

ABSTRAK

DETEKSI DAN KARAKTERISASI MOLEKULER BERBASIS MULTIGEN PADA *PHYTOPLASMA* YANG MENGINFEKSI TANAMAN PISANG

Oleh :

Nur Fathurahman Ridwan

18/435056/PMU/09567

Kendala dalam deteksi dan karakterisasi Phytoplasma sebagai patogen *unculturable* hanya dapat menggunakan informasi data molekuler. Kuantitas dan kualitas DNA Phytoplasma menjadi faktor yang mempengaruhi keberhasilan dan efisiensi proses *downstream analysis*. Karakter molekuler berbasis multigen pada Phytoplasma yang menginfeksi pada pisang belum dikaji mendalam. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengkaji keberadaan dan kuantitas DNA Phytoplasma dengan menggunakan gen *16S*, *Tuf*, *SAP11*, *Eff64*, dan *SAP67* dengan metode Singleplex SYBR Green Real Time PCR (qPCR) dan karakterisasi molekuler Phytoplasma dengan menggunakan multigen yaitu *16S*, *Tuf*, *SecY*, *SecA*, dan *rpI* dengan menggunakan metode *nested* PCR (nPCR). Metode penelitian ini terdiri dari tahapan yaitu koleksi sampel DNA tanaman pisang bergejala penyakit layu pisang, optimasi protokol Real Time PCR dan *nested* PCR, deteksi dan kuantifikasi DNA Phytoplasma dengan metode *Real Time PCR*, dan identifikasi molekuler berbasis multigen, sekuensing dan kajian filogenetik dengan menggunakan software bioinformatika. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 1) Hasil Ct dari deteksi Phytoplasma positif pada sampel tanaman pisang bergejala menggunakan multigen (*16S*, *Tuf*, *SAP11*, *SAP67*, dan *Eff64*) berbasis metode Singleplex SYBR Green Real Time PCR memiliki kecenderungan lebih tinggi pada gen protein efektor dibandingkan dengan gen housekeeping. Hasil kuantifikasi DNA Phytoplasma juga berkorelasi dengan gejala penyakit pisang berupa vascular browning spot (VBS). 2) Hasil karakterisasi sekuens dan profil filogenetik multigen (*16S*, *Tuf*, *SecA*, *SecY*, *rpI*) menunjukkan bahwa sampel Phytoplasma (BWP_Sumatra) adalah Phytoplasma dengan grup 16SrI sedangkan untuk Phytoplasma (BWP_Java dan BWP_Borneo) tergolong dalam Phytoplasma dengan grup 16SrII. Sampel Phytoplasma ini berhubungan evolusi secara monofiletik dan polifiletik. Profil sekuens Phytoplasma dari tanaman pisang di Indonesia menunjukkan adanya rekombinasi dan haplotipe yang berbeda, walaupun jarak genetik sampel Phytoplasma dari tanaman pisang memiliki nilai yang kecil. Kelengkapan informasi sistem deteksi dan identitas Phytoplasma yang menyerang pisang dibutuhkan sebagai data penunjang untuk pengelolaan penyakit tanaman pisang yang berkualitas.

Kata Kunci : *Deteksi, Karakterisasi, Molekuler, Multigen, Pisang, Phytoplasma.*

ABSTRACT

MULTIGEN MOLECULAR DETECTION AND CHARACTERIZATION SCHEME OF BANANA-INFECTING PHYTOPLASMA

Oleh :

Nur Fathurahman Ridwan

18/435056/PMU/09567

Constraints in detection and characterization of Phytoplasma as an unculturable pathogen can only be used by molecular information. The quantity and quality of Phytoplasmal DNA are factors that affects the robustness and effication of the downstream process. The multigen-based molecular characteristics of bananas-infecting Phytoplasma has not been studied compherensively. This study aims to study the presence and quantity of Phytoplasmal DNA using 16S, Tuf, SAP11, Eff64, and SAP67 by the Singleplex SYBR Green Real Time PCR (qPCR) methods and to characterize Phytoplasma by multigen analysis (16S, Tuf, SecY, SecA and rpI) using the nested PCR (nPCR) methods. This research method consists of stages, such as the collection of banana plant DNA samples by banana wilt disease observation, optimization of the Real Time PCR and nested PCR protocols, detection and quantification of Phytoplasmal DNA using the Real Time PCR method, and multigen-based molecular identification, sequencing and phylogenetic studies using bioinformatics application. The results showed that 1) Ct results from positive Phytoplasma detection in symptomatic banana plant samples using multigens (16S, Tuf, SAP11, SAP67, and Eff64) based on the Singleplex SYBR Green Real Time PCR method had a higher value tendency for effector protein genes compared to housekeeping genes. Phytoplasmal DNA quantification results also correlated with banana disease symptoms in the form of vascular browning spot (VBS). 2) The results of sequence characterization and multigenic phylogenetic profiles (16S, Tuf, SecA, SecY, rpI) showed that the Phytoplasma (BWP_Sumatra) sample is Phytoplasma with the 16SrI group while for Phytoplasma (BWP_Java and BWP_Borneo) is classified as Phytoplasma with the 16SrII group. This Phytoplasma sample has a monophyletic and polyphyletic evolutionary interrelationship. Phytoplasma sequence profiles from banana plants in Indonesia had recombination evidence and interrelation of pathogen population connectly, although the genetic distance of Phytoplasma samples from banana plants has small value.

Keywords:; Detection, Characterization, Molecular, Multigen, Banana, Phytoplasma