

## SELEKSI METODE MOLEKULER UNTUK DETEKSI *Mungbean yellow mosaic India virus* PADA TANAMAN KACANG PANJANG

Adenisa Hanifah Irbati

22/510265/PPN/05005

### Intisari

*Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV) merupakan patogen yang menyebabkan kerugian pada tanaman kacang panjang. Deteksi MYMIV dapat dilakukan secara molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kualitas hasil PCR dapat dipengaruhi oleh template DNA yang digunakan. Perlu diketahui kualitas dan kuantitasnya guna menambahkan informasi tentang template DNA hasil metode molekuler yang terbaik yang dapat digunakan dalam deteksi MYMIV menggunakan PCR. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ketiga metode yang menghasilkan konsentrasi DNA yang paling baik dalam proses PCR sehingga efektif serta efisien mendeteksi MYMIV. Metode molekuler pada penelitian ini adalah ekstraksi menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Plant) Geneaid, CTAB, serta Rolling Circle Amplification (RCA). Tahapan yang dilakukan terdiri dari deteksi MYMIV pada tanaman kacang panjang di Kabupaten Bantul, Jepara, dan Sleman; ekstraksi menggunakan Kit (Plant) Geneaid dan CTAB; RCA; pengenceran template DNA; pengukuran konsentrasi DNA menggunakan nanodrop; PCR; serta perbandingan kualitas dan kuantitas pengenceran DNA. Amplifikasi PCR pada tahapan deteksi MYMIV menggunakan primer SPG 1/2 serta menggunakan primer spesifik AC2. Variasi pengenceran DNA adalah 10%; 5%; 1%; 0,5%; dan 0,2%. Berdasarkan hasil analisis filogeni dan persentase identitas MYMIV ketiga kabupaten memiliki kedekatan homologi dengan isolate tanaman kacang panjang di Kabupaten Brebes dengan nomor aksesori JN368436. Isolate MYMIV Kabupaten Bantul juga memiliki kedekatan homologi dengan isolate MYMIV pada tanaman kacang panjang di Kabupaten Purwakarta dengan nomor aksesori JN368434. Berdasarkan hasil pengamatan optimasi pengenceran diketahui bahwa metode ekstraksi kit, CTAB, serta RCA dari hasil ekstraksi kit band yang dihasilkan masih terlihat hingga pengenceran 0,5%, sementara itu RCA dari hasil ekstraksi CTAB band yang dihasilkan masih terlihat sangat tebal hingga pengenceran 0,2%. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa ketiga metode dapat digunakan untuk deteksi MYMIV. Metode CTAB menjadi pilihan terbaik dari segi ekonominya yaitu berkisar Rp 5.055,00/reaksi, meskipun terkadang hasil kemurnian yang dihasilkan kurang bagus, namun konsentrasi yang dihasilkan tinggi yaitu berkisar 325,33-1290 ng/ $\mu$ L.

**Kata Kunci** : CTAB, ekstraksi DNA, konsentrasi DNA, nanodrop, PCR

## **SELECTION OF MOLECULAR METHODS FOR DETECTION *Mungbean yellow mosaic India virus* DETECTION in YARDLONG BEAN**

**Adenisa Hanifah Irbati**

**22/510265/PPN/05005**

### **Abstract**

*Mungbean yellow mosaic India virus* (MYMIV) is a pathogen causes damage to yardlong bean. Molecular detection of MYMIV can be achieved through *Polymerase Chain Reaction* (PCR) techniques. PCR result quality can be affected by DNA template. It is necessary to determine the quality and quantity to provide information, which DNA template obtained from the most effective molecular method can be used for the detection of MYMIV using PCR. The purpose of this study is to compare the three methods produce optimal DNA concentration for PCR effective and efficient PCR for detection MYMIV. The molecular method implemented in this research is extraction using Genomic DNA Mini Kit (Plant) Geneaid, CTAB, and Rolling Circle Amplification (RCA). The steps carried out consist of detection MYMIV in yardlang bean in Bantul Region, Jepara Region, and Sleman Region; DNA extraction using Kit (Plant) Geneaid dan CTAB; RCA; DNA template dilution; measurement of DNA concentration using nanodrop; PCR; and quality and quantity measurement of DNA dilution. PCR amplification in the MYMIV detection step using SPG 1/2 primer and using AC2 primer. DNA dilution carried out with variations 10%; 5%; 1%; 0,5%; and 0,2%. Based on phylogenetic and percentage similarity analyses, MYMIV isolates in the three region have homology similarity with isolate from Brebes Region in yardlong bean with accession number JN368436. Based on the results of dilution optimisation observations, it was found that the bands from kit, CTAB, and RCA methods, were still visible up to a dilution of 0,5%, meanwhile on RCA from CTAB extraction, a strong band was still observable at dilution of 0,2%. Isolate MYMIV from Bantul Region have homology similarity with isolate from Purwakarta Region in yardlong bean with accession number JN368434. Based on this research, it can be concluded that three methods can be used for the detection MYMIV. CTAB method can be considered the best option in term of economics, with a cost about Rp 5.055,00/reaction, even though the purity was relatively low, the DNA concentration was high, ranging from 325,33-1290 ng/ $\mu$ L.

**Keywords** : CTAB, DNA concentration, DNA extraction, nanodrop, PCR