

**DETEKSI SIMULTAN DAN VARIASI GENETIK BEBERAPA VIRUS  
YANG MENGINFEKSI TANAMAN CABAI RAWIT MENGGUNAKAN  
*MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Fauziah Rizky Nurfadillah  
2014191045**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

## ABSTRAK

### DETEKSI SIMULTAN DAN VARIASI GENETIK BEBERAPA VIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN CABAI RAWIT MENGGUNAKAN *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)*

Oleh

**FAUZIAH RIZKY NURFADILLAH**

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan sayuran yang memiliki banyak manfaat serta bernilai ekonomis tinggi. Namun, akibat adanya infeksi virus menyebabkan terjadinya penurunan produksi. Selain itu, virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit dapat lebih dari satu jenis virus atau infeksi campuran. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi beberapa jenis virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit di lapangan dengan *Multiplex PCR* menggunakan empat pasang *primer* dan mengetahui spesies virus serta variasi genetik virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit. *Survey* lapangan dilakukan di Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Empat sampel daun bergejala kerdil, keriting, menguning, dan daun menekuk ke atas diambil untuk dilakukan deteksi lebih lanjut di Laboratorium. Deteksi dilakukan berdasarkan *Multiplex PCR* menunjukkan cabai rawit terinfeksi *Begomovirus* dan *Potyvirus* dan tidak terinfeksi *Cucumber mosaik virus* dan *Tomato infectious chlorosis virus*. Hasil pohon filogenetik berdasarkan sekuen AC1/AC2 mengkonfirmasi bahwa *Begomovirus* isolat Lampung Selatan dengan *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* berasal dari tetua yang sama. Berdasarkan nilai homologi *Begomovirus* isolat Lampung Selatan dan PYLCV isolat Kertha memiliki nilai homologi 93% yang menunjukkan kedua virus termasuk ke dalam spesies yang sama strain yang berbeda. Hasil pohon filogenetik berdasarkan sekuen *coat protein* mengkonfirmasi *Potyvirus* isolat Lampung Selatan dengan *Potato virus Y* memiliki kesamaan spesies. *Potyvirus* isolat Lampung Selatan dan PVY isolat Ukraina memiliki nilai homologi 100% yang menunjukkan bahwa *Potyvirus* Lampung Selatan dengan PVY Ukraina memiliki kesamaan yang spesifik. Hasil uji patogenesis pada tanaman cabai rawit menunjukkan gejala berupa mosaik ringan sampai mosaik berat.

**Kata Kunci:** *Begomovirus*, infeksi campuran, *multiplex PCR*, *Potyvirus*

**DETEKSI SIMULTAN DAN VARIASI GENETIK BEBERAPA VIRUS  
YANG MENGINFEKSI TANAMAN CABAI RAWIT MENGGUNAKAN  
*MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

Oleh

**FAUZIAH RIZKY NURFADILLAH**

Skripsi  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA PERTANIAN**

pada

**Jurusan Proteksi Tanaman  
Fakultas Pertanian**



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2024**

Judul Skripsi : **DETEKSI SIMULTAN DAN VARIASI  
GENETIK BEBERAPA VIRUS YANG  
MENGINFEKSI TANAMAN CABAI  
RAWIT MENGGUNAKAN *MULTIPLEX  
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)***

Nama Mahasiswa : **Fausiah Risky Nurfadillah**

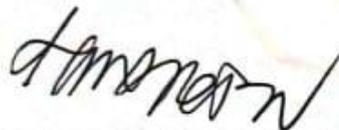
Nomor Pokok Mahasiswa : **2014191045**

Program Studi : **Proteksi Tanaman**

Fakultas : **Pertanian**

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing



**Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P.**  
NIP 195706291986031002



**Selvi Helina, S.P., M.Sc.**  
NIP 231811880928201

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman



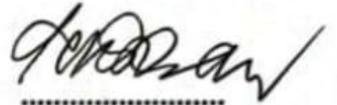
**Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.**  
NIP 198002082005011002

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

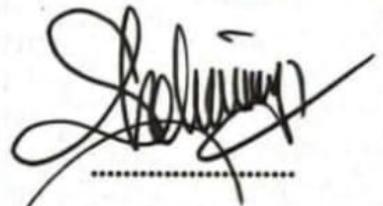
ketua

**Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P.**



Sekretaris

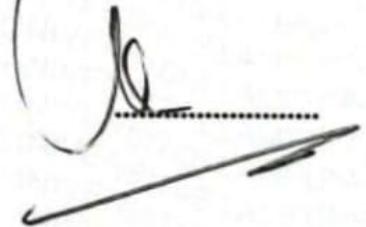
**Selvi Helina, S.P., M.Sc.**



Penguji

Bukan Pembimbing

**Ir. Muhammad Nurdin, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Dr. H. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**  
NIP. 196411181989021002

**Tanggal lulus ujian skripsi : 22 November 2024**

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**DETEKSI SIMULTAN DAN VARIASI GENETIK BEBERAPA VIRUS YANG MENGINFEKSI TANAMAN CABAI RAWIT MENGGUNAKAN *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)**" merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Akan tetapi, beberapa bagian tertentu yang mendukung penulisan skripsi ini, saya kutip dari hasil karya orang lain, dan telah saya tuliskan dengan sebenarnya secara jelas dengan kaidah, normal, serta etika penulisan karya ilmiah di Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan salinaan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 22 November 2024  
Penulis



**Fauziah Rizky Nurfadillah**  
NPM 2014191045

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Tangerang, Banten pada tanggal 17 Juni 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak Samad dan Ibu Komariah dan merupakan anak sulung dari tiga bersaudara.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN 5 Tangerang pada tahun 2014, pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 2 Tangerang Pada tahun 2017, dan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 4 Kota Tangerang pada tahun 2020. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi di Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Suka Bumi, Kecamatan Pakuan Ratu, Kabupaten Way Kanan dan Praktik Umum di Balai Besar Pelatihan Pertanian (BBPP) Lembang pada tahun 2023. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Teknik pengendalian Penyakit Tanaman (2023), Penyakit Penting Tanaman (2023), Virologi Tumbuhan (2024), dan Ilmu Penyakit Benih (2024). Penulis juga aktif berorganisasi di Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota Bidang II (Seminar dan Diskusi) pada periode tahun 2022 dan sebagai Sekretaris Bidang II (Seminar dan Diskusi) pada periode tahun 2023.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

kupersembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta dalam  
hidupku

**Bapak Samad dan Ibu Komariah**

**Adik – adik tercinta Dyah Safina Rizky Salsabila dan Jasmine Annisa  
Rizky Ulaya**

Untuk diriku sendiri

**Fauziah Rizky Nurfadillah**

Serta

Almamater tercinta, Universitas Lampung

## MOTTO

*“Hidup ini bukan tentang perlombaan, jadi jangan bandingkan prosesmu dengan proses orang lain “*

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”*

(Q.S. Al – Insyirah : 6-7)

*"Dan mintalah pertolongan dengan sabar dan sholat."*

(Q.S Al Baqarah: 45)

*“Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku dan apa yang ditakdirkan untukku tidak akan pernah melewatkanmu”*

(Umar bin Khattab)

## SANWACANA

Puji syukur kehadiran Allah ﷻ yang telah memberikan segala rahmat dan hidayah sehingga atas izin-Nya skripsi ini dapat diselesaikan oleh penulis. Shalawat serta salam tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad ﷺ yang telah membawa kita dari kegelapan menuju cahaya, sehingga kita memiliki panduan dalam kehidupan.

Skripsi yang berjudul “**Deteksi Simultan dan Variasi Genetik Beberapa Virus yang Menginfeksi Tanaman Cabai Rawit menggunakan *Multiplex polymerase chain reaction (PCR)***” merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana pertanian. Skripsi ini disusun secara maksimal dan mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung,
2. Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si. selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung,
3. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, nasihat, bantuan dan ilmu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini,
4. Selvi Helina, S.P., M.Sc. selaku dosen pembimbing kedua dan pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, dukungan, bantuan, nasihat, saran, pengarahan, dan ilmu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini,
5. Ir. Muhammad Nurdin, M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan bimbingan, saran, dan ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik,

6. Kedua orang tua penulis Bapak Samad dan Ibu Komariah serta kedua adik penulis Dyah Safina Rizky Salsabila dan Jasmine Annisa Rizky Ulaya yang selalu memberikan do'a, ridho, kasih sayang, serta motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ini dan dapat menyelesaikan studi di Universitas Lampung,
7. Aulia Shalsha Saharani selaku teman seperantauan penulis, terima kasih untuk semua nasihat, bantuan, dan sarannya selama ini,
8. Anggun Shermila dan Novelia selaku teman penulis dari mahasiswa baru sampai sekarang yang menjadi tempat cerita dan berkeluh kesah di Kosan. Terima kasih telah memberikan semangat, saran, serta support kepada penulis,
9. Rezky Kevin Adha selaku teman cerita penulis, terima kasih untuk selalu menjadi pendengar, penasihat, dan memberi semangat, motivasi, saran, serta bantuan selama penulis melaksanakan survey lahan, penelitian sampai terciptanya skripsi ini,
10. Ekin, Eva, Martin, Daniel, Amanda, dan Angel selaku teman – teman biotek 2020, terima kasih untuk segala cerita dan semangat dalam melaksanakan penelitian di Biotek,
11. Mba Lio, Mba Reni, Mba Tari, dan Bang Nando terima kasih atas pengarahan dan bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi FP Unila, dan
12. Teman – teman Proteksi Tanaman 2020.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca

Bandar Lampung, 23 Desember 2024  
Penulis



Fauziah Rizky Nurfadillah

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Kerangka Pemikiran .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Cabai Rawit ( <i>Capsicum frutescens</i> L.) .....	5
2.2 Virus yang dapat menginfeksi cabai rawit .....	7
2.2.1 <i>Begomovirus</i> .....	7
2.2.2 <i>Potyvirus</i> .....	9
2.2.3 <i>Cucumovirus</i> .....	10
2.3 Vektor Virus .....	11
2.3.1 Kutu Kebul ( <i>Bemisia tabaci</i> G.) .....	11
2.3.2 Kutu daun <i>Aphis gossypii</i> .....	13
2.4 Gejala Infeksi Virus pada Tanaman Cabai .....	15
2.5 Deteksi Virus dengan <i>Multiplex polymerase chain reaction</i> .....	16
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.2 Alat dan Bahan .....	18
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	19

3.3.1 Eksplorasi tanaman cabai di lapangan .....	19
3.3.2 Deteksi molekuler beberapa virus pada tanaman cabai menggunakan <i>Multiplex</i> PCR .....	19
3.3.2.1 Ekstraksi DNA Total .....	19
3.3.2.2 Ekstraksi RNA Sampel .....	21
3.3.3 Amplifikasi cDNA dengan Teknik <i>Reverse Transcription</i> (RT) .....	23
3.3.4 Amplifikasi DNA dengan Teknik PCR .....	23
3.3.5 Visualisasi Fragmen DNA dengan Elektroforesis .....	24
3.3.6 Sekuensing DNA .....	25
3.3.7 Analisis Data .....	25
3.3.8 Penyiapan tanaman uji patogenesitas .....	25
3.3.9 Inokulasi dengan cara mekanik .....	26
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	27
4.1 Hasil Penelitian .....	27
4.1.1 Gejala penyakit di Lapangan .....	27
4.1.2 Identifikasi <i>Begomovirus</i> dan <i>Potyvirus</i> pada tanaman cabai .....	28
4.1.3 Identifikasi dan Variasi genetik .....	28
4.1.3.1 <i>Begomovirus</i> .....	
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.1.3.2 <i>Potyvirus</i> .....	31
4.1.4 Uji Patogenisitas <i>Potyvirus</i> isolat Lampung Selatan .....	33
4.2 Pembahasan .....	34
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	39
5.1 Simpulan .....	39
5.2 Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	40

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Urutan oligonukleotida <i>universal primer</i> deteksi dan identifikasi beberapa virus .....	19
2. Komposisi <i>reagen cDNA Reverse Compliment</i> .....	23
3. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi <i>Reverse Transcriptase</i> .....	23
4. Sekuen nukloetida primer yang digunakan dalam reaksi <i>Multiplex PCR</i> .....	24
5. Komposisi reagen <i>Multiplex PCR</i> .....	24
6. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR.....	24
7. Homologi <i>Begomovirus</i> isolat cabai rawit asal Lampung Selatan dengan <i>Begomovirus</i> dari Berbagai Negara .....	30
8. Homologi <i>Potyvirus</i> isolat cabai rawit asal Lampung Selatan dengan <i>Potyvirus</i> dari Berbagai Negara .....	32
9. Variabel pengamatan inokulasi <i>Potyvirus</i> pada uji patogenesisitas ...	34

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Tanaman cabai rawit .....	6
2. Partikel Geminivirus.....	8
3. Peta genom <i>Begomovirus</i> .....	8
4. Partikel virion <i>Potyvirus</i> .....	10
5. Peta genom <i>Potyvirus</i> .....	10
6. Peta genom <i>Cucumovirus</i> multipartait .....	11
7 Kutu kebul <i>Bemisia tabaci</i> .....	13
8. Kutu daun <i>Aphis gossypii</i> pada daun cabai rawit .....	14
9. Gejala virus pada tanaman cabai .....	15
10. Variasi gejala infeksi virus tanaman cabai di lapangan .....	27
11. Hasil visualisasi amplifikasi DNA .....	28
12. Pohon filogenetik <i>Begomovirus</i> asal cabai rawit berdasarkan gen AC1/AC2 dengan pendekatan <i>Neighbor – Joining</i> dengan <i>Bootstrap</i> 1000x. ....	29
13. Pohon filogenetik <i>Potyvirus</i> asal cabai rawit berdasarkan sekuen <i>coat protein</i> (cp) dengan pendekatan <i>Neighbor–Joining</i> dengan <i>bootstrap</i> 1000x .....	31
14. Hasil uji patogenesisitas <i>Potyvirus</i> pada tanaman cabai yang ditunjukkan pada gejala di daun .....	33
15. Hasil uji patogenesisitas <i>Potyvirus</i> pada tanaman cabai rawit .....	34

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan salah satu tanaman sayuran yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Tanaman cabai rawit banyak dibudidayakan di Indonesia karena dapat hidup baik di dataran tinggi maupun dataran rendah. Cabai rawit memiliki banyak kandungan vitamin, meliputi kapsaisin, kapsantin, karotenid, alkaloid, resin, dan minyak atsiri (Arifin, 2010). Dalam kehidupan sehari – hari cabai rawit banyak digunakan baik dalam skala industri maupun rumah tangga. Umumnya dalam skala rumah tangga cabai rawit sering digunakan masyarakat Indonesia untuk menambah cita rasa pada makanan agar menambah sensasi rasa pedas. Selain itu, manfaat dari buah serta bagian lain seperti batang, daun, dan akarnya digunakan sebagai obat – obatan (Bahrin dan Rohansyah, 2020). Banyaknya manfaat yang terkandung pada cabai menyebabkan tingginya permintaan produksi cabai.

Secara Nasional, kebutuhan cabai di Indonesia selalu mengalami peningkatan pada setiap tahunnya. Namun, produksi cabai dalam negeri belum cukup memenuhi kebutuhan tersebut. Badan Pusat Statistik melaporkan penurunan produksi cabai di Indonesia pada tahun 2021 sebesar 1,5 juta ton, atau 8,09% dibandingkan tahun – tahun sebelumnya. Sementara itu konsumsi masyarakat di Indonesia mencapai 900 ton/tahun atau sekitar 4 kg/kapita. Konsumsi tersebut hanya dapat dipenuhi oleh produksi dalam negeri berkisar 76% dari total permintaan. Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan permintaan cabai, dilakukannya impor dari Malaysia dan Australia. Mengingat cabai salah satu komoditas yang permintaannya terus meningkat baik di dalam negeri maupun luar negeri (Mahardika dan Yuliarni, 2018). Terjadinya penurunan jumlah produksi

cabai dalam negeri diakibatkan oleh berbagai faktor, terutama adanya infeksi virus tanaman cabai.

Di Indonesia virus tanaman cabai rawit sudah banyak teridentifikasi. Dalam satu tanaman cabai, virus dapat menginfeksi secara tunggal atau bersamaan yaitu lebih dari dua jenis virus (Tuhumury dan Amanupunyo, 2013). Infeksi campuran beberapa virus terjadi karena adanya interaksi dua virus atau lebih yang dapat menginduksi gejala yang lebih parah (Syller, 2012). Infeksi campuran dapat terjadi interaksi aditif, sinergis, dan antagonis (Septariani dkk., 2014). Virus yang masuk dan menginfeksi dapat menyebar dan tinggal pada setiap bagian tanaman. Tanaman yang terinfeksi virus biasanya menunjukkan gejala seperti menguning (*yellowing*), kerdil (*stunting*), dan keriting (*curly*) (Hamdayanty dan Hardina, 2023). Gejala yang diekspresikan tersebut mengakibatkan tanaman mengalami gangguan sehingga pertumbuhan tanaman terhambat dan tidak dapat berfotosintesis secara optimal. Infeksi virus dapat menyebabkan kehilangan hasil mencapai lebih dari 90% bahkan kematian tanaman yang mengakibatkan kegagalan panen (Saleh dan Rahayuningsih, 2014).

Sampai saat ini pengendalian virus pada cabai rawit belum banyak memberikan hasil yang diharapkan, dikarenakan infeksi virus dilapangan diakibatkan oleh serangga vektor seperti kutu kebul (*Bemisia tabaci*) dan kutu daun (*Aphids*) dan serangga lain yang berperan sebagai vektor (Marianah, 2020). Selain itu penyebaran yang terus meluas, juga semakin memperparah infeksi virus pada tanaman cabai. Oleh karena itu, sebelum melakukan pengendalian yang tepat dan efisien perlu dilakukannya identifikasi gejala, akan tetapi gejala dari infeksi virus ini tidak spesifik, sehingga diperlukan adanya teknik identifikasi virus yang tepat, cepat, dan efisien, yaitu dengan teknik *Polymerase chain reaction* (PCR).

PCR ialah salah satu metode mendeteksi virus yang dianggap valid dan memiliki tingkat sensitif serta spesifik mendeteksi dan mengidentifikasi virus yang sangat tinggi. Salah satu metode PCR yaitu *Multiplex Polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi dua atau lebih sekuen target secara bersamaan. *Multiplex* PCR berisi beberapa macam campuran

set primer sehingga pada saat divisualisasikan dengan elektroforesis gel akan menghasilkan pita ukuran DNA yang berbeda – beda. Teknik mPCR dapat menghemat waktu dan tenaga di dalam Laboratorium. Dengan demikian, metode ini diharapkan mampu mendeteksi beberapa jenis virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit dalam satu reaksi PCR (Naully dan Septriliyana, 2022).

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendeteksi molekuler beberapa jenis virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit di lapangan dengan *Multiplex* PCR, dan
2. Mengetahui spesies virus serta variasi genetik virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Kebutuhan cabai rawit di Indonesia setiap tahunnya selalu mengalami peningkatan yang diikuti dengan meningkatnya jumlah penduduk pada setiap tahunnya (Septiadi dkk., 2020). Namun, banyaknya permintaan tersebut tidak dimbangi dengan tersedianya cabai sehingga menyebabkan terjadinya pelonjakan harga yang cukup tinggi. Kurang tersedianya cabai tersebut dapat terjadi karena adanya hambatan yang dialami oleh petani yang mengakibatkan terjadinya penurunan hasil produktivitas tanaman. Penurunan hasil produktivitas tanaman cabai rawit salah satunya dapat terjadi karena adanya infeksi virus tanaman.

Virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit telah teridentifikasi di Indonesia yaitu, *Chili veinal mottle potyvirus* (ChiVMV), *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), *Peppers mild mottle potyvirus* (PMMV), dan *Pepper yellow leaf curl virus* (PYLCV) (Vivaldy dkk., 2017). Gejala yang ditimbulkan dapat berupa daun menguning, kerdil, daun menekuk ke atas, *mottling*, pengguguran bunga, klorosis pada tepi daun, dan kematian tanaman. Apabila terus dibiarkan maka akan menjadi masalah serius bagi produksi cabai rawit di Indonesia.

Identifikasi virus yang menginfeksi tanaman tidak dapat hanya melalui pengamatan gejala saja, hal ini dikarenakan gejala yang ditimbulkan oleh infeksi virus sulit untuk dikonfirmasi, karena gejala tersebut dapat berbeda – beda bergantung dari strain dan spesies yang menginfeksi. Oleh karena itu, diperlukannya identifikasi berdasarkan molekuler untuk mengetahui jenis, spesies, dan sifat virus yang menyerang tanaman tersebut. Deteksi molekuler yang biasa digunakan untuk identifikasi infeksi virus menggunakan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*). Teknik PCR memiliki prinsip kerja dengan mengamplifikasi sekuen asam nukleat spesifik secara *in vitro* yang menggunakan teknik pemanasan dan pendinginan terkendali (Carter *et al.*, 2022).

Satu tanaman cabai rawit dapat terinfeksi virus yang berbeda dengan gejala yang sama yang dapat disebut dengan infeksi campuran. Variasi gejala yang timbul akibat infeksi dua atau lebih jenis virus dapat mengakibatkan gejala yang lebih parah, seperti pertumbuhan apical tanaman yang terhenti akibat dari jaringan apeks yang tidak lagi membelah (Septariani dkk., 2014). Oleh karena itu, diperlukannya deteksi simultan atau bersamaan virus menggunakan metode *Multiplex* PCR untuk mengetahui virus apa saja yang dapat menginfeksi dalam satu tanaman cabai rawit.

*Multiplex* PCR (mPCR) ialah teknik PCR yang dapat mengamplifikasi dua atau lebih sekuen asam nukleat virus target secara simultan. mPCR terdiri atas beberapa set primer dalam campuran PCR tunggal untuk menghasilkan ampikon dengan ukuran berbeda secara spesifik yang mengidentifikasi urutan DNA yang berbeda. *Multiplex* PCR dapat mendeteksi virus yang berbeda dalam satu sampel yang sama, sehingga lebih efisien karena hasil deteksi yang diperoleh lebih cepat. Selain itu, deteksi dengan *Multiplex* PCR juga memiliki kelebihan seperti hemat waktu, hemat reagen, dan hemat sampel, serta memiliki tingkat efektifitas mendeteksi spesies yang tinggi (Gautam and Kumar, 2020). Oleh karena itu, berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian terkait virus yang menginfeksi tanaman cabai rawit di Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan, dengan teknik *Multiplex* PCR.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Tanaman cabai rawit merupakan tanaman semusim yang berumur pendek.

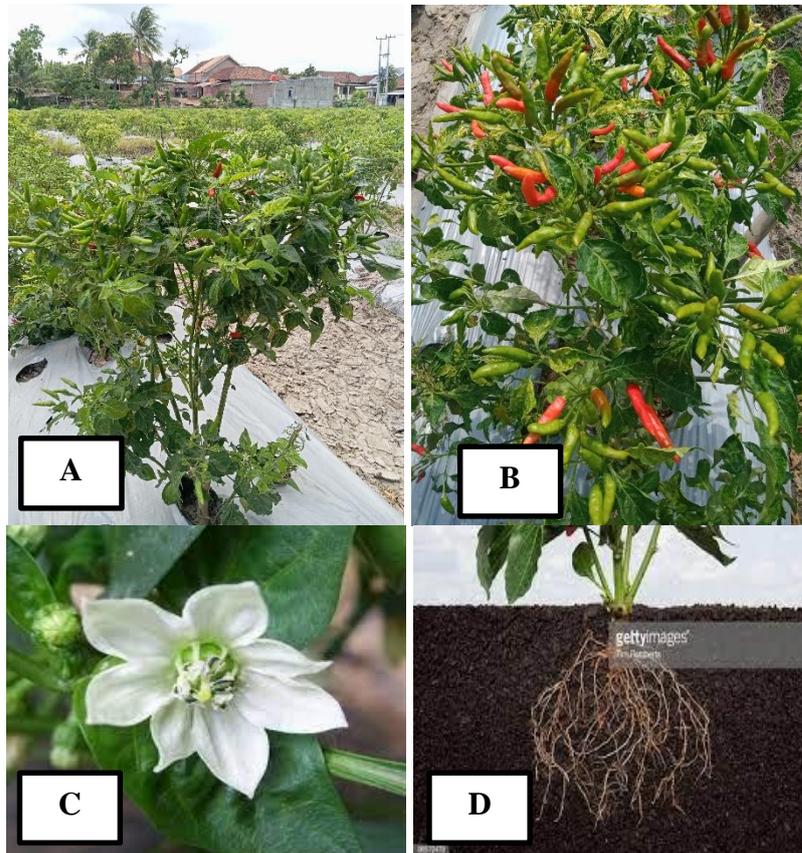
Tanaman cabai rawit ialah tanaman perdu tegak, yang mampu tumbuh hingga mencapai tinggi antara 50 – 150 cm.

Taksonomi tanaman cabai rawit menurut Cronquist (1981) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak kelas	: Asteridae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum frutescens</i> L.

Tanaman ini memiliki perakaran tunggang yang mampu tumbuh mencapai 1 meter ke dalam tanah. Batang dari tanaman cabai rawit berkayu dan memiliki banyak percabangan. Struktur daun cabai rawit berbentuk bulat telur (oval) dengan bagian pangkal membulat dan bagian ujung meruncing. Panjang daun berkisar antara 1 – 1,5 cm, sedangkan lebar 0,5 – 5 cm. Berdaun tunggal, memiliki tulang daun menyirip, dan tangkai tunggal yang melekat. Bunganya merupakan bunga tunggal dengan bentuk seperti bintang dan tumbuh menunduk pada ketiak daun

dengan mahkota berwarna putih (Gambar 1). Buah cabai memiliki bentuk, ukuran, warna, dan tingkat kepedasan yang berbeda. Umumnya cabai rawit memiliki bentuk buah lonjong berwarna orange kemerahan serta berwarna putih kekuning – kuning. Perbedaan warna cabai tersebut tergantung pada spesies dan varietas (Fauzi, 2018).



Gambar 1. Tanaman cabai rawit: (A) morfologi tanaman cabai rawit (dokumentasi pribadi), (B) bentuk buah cabai rawit (dokumentasi pribadi), (C) bentuk bunga cabai rawit (Adiyanto, 2021), dan (D) akar tanaman cabai rawit (Adiyanto, 2021).

Cabai rawit merupakan tanaman yang alur persebarannya diawali di Amerika. Jenis cabai rawit pertama kali dibawa pada zaman Columbia akhir ke Pasifik dan daerah – daerah tropik lainnya, dan mengalami naturalisasi pada beberapa tempat termasuk Asia Tenggara (Djarwaningsih, 2005). Pada awal abad ke XV cabai mulai masuk ke Indonesia yang dibawa oleh seorang pelaut Portugis. Kemudian terjadi penyebaran secara tidak langsung oleh para pedagang dan pelaut Eropa yang mencari rempah – rempah ke plosok Nusantara. Hingga saat ini, cabai menjadi salah satu bumbu yang digunakan dalam kehidupan sehari hari sebagai

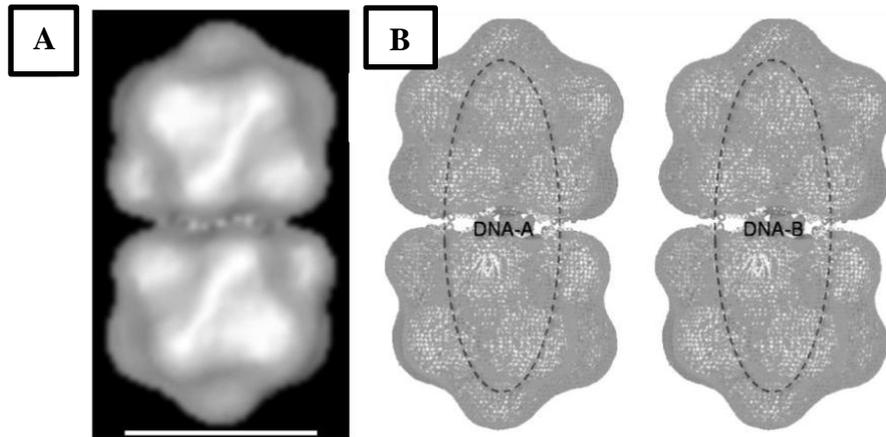
pemberi rasa pedas dan penambah selera makan (Agromedia, 2007). Selain itu cabai rawit kaya akan capsaicin, minyak esensial capsitol, dan bioflavonoid, serta vitamin A dan mineral yang memiliki efek positif bagi kesehatan tubuh (Harpenas dan Dermawan, 2010).

Tanaman cabai rawit mampu tumbuh pada daerah dataran rendah sampai menengah yang memiliki ketinggian antara 300 – 400 mdpl (Prajnanta, 2007). Dalam budidayanya tanah sebagai tempat tumbuh umumnya harus subur, dengan derajat keasaman tanah berkisar 6,0 – 7,0. Kemudian tanah harus bertekstur gembur agar peresapan air dan sirkulasi udara berjalan lancar. Suhu yang paling baik antara 15°-30° C. Tanaman cabai rawit tidak tahan terhadap hujan lebat karena hujan yang tinggi akan menimbulkan kegagalan panen. Agar proses fotosintesis berjalan dengan baik, tanaman cabai memerlukan sinar matahari penuh untuk pertumbuhannya (Tarigan dan wiryanta, 2004)

## **2.2 Virus yang dapat menginfeksi cabai rawit**

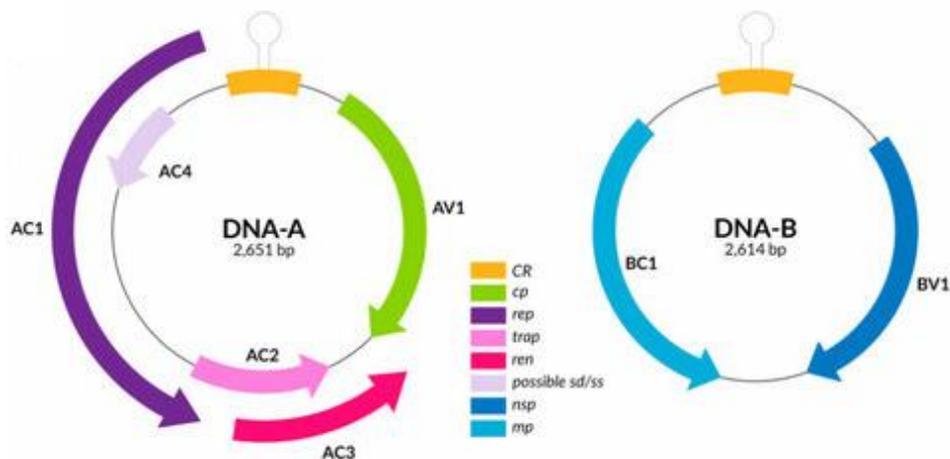
### **2.2.1 *Begomovirus***

Famili Geminiviridae terdiri atas sembilan genus yaitu, *Begomovirus*, *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus*, *Becurtovirus*, *Eragrovirus*, *Capulavirus*, dan *Grablovirus*. Kemudian diklasifikasikan kembali berdasarkan kisaran inang (baik monokotil maupun dikotil), berdasarkan serangga vektor (*Whiteflies*, *leafhoppers*, *treehoppers*, atau *aphids*), dan berdasarkan struktur genomnya (Bando *et al.*, 2024). *Begomovirus* merupakan salah satu genus virus tumbuhan yang mengandung genom berupa asam nukleat *Deoxyribose nucleic acid* (DNA) dalam bentuk utas tunggal DNA (*Single stranded – ssDNA*) yang berbentuk seperti silinder *Begomovirus* relatif kecil dan diselubungi partikel geminate (Gambar 2) (Fauquet and Stanley, 2005).



Gambar 2. Partikel Geminivirus: (A) bentuk tiga dimensi partikel *Begomovirus* dan (B) skema *Begomovirus* monopartit dan bipartit (Wyant *et al.*, 2011).

*Begomovirus* adalah genus virus partikel ganda yang masuk ke dalam Famili Geminivirus. Virus ini berbentuk DNA beruntai tunggal melingkar. DNA Struktur genom *Begomovirus* diklasifikasikan menjadi dua grup yaitu, monopartit dan bipartit (Fauquet *et al.*, 2005). Struktur genom bipartit terdiri atas dua molekul ssDNA, yakni DNA-A dan DNA-B, sedangkan yang monopartit tidak memiliki DNA-B (Gambar 3).



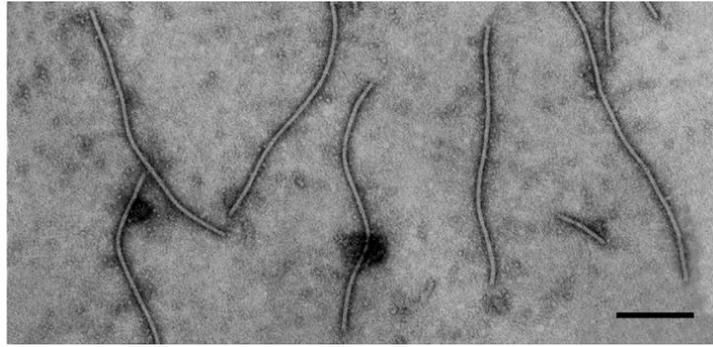
Gambar 3. Peta genom *Begomovirus* (Bornancini *et al.* 2020).

*Begomovirus* dapat ditularkan oleh serangga vektor seperti kutu kebul (*Bemisia tabaci* Genn.) dari famili Hemiptera. *Begomovirus* memiliki kisaran inang yang luas dan dapat menginfeksi tanaman dikotil. Beberapa spesies *Begomovirus* yang dapat menginfeksi tanaman Solanaceae di Indonesia antara lain: *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* (TYLCKaV) (Kintasari dkk., 2013), *Tomato leaf*

*curl New Delhi virus* (ToLCNDV) (Pratap *et al.*, 2011), *Tomato yellow leaf curl Indonesia virus* (TYLCIV), dan PYLCIV (*Pepper yellow leaf curl Indonesia virus*) (Annisaa *et al.*, 2021). Spesies *Begomovirus* tersebut dapat dideteksi dengan teknik PCR dengan menggunakan sepasang universal primer Krusty (*Forward*: 5'– CCN MRD GGH TGT GAR GGN CC– 3') dan Homer (*Reverse*: 5'– SVD GCR TGV GTR CAN GCC AT– 3') primer ini akan mengamplifikasi bagian dari CP (gen penyandi protein selubung virus) yang menghasilkan pita DNA berukuran ~550 bp (Revill *et al.*, 2003). Nukleotida dari CP merupakan daerah common region (yang terdiri atas 50~200 bp) yang berfungsi untuk memprediksi hubungan taksonomi dalam genus *Begomovirus* (Brown *et al.*, 2001). Selain itu, PCR juga dilakukan dengan menggunakan sepasang degenerate primer SPG1 (*Forward*: 5'– CCC CKG TGC GWR AAT CC AT– 3') dan SPG2 (*Reverse*: 5'– ATC CVA AYW TYC AGG GAG CTA A– 3') primer ini akan mengamplifikasi bagian dari AC2 dan AC1 dan menghasilkan pita DNA berukuran ~912 bp (Li *et al.*, 2004)

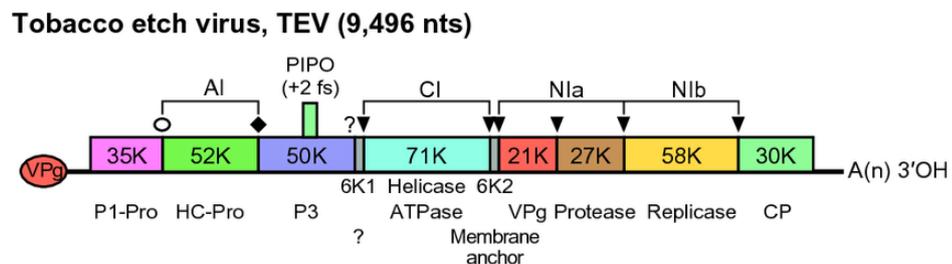
### **2.2.2 Potyvirus**

*Potyvirus* merupakan genus virus tanaman terbesar yang dapat menyebabkan kerugian secara signifikan pada berbagai macam tanaman. *Potyvirus* dapat ditularkan secara non persisten melalui kutu daun dan beberapa diantaranya dapat ditularkan melalui benih. Famili Potyviridae terdiri dari delapan genus virus yang anggotanya merupakan virus RNA positif beruntai tunggal (+ssRNA) yang dapat menginfeksi tanaman dengan partikel virus yang fleksibel dan berfilamen. Virion berbentuk filament lentur tanpa selubung yang memiliki diameter sekitar 11 – 15 nm (Gambar 4).



Gambar 4. Partikel *Potyvirus* (Adam *et al.*, 2012).

RNA genom *Potyvirus* mengandung kerangka baca (ORF/ *open reading frame*) tunggal yang mengkode poliprotein utama yang diproses secara proteolitik oleh proteinase yang dikodekan oleh virus (Gambar 5) (Revers and Garcia, 2015).



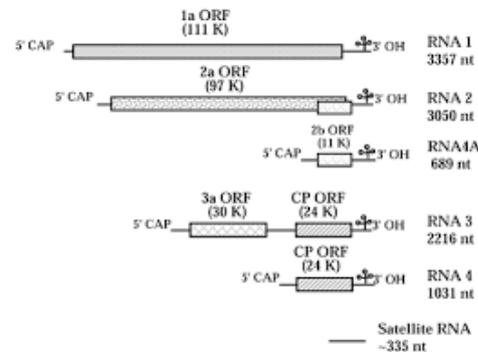
Gambar 5. Peta genom *Potyvirus* (Adam *et al.*, 2016).

Virus dari genus *Potyvirus* yang umumnya menginfeksi tanaman cabai ialah *Chili veinal mottle virus* (ChiVMV). Gejala khas infeksi ChiVMV ialah adanya bercak daun dan garis urat berwarna hijau tua, serta daun, kemungkinan kecil dan terdistorsi. Untuk mendeteksi anggota genus *Potyvirus* digunakan primer umum yang didesain oleh MarieJeanne *et al.* (2000) yaitu MJ1 dan MJ2 dengan urutan basa 5'-ATGGTHTGGTGYATHGARAAY GG-3' (MJ1) dan 5'-TGCTGCKGCYTTCATYTG-3' (MJ2) dan akan menghasilkan pita DNA berukuran ~ 320 bp.

### 2.2.3 *Cucumber mosaic virus*

*Cucumber mosaic virus* merupakan virus dari genus *Cucumovirus* yang paling tersebar luas dan paling umum di seluruh dunia. Virus ini dapat menginfeksi 85 famili tanaman berbeda termasuk sejumlah besar gulma. Virionnya berbentuk icosahedral, berdiameter 29 nm. Genom CMV terdiri dari tiga RNA untai tunggal

linear positif atau +ssRNA. ssRNA yang terdiri atas tiga molekul RNA: RNA-1, RNA-2, dan RNA-3 (Gambar 6) (Moury and Verdin, 2012).



Gambar 6. Peta genom *Cucumovirus* multipartait (Akin, 2021).

CMV mengekspresikan lima protein dari tiga RNA genomic dan dua RNA subgenomik (Tennant *et al.*, 2018). Virus CMV memiliki suhu inaktivasi antara 60-75°C. Dalam tanaman sakit, virus akan menjadi tidak aktif setelah disimpan selama 96 jam pada suhu kamar. Virus mosaik dapat ditularkan secara mekanis, oleh lebih dari 60 jenis kutu daun secara nonpersisten, termasuk *Myzus persicae* dan *Aphis gossypii*, serta melalui benih beberapa tanaman inang (Gonzalves and Garnsey, 1989).

*Cucumber mosaic virus* (CMV) dapat menyerang banyak tanaman yang termasuk ke dalam beberapa suku, antara lain suku mentimun (Cucurbitaceae), sawi-sawian (Cruciferae), terung-terungan (Solanaceae), dan kacang-kacangan (Papilionaceae). Virus CMV dapat dideteksi melalui teknik PCR dengan menggunakan primer CMV-Forward 5' ATGGACAAATCTGAATCAAC-3' dan CMV-Reverse yang akan menghasilkan pita DNA berukuran ~ 650 bp (Miftakhurrohman, 2020).

## 2.3 Vektor Virus

### 2.3.1 Kutu Kebul (*Bemisia tabaci* G.)

Kutu kebul merupakan hama polifag yang dapat menyerang berbagai jenis tanaman, antara lain sayuran, buah – buahan maupun tumbuhan liar atau gulma.

Hama ini tersebar sangat luas di seluruh dunia baik di daerah tropis atau subtropis. Kutu kebul di Afrika, India, dan Amerika selatan dikenal sebagai vektor penyakit pada kapas (Suharto, 2007).

Taksonomi kutu kebul menurut Kalshoven (1981) ialah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insekta
Ordo	: Homoptera
Sub Ordo	: Sternorrhyncha
Famili	: Aleyrodidae
Sub Famili	: Aleyrodinae
Genus	: <i>Bemisia</i>
Spesies	: <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius

Kutu kebul (*Bemisia tabaci*) merupakan salah satu hama penting pada tanaman cabai. Hama ini pertama kali ditemukan di Indonesia pada tahun 1983 pada tanaman tembakau. Gejala serangan kutu kebul ini dapat berupa bercak nekrotik dan klorosis pada daun, akibat rusaknya sel-sel dan jaringan daun karena serangan nimfa dan serangga dewasa. Pertumbuhan tanaman dapat terhambat akibat dari serangan populasi kutu kebul yang tinggi (Setiawati dkk., 2005).

Siklus hidup *B. tabaci* terdiri dari telur, nimfa instar 1 hingga 3, nimfa instar 4 (pupa) dan imago. Waktu yang dibutuhkan dari telur hingga imago adalah 18 – 28 hari. Telurnya berukuran 0,1 – 0,25 mm diletakkan dibawah permukaan daun yang berwarna putih kekuning-kuningan. Nimfa berukuran 0,6 – 0,8, dan imago berukuran 0,8- 1,2 mm. Daun tanaman yang terinfeksi virus mosaik kuning lebih disukai serangga betina untuk meletakkan telurnya daripada daun tanaman sehat. Banyaknya telur yang diletakkan pada daun yang terserang virus rata-rata ialah 77 butir, sedangkan pada daun sehat hanya 14 butir (Suharto, 2007).

Serangga dewasa panjangnya lebih kurang 1-1,5 mm dan sayapnya tertutup tipis dengan tepung, seperti lilin (Gambar 7). Ukuran tubuh jantannya lebih kecil daripada yang betina. Warna tubuhnya keputihan sampai kekuningan, tertutup

dengan bahan seperti tepung dan bersayap putih. Imago *B. tabaci* yang baru menjadi dewasa akan mengembangkan sayapnya selama 8-15 menit dan kemudian tubuh serangga mulai tertutupi tepung lilin (Suharto, 2007).



Gambar 7 Kutu kebul *Bemisia tabaci* (Cuthberson, 2013).

Lama hidup imago bervariasi tergantung pada keadaan lingkungan dan faktor-faktor lain. Lama hidup imago *B. tabaci* di Indonesia berkisar enam hari, lama hidup serangga jantan umumnya lebih pendek dibandingkan dengan serangga betina yaitu 9-17 hari, sedangkan serangga betina mencapai 37-74 hari (Suharto, 2007).

Sebagai vektor, kutu kebul dapat menularkan sekitar tujuh kelompok virus yaitu Closterovirus, Geminivirus, Carlavirus, Potyvirus, Nepovirus, dan Luteovirus virus DNA yang berbentuk batang (Fitriasari, 2010). Di antara kelompok virus tersebut yang paling banyak ditularkan adalah Closterovirus (Famili Closteroviridae, Genus *Crinivirus*) dan Geminivirus (Famili Geminiviridae, Genus *Begomovirus*) (Fitriasari, 2010).

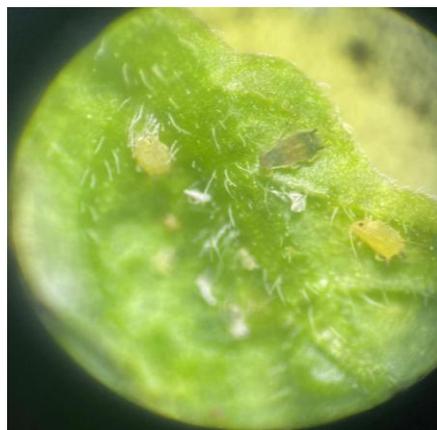
### 2.3.2 Kutu daun *Aphis gossypii*

*Aphis gossypii* atau kutu daun hijau memiliki sifat polifag yang tersebar hamper di sekuruh dunia. Serangga ini menjadi vektor dari banyak virus dan merupakan hama penting pada tanaman kapas dan Cucurbitae.

Taksonomi kutu daun menurut Glover (1877) dalam Edde (2021) ialah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Filum : Arthropoda  
Kelas : Insekta  
Ordo : Hemiptera  
Famili : Aphididae  
Genus : *Aphis*  
Spesies : *Aphis gossypii*

Edde (2021) menyatakan kutu daun memiliki berbagai macam tanaman inang, di India kutu daun dilaporkan menyerang lebih dari 459 spesies dalam 275 genus tanaman. Kutu daun merupakan hama utama pada beberapa tanaman yang penting secara ekonomi. *A. gossypii* memiliki warna yang bervariasi dan berubah ubah sesuai dengan fluktuasi musim dan kondisi fisiologis tanaman inangnya. Kutu daub memiliki siklus hidup beriklim sedang dan dapat bereproduksi secara seksual dan aseksual. Telur *A gossypii* berbentuk oval dan panjangnya sekitar 0,6 mm. Telur berwarna kuning atau hijau saat pertama kali diletakkan, kemudian lama – kelamaan berubah menjadi hitam pekat. Nimfa yang baru menetas berukuran kurang dari 0,5 mm dan berwarna pucat menjadi kuning. Tubuhnya berbentuk seperti buah pir dan menunjukkan variasi warna dari kuning pucat hingga hijau sangat gelap atau hitam (Gambar 8).



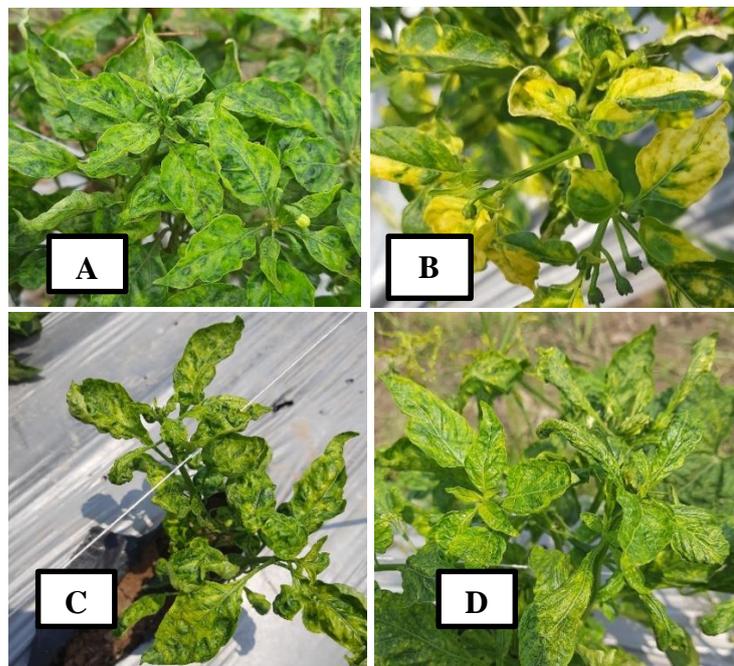
Gambar 8. Kutu daun *Aphis gossypii* pada daun cabai rawit (dokumentasi pribadi).

*A. gossypii* melewati empat tahap perkembangan sebelum menjadi dewasa. Pada tahap pertama nimfa memiliki empat dan lima segmen antena. Nimfa kedua dan ketiga memiliki kemiripan penampilan. Kemudian pada nimfa tahap keempat memiliki sayap yang terlihat jelas. Suhu yang optimum untuk perkembangan serangga ini ialah 25 – 30°C. Selama satu generasi (dari telur sampai dewasa) kutu daun membutuhkan waktu 4 – 10 hari (Edde, 2021).

Kutu daun merupakan vektor yang efektif dalam menularkan virus tanaman. Menurut Sari dkk. (2020) kutu daun mampu menularkan lebih dari 150 strain virus yang dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang besar, serta kehilangan hasilnya sebesar 16% – 78%. Umumnya semua *Potyvirus* ditularkan oleh kutu daun seperti *Potato virus Y* dengan cara nonpersisten (Dupuis *et al.*, 2017).

#### 2.4 Gejala Infeksi Virus pada Tanaman Cabai

Gejala penyakit virus pada populasi tanaman inang merupakan hasil interaksi antara virus, tanaman inang, dan lingkungan. Beberapa tanaman yang terinfeksi virus memiliki gejala seperti daun mosaik, klorosis, kerdil, keriting, dan daun muda menggulung (Gambar 9) (Mahfut dkk., 2016).



Gambar 9. Gejala virus pada tanaman cabai: (A) mosaik, (B) menguning, (C) kerdil, dan (D) daun muda menggulung ke bawah (dokumentasi pribadi).

Manusia mempunyai peran yang sangat penting dalam penyebaran penyakit virus dan vektornya. Manusia dapat mempengaruhi patogenisitas virus, kerentanan tanaman terhadap virus, vektor, dan lingkungan disekitar pertanaman. Manusia merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam penyebaran penyakit pada tumbuhan karena mempunyai mobilitas yang tinggi sehingga dalam waktu singkat dapat membawa tanaman sekaligus vektor dan penyakitnya ke tempat-tempat yang jauh dalam waktu yang relatif singkat, meskipun harus melalui barrier yang sangat keras.

### **2.5 Deteksi Virus dengan *Multiplex polymerase chain reaction***

Teknik *Polymerase chain reaction* (PCR) memanfaatkan kehadiran enzim Polymerase yang bersifat termostabil untuk mengamplifikasi molekul DNA secara *in vitro*. Teknik ini mampu memperbanyak segmen DNA tertentu yang telah ditandai oleh primer dalam jumlah ribuan hingga jutaan copy dalam waktu beberapa jam saja (Handoyo dan Rudiretna, 2000). Kehadiran teknologi PCR telah memberikan sumbangan besar bagi ilmu pengetahuan di berbagai bidang. Deteksi virus dengan PCR akan memberikan hasil yang akurat, cepat, dan sangat sensitif. Teknik PCR hanya memerlukan jumlah sampel yang sedikit, dan sampel dapat berupa bahan segar, sudah dikeringkan atau beku. Teknik PCR pada umumnya dapat mengatasi kendala pada pengujian virus secara serologi (Sulandari, 2006). Teknik PCR memungkinkan terjadinya proses pelipat gandaan suatu fragmen DNA. Umumnya primer yang digunakan pada PCR terdiri dari 18 – 30 basa (Sasmito dkk., 2014).

*Multiplex PCR* (mPCR) adalah salah satu aplikasi teknologi PCR yang memungkinkan amplifikasi secara simultan dari berbagai sekuen gen. Menurut Nazir *et al.* (2019) teknik mPCR pertama kali dijelaskan pada tahun 1988 oleh Chamberlain sebagai metode untuk mendeteksi delesi pada gen *dystrophin*. Pada tahun 2008 mPCR digunakan untuk analisis *mikrosatelit* dan SNP (*single nucleotide polymorphism*). *Multiplex PCR* berisi berbagai macam set primer dengan campuran reagen PCR tunggal untuk memproduksi amplicon dari

berbagai ukuran yang spesifik terhadap sekuens DNA yang berbeda. *Multiplex* PCR (mPCR) ini memiliki kelebihan antara lain dapat mendeteksi patogen dalam waktu bersamaan, sehingga dapat menghemat alat dan reagen yg digunakan. Teknologi ini biasanya dimanfaatkan untuk mendeteksi infeksi berbagai penyakit yg disebabkan oleh parasit, virus, jamur maupun bakteri (Aisah dkk., 2015). Menurut Varma and Singh (2020) mPCR telah digunakan untuk mendeteksi rmpat virus RNA yang menginfeksi apel, virus RNA dan DNA yang menginfeksi tanaman padi, dan pisang. *Multiplex* PCR telah banyak dilakukan untuk mendeteksi simultan Sembilan virus dan viroid berbeda yang menginfeksi tanaman, tetapi dalam mendeteksi dua sampai lima pathogen lebih besar efisiensinya. Oleh karena itu, mPCR telah muncul sebagai *system diagnostic* multipleks yang paling disukai (Pallas *et al.*, 2018).

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2023 – Agustus 2024. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung serta lahan cabai di Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat yang digunakan meliputi *Thermal cycler*, mesin elektroforesis, *UV Transiluminator*, mikropipet (100-1000  $\mu\text{L}$ , 10 -100  $\mu\text{L}$ , dan 0,5-10  $\mu\text{L}$ ), mortar dan *pestle*, timbangan digital, *sentrifuge*, *vortex mix*, inkubator, *Erlenmeyer* 100 mL, gelas ukur 20 mL, cetakan agar, *gel tray*, *combs*, *freezer*, oven, autoklaf, rak tube, tray semai, benih, meteran, sungkup kaca, cangkul, dan *smartphone*.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu daun tanaman cabai yang bergejala kuning, mosaik, klorosis, tabung *epENDORF* (0,2 mL dan 1,5 mL), *Genomic RNA Mini Kit (Plant; Geneaid)*, *Genomic DNA Mini Kit (Plant;Geneaid)*, *ethanol* 70%, *ethanol* 96%, *isopropanol*, 1x TE (Tris-EDTA) *buffer*, *Water for Injection* (WI), *blue tips* (100-1000  $\mu\text{L}$ ), *yellow tips* (10 -100  $\mu\text{L}$ ), *white tips* (0,5-10  $\mu\text{L}$ ), *MyTaqTM HS Red mix*, 2x (Bioline), empat pasang *primer* (Tabel 1), *agarose powder*, 1x TBE (TrisBorate-EDTA) *buffer*, EtBr (*ethidium bromide*), 100 bp *DNA ladder*, *DNA loading dye*, *aluminium foil*, amplop sampel, plastic sampel, plastik tahan panas, gelang karet, sarung tangan karet, tissue, benih, polybag, dan alat tulis.

Tabel 1. Urutan oligonukleotida *primer* deteksi dan identifikasi beberapa virus

Primer	Urutan Oligonukleotida	Produk PCR	Virus Sasaran
SPG1-F SPG2-R	5'-CCCCCKGTGCGWRAATCCAT-3' 5'-ATCCVAAYWTYCAGGGAGCTAA-3' (Kintasari dkk., 2013)	912 bp	<i>Begomovirus</i>
CMV-F CMV-R	5'ATGGACAAATCTGAATCAAC-3' 5'TCAAACCTGGGAGCACCC-3' (Miftakhurroh mah dkk., 2020)	650 bp	<i>Cucumber mosaik virus (CMV)</i>
TICV-F TICV-R	5' AATCGGTAGTGACACGAGTAGCATC '3 5' CTTCAAACATCCTCCATCTGCC -3' (Hartono dkk., 2008)	416 bp	<i>Tomato infection chlorosis virus</i>
MJ1-F MJ2-R	5'-ATGGTHTGGTGTGYATHGARAAAYGG-3 5'TGCTGCKGCYTTCAT-YTG-3' (Laili dan Damayanti, 2019).	320 bp	<i>Potyvirus</i>

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Eksplorasi tanaman cabai di lapangan

Eksplorasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapat sampel tanaman cabai yang terinfeksi virus dengan gejala serangan ringan sampai berat. Eksplorasi dilakukan di Kabupaten Lampung Selatan. Sampel yang diambil berupa tanaman cabai yang bergejala virus seperti, keriting, klorosis, mosaik, dan daun menekuk ke atas. Kemudian sampel daun yang telah diambil dimasukkan ke dalam amplop kertas dan diberi label lalu dibawa ke laboratorium untuk dideteksi kemudian diidentifikasi lebih lanjut.

#### 3.3.2 Deteksi molekuler beberapa virus pada tanaman cabai menggunakan

##### *Multiplex PCR*

##### 3.3.2.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA total dilakukan dengan tujuan untuk mengesktrak DNA virus. Pada tahapan ini dilakukan sesuai dengan protokol *Genomic DNA Mini Kit (plant)* dari Geneaid. Ekstraksi DNA total terdiri atas lima tahapan, sebagai berikut:

Langkah-langkah yang dilakukan untuk mendeteksi tanaman yang bergejala virus sebagai berikut:

a. Pemisahan Jaringan Tanaman (*Tissue dissociation*)

pada tahapan ini diambil 0.1 g jaringan tanaman (daun) tanaman sakit lalu digerus dengan bantuan mortal dan *pestle*.

b. Lisis (*lysis*)

Pada tahapan lisis daun yang telah digerus kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan ditambahkan 400  $\mu$ L GP1 *buffer* serta 5  $\mu$ L RNase A, kemudian *divortex* selama beberapa detik sampai homogen. Selanjutnya tabung yang berisi campuran tersebut diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 60°C selama 10 menit dibalik setiap 5 menit. Bersamaan dengan itu dimasukkan *elution buffer* (200  $\mu$ L per sampel) dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 60°C. Setelah tahap inkubasi selesai kemudian ditambahkan GP2 *buffer* pada larutan sampel sebanyak 100  $\mu$ L lalu *divortex* dan diinkubasi selama 3 menit dalam *freezer*. Setelah itu, diletakkan *Filter Column* dalam *collection tube* 2 mL dan dipindahkan hasil *mixture* dalam *filter column*. Kemudian disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 1.000 rpm, lalu *filter column* dibuang dan dipindahkan supernatannya dari *collection tube* 2 mL ke tabung eppendorf yang baru.

c. DNA *binding*

Pada tahapan DNA *binding* ditambahkan 1.5 volume GP *buffer* dari total volume yang didapat dalam tabung eppendorf 1.5 mL tersebut, kemudian *divortex* selama 5 detik. Diletakkan GD Column dalam *collection tube* 2 mL dan ditambahkan 700  $\mu$ L hasil *mixture* (larutan dan endapan) lalu dipindahkan dalam GD Column. Kemudian disentrifuge selama 3 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, kemudian dituang kembali supernatant dari *collection tube* 2 mL ke GD Column. Lalu disentrifuge kembali selama 3 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Setelah itu dipindahkan GD Column yang telah disentrifuge ke *collection tube* 2 mL.

d. Pencucian (*Wash*)

Kemudian supernatant dibuang dan ditambahkan 400  $\mu$ L WI *buffer* dalam GD Column lalu disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Setelah itu, GD Column dipindahkan ke *Collection tube* 2 mL dan ditambahkan 600  $\mu$ L

*Wash buffer* dalam GD Column. Selanjutnya disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Kemudian dipindahkan GD Column yang telah disentrifuge ke *collection tube* 2 mL dan disentrifuge kembali selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm dengan tujuan mengeringkan GD Column.

e. DNA *elution*

Dipindahkan GD Column ke tabung eppendorf 1.5 mL yang baru kemudian ditambahkan 100  $\mu$ L *pre-heated elution buffer* tepat di tengah – tengah GD Column. Setelah itu didiamkan selama 3 – 5 menit agar *elution buffer* terserap dengan baik. Selanjutnya di sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm yang bertujuan untuk memurnikan DNA. Setelah selesai GD Column dibuang dan tabung eppendorf 1.5 mL hasil ekstraksi disimpan dalam *freezer* pada suhu  $-39^{\circ}\text{C}$  sebelum digunakan.

### 3.3.2.2 Ekstraksi RNA

Ekstraksi RNA total dilakukan dengan tujuan untuk mengesktrak RNA virus. Pada tahapan ini dilakukan sesuai dengan protocol Genomic RNA Mini Kit (*plant*) dari Geneaid. Ekstraksi RNA total terdiri atas empat tahapan, sebagai berikut:

a. Pemisahan Jaringan Tanaman (*Tissue dissociation*)

Pada tahapan ini diambil 0.1 g jaringan tanaman (daun) tanaman sakit yang masih segar kemudian disimpan ke dalam mortal dan pestle yang dibungkus *aluminium foil* kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* selama 24 jam. Setelah 24 jam selanjutnya sampel digerus dengan bantuan mortal dan *pestle* dan ditambakan dengan nitrogen cair atau etanol 96%. Setelah sampel halus, sampel dimasukkan ke dalam *tube* mikrosentrifuge 1.5 mL dan ditambahkan 1 mL PVR *buffer*, 100  $\mu$ L PVRS *buffer*, dan 10  $\mu$ L  $\beta$ -mercaptoethanol. Kemudian diinkubasi pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit dan dibolak – balik setiap 3 menit sekali. Setelah itu, sampel di sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm.

#### b. RNA *binding*

Setelah di sentrifugasi diambil sebanyak 450  $\mu$ L supernatant yang terpisah kemudian dipindahkan ke dalam *tube* 1.5 mL yang baru dan ditambahkan 225  $\mu$ L etanol 96%. Selanjutnya hasil campuran tersebut dipindahkan ke PV kolom lalu disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Kemudian *flow-through* dibuang dan PV *column* ditempatkan pada *collection tube* 2 mL yang baru.

#### c. RNA *Wash*

Ditambahkan 400  $\mu$ L WI *buffer* setelah PV *Column* diletakkan pada *Collection Tube yang baru*. *buffer* diletakkan tepat di tengah PV *Column* kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Setelah disentrifugasi *Flow-through* dibuang dari PV *Column*, kemudian PV *Column* diletakkan kembali diatas *Collection Tube*. Selanjutnya ditambakan 600  $\mu$ L *Wash buffer* (pastikan tambahkan etanol) dan diletakkan pada bagian tengah PV *Column* dan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. *Flow-through* yang dihasilkan kembali dibuang dan PV *Column* diletakkan kembali di atas *Collection Tube*. Kemudian ditambahkan kembali sebanyak 600  $\mu$ L *Wash buffer* dan disentrifugasi kembali selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Lalu, *flow-through* dibuang dan PV *Column* diletakkan kembali di atas *Collection Tube*. *Tube* yang sudah kosong kemudian disentrifugasi kembali selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm untuk mengeringkan matriks *column*.

#### d. RNA *elution*

RNA *elution* merupakan tahap terakhir dalam ekstraksi RNA. Pada tahap ini diawali dengan diletakkannya PV *Column* yang sebelumnya telah dikeringkan dengan sentrifuge. PV *Column* diletakkan di atas tube 1.5 mL baru, kemudian dimasukkan 50  $\mu$ L RNase-free water tepat di tengah matriks *column* lalu didiamkan selama 3 menit atau sampai RNase terserap sempurna oleh matriks. Kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 14.000 rpm untuk mengelusi RNA yang dimurnikan. Hasil dari ekstraksi RNA total ini, nantinya akan digunakan sebagai *template* dalam reaksi *Reverse Transcription* (RT)

### 3.3.3 Amplifikasi cDNA dengan Teknik *Reverse Transcription* (RT)

Hasil ekstraksi RNA virus dari genus Potyvirus, CMV, dan TICV yang telah diperoleh kemudian dilanjutkan pada tahap amplifikasi complementary DNA (cDNA) dengan teknik *Reverse Transcription* (RT) yang mengacu pada protokol *Toyobo. ReverTra Ace- a*. Pada tahap ini terdiri dari pembuatan reaktan yang akan di amplifikasi dengan komposisi 2 mL RT *buffer*, 4,5 mL DEPC water, 0,5 mL dNTP, 0,5 RNAase, 0,5 Tetro RT, 0,5 Oligo (dt) dan 1,5 sampel ekstraksi RNA total (Tabel 2). Reaktan yang telah siap selanjutnya dijalankan dengan reaksi RT menggunakan beberapa tahapan, dimulai dari suhu 48° C selama 20 menit, 95° C selama 2 menit, dan 72° C selama 10 menit (Tabel 3). Reaksi ini berlangsung dalam satu siklus dan menghasilkan produk berupa cDNA.

Tabel 2. Komposisi *reagen cDNA Reverse Compliment*

Komponen	Volume ( $\mu$ L)
RT <i>buffer</i>	2,0
DEPC <i>buffer</i>	4,5
dNTP Mix	0,5
Oligo (dt)	0,5
RNA Template	1,5
RNAse	0,5
Tetro RT	0,5
<b>Total Volume</b>	10

Tabel 3. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi *Reverse Transcriptase*

Optimasi Suhu	Waktu	Siklus
48°C	3 menit	1x
95°C	1 menit	1x
72°C	30 detik	1x

### 3.3.4 Amplifikasi DNA dengan Teknik PCR

Amplifikasi DNA Virus dilakukan dengan teknik *Multiplex* PCR dengan menggunakan empat pasang primer (Tabel 4), yaitu SPG1/SPG2, MJ1/MJ2, TICV-CV/TICV-CR, dan CMV-F/CMV-R.

Tabel 4. Sekuen nukleotida primer yang digunakan dalam reaksi *Multiplex PCR*

Primer	Urutan Oligonukleotida	Produk PCR
SPG1-F	5'-CCCCCKGTGCGWRAATCCAT-3'	912 bp
SPG2-R	5'-ATCCVAAAYWTYCAGGGAGCTAA-3'	
CMV-F	5'ATGGACAAATCTGAATCAAC-3'	650 bp
CMV-R	5'TCAAACCTGGGAGCACCC-3'	
TICV-CF	5' AATCGGTAGTGACACGAGTAGCATC '3	416 bp
TICV-CR	5' CTTCAAACATCCTCCATCTGCC -3'	
MJ1-F	5'-ATGGTHTGGTGTGYATHGARAAAYGG-3	320 bp
MJ2-R	5'TGCTGCKGCYTTTCAT-YTG-3'	

Tabel 5. Komposisi reagen *Multiplex PCR*

Komponen	Volume ( $\mu$ L)
My/Taq <sup>TM</sup> HS Red Mix 2x	12,5
<i>Primer</i>	
SPG1-Forward	1
SPG2-Reverse	1
CMV-F	1
CMV-R	1
TICV-CF	1
TICV-CR	1
MJ1-Forward	1
MJ2-Reverse	1
DNA <i>Template</i>	5
<i>Water of Injection (WI)</i>	9,5
<b>Total Volume</b>	<b>35</b>

Tabel 6. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR

Tahapan Reaksi	Optimasi Suhu	Waktu	Siklus
Pradenaturasi	95°C	3 menit	1x
Denaturasi	95°C	1 menit	
<i>Anneling</i>	55°C	30 detik	40x
<i>Extension</i>	75°C	1 menit 30 detik	
<i>Final Extension</i>	72°C	10 menit	1x
Total Siklus		40 Siklus	

### 3.3.5 Visualisasi Fragmen DNA dengan Elektroforesis

Setelah melalui tahap amplifikasi selanjutnya produk PCR divisualisasi dengan mesin elektroforesis. DNA Hasil amplifikasi selanjutnya dianalisis dalam *agarose gel* 1% (dalam 1x TBE *buffer*) yang di dalamnya telah terkandung larutan penyangga 1  $\mu$ L EtBr (*Ethidium Bromide*, 10 mg/ mL). Sampel hasil PCR sebanyak 3  $\mu$ L dicampur dengan 1  $\mu$ L loading dye dengan bantuan mikropipet ukuran 0,5-10  $\mu$ L, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel (satu sampel/lubang). DNA ladder sebanyak 3  $\mu$ L yang digunakan untuk mengukur

DNA dimasukkan ke dalam lubang sumuran pertama. Kemudian dilanjutkan dengan sampel hasil PCR, selanjutnya dialiri arus listrik dengan tegangan 50 volt selama 50 menit. Setelah selesai, hasilnya dapat dilihat dengan bantuan UV *Transiluminator*.

### **3.3.6 Sekuensing DNA**

Data hasil dari mPCR yang telah diperoleh dikirim melalui jasa PT. Genetika Science Jakarta untuk dilakukan peruntan basa nukleotida (sekuensing). Kemudian basa nukleotida yang sudah berurutan akan dianalisis menggunakan *software* DNA Baser dan dan BioEdit. Selanjutnya dicari sekuen – sekuen virus yang homolog dengan menggunakan fitur *online software* BLAST. Setelah dicari dilanjutkan dengan menganalisis filogenetika dengan menggunakan *software Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v11* untuk menentukan kekerabatan antara virus yang satu dengan virus lain yang diperoleh.

### **3.3.7 Analisis Data**

Data hasil sekuensing dikonfirmasi ke *GenBank* dengan program *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* di *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* untuk dipilih beberapa isolat yang memiliki kekerabatan yang tinggi dengan sekuen sampel uji. Sekuen sampel uji dan beberapa sekuen yang dipilih melalui NCBI disejajarkan menggunakan *Clustal W multiple alignment* MEGA v11. Analisis filogenetika dilakukan dengan menggunakan MEGA v11 untuk menggambarkan hubungan kekerabatan yang menginfeksi cabai rawit dengan beberapa sekuen yang telah dipilih yang diperoleh melalui GenBank (NCBI). Selanjutnya, dengan menggunakan metode bootstrap-1000 kali dianalisis lagi terkait hubungan kekerabatan antar cabang (Tamura *et al.*, 2013).

### **3.3.8 Penyiapan tanaman uji patogenesis**

Tanaman uji yang digunakan terdiri atas cabai rawit varietas Dewata 43 F1. Ditanam benih cabai rawit disemai dalam tray semai yang berisi 1 benih setiap

lubangnya. Kemudian ketika sudah berumur  $\pm$  4 minggu atau sampai ju mLah daun 3-5 helai baru bibit dapat dipindah tanam ke polybag yang berisi media tanaman berupa tanah dan sekam padi dengan perbandingan 2: 1 dan masing-masing polybag berisi 1 tanaman. Kemudian tanaman uji dimasukkan ke dalam sungkup agar aman dari serangan hama dan disiram setiap 2 kali sehari pada pagi dan sore hari.

### **3.3.9 Inokulasi dengan cara mekanik**

Tanaman yang telah dideteksi dengan PCR dan menunjukkan hasil yang positif selanjutnya dikonfirmasi dengan teknik penularan virus (inokulasi). Inokulasi secara mekanik dilakukan dengan cara menurut Taufik dkk. (2014) yang sudah dimodifikasi. Pertama disiapkan cairan sap yang terdiri atas 1 g daun tanaman cabai bergejala, 5 mL *buffer fosfat*, dan 0,1 g zeolite. Tahapan inokulasi yaitu digerus tanaman yang bergejala virus yang sudah ditambahkan *buffer fosfat*. Setelah halus hasil ekstraksi disaring cairan sap dengan kain kasa steril. Kemudian ditambahkan 0,1 g zeolit dalam cairan sap. Setelah itu diaplikasikan ke tanaman dengan *cotton bud* pada 2 helai daun sampai merata. Kemudian didiamkan 2 menit dan dibersihkan sisa – sisa zeolit yang menempel pada daun dengan aquades. Setelah itu tanaman diinkubasi selama 1 minggu.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka simpulan yang dapat diambil sebagai berikut:

1. Berdasarkan hasil *multiplex* PCR menggunakan empat pasang *primer* yaitu TICV-CF/TICV-CR, MJ1/MJ2, SPG1/SPG2, dan CMV-F/CMV-R. Dua *primer* menunjukkan hasil positif keberadaan virus pada tanaman cabai rawit, yaitu *primer* SPG1/SPG2 terdeteksi *Begomovirus* dengan pita DNA  $\pm 912$ bp gen AC1/AC2 dan *primer* MJ1/MJ2 terdeteksi *Potyvirus* dengan pita DNA  $\pm 320$ bp gen *Coat Protein* (cp),
2. Berdasarkan hasil yang didapat diketahui bahwa spesies yang menginfeksi virus pada tanaman cabai rawit, yaitu *Pepper yellow leaf curl virus* dan *Potato virus Y*. Berdasarkan nilai homologi *Begomovirus* isolat Lampung Selatan dengan *Pepper yellow leaf curl virus* isolat Kertha memiliki kekerabatan yang dekat dengan kemiripan genetik 93%. Berdasarkan nilai homologi diperoleh bahwa *Potyvirus* isolat Lampung Selatan dengan *Potato virus Y* isolat Ukraina merupakan virus yang sama dan strain yang sama karena memiliki kemiripan genetik 100%

### 5.2 Saran

Saran bagi peneliti selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengidentifikasi virus lain yang menyerang tanaman cabai rawit menggunakan beberapa *primer* universal lain seperti untuk, *Tobamovirus*, *Crinivirus*, dan *Cucumovirus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M. J., Zerbini, F. M., French, R., Rebenstein, F. F., Stenger, D. C., and Valkonen, J. P. T. 2012. “*Family potyviridae*” in *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press. San Diego.
- Adiyanto. 2021. Cabe. <https://tanahkaya.com/cabe/>. Di akses pada 05 Desember 2023 pukul 11.00 WIB.
- Agromedia. 2007. *Budidaya Cabai Hibrida*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 58 hal.
- 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.
- Akin, H. M. 2021. *Virologi Tumbuhan Edisi 2*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Alcaide, C., Rabadan, M. P., Perez, M. G. M., and Gomez, P. 2020. Implications of mixed viral infections on plant disease ecology and evolution. *Advance in Virus Research*. 106.
- Annisaa, N. W., Hidayat, P., Giyanto, Hidayat, S. H., and Lee. S. 2021. Multiple infection of *Begomovirus* on its host plants. *International e-Conference on Sustainable Agriculture and Farming System*. 694(1).
- Arifin, I. 2010, Pengaruh cara dan lama penyimpanan terhadap mutu cabai rawit (*Capsicum frutescens* L var. Cengek). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Aryartha, I. K., Phabiola, T. A., dan Wiryana, G. N. A. S. 2022. Tingkat kerentanan berbagai umur tanaman melon (*Cucumis melo* L.) terhadap infeksi *Potyvirus*. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 11(2):133-144.
- Aulia, E., Sutrawati, M., dan Pamekas, T. 2022. Deteksi molekuler dan analisis genetik *Begomovirus* pada tanaman cabai di desa Pematang Donok. *Jurnal Ilmu – Ilmu Pertanian Indonesia*. 24(2):69-74.

- Bahrhun dan Rohansyah. 2020. Produksi dan keuntungan hasil tanaman cabai (*Capsicum* sp.) di desa Pulantan kecamatan Awayan kabupaten Balangan provinsi Kalimantan Selatan. *Ziraa'ah Majalah Ilmiah Pertanian*. 45(2): 178 – 184.
- Bandoo, R. A., Kraberger, S., and Varsani, A. 2024. Two novel geminiviruses identified in bees (*Apis mellifera* and *Nomia* sp.). *Viruses*. 16: 1-14.
- Bornancini, V. A., Irazoqui, J. M., Flores, C. R., Vaghi Medina, C. G., Amadio, A. F., and López Lambertini, P. M. 2020. Reconstruction and characterization of full-length *Begomovirus* and alphasatellite genomes infecting pepper through metagenomics. *Viruses*. 12: 1–20.
- Brown, J. K., Idris, A. M., Torrs-Jerez, I., Banks, G. K., and Wyatt, S. D. 2001. The core region of the coat protein gene is highly useful for establishing the provisional identification and classification of Begomoviruses. *Archives of Virology*. 146: 1581–1598.
- Cano, E. G., Resende, R. O., Munoz, R. F., and Moriones, E. 2006. Synergistic interaction between *Tomato chlorosis virus* and *Tomato spotted wilt virus* results in breakdown of resistance in tomato. *Phytopathology*. 96(11).
- Carter, M., Essner, R., Goldstein, N., and Iyer, M. 2022. *Guide to Research Techniques in Neuroscience (Third Edition)*. Academic Press. United States.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York. 1262 Hlm.
- Cuthbertson, A. G. S. 2015. Update on the status of *Bemisia tabaci* in the UK and the use of entomopathogenic fungi within eradication programmes. *Insect*. 4: 1985 – 205.
- Djarwaningsih, T. 2005. *Capsicum* spp. (cabai): asal, persebaran dan nilai ekonomi. *Biodiversitas*. 6(4): 292-296.
- Dupuis, B., Cadby, J., Goy, G., Tallant, M., Derron, J., Schwaerzel, R., and Steinger, T. 2017. Control of *Potato virus Y* (PVY) in seed potatoes by oil spraying, straw mulching and intercropping. *Plant Pathology*. 66.
- Edde, P. 2021. *Field Crop Arthropod Pests of Economic Importance*. Academic Press. United States.
- Fattouh, F. A. 2003. Double infection of a cucurbit host by *Zucchini yellow mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus*. *Pakistan Journal of Plant Pathology*. 2(2): 85-90.
- 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 isolat descriptors. *Archives of Virology*. 150: 2151–2179.
- Fauquet, C. M., Briddon, R. W., Brown, J. K., Moriones, E., Stanley, J., and Zhou, X. 2008. *Geminivirus* strain demarcation and nomenclature. *Arch Virol*. 153:783-821.

- 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). pp. 20-23.
- Fauzi, D. R. 2018. Karakter morfologi kandungan capsaicin dan profil gen kasi cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) G1 kontrol dan mutan G1M1. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Febria, D., Safitri, B., Prajaka, N. W., Yeni, Kartina, R., dan Putra, S. U. 2023. Karakteristik gejala dan tingkat kejadian penyakit kuning keriting tanaman cabai (*Capsicum* sp.) dalam budidaya sistem organik. *Jurnal of Horticulture Production Technology*. 1(2): 95-101.
- Fitriasari, E. D. 2010. Keefektifan kutu kebul dalam menularkan virus penyebab penyakit kuning pada tanaman tomat. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Gadhawe, K. R., Dutta, B., Coolong, T., and Srinivasan, R. 2019. A non-persistent aphid-transmitted *Potyvirus* differentially alters the vector and non-vector biology through host plant quality manipulation. *Scientific Reports*. 9.
- Gautam, A. K. and Kumar, S. 2020. *Techniques for the Detection, Identification, and Diagnosis of Agricultura; Pathogens and Diseases*. Academic Press. US.
- Gonzalves, D. and Garnsey, S. M. 1989. Cross protection on technique for control of plant virus disease in tropic. *Plant Disease Rep*. pp. 529-597.
- Hamdayanty dan Hardina, N. 2023. Identifikasi virus penyebab penyakit kuning keriting pada cabai di kabupaten Gowa, Sulawesi selatan. *Jurnal Agrikultura*. 34(3): 427-434.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2000. Prinsip umum dan pelaksanaan *polymerase chain reaction* (PCR). *Jurnal Unitas*. 9(1): 1729.
- Harpenas, A. dan Dermawan, R. 2010. *Budidaya Cabai Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hartono, S. 2008. Molecular identification of *Begomovirus* causing *Yellow leaf curl disease* on tomato plants in central java. *Journal of Acta Agrosia*. 11:69 – 74.
- Hasan, A., Taufik, M., Gusnawaty, H. S., dan Sarawa. 2014. Uji kisaran inang *Potyvirus* penyebab mosaik nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) asal Sulawesi Tenggara. *Jurnal Agroteknos*. 4(3).
- Hasyim, A., Setiawati, W., dan Liferdi. 2016. *Iptek Hortikultura*. Pusat penelitian dan pengembangan hortikultura.
- Kalshoven, L. G. E. 1981. *The Pests Of Crops In Indonesia*. Ichtiar Baru - Van Hoeve. Jakarta.
- Kintasari, T., Septariani, D. W. N., Sulandri, S., dan Hidayat, S. H. 2013. *Tomato yellow leaf curl* kanchanaburi virus penyebab penyakit mosaik kuning pada tanaman terung di jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 9(4): 127- 131.
- Laili, N. U. dan Damayanti, T. A. 2019. Deteksi virus pada tanaman mentimun di jawa barat. *Agrovigor*. 12(1): 8 – 15.

- Li, R., Salih, S., and Hurtt, S. 2004. Detection of Geminiviruses in sweetpotato by polymerase chain reaction. *Plant Disease*. 88: 1347–1351.
- Mahardika, K, A. W. dan Yuliarni, N. N. 2018. Pengaruh jumlah penduduk, produksi, pdb, dan kurs dollar Amerika Serikat terhadap impor cabai Indonesia. *E-Jurnal Ekonomi Pembangunan Universitas Udayana*. 7(2) : 502 – 530.
- Mahfut, Daryono, B. S., Joko, T., dan Somowiyarjo, S. 2016. Survei *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV) yang menginfeksi angrek alam tropis di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 20(1): 1-6.
- Manzila, I., Hidayat, S. H., Mariska, I., dan Sujiprihati, S. 2011. Virulensi empat isolat *Chili veinal mottle Potyvirus* pada tanaman cabai *Capsicum annum* L. *J. HPT Tropika*, 11(2).
- Marianah, L. 2020. Serangga vektor dan intensitas penyakit virus pada tanaman cabai merah. *AgriHumanis: Journal of Agriculture and Human Resource Development Studies*. 1(2): 127-134.
- Marie-Jeanne, V., R., Loos, J., Peyre, B., Alliot, P., and Signoret. 2000. Differentiation of poaceae potyviruses by reverse transcription-polymerase chain reaction and restriction analysis. *Jurnal Phytopathol*. 148: 141–151.
- Miftakhurrohmah, Suastika, G., dan Damayanti, T. A. 2013. Deteksi secara serologi dan molekuler beberapa jenis virus yang berasosiasi dengan penyakit mosaik tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Jurnal Littri*. 19(3):130-138.
- Milonas, P. G., Anastasaki, E., Psoma, A., Partsinevelos, G., Fragkopoulos, G. N., Kektsidou, O., Vassilakos, N., and Kapranas, A. 2023. Plant viruses induce plant volatiles that are detected by aphid parasitoids. *Scientific Reports*. 12.
- Moury, B. and Verdin, E. 2012. *Viruses of Pepper Crops in the Mediterranean basin: A remarkable statis*. Elsevier. USA.
- Muimba-Kankolongo, A. 2018. *Root and Tuber Crops. Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa*. 123–172.doi:10.1016/b978-0-12-814383-4.00009-8.
- Naully, P. G. dan Sepriliyana, R. N. 2022. Pemanfaatan *Multiplex nested polymerase chain reaction* untuk deteksi patogen penyebab infeksi kongenital. *Jurnal Kesehatan Vokasional*. 7(1): 51-60.
- Nazir, R., Rehman, S., Nisa, M., and Baba, U. A. 2019. *Freshwater Microbiology*. Academic Press. India.
- Pallas, V., Navarro, J. A. S., and James, D. 2018. Recent advances on the *Multiplex* molecular detection of plant viruses and viroids. *Frontiers in Microbiology*. 9.
- Prajnanta, F. 2007. *Agribisnis Cabai Hibrida*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Quenouille, J., Vassilakos, N., and Moury, B. 2013. *Potato virus Y*: a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity. *Molecular Plant Pathology*. 14(5).

- Revers, F. and Garcia, J. A. 2015. Molecular Biology of Potyviruses. *Advance in virus research*. 101- 199.
- Revill, P. A., Ha, C. V., Porchun, S. C., Vu, M. T. and Dale, J. L. 2003. The complete nucleotide sequence of two distinct Geminiviruses infecting cucurbits in Vietnam. *Archives of Virology*. 148: 1523–1541.
- Saleh, N. dan Rahayuningsih, S. A. 2014. Penyakit virus tanaman ubijalar dan upaya pengendaliannya. *Buletin Palawija*. 27:15 – 25.
- Sari, A. P., Suliansyah, I., Nelly, N., dan Hamid, H. 2020. Identifikasi hama kutudaun (Hemiptera: Aphididae) pada tanaman jagung hibrida (*Zea mays* L.) di kabupaten Solok Sumatera Barat. *Jurnal Sains Agro*. 5(2).
- Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., dan Muhimmah, I. 2014. Karakteristik primer pada *polymerase chain reaction* (PCR) untuk sekuensing DNA: mini review. *Seminar Nasional Informatika (SNIMed)*. Universitas Islam Indonesia.
- Selangga, S. G. W., Listihani, L., Temaja, I. G. R. M., Wirya, G. N. A. S., Sudiarta, I. P., dan Yuliadhi, K. A. 2023. Determinants of symptom variation of *Pepper yellow leaf curl* Indonesia virus in bell pepper and its spread by *Bemisia tabaci*. *Biodiversitas*. 24(2):869-877.
- Septariani, D. N., Hidayat, S. H., dan Nurhayati, E. 2014. Identifikasi penyebab penyakit daun keriting kuning pada tanaman mentimun. *Jurnal HPT Tropika*. 14(1): 80 -86.
- Septiadi, D., Sari, N. M. W., dan Zainuddin, A. 2020. Analisis permintaan konsumsi cabai rawit pada rumah tangga di kota Mataram. *Agrimor*. 5(2):36-39.
- Setiawati, W. Udiarto, B. K., dan Muharam, A. 2005. *Pengenalan dan Pengendalian Hama – Hama Penting pada Tanaman Cabai Merah*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung: Lembang.
- Subekti, D., Hidayat, S. H., Nurhayati, E., dan Sujiprihati, S. 2006. Infeksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman cabai. *Hayati*. 13(2): 53-57.
- Suharto. 2007. *Pengenalan dan Pengendalian Hama Tanaman Pangan*. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 120 halaman.
- 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.
- Sutrawati, M., Djamilah, and Kinata, A. 2012. Infeksi *Cucumber mosaic virus* dan *Chilli veinal mottle virus* pada cabai di kabupaten Rejang Lebong, Bengkulu. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(4): 110-115.
- Sutriyono, Lubis, A. F., Handayani, T., Paulina, A., Yusniar, dan Rahayu, S. 2023. Pendampingan cara penanggulangan hama tanaman penyebab virus kuning pada cabai merah (*Capsicum annum* l.) di desa bunut seberang kecamatan Pulo Bandring kabupaten Asahan. *Prosiding Seminar Nasional Multidisiplin Ilmu Universitas Asahan*. 1:907-915.

- Syller, J. 2012. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology*. 13(2):204–216.
- Tallei, T. E., Rembet, R. E., Pelealu, J. J., and Kolondam, B. J. 2016. Sequence variation and phylogenetic analysis of *Sansevieria trifasciata* (Asparagaceae). *Bioscience Research*. 13(1).
- Tamura, K., Glen, S., Danuel, P., Alan, F., and Sudhir, K. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*. 30(12): 2725-2729.
- Tarigan dan Wiryanta. 2004. *Bertanam Cabai Hibrida secara Intensif*. PT Agromedia Pustaka. 70 hal.
- Tollin, S. A. 2008. Tobacco Viruses. Elsevier. USA.
- Taufik, M., Sarawa, Hasan, A., dan Amelia, K. 2013. Analisis pengaruh suhu dan kelembapan terhadap perkembangan penyakit *Tobacco mosaic virus* pada tanaman cabai. *Jurnal Agroteknos*. 3(2): 94-100.
- Tennant, P., Fermin, G., dan Foster, J. E. 2018. *Molecular Biology, Host Interactions and Applications to Biotechnology*. Elsevier: Academic Press. US.
- Trisno, J., Jamsari, dan Hidayat, S. H. 2021. Infeksi ganda *Pepper yellow leaf curl virus* dan *Chilli veinal mottle virus* dalam menimbulkan penyakit daun kuning keriting cabai. *Journal of Plant Protection*. 5(2):77-88.
- Tuhumury, G. N. C. dan Amanupunyo, H. R. D. 2013. Kerusakan tanaman cabai akibat penyakit virus di desa Waimital kecamatan Kairatu. *Agrologia*. 2(1): 36-42.
- Varma, A and Singh, M. K. 2020. *Applied Plant Virology: Chapter 6-Diagnosis of plant virus diseases*. Academic Press. India.
- Vivaldy, L. A., Ratulangi, M. M., dan Manengkey, G. S. J. 2017. Insidensi penyakit virus pada tanaman cabai rawit (*Capsicum anuum*) di desa Kakaskasen ii kecamatan Tomohon Utara kota Tomohon. *Cocos*. 1(6): 1-8.
- Wyant, P. S., Gotthardt, D., Schafer, B., Krenz, B., and Jeske, H. 2011. The genomes of four novel Begomoviruses and a new *Sida micrantha mosaic virus* strain from Blovian weeds. *Archives of Virology*. 156(2).