaranya vitamin E dan likopen. Buah tomat juga mengandung serat alami yang sangat baik untuk pencernaan manusia. Dalam 180 g buah tomat matang, terdapat sekitar 34,38 mg vitamin C, yang memenuhi 57,3% kebutuhan vitamin C dalam sehari, 1,98 g serat, dan protein sebesar 1,53 g (Wenny, 2007).

2.1.3 Syarat Tumbuh

Tanaman tomat dapat tumbuh pada musim hujan maupun musim kemarau. Tetapi pertumbuhan bunga tanaman ini akan terhambat pada musim kemarau yang terik dengan angin yang kencang. Pada musim kemarau tanaman tomat memerlukan penyiraman dan pengairan yang baik demi kelangsungan hidup dan produksinya, baik di dataran tinggi ataupun dataran rendah. Suhu ideal untuk benih tomat berkecambah adalah 25-30°C. Sementara, suhu ideal untuk pertumbuhan tanaman tomat adalah 24-28°C (Anwar *et al.*, 2016).

Media tanam yang baik untuk tanaman tomat adalah tanah liat yang mengandung pasir, subur, gembur, banyak mengandung bahan organik, serta memiliki sirkulasi dan tata air tanah yang baik. Menurut Purwati (2008), untuk mendapatkan hasil tomat yang baik, tomat membutuhkan media tanam berupa tanah yang gembur, berpasir, subur dan banyak mengandung zat-zat organik. Suhu optimum untuk budidaya tanaman tomat berada pada rentang 20-25°C. Pada daerah kering dengan suhu tinggi dan kelembapan rendah pembungaan dan pembentukan buah dapat terhambat (Ashari, 2006).

Tanaman ini dapat tumbuh pada berbagai kondisi lingkungan. Untuk menghasilkan hasil yang maksimal, tanaman tomat membutuhkan lingkungan pertumbuhan dengan sistem perairan dan sinar matahari yang cukup. Pengairan yang berlebihan dapat menyebabkan kelembaban tanah di sekitar tanaman menjadi meningkat sehingga dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit. Curah hujan yang optimal untuk pertumbuhan tanaman tomat adalah 100-120 mm/hujan dengan temperatur ideal antara 25-30°C. Temperatur malam hari sekitar 15-20°C dibutuhkan oleh tanaman tomat untuk proses pembungaan (Purwati dan Khairunisa, 2007).

2.2 Begomovirus

2.2.1 Deskripsi

Begomovirus anggota famili Geminiviridae merupakan virus tanaman yang memiliki genom DNA berbentuk sirkular, beruntai tunggal, dan diselubungi oleh partikel isometrik kembar (Sulandari, 2004^a).

Begomovirus merupakan salah satu anggota genus Geminivirus dengan jumlah anggota yang banyak dan memiliki keragaman yang tinggi.

Dilaporkan bahwa terdapat beberapa spesies Begomovirus yang menginfeksi tomat antara lain, *Potato yellow mosaic virus* (PYMV), *Tomato dwarf leaf curl virus* (TDLCV), *Tomato golden mottle virus* (TGMoV), *Tomato mottle virus* (TMoV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato yellow vein streak virus* (ToYVSV) (Maxwell *et al.*, 2002). Begomovirus yang dilaporkan menginfeksi terung diantaranya adalah *Tomato leaf curl new delhi virus* (ToLCNDV), *Tomato mottle virus* (Tmov), dan *Tomato yellow leaf curl kanchanaburi virus* (TYLCKaV) (Pratap *et al.*, 2011).

Spesies TYLCV/ToLCV termasuk ke dalam genus Begomovirus dan famili Geminiviridae (kelompok Geminivirus). Dalam pengelompokannya, famili Geminiviridae dibagi menjadi empat kelompok genus yang berbeda yaitu *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus*, dan Begomovirus. Pengelompokan ini berdasarkan pada organisasi genetik, tanaman inang, dan vektor yang menginfeksi (Van Regenmortel *et al.*, 1999).

Genom Begomovirus dapat berupa genom Monopartit (Mediterrania, Amerika Tengah dan Utara, serta sebagian negara di Asia) atau genom Bipartit (Thailand). Genom Bipartit Begomovirus terdiri atas dua komponen ssDNA, yaitu DNA A dan DNA B dengan ukuran yang hampir sama sekitar 2,6-2,8 kb. Urutan nukleotida DNA A dan DNA B berbeda,

kecuali bagian *common region* pendek berukuran sekitar 200 nukleotida yang sangat mirip (Zhou *et al.*, 2003).

2.2.2 Gejala Infeksi

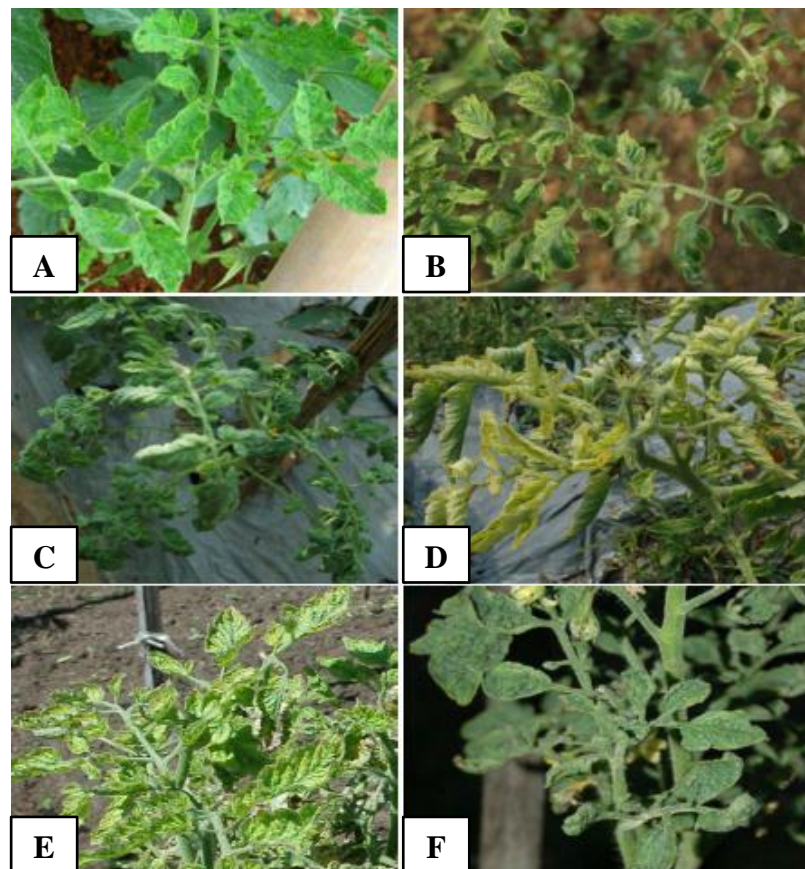
Gangguan fisiologis akibat infeksi virus ini terjadi secara berkelanjutan. Pada awalnya ditunjukkan dengan gejala luar berupa perubahan warna, bentuk, dan ukuran baik pada daun, batang, dan buahnya. Gejala luar yang sering muncul karena infeksi virus ini adalah kekerdilan (*stunting*), layu, mosaik, bercak bercincin (*ringspot*), daun menggulung, dan daun menguning. Gejala dalam yang dapat terjadi akibat infeksi virus adalah berkurangnya ukuran sel-sel (hipotrofi), berkurangnya jumlah sel-sel (hipoplasia), bertambahnya ukuran sel-sel (hiperplasia), kematian sel (nekrosis), dan deviasi dalam kandungan sel (degenerasi klorofil) (Hull, 2002). Nekrosis adalah peristiwa kerusakan atau kematian sel-sel, jaringan atau organ tumbuhan. Gejala nekrosis yang terjadi pada bagian batang tanaman dapat menyebabkan batang menjadi kering dan tidak mampu menopang bagian atas tanaman, sehingga tanaman akan terkulai. Sedangkan, gejala nekrosis yang terjadi pada bagian daun dapat menyebabkan daun mejadi kering dan menggulung (Aisah *et al.*, 2015).

Infeksi *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) dapat terjadi pada tanaman Cucurbitaceae, Solanaceae, hingga gulma. Gejala umum yang ditimbulkan oleh infeksi ToLCNDV antara lain daun mosaik kuning, keriting, penebalan tulang daun, dan malformasi daun sehingga produksi tomat menurun (Pratap *et al.*, 2011). Variasi gejala dari infeksi Begomovirus dapat disebabkan oleh adanya infeksi secara bersamaan dengan virus lain.

Gejala penyakit pada tanaman tomat yang terinfeksi virus gemini dari 18 desa di Kabupaten Karo antara lain malformasi daun, daun keriting dan kaku, mosaik, tepi daun menggulung ke atas, tulang daun menebal, ukuran

daun mengecil, warna daun hijau kekuningan hingga kuning cerah, dan terjadi *vein clearing*. Gejala tersebut merupakan gejala yang terlihat pada kebanyakan daun tanaman yang terinfeksi oleh virus Gemini (Nurainun, 2021). Menurut Sinaga (2003), salah satu gejala pada tanaman akibat infeksi virus gemini yaitu keriting pada daun. Terjadinya keriting disebabkan oleh pertumbuhan berlebihan dari suatu sel atau jaringan pada satu sisi daun tanpa diikuti pertumbuhan sel sisi yang lain.

Santoso (2013^b) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pada tanaman tomat sakit yang diduga terinfeksi Begomovirus menunjukkan adanya variasi gejala pada setiap lokasi yang berbeda. Variasi gejala infeksi Begomovirus yang ditemukan pada tanaman tomat dalam penelitiannya tersebut ditampilkan pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Variasi gejala pada tanaman tomat yang diduga terinfeksi oleh Begomovirus di Indonesia: (A) Sukabumi, (B) Bogor, (C) Sragen, (D) Yogyakarta, (E) Malang, dan (F) Blitar (Santoso, 2013^b)

Lebih lengkapnya, deskripsi gejala-gejala infeksi Begomovirus yang terlihat pada setiap sampel daun dari penelitian Santoso (2013^b) ditampilkan pada **Tabel 1**.

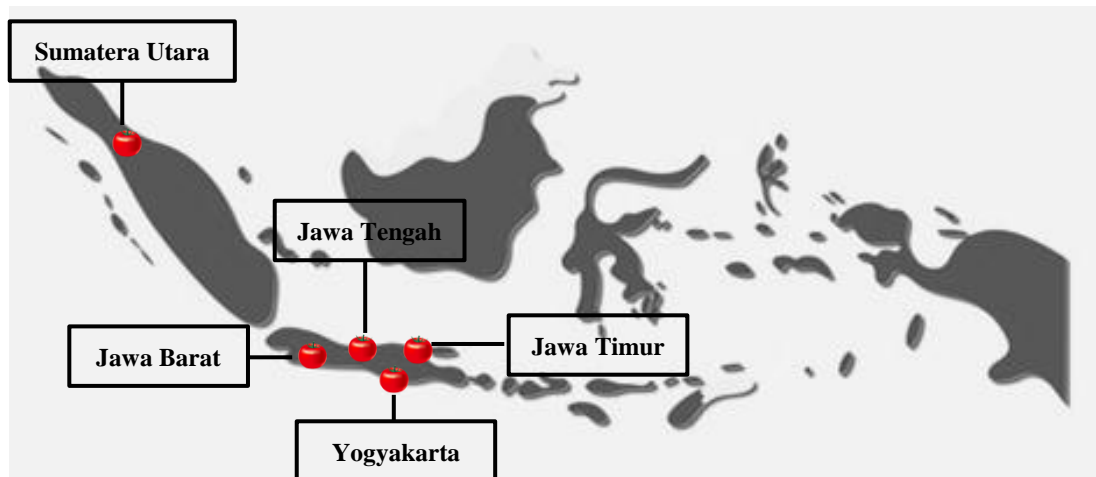
Tabel 1. Deskripsi gejala pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) yang diduga terinfeksi Begomovirus yang ditemukan di Indonesia

Daerah Pengambilan Sampel	Deskripsi Gejala
Blitar	Daun berbentuk seperti mangkuk (<i>cupping</i>), cenderung keriting, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).
Bogor	Daun berbentuk bulat seperti mangkuk (<i>cupping</i>), daun berukuran kecil-kecil, sangat keriting, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).
Kaliurang	Daun sangat menggulung ke atas, daun menguning, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).
Lembang	Daun sedikit menggulung, mosaik, dan tanaman cenderung kerdil (<i>stunting</i>).
Malang	Daun menguning, berukuran kecil, keriting, klorosis, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).
Sragen	Daun keriting, menggulung ke bawah, mosaik, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).
Sukabumi	Daun hijau pucat, tepi menguning, mosaik, dan kekerdilan (<i>stunting</i>).

2.2.3 Penyebaran Virus

Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat pada beberapa negara di Afrika Tropis, Asia Tenggara, Asia Timur, Australia, Eropa Barat Daya, dan Timur Tengah, ialah *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) atau *Tomato leaf curl virus* (ToLCV) (Zeidan *et al.*, 1998). Sedikitnya terdapat 17 spesies Begomovirus telah dilaporkan menginfeksi tomat di Amerika dan Karibia, seperti *Texas pepper virus*, TYLCV, ToMoV, TGMV, dan *Tomato Yellow Mosaic Virus* (TYMV).

Sudah cukup banyak laporan mengenai infeksi virus yang disebabkan oleh Begomovirus di Indonesia pada beberapa tanaman pertanian, seperti infeksi *Pepper yellow leaf curl virus* (PYLCV) dengan tingkat kejadian mencapai 100%, epidemi penyakit yang terjadi di pusat-pusat penghasil cabai di Indonesia terutama di Pulau Jawa pada tahun 2000 sampai 2003, serta infeksi *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) yang mencapai 50-70% di Jawa Barat dan Jawa Tengah (Sulandari *et al.*, 2006), dan *Mungbean yellow mosaic india virus* (MYMIV) yang menginfeksi tanaman kacang panjang dengan tingkat kejadian penyakit mencapai 80-100% di Jawa (Nurulita *et al.*, 2015).



Gambar 7. Peta persebaran Begomovirus yang menginfeksi tanaman tomat di Indonesia

Begomovirus ditularkan oleh vektor kutu kebul atau *whitefly* (*Bemisia tabaci* Genn.) anggota ordo Hemiptera, famili Aleyrodidae. Begomovirus memiliki genom DNA utas tunggal berbentuk sirkuler, yang berukuran relatif kecil dan dibungkus dalam sebuah partikel kembar. Genom dari Begomovirus dapat berupa Monopartit (Mediterrania, Amerika Tengah dan Utara, serta sebagian negara di Asia) atau Bipartit (Thailand) (Fauquet, 2005).



Gambar 8. Kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn.) dewasa (Janssen *et al.*, 2016)

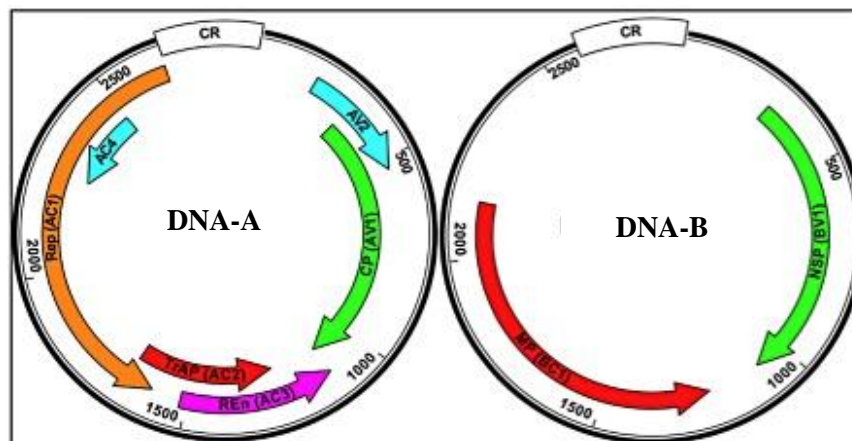
Aktivitas vektor kutu kebul untuk menginfeksi tanaman yang satu ke tanaman yang lain atau berpindah dari tempat satu ke tempat yang lain sangat mempengaruhi penularan dan penyebaran Begomovirus. Oleh karena itu, penularan oleh vektor serangga ini diduga juga berperan di dalam penyebaran Begomovirus dari satu tempat ke tempat yang lain dan tingginya tingkat kejadian penyakit yang berasosiasi dengan Begomovirus (Santoso, 2008).

Begomovirus ditularkan oleh kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn.) dengan sifat penularan persisten, sirkulatif, dan nonpropagatif (Brown and Czosnek, 2002). Penularan secara sirkulatif nonpropagatif memiliki arti bahwa jika satu kutu kebul mengambil makanan dari suatu tanaman yang telah terinfeksi Begomovirus maka selama hidupnya kutu kebul tersebut dapat menularkan Begomovirus (Hasyim *et al.*, 2016). Begomovirus tidak bereplikasi di dalam tubuh kutu kebul melainkan di dalam sel tanaman (Brown, 2007). Periode laten virus ini dalam vektor lebih dari 20 jam. Virus dapat bertahan di dalam vektor lebih dari 20 hari, tetapi tidak sepanjang masa hidupnya. Virus dapat dibawa oleh serangga fase larva atau dewasa, tetapi tidak diturunkan ke keturunannya (Santoso, 2013^a).

2.3 Gen *TrAP* dan *Rep*

Dua komponen genomik dari Begomovirus bipartit disebut DNA-A dan DNA-B. DNA-A memiliki enam *Open Reading Frame* (ORF), dua dalam pengertian virion (AV1 dan AV2) dan empat dalam pengertian pelengkap (AC1, AC2, AC3 dan AC4). DNA-B memiliki dua ORF (BV1 dan BC1). *Replication-associated protein* (*Rep*) dikodekan dengan AC1 (AL1) dalam Geminivirus bipartit dan C1 (L1) dalam Geminivirus monopartit (kecuali mastrevirus) (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2004) dan diekspresikan di bawah kendali promotor inti dua arah (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999). *Rep* sangat penting untuk replikasi lingkaran bergulir (RCR) dan terlibat dalam modulasi ekspresi gen analog dengan beberapa virus ssDNA hewan dan bakteri (Stenger *et al.*, 1991), serta plasmid (Oshima *et al.*, 2001). *Rep* dan *REn* (C1 dan C3) juga berpartisipasi dalam kontrol replikasi.

Transcriptional activator protein (*TrAP*) dikodekan oleh AC2 (AL2) ORF pada Begomovirus bipartit dan oleh C2 pada Begomovirus monopartit. *TrAP* yang telah dikarakterisasi dengan baik pada Begomovirus adalah protein multifungsi yang terlibat dalam pengaktifan gen (Sunter and Bisaro, 1992), patogenisitas virus (Hong *et al.*, 1996) dan penekanan pembungkaman gen pasca-transkripsi pada TYLCV (Luna *et al.*, 2012). *TrAP* mengaktifkan proses transkripsi gen yang mengkode *Coat Protein* (CP) dan *Movement Protein* (MP) dengan cara tertentu (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999). *TrAP* (C2) juga berfungsi mentransaktivasi ekspresi gen virion-sense (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999; Zerbini *et al.*, 2017). Bagian-bagian dari genom Begomovirus disajikan pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Penampang bagian genom Begomovirus (Fondong, 2013)

2.4 Metode Deteksi Virus

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi virus, yaitu berdasarkan sifat-sifat biologi dan bagian dari partikel virus (asam nukleat). Deteksi berdasarkan asam nukleat dapat dilakukan melalui metode serologi dan molekuler. Salah satu metode serologi yang dapat digunakan untuk mendeteksi virus adalah *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), sedangkan metode molekuler yang umum digunakan adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Naidu and Hughes, 2003).

Metode serologi merupakan metode yang umum digunakan untuk mendeteksi virus tumbuhan, menggunakan antibodi poliklonal maupun antibodi monoklonal. Metode ELISA merupakan metode deteksi virus berdasarkan reaksi antibodi dan antigen. Antibodi akan diikat oleh enzim spesifik sebagai penanda. Saat reaksi menunjukkan hasil positif, maka akan terlihat perubahan warna akibat enzim yang menghidrolisis substrat. Metode ini dapat digunakan sebagai metode untuk mendeteksi Begomovirus karena mampu menunjukkan hasil dalam waktu singkat, biaya yang diperlukan relatif murah, dan dapat dilakukan dengan mudah. Selain itu, metode ini juga mampu mendeteksi virus yang berada dalam sampel tanaman ataupun dalam serangga vektornya (Sulandari, 2004^a).

Selain memiliki kelebihan, metode ELISA juga memiliki kekurangan yaitu tidak efisien digunakan untuk mendeteksi virus dengan konsentrasi yang sangat rendah dalam sampel. Metode ELISA berbanding terbalik dengan metode PCR yang lebih sensitif karena mampu mendeteksi keberadaan virus dalam konsentrasi rendah (Sharma *et al.*, 2007).

Deteksi dan identifikasi Begomovirus yang menginfeksi suatu tanaman dapat dilakukan mulai dari pengamatan gejala yang muncul pada tanaman terinfeksi, menggunakan metode serologi, atau menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction* (PCR) untuk genom virus. Jika deteksi dan identifikasi hanya dilakukan berdasarkan gejala atau metode serologi, kesalahan deteksi Begomovirus yang menginfeksi tanaman dapat terjadi. Kesalahan deteksi dapat terjadi dikarenakan adanya kesamaan antara gejala infeksi Begomovirus dengan gejala kekurangan hara. Metode PCR tercatat sebagai metode yang lebih sensitif dan telah berhasil digunakan pada deteksi dan identifikasi Begomovirus yang bergabung dengan penyakit keriting daun pada tanaman tomat dan cabai (Aidawati *et al.*, 2005).

2.5 Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1985 berperan sangat penting dalam kegiatan penelitian di bidang biologi molekuler selama beberapa tahun terakhir (Mullis *et al.*, 1986). Metode ini memanfaatkan aktivitas enzim *Polymerase* yang bersifat termostabil untuk mengamplifikasi bagian DNA tertentu secara *in vitro*. Metode ini mampu memperbanyak segmen DNA yang telah ditandai oleh primer menjadi ribuan hingga jutaan salinan dalam waktu beberapa jam (Handoyo dan Rudiretna, 2000). Penemuan teknologi ini telah memberikan sumbangsih besar bagi ilmu pengetahuan. Di bidang pertanian, teknik PCR dimanfaatkan dalam analisis keragaman genetik tanaman, pembuatan sidik jari DNA tanaman, seleksi menggunakan penanda molekuler, deteksi adanya patogen tanaman, hingga rekayasa genetik tanaman (Pardal *et al.*, 2020).

Metode PCR saat ini berkembang sangat pesat untuk mendeteksi berbagai virus pada tumbuhan. Deteksi virus menggunakan metode ini menunjukkan hasil yang tepat, cepat, dan sangat peka. Pada pelaksanaannya metode ini hanya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit, dimana sampel yang digunakan dapat berupa sampel segar, sudah dikeringkan ataupun sudah dibekukan. Metode ini pada umumnya dapat mengatasi kendala yang timbul pada deteksi dan identifikasi virus menggunakan metode serologi (Sulandari, 2004^a).

Amplifikasi DNA pada metode PCR membutuhkan primer oligonukleotida yang disebut amplimers untuk bekerja. Amplimers adalah primer DNA yang terdiri atas sekuen oligonukleotida pendek yang berfungsi untuk mengawali sintesis untai DNA. Primer yang digunakan pada metode ini umumnya terdiri atas 20-30 nukleotida. DNA *template* (cetakan) adalah suatu fragmen DNA dari sampel yang akan diperbanyak. Sedangkan DNA polimerase adalah enzim termostabil yang berasal dari bakteri *Thermus aquaticus* yang bersifat termofilik (Yusuf, 2010).

Pada metode PCR diperlukan beberapa komponen utama antara lain:

- a. DNA *template*, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan.
- b. Amplimers, yaitu sekuen oligonukleotida pendek berukuran 20-30 basa nukleotida dan mengandung basa G + C sebesar 50-60%, yang akan mengawali proses sintesis untai DNA.
- c. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) nantinya akan menempel pada ujung 3' primer ketika proses pemanjangan berlangsung.
- d. DNA Polimerase, yaitu enzim yang mengatalisis reaksi sintesis untai DNA. Enzim ini tahan terhadap proses pemanasan berulang-ulang yang akan membantu proses pelepasan ikatan primer yang tidak tepat dan membantu meluruskan daerah yang memiliki struktur sekunder.
- e. Larutan *buffer*. Larutan *buffer* PCR umumnya mengandung 10-50 mM Tris-HCl pH 8,3-8,8; 50 mM KCl; 0,1% gelatin atau BSA (*Bovine Serum*

Albumin); Tween 20 sebanyak 0,01% atau Triton X-100 sebanyak 0,1%; dan perlu ditambahkan 1,5 mM MgCl₂.

Terdapat tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu berulang pada 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu sebagai berikut:

1. Pembukaan Untai Ganda DNA (*Denaturation*)

Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Biasanya proses ini berlangsung sekitar 3 menit untuk memastikan molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal dengan sempurna. Denaturasi yang tidak lengkap akan mengakibatkan untai DNA mengalami renaturasi (membentuk untai ganda kembali) secara cepat sehingga proses PCR akan gagal. Waktu denaturasi yang terlalu lama juga dapat mengurangi aktivitas enzim ini.

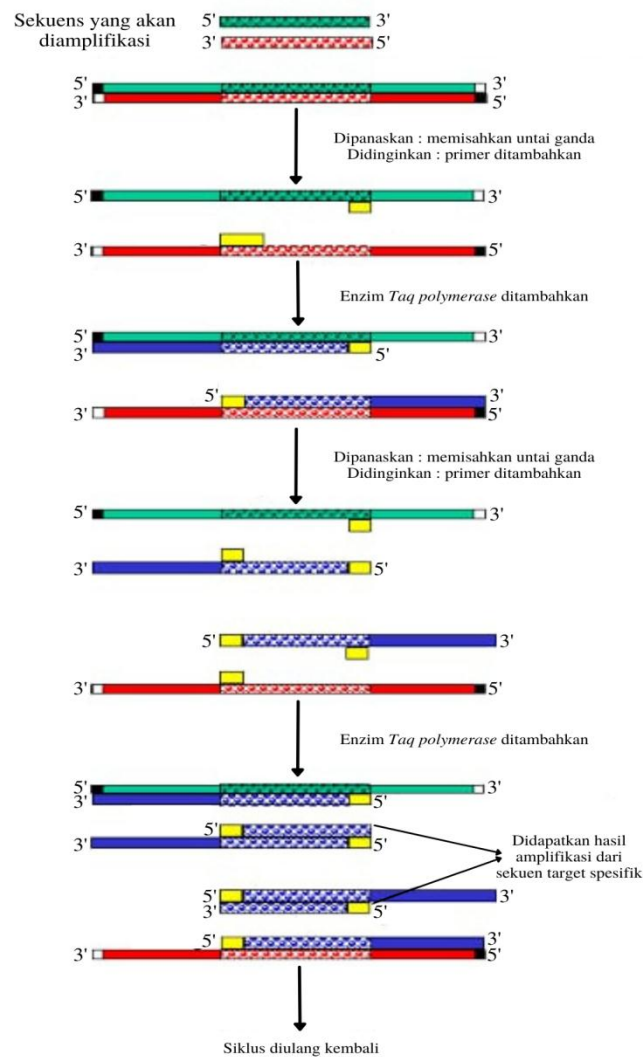
2. Penempelan Primer (*Annealing*)

Sekuens DNA dalam masing-masing primer yang digunakan pada proses ini sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena sekuen DNA primer yang saling berkomplemen akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer dan akan mengurangi efisiensi proses PCR. Waktu dalam proses *annealing* yang biasa digunakan adalah 30-45 detik. Sedangkan suhu yang digunakan pada tahap ini berada pada kisaran 50°-60°C.

3. Pemanjangan Primer (*Extention*)

Selama tahap ini DNA Polimerase akan memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Enzim ini diperkirakan mampu menyusun nukleotida sebanyak 35-100 nukleotida/detik pada suhu 72°C, bergantung pada beberapa faktor seperti larutan *buffer*, konsentrasi garam, molekul DNA target, dan pH. Umumnya waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap ini bagi produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa. Biasanya pada akhir siklus PCR, waktu yang digunakan untuk tahap ini akan diperpanjang hingga 5 menit (Yusuf, 2010). Ilustrasi tahapan-tahapan dalam teknik PCR disajikan pada

Gambar 10.



Gambar 10. Siklus *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Balitkabi, 2020)

Teknik PCR dapat dimodifikasi ke dalam beberapa jenis antara lain:

1. *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP)

Metode ini adalah metode PCR yang digunakan untuk membedakan organisme (sampel) berdasarkan analisis model derivat dari perbedaan molekul DNA.

2. *Inverse-PCR*

Metode ini digunakan ketika hanya terdapat satu sekuen yang diketahui. Template diproses oleh enzim restriksi yang akan memotong bagian luar daerah yang akan diamplifikasi. Setelah itu fragmen restriksi yang dihasilkan ditempelkan dengan enzim ligase lalu diamplifikasi

menggunakan sekuen primer yang memiliki titik ujung dengan jarak yang jauh satu sama lain dengan segmen luar yang telah bergabung. Metode ini khusus digunakan untuk mengidentifikasi sekuen antara dari berbagai gen.

3. *Nested-PCR*

Metode PCR ini dapat digunakan untuk mengurangi adanya kontaminasi dari penyatuan primer yang tidak diperlukan pada produk selama proses amplifikasi berlangsung. Pada metode ini digunakan dua pasangan primer. Pasangan primer kedua akan mengamplifikasi target kedua selama proses pertama berlangsung. Sekuens DNA target dari satu pasangan primer yang disebut *inner primer* disimpan di antara sekuens target pasangan primer kedua disebut *outer primer*. Dalam prosesnya, reaksi pertama dari PCR menggunakan *outer primer* lalu reaksi PCR kedua dilakukan dengan *inner primer* menggunakan hasil dari produk reaksi pertama sebagai target amplifikasi. *Outer primer* akan menyatu dengan produk PCR pertama dan menghasilkan produk yang lebih pendek dibandingkan produk pertama.

4. *Quantitative-PCR*

Metode PCR ini digunakan pada pengukuran berulang hasil produk PCR. Secara tidak langsung metode ini digunakan untuk mengukur kuantitas produk, dimulai dari jumlah DNA, cDNA, atau RNA. Hasil dari metode PCR ini juga menunjukkan salinan dari sampel.

5. *Reverse Transcriptase (RT-PCR)*

Metode PCR ini digunakan untuk amplifikasi, isolasi atau identifikasi sekuen dari sel atau jaringan RNA. Proses PCR ini dibantu oleh *reverse transcriptase* yang akan mengubah RNA menjadi cDNA, mencakup pemetaan serta menggambarkan kapan dan dimana gen tersebut diekspresikan (Yusuf, 2010).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September - Desember 2021. Koleksi sampel tanaman dilakukan di lahan pertanian tomat di Desa Agom dan Desa Kedaton Kecamatan Kalianda serta Desa Takabau Kecamatan Penengahan. Analisis molekuler meliputi ekstraksi DNA, uji kuantitatif hasil ekstraksi, amplifikasi DNA dengan PCR, dan visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Hama dan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi tiga tahapan yaitu koleksi sampel, deteksi molekuler, dan karakterisasi molekuler. Alat yang digunakan pada koleksi sampel penelitian ini adalah *ice box*, gunting, alat tulis, amplop coklat, kantung plastik, kain hitam, dan kamera.

Alat yang digunakan pada deteksi molekuler penelitian ini adalah mortar dan pestel, neraca, mikropipet 0,5 μ l–10 μ l, mikropipet 10 μ l–100 μ l, mikropipet 100 μ l–1000 μ l, tabung mikrosentrifus (1,5 ml dan 0,2 ml), mesin sentrifus, *rotamixer*, *waterbath*, *freezer*, gelas ukur, Erlenmeyer 250 ml, *microwave*, cetakan agar elektroforesis, kotak kecil agar elektroforesis, sisir elektroforesis, elektroforator, dan mesin PCR.

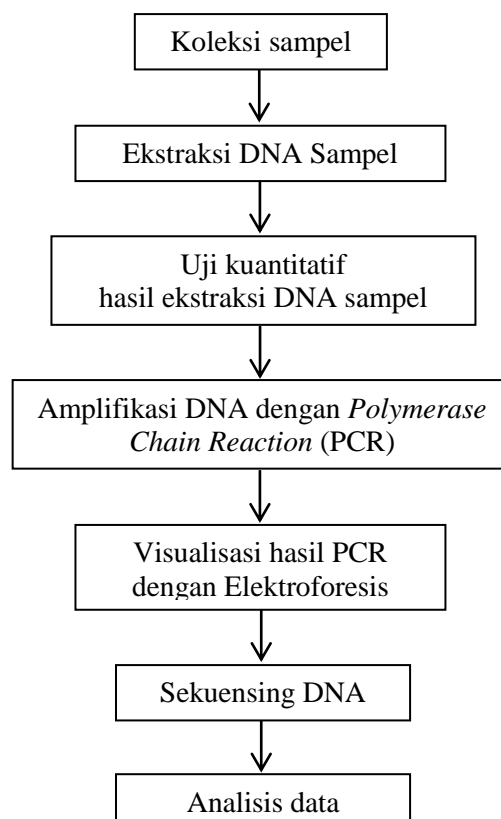
Alat yang digunakan pada karakterisasi molekuler penelitian ini adalah aplikasi Bioedit V.7.2.5, MEGA V.11.0.11, dan BLAST.

3.2.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel daun tanaman tomat, *Genomic DNA mini kit (plant) reaction* (Geneaid), primer SPG1 dan SPG2, aquades, *pipet tip (white tip, yellow tip, blue tip)*, *Go Taq Red Master Mix*, *DNA loading dye*, *DNA ladder (marker)*, serbuk agarosa, *Tris-Borate EDTA (TBE)*, *Ethidium Bromide (EtBr)*, kertas label, *parafilm*, *aluminium foil*, *gloves*, dan kertas tisu.

3.3 Diagram Alur Penelitian

Secara ringkas, alur penelitian ditunjukkan dalam bagan alir di bawah ini (**Gambar 11**).



Gambar 11. Diagram alur penelitian

3.4 Prosedur Kerja

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.4.1 Koleksi Sampel

Koleksi tanaman dilakukan menggunakan metode *purposive sampling*. Sampel tanaman dikoleksi dari tiga desa di Lampung Selatan yaitu Desa Agom dan Desa Kedaton Kecamatan Kalianda serta Desa Takabau Kecamatan Penengahan. Sampel yang diambil berupa daun tanaman tomat yang menunjukkan gejala penyakit akibat infeksi Begomovirus sebanyak 7-8 helai daun. Kemudian sampel daun dimasukkan ke dalam amplop dan dibungkus menggunakan kantong plastik dan dimasukkan ke dalam *ice box*. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam *freezer* untuk analisis lebih lanjut.



Gambar 12. Tahapan koleksi sampel penelitian (Dokumentasi pribadi, 2021)

3.4.2 Ekstraksi DNA Sampel

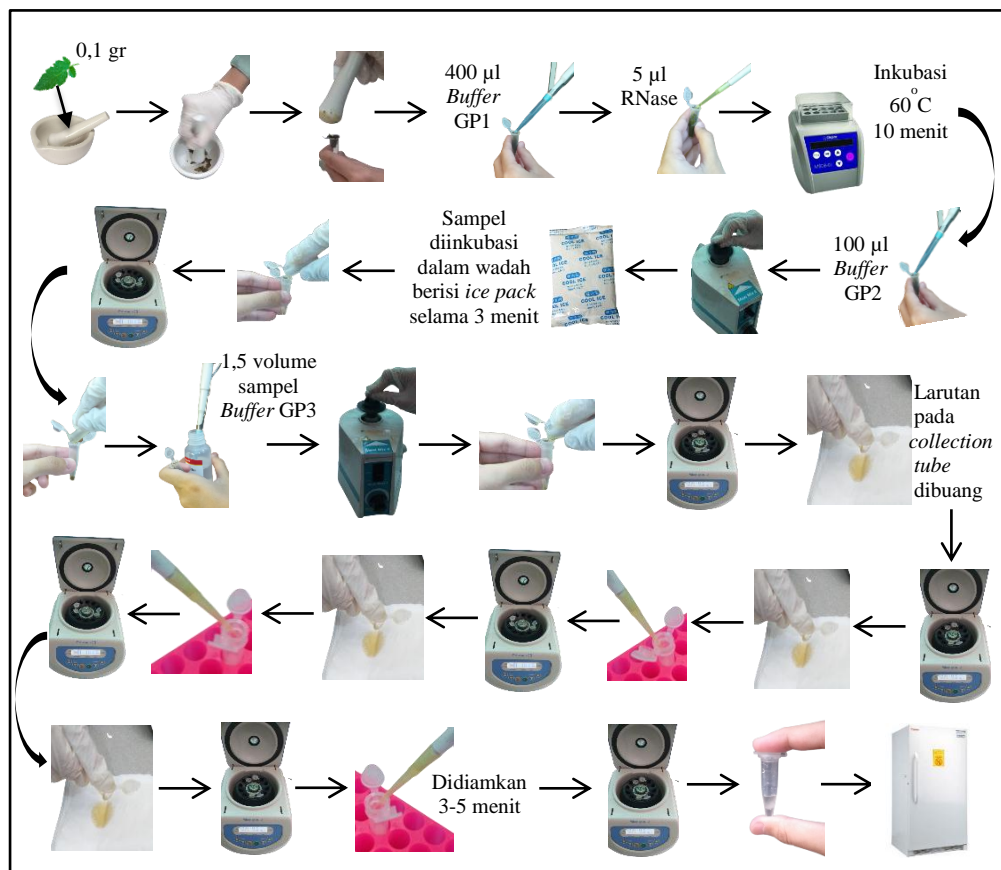
Ekstraksi DNA dilakukan mengikuti protokol *Genomic DNA mini kit (plant) reaction (Geneaid)*. Sampel daun tanaman tomat dipotong-potong kecil dan ditimbang sebanyak 100 mg kemudian ditumbuk menggunakan mortar dan pestel hingga halus. Sampel dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus berukuran 1,5 ml kemudian ditambahkan dengan 400 μ l

Buffer GP1 dan 5 µl RNase. Setelah itu, campuran dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran diinkubasi dalam waterbath dengan suhu 60°C selama 10 menit. Agar tercampur merata, tabung dibolak-balik setiap 5 menit. Dalam waktu yang sama, *Buffer* Elusi sebanyak 200 µl per sampel dipanaskan. Setelah inkubasi selesai, ditambahkan 100 µl *Buffer* GP2 ke dalam campuran lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran diinkubasi dalam es selama 3 menit. Sebuah *filter column* diletakan ke dalam *collection tube* berukuran 2 ml lalu campuran dipindahkan ke dalam *filter column*. Campuran disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 1 menit setelah itu lepaskan *filter column*. Supernatan dari *collection tube* dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus baru berukuran 1,5 ml.

Kemudian *Buffer* GP3 ditambahkan sebanyak 1,5 dari volume campuran dan dihomogenkan dengan vortex selama 5 detik. *GD column* ditempatkan dalam *collection tube* berukuran 2 ml kemudian 700 µl campuran (dan sisa endapan) dipindahkan ke dalam *GD column* yang sudah disiapkan lalu disentrifus pada 14000 rpm selama 2 menit. Setelah itu, larutan di dalam *collection tube* dibuang hingga benar-benar kering. Sisa campuran di dalam *GD column* kemudian disentrifus lagi pada 14000 rpm selama 2 menit. Larutan di dalam *collection tube* dibuang kembali dan *GD column* dimasukkan kembali ke dalam *collection tube*.

400 µl *Buffer* W1 ditambahkan ke dalam *GD column* kemudian disentrifus pada 14000 rpm selama 30 detik. Lalu larutan di dalam *collection tube* dibuang hingga benar-benar kering kemudian *GD column* dimasukkan kembali ke dalam *collection tube*. Setelah itu, 600 µl *Wash Buffer* ditambahkan ke dalam *GD column* dan disentrifus pada 14000 rpm selama 30 detik. Larutan di dalam *collection tube* dibuang kembali hingga benar-benar kering kemudian *GD column* dimasukkan kembali ke dalam *collection tube* dan disentrifugasi selama 3 menit pada 14000 rpm untuk mengeringkan matriks kolom.

GD column yang sudah kering dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml yang bersih. Lalu 100 μ l *Buffer* Elusi atau TE yang telah dipanaskan sebelumnya ditambahkan ke tengah matriks kolom. Campuran didiamkan selama 3-5 menit untuk memastikan *Buffer* Elusi atau TE benar-benar terserap kemudian disentrifugasi pada 14000 rpm selama 30 detik untuk mengelusi DNA yang telah dimurnikan.

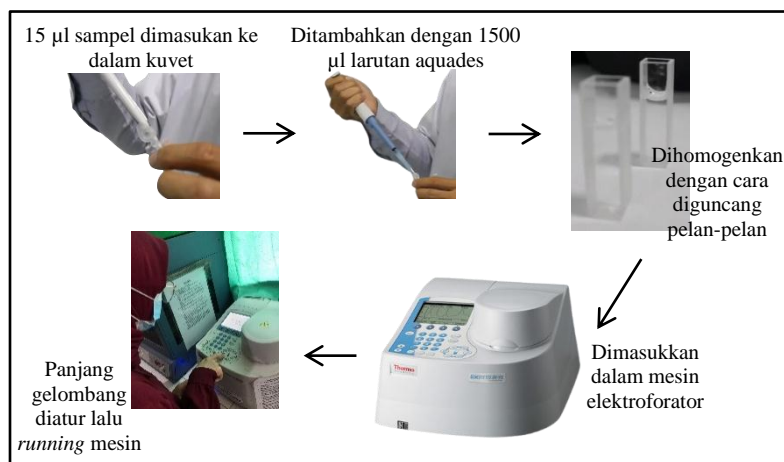


Gambar 13. Tahapan ekstraksi DNA sampel (Dokumentasi pribadi, 2021)

3.4.3 Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA

Uji kuantitatif pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Hasil ekstraksi sampel dianalisis pada dua panjang gelombang, yaitu panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dengan menggunakan aquades sebagai larutan blanko. Nilai absorbansi sampel pada kedua panjang gelombang

kemudian dibandingkan sehingga akan diperoleh rasio absorbansi $\lambda 260/\lambda 280$ (Farmawati *et al.*, 2015).



Gambar 14. Tahapan uji kuantitatif hasil ekstraksi DNA (Dokumentasi pribadi, 2021)

3.4.4 Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan pasangan primer universal Begomovirus SPG1 dan SPG2 (Li *et al.*, 2004).

Tabel 2. Sekuen nukleotida primer yang digunakan dalam reaksi PCR

Nama Primer	Sekuen Nukleotida 5'-3'	Produk PCR
SPG1-Forward	5'-CCCCKGTGCGWRAATCCAT-3'	± 912 bp
SPG2-Reverse	5'-ATCCVAAYWTYCAGGGAGCTAA-3'	

Tabel 3. Komposisi reaktan untuk satu kali reaksi ampifikasi dengan metode PCR

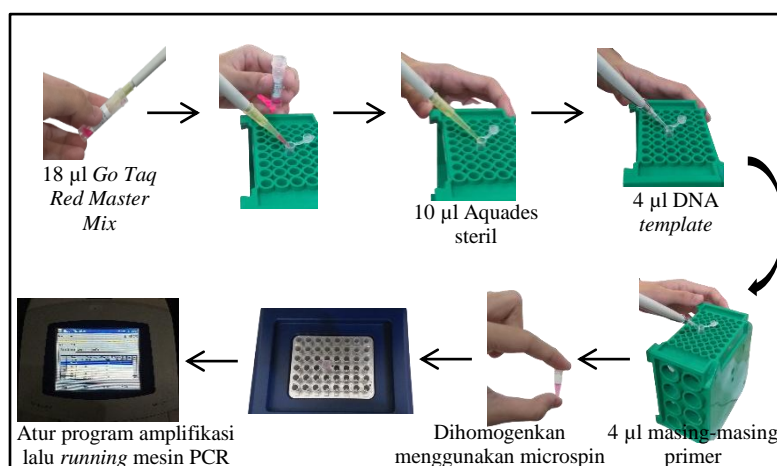
Komponen	Volume
<i>Go Taq Red Master Mix</i>	18 μ l
Aquades steril	10 μ l
DNA <i>template</i>	4 μ l
Primer <i>forward</i>	4 μ l
Primer <i>reverse</i>	4 μ l

Program amplifikasi dilakukan mengikuti metode Kandito *et al.* (2019) seperti pada **Tabel 4.**

Tabel 4. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR

Tahapan Reaksi	Optimasi		Waktu
	Suhu		
Predenaturasi	95°C		3 menit
Denaturasi	95°C		1 menit
<i>Anneling</i>	55°C		30 detik
<i>Extension</i>	72°C		1 menit 30 detik
Pasca <i>Extension</i>	72°C		10 menit

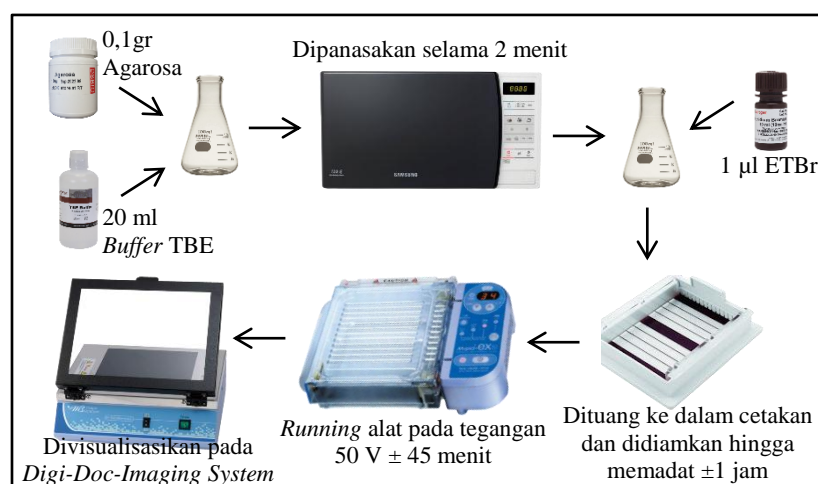
} 40 Siklus



Gambar 15. Tahapan amplifikasi DNA dengan PCR (Dokumentasi pribadi, 2021)

3.4.5 Visualisasi Hasil PCR dengan Elektroforesis

Fragmen DNA hasil amplifikasi divisualisasikan dengan elektroforesis gel agarosa. Agarosa yang digunakan sebesar 0,5%. 0,1 g agarosa dilarutkan dalam 20 ml *Buffer* TBE (Tris-Borate EDTA) kemudian dipanaskan dalam *microwave* selama 2 menit sampai terlarut sempurna. Setelah itu ditambahkan 1 μ l ETBr (*ethidium bromide*) dan dihomogenkan. Larutan agarosa dibiarkan hingga hangat lalu dituang ke dalam cetakan yang sudah dipasangkan sisir untuk membuat sumuran dan didiamkan hingga memadat kurang lebih selama 1 jam. Setelah memadat, gel agarosa dimasukkan ke dalam tangki (*electrophoresis box*). Sumuran pada gel agarosa diisi dengan campuran DNA sampel produk amplifikasi sebanyak 3 μ l dan *loading dye* sebanyak 1 μ l. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 V selama 45 menit kemudian divisualisasikan menggunakan *Digi-Doc-Imaging System* (*Major Science*).



Gambar 16. Tahapan visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis (Dokumentasi pribadi, 2021)

3.4.6 Sekuensing

Tiga sampel hasil PCR (masing-masing sebanyak 37 μ l) dikirim menggunakan jasa PT. Genetika Science Indonesia ke 1st *Base Company* di Malaysia untuk dilakukan peruntan basa nukleotida.

3.4.7 Analisis Data

Data hasil sekuensing sampel dimasukkan ke dalam BLAST pada NCBI untuk dipilih beberapa isolat yang memiliki kekerabatan yang tinggi dengan sekuen sampel. Selain itu, dipilih juga beberapa isolat Begomovirus yang telah teridentifikasi berasal negara lain sebagai isolat pembanding. Isolat sampel uji dan beberapa isolat lain yang telah dipilih kemudian dicari presentase identitasnya menggunakan matriks presentase identitas dari perangkat Clustal Omega pada situs *EMBL (European Bioinformatics Institute)* (Saraswati, 2014). Lalu isolat sampel uji dan beberapa isolat lain yang telah dipilih melalui NCBI tersebut disejajarkan menggunakan *ClustalW Alignment* MEGA V.11.0.11. Hubungan kekerabatan sampel uji tanaman tomat dan beberapa sekuen yang telah dipilih akan divisualisasikan dalam pohon filogenetik menggunakan program MEGA V.11.0.11. Hubungan kekerabatan antar cabang dianalisis menggunakan analisis *bootstrap-1000* (Mahfut *et al.*, 2020).

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Begomovirus dideteksi menginfeksi tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) pada tiga desa di Kabupaten Lampung Selatan, yaitu Desa Agom dan Desa Kedaton (Kecamatan Kalianda), serta Desa Takabau (Kecamatan Penengahan).
2. Hasil sekuensing gen *TrAP* dan *Rep* Begomovirus pada isolat T2 (Agom) dan T3 (Takabau) menghasilkan pita DNA berukuran ± 872 bp, serta isolat T12 (Kedaton) menghasilkan pita DNA berukuran ± 815 bp.
3. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan isolat T2 teridentifikasi sebagai *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* (TYLCV) dengan homologi sebesar 100%, sedangkan isolat T3 dan T12 berada pada cabang yang sama dan membentuk satu kelompok yang memiliki hubungan kekerabatan yang cukup jauh dengan isolat Begomovirus lainnya karena isolat TYLCV dari Indonesia ini telah mengalami spesiasi sebagai adaptasi terhadap lingkungan.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai infeksi Begomovirus pada tanaman tomat di Indonesia khususnya Lampung menggunakan sampel uji yang lebih banyak dari berbagai lokasi agar pembandingan dalam menentukan jenis virus lebih akurat, serta perlu dikembangkannya cara pencegahan dan pengendalian penyebaran virus ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agromedia. 2007. *Tanaman Sayur*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Aidawati, N. 2006. *Keanekaragaman Begomovirus pada Tomat dan Serangga Vektornya, Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) serta Pengujian Ketahanan Genotipe Tomat terhadap Strain Begomovirus*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aisah, A.R., Soekarno, B.P.W., dan Achmad. 2015. Isolasi dan Identifikasi Cendawan yang Berasosiasi dengan Penyakit Mati Pucuk pada Bibit Jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. 12(3): 153-163.
- Aidawati, N., S.H. Hidayat, R. Suseno, P. Hidayat, dan S. Sujiprihati. 2005. Identifikasi *Geminivirus* yang Menginfeksi Tomat Berdasarkan Pada Teknik *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 10(1): 29-32.
- Anwar, K., Sufardi, dan Helmi. 2016. Kesesuaian Lahan untuk Tanaman Hortikultura pada Areal Bekas Hutan Rawa Gambut di Kabupaten Nagan Raya Provinsi Aceh. *Jurnal Floratek*. 11(1): 18-24.
- Ashari, S. 2006. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- AVRDC. 2003. *Centerpoint newsletter-Spring*. 21(1): 1.
- Badan Pusat Statistik. 2020. Statistik Tanaman Sayuran dan Buah-buahan Semusim Indonesia. <https://www.bps.go.id/indicator/55/61/1/produksi-tanaman-sayuran.html>. Diakses pada tanggal 14 Februari 2022 pukul 11.06 WIB.
- Balitkabi. 2020. Aplikasi PCR dalam Pengelolaan Plasma Nutfah dan Pemuliaan Tanaman di Era Molekuler. <https://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/infotek/aplikasi-pcr-dalam-pengelolaan-plasma-nutfah-dan-pemuliaan-tanaman-di-era-molekuler>. Diakses pada tanggal 27 November 2021 pukul 15.30 WIB.

- Brown, J.K. and Czosnek, H. 2002. Whitefly Transmission of Plant Viruses. *Journal of Advances in Botanical Research*. 36: 65-100.
- Brown, J.K. 2007. The *Bemisia tabaci* complex: Genetic and Phenotypic variation and relevance to TYLCV-vector interactions. *Springer*. 25-26.
- Cahyono, B. 2008. *Tomat Usaha Tani dan Penanganan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Clark, D.P. 2010. *Molecular Biology: Academic Cell Update*. Elsevier Academic Press. Sandiego, USA.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Departemen Pertanian. 2015. *Outlook Komoditas Pertanian Hortikultura*. Pusat Data dan Informasi Pertanian. Jakarta.
- Desbiez, C., David, C., Mettouchi, A., Laufs, J., and Gronenborn, B. 1995. Rep protein of tomato yellow leaf curl geminivirus has an ATPase activity required for viral DNA replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92: 5640-5644.
- Dinas Ketahanan Pangan, Tanaman Pangan, dan Hortikultura Provinsi Lampung. 2018. Data Komoditas. <https://dinastph.lampungprov.go.id/pages/data-komoditas>. Diakses pada tanggal 15 Desember 2021 pukul 14.30 WIB.
- Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., and Ball, L.A. 2005. *Virus Taxonomy, VIIIth report of the ICTV*. Academic Press. London (UK).
- Fauquet, C.M. and Stanley, J. 2005. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: A review of Geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. *Archives of Virology*. 150(10): 2151– 2179.
- Farmawati, D.A., Wirajana, I.N., dan Yowani, S.C. 2015. Perbandingan Kualitas DNA dengan Menggunakan Metode Boom *Original* dan Boom Modifikasi pada Isolat *Mycobacterium tuberculosis* 151. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*. 9 (1): 41-46.
- Fatchiyah, Widyarti, S., Arumningtyas, E.L., dan Permana, S. 2012. *Buku Praktikum Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Universitas Brawijaya. Malang.

- Fitriani, E. 2012. *Untung Berlipat Budidaya Tomat di Berbagai Media Tanam*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Fondong, V.N. 2013. Geminivirus protein structure and function. *Molecular Plant Pathology*. 14(6): 635-649
- Ganefianti, D.W., Sujiprihati, S., Hidayat, S.H., and Syukur, M. 2008. Metode penularan dan uji ketahanan genotipe cabai terhadap Begomovirus. *Akta Agrosia*. 11(2): 162-9.
- Gunaeni, N. dan Purwati, E. 2013. Uji Ketahanan terhadap Tomato Yellow Leaf Curl Virus pada Beberapa Galur Tomat. *Jurnal Hortikultura*. 23(1): 65-68.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Unitas*. 9(1): 1729.
- Hanley- Bowdoin, L., Settlage, S.B., Orozco, B.M., Nagar, S., and Robertson, D. 1999. Geminivirus es: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 18: 71–106.
- Hanley- Bowdoin, L., Settlage, S.B., and Robertson, D. 2004. Reprogramming plant gene expression: a prerequisite to Geminivirus DNA replication. *Molecular Plant Pathology*. 5: 149–156.
- Hasyim, A., Setiawan, W., dan Liferdi, L. 2016. Kutu Kebul *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Penyebar Penyakit Virus Mosaik Kuning pada Tanaman Terung. *Iptek Hortikultura*. (12): 50-54.
- Hidayat, S.H. 2003. *Rangkuman Hasil Penelitian Geminivirus di Indonesia: Sebagai Bahan Diskusi untuk Menghadapi Peningkatan Infeksi Geminivirus pada Cabai. Disampaikan pada Seminar Sehari Penyakit yang Disebabkan oleh Virus pada Cabai*. Direktorat Jendral Perlindungan Tanaman Hortikultura. Jakarta.
- Higgs, P.G. and Attwood, T.K. 2005. *Bioinformatics and Molecular Evolution*. Blackwell Science. Malden.
- Hong, Y., Saunders, K., Hartley, M.R., and Stanley, J. 1996. Resistance to Geminivirus infection by virus- induced expression of diathin in transgenic plants. *Journal of Virology*. 220: 119–127.
- Hull. 2002. *Matthews Plant Virology*. Academic Press. San Diego.
- Irmawati. 2003. *Perubahan Keragaman Genetika Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) Generasi Pertama pada Stok Hatchery*. Tesis. Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Janssen, D., Ruiz, L., Garcia, C., and Meijer, R.J.M. 2016. Viruses transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* in organic greenhouse crops current situation and risk in Europe. *Plant Health*. 14-15.
- Kandito, A., Hartono, S., Sulandari, S., dan Somowiyarjo, S. 2019. Molecular characterization of Betasatellite Associated with Begomovirus on *Ageratum conyzoides* in Magelang, Central Java. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 23(2): 292-298.
- Khan, M.S., Tiwari, A.K., Raj, S.K., Srivastava, A., Ji, S.H., and Chun, S.C. 2014. Molecular epidemiology of Begomovirus occurring on some vegetables, grain legume, and weed species in the Terai Belt of North India. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 121(2): 53-57.
- Kintasari, T. 2013. *Deteksi Geminivirus yang Menginfeksi Tanaman Terung (Solanum melongena L.) dengan Teknik Polymerase Chain Reaction*. Skripsi. Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. 7-8.
- Kurniawati, F., Suastika, G., dan Giyanto. 2015. Identifikasi Tomato Infectious Chlorosis Virus Penyebab Penyakit Klorosis Pada Tanaman Tomat di Cipanas Jawa Barat Melalui Peruntan Nukleotida Gen Protein Selubung Utama. *Jurnal Hama Proteksi Tanaman Tropika*. 15(1): 33-43.
- Li, R., Salih, S., and Hurtt, S. 2004. Detection of Geminiviruses in sweetpotato by polymerase chain reaction. *Plant Disease*. 88: 1347-1351.
- Luna, A.P., Morilla, G., Voinnet, O., and Bejarano, E.R. 2012. Functional analysis of gene-silencing suppressors from tomato yellow leaf curl disease viruses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 25: 1294-1306.
- Mahfut., Indrianto, A., Somowiyarjo, S., and Daryono, B.S. 2020. Molecular phylogeny of orchids mycorrhiza isolated from native tropical orchids in Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology*. 16(1): 68-72.
- Maxwell, P., Nakhla, M.K., Maxwell, M.D., Ramirez, P., Karkashian, J.P., Doyle de Roca, M.M., Roye, M., McLaughlin, W., and Faria, J.C. 2002. Diversity of Begomovirus and their management in Latin America. *Journal Phytopathology*. 92: 127.
- Moriones, E. and Navas, C. J. 2000. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*. 71: 123-134.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R.K., Horn, G.T., and Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the Polymerase

Chain Reaction. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* Vol. 51, pp. 263-273.

- Naidu, R.A. and Hughes, J.D.A. 2003. Methods for the detection of plant viral diseases in plant virology in sub-Saharan Africa. *Proceedings of Plant Virology*. Nigeria.
- Nugraha, F. C. 2013. *Daya Saing Ekspor Komoditi Hortikultura Indonesia di Pasar ASEAN*. IPB. Bogor.
- Nurainun. 2021. *Deteksi Virus Gemini pada Tanaman Tomat (Solanum lycopersicum Mill.) di Kabupaten Karo Sumatera Utara dengan Teknik PCR*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan. 12-13.
- Nurulita, S., Hidayat, S.H., Mutaqin, K.H., dan Thomas, J.E. 2015. Molecular characterization of *Begomovirus* infecting yard long bean (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis* L.) in Java, Indonesia. *Journal Biotropia*. 22(1): 53-60.
- Oshima, K., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Kuboyama, T., Miyata, S., Ugaki, M., and Namba, S. 2001. A plasmid of phytoplasma encodes a unique replication protein having both plasmid- and virus- like domains: clue to viral ancestry or result of virus/plasmid recombination. *Journal of Virology*. 285: 270–277.
- Pardal, S.J., Rahayu, V.R., Nugroho, K., dan Suharsono. 2020. Analisis Keragaman Genetik Galur Kedelai Transgenik Toleran Cekaman Aluminium dan Varietas Nontransgenik Berdasarkan Marka Simple Sequence Repeat (SSR). *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 4(3): 171-177.
- Pitojo, S. 2005. *Benih Tomat*. Kanisius. Yogyakarta.
- Pladias. 2021. <https://pladias.cz/taxon/overview/Solanum%20lycopersicum>. Diakses pada tanggal 15 November 2021 pukul 13.15 WIB.
- Polston, J.E. and Anderson, P.K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in western hemisphere. *Plant Disease*. 81(12): 1358-69.
- Pratap, D., Kashikar, A.R., and Mukherjee, S.K. 2011. Molekuler characterisation and infectivity of a *Tomato leaf curl New Delhi virus* variant associated with newly emerging yellow mosaic disease of eggplant in India. *Journal of Virology*. 8(1): 305.
- Purwati. 2008. *Budidaya Tomat*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Purwati, E. dan Khairunisa. 2007. *Budidaya Tomat Dataran Rendah dengan Varietas Unggul serta Tahan Hama dan Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Renteria-Canett, I.R., Xoconostle-Cazares, B., Ruiz, M.R., and Rivera-Bustamante, R.F. 2011. Gemini virus mixed infection on pepper plants: Synergistic interaction between PHYVV and PepGMV. *Virology Journal*. 8: 104-17.
- Rinaldi, M. 2019. *Panduan Lengkap dan Praktis Budidaya Tomat yang Paling Menguntungkan*. Garuda Pustaka. Jakarta.
- Rismunandar. 2001. *Tanaman Tomat*. Sinar Baru Algensindo. Bandung.
- Santoso, T. J. 2008. *Identifikasi Begomovirus Indonesia pada Tomat dan Analisis Diversitas Genetik Gen AVI serta Pemanfaatannya Untuk Pengembangan Tanaman Tahan Virus*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Santoso, T. J. 2013^a. Aplikasi Teknik Molekuler Untuk Analisis Genetik *Tomato leaf curl virus*. *Litbang Pertanian*. 32(4): 141-149.
- Santoso, T. J. 2013^b. Aplikasi Teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Menggunakan Primer *Degenerate* dan Spesifik Gen AVI Untuk Mendeteksi *Begomovirus* pada Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 4(3): 140-149.
- Saraswati, U. 2014. *Karakterisasi Molekuler Coat Protein Gene Papaya Ringspot Virus pada Tanaman Papaya (Carica papaya L.) di Indonesia*. Tesis. Program Studi Biologi, Program Pascasarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 84.
- Sharma, S., Sing, B., Rani, G., Zaidi, A.A., Hallan, U., Nagpal, A., dan Virk, G.S. 2007. Production of Indian citrus ringspot virus free plant of kinnow employing chemotherapy coupled with shoot tip grafting. *Journal of Central European Agriculture*. 8(1): 1-8.
- Sinaga, M.S. 2003. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Stenger, D.C., Revington, G.N., Stevenson, M.C., and Bisaro, D.M. 1991. Replicational release of Geminivirus genomes from tandemly repeated copies: evidence for rolling- circle replication of a plant viral DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 88: 8029–8033.
- Sudiono, Hidayat, S.H., Suseno, R., dan Sosromarsono, S. 2004. Penggunaan Teknik PCR dan RFLP untuk Deteksi dan Analisis Keragaman Virus

- Gemini pada Tanaman Tomat yang Berasal dari Berbagai Daerah di Jawa Barat dan Lampung. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 4(2): 89–93.
- Sugiarman dan Hidayat, S.H. 2000. Evaluasi Ketahanan Beberapa Kultivar Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Terhadap Infeksi Virus Gemini. *Jurnal Biosains Hayati*. 3: 113-116.
- Sulandari, S. 2004^a. *Karakterisasi Biologi, Serologi dan Analisis Sidik Jari DNA Virus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai*. Desertasi. IPB. Bogor.
- Sulandari, S., Suseno, R., Hidayat, S.H., Harjosudarmo, J., dan Sosromarsono, S. 2004^b. Pembuatan antiserum dan kajian serologi virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. *Jurnal Pertanian Indonesia*. 10(1): 42-52.
- Sulandari, S., Suseno, R., Hidayat, S.H., Harjosudarmo, J., dan Sosromarsono, S. 2006. Deteksi dan Kajian Inang Virus Penyebab Penyakit Daun Keriting Kuning Cabai. *Jurnal Hayati*. 13(1): 1-6.
- Sunter, G. and Bisaro, D.M. 1992. Transactivation of Geminivirus AR1 and BR1 gene expression by the viral AL2 gene product occurs at the level of transcription. *Journal of Plant Cell*. 4: 1321–1331.
- Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R., and Wickner, R.B. 1999. *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press. San Diego.
- Van Wezel, R., Liu, H.T., Tien, P., Stanley, J., and Hong, Y.G. 2001. Gene C2 of the monopartite geminivirus Tomato yellow leaf curl virus-China encodes a pathogenicity determinant that is localized in the nucleus. *Molecular Plant-Microbe Interact*. 14: 1125-1128.
- Wenny, I. 2007. *Potensi Tomat Lokal Indonesia Dalam Pembuatan Pasta Tomat Menggantikan Pasta Tomat Impor*. SRKP.
- Wiriyanta, W.T.B. 2004. *Bertanam Tomat*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Saintek*. 5(6): 1-6.
- Zeidan, M., Green, S.K., Maxwell, D.P., Nakhla, M.K., and Czosnek, H. 1998. Molecular analysis of whitefly-transmitted tomato Geminiviruses from Southeast and East Asia. *Journal of Tropical Agricultural Research Extension*. 1(2): 107-115.

- Zerbini, F., Briddon, R.W., Idris, A., Martin, D.P., Moriones, E., Navas, C.J., Rivera-Bustamante, R., Roumagnac, P., and Varsani, A. 2017. ICTV virus taxonomy profile: Geminiviridae. *Journal of General Virology*. 98: 131-133.
- Zhou, X., Xie, Y., Tao, X., Zhang, Z., Li, Z., and Fauquet, C.M. 2003. Characterization of DNA-associated with Begomoviruses in China and evidence for co-evolution with their cognate viral DNA-A. *Journal of General Virology*. 84: 237-247.