

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
Intisari	xii
Abstract.....	xiii
I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan.....	5
1.3. Tujuan penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.5. Keaslian Penelitian.....	6
II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	
2.1. Tinjauan Pustaka	
2.1.1. Tanaman Tomat.....	7
2.1.2. Penyakit Kuning pada Tomat.....	8
A. Tomato infectious chlorosis virus (TICV).....	8
B. Tomato chlorosis virus (ToCV).....	11
C. <i>Begomovirus</i>	14
2.1.3. Arti Penting Penyakit Kuning pada Tomat.....	16
2.1.4. Isolasi Asam Nukleat.....	17
2.1.5. Deteksi Molekuler.....	22
2.2. Landasan Teori.....	24
2.3. Hipotesis.....	25
III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.2. Alat dan Bahan	26



3.3. Prosedur Penelitian.....	26
3.3.1. Pengumpulan sampel isolat virus.....	26
3.3.2. Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.3.2.1. Ekstraksi RNA Asal Tanaman.....	27
3.3.2.1.1. RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Jerman).....	27
3.3.2.1.2. dsRNA secara sederhana.....	27
3.3.2.1.3. <i>Simple direct tube</i> (SDT).....	29
3.3.2.2. Ekstraksi RNA Asal Serangga.....	29
3.3.2.3. Ekstraksi DNA Asal Tanaman.....	30
3.3.2.4. Ekstraksi DNA Asal Serangga.....	31
3.3.2.5. Kuantifikasi DNA/RNA.....	31
3.3.2.6. Sintesis cDNA.....	32
3.3.2.7. <i>Single</i> RT-PCR untuk TICV dan ToCV serta PCR untuk <i>Begomovirus</i>	32
3.3.2.8. <i>Multiplex</i> RT-PCR TICV, ToCV dan <i>Begomovirus</i>	33
3.3.2.9. Visualisasi hasil amplifikasi RT-PCR dan PCR	35
3.3.2.10. Analisa sekuen nukleotida.....	36
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Survei lapangan.....	37
4.2. Deteksi Molekuler <i>Crinivirus</i>	41
4.2.1. Kuantifikasi hasil ekstraksi RNA.....	41
4.2.2. Amplifikasi RNA virus tanaman dengan RT-PCR.....	43
4.2.3. Perbandingan Metode SDT, dsRNA secara sederhana dan Kit.....	45
4.3. Deteksi Molekuler <i>Begomovirus</i>	47
4.3.1. Ekstraksi DNA.....	47
4.3.2. Kuantifikasi hasil ekstraksi DNA.....	48
4.3.3. PCR.....	49
4.4. <i>Multiplex</i> RT-PCR.....	49
4.5 Analisa sekuen DNA.....	51
4.6. Serangga vektor.....	65
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	69
DAFTAR PUSTAKA.....	71
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Genom TICV (HSP70h : heat shock protein 70 homolog; CP: coat protein; CPm: minor coat protein).....	8
Gambar 2.2.	Genom ToCV (CP, coat protein; CPm, minor coat protein; HSP70h, Heat shock protein 70 homolog; Hel, Helicase; MT, Methyl transferase; Pro, Proteinase, RdRp, RNA dependent RNA polymerase).....	12
Gambar 4.1.	Gejala penyakit kuning di lapangan.....	36
Gambar 4.2.	Visualisasi hasil <i>single</i> RT-PCR untuk TICV pada gel agarosa 1% dalam TBE 1X.....	44
Gambar 4.3.	Visualisasi hasil <i>single</i> RT-PCR untuk ToCV pada gel agarosa 1% dalam TBE 1X.....	44
Gambar 4.4.	Visualisasi hasil <i>single</i> PCR untuk <i>Begomovirus</i> pada tomat pada gel agarosa 1% dalam TBE 1X.....	49
Gambar 4.5.	Visualisasi hasil <i>multiplex</i> RT-PCR TICV ,ToCV dan <i>Begomovirus</i> pada gel agarosa 1% dalam TBE 1X	50
Gambar 4.6.	Penyejajaran runutan nukelotida TICV isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	53
Gambar 4.7.	Penyejajaran runutan asam amino TICV isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	54
Gambar 4.8.	Pohon filogenetik spesies TICV isolat Ketep, Kopeng dan Bogor dengan isolat yang ada di <i>Database Genebank</i> NCBI..	55
Gambar 4.9.	Penyejajaran runutan nukelotida ToCV isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	56
Gambar 4.10.	Penyejajaran runutan asam amino ToCV isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	57
Gambar 4.11.	Pohon filogenetik spesies ToCV isolat Ketep, Kopeng dan Bogor dengan isolat yang ada di <i>Database Genebank</i> NCBI..	59
Gambar 4.12.	Penyejajaran runutan nukelotida ToLCNDV isolat Bogor, Ketep dan Kopeng dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	60
Gambar 4.13.	Penyejajaran runutan asam amino ToLCV isolat Bogor, Ketep dan Kopeng dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	61
Gambar 4.14.	Pohon filogenetik spesies ToLCNDV isolat Ketep, Kopeng dan Bogor dengan isolat yang ada di <i>Database Genebank</i> NCBI.....	62



Gambar 4.15.	Penyejajaran runutan nukleotida PepYLCIV isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	64
Gambar 4.16.	Penyejajaran runutan asam amino PepYLCIV, isolat Bogor, Kopeng dan Ketep dengan isolat-isolat yang ada di <i>genebank database</i> NCBI.....	64
Gambar 4.17.	Pohon filogenetik spesies PepYLCIV isolat Bogor, Ketep dan Kopeng dengan isolat yang ada di <i>Database Genebank</i> NCBI.....	65
Gambar 4.18	Visualisasi hasil single RT-PCR dan PCR serta duplex RT-PCR dan RT-PCR <i>Begomovirus</i> dan <i>Crinivirus</i> asal seangga pada gel agargosa 1% dalam TBE 1X	67

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Kisaran inang TICV	11
Tabel 2.2.	Kisaran inang ToCV	14
Tabel 3.1.	Komposisi reaktan untuk reaksi sintesis cDNA.....	32
Tabel 3.2	Sekuen primer untk amplifikasi TICV, ToCV dan <i>Begomovirus</i>	32
Tabel 3.3.	Program <i>single</i> PCR untuk amplifikasi TICV, ToCV dan <i>Begomovirus</i>	33
Tabel 3.4.	Komposisi reaktan untuk <i>multiplex</i> RT-PCR.....	34
Tabel 3.5.	Program <i>multiplex</i> RT-PCR untuk amplifikasi TICV, ToCV dan <i>Begomovirus</i>	34
Tabel 3.6 .	Komposisi reaktan <i>multiplex</i> RT-PCR untuk deteksi TICV dan ToCV secara simultan dari sampel serangga <i>T. vaporariorum</i>	34
Tabel 3.7.	Komposisi reaktan <i>multiplex</i> RT-PCR untuk deteksi ToCV dan <i>Begomovirus</i> secara simultan dari sampel serangga <i>B. Tabaci</i>	35
Tabel 3.8.	Program <i>multiplex</i> RT-PCR untuk amplifikasi TICV dan ToCV serta ToCV dan <i>Begomovirus</i>	35
Tabel 4.1.	Nilai kemurnian dan konsentrasi RNA hasil pengukuran dengan nano drop spektrofotometer.....	42
Tabel 4.2.	Perbandingan metode ekstraksi SDT, dsRNA secara sederhana dan Kit komersial berdasarkan komposisi buffer, waktu pelaksanaan, tingkat kerumitan dan perkiraan biaya bahan tiap sampel	46
Tabel 4.3.	Nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil pengukuran dengan nano drop spektrofotometer	48
Tabel 4.4.	Persentase kesamaan basa nuklotida TICV isolat Ketep, Kopeng dan Bogor dengan isolat TICV yang telah dipublikasikan di <i>Database</i> NCBI.....	54
Tabel 4.5.	Persentase kesamaan basa nuklotida ToCV isolat Ketep, Kopeng dan Bogor dengan isolat TICV yang telah dipublikasikan di <i>Database</i> NCBI.....	58
Tabel 4.6.	Persentase kesamaan basa nuklotida ToLCNDV isolat Bogor, dengan isolat ToLCNDV yang telah dipublikasikan di <i>Database</i> NCBI.....	62
Tabel 4.7.	Persentase kesamaan basa nuklotida PepYLCIV isolat, Kopeng dan Ketep dengan isolat PepYLCIV yang telah dipublikasikan di <i>Database</i> NCBI.....	65



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

METODE MULTIPLEX RT-PCR UNTUK DETEKSI SIMULTAN CRINIVIRUS DAN BEGOMOVIRUS PADA TANAMAN TOMAT

ESTI PRASETYA N, Dr. Ir. Sedyo Hartono, M.P; Dr. Ir. Sri Sulandari, S.U

Universitas Gadjah Mada, 2018 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

Tabel 4.8.

Kejadian penyakit kuning pada tomat dan kutu kebul
pengkoloninya di beberapa lokasi 66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema penelitian.....	82
-----------------------------------	----