



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Deteksi Virus dengan PCR pada Krisan

DINI RAHMAWATI, Dr. Ir. Sedyo Hartono, M. P.; Dr. Ir. Sri Sulandari, S. U.

Universitas Gadjah Mada, 2015 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

DETEKSI VIRUS DENGAN PCR PADA KRISAN



SKRIPSI

OLEH

DINI RAHMAWATI

10/302727/PN/12169

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA
2015

SKRIPSI

DETEKSI VIRUS DENGAN PCR PADA KRISAN

OLEH
DINI RAHMAWATI
10/302727/PN/12169

Diuji pada tanggal :
12 Januari 2015

Skripsi ini diterima sebagai sebagian persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian

Pembimbing Utama	Tanda tangan	Tanggal
Dr. Ir. Sedyo Hartono, M.P.	_____	_____
Pembimbing Pendamping		
Dr. Ir. Sri Sulandari, S.U.	_____	_____
Penguji		
Dr. Ir. Tri Joko, M.Sc.	_____	_____

Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
Ketua

Dr. Ir. Witjaksono, M.Sc.
Tanggal :

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Deteksi Molekuler Virus pada Tanaman Krisan”. Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Sedyo Hartono, M.P. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan motivasi, nasehat dan arahan dalam menyelesaikan penelitian dan melakukan penulisan skripsi.
2. Dr. Ir. Sri Sulandari, S.U. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat dan arahan dalam penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dr. Ir. Tri Joko, M.Sc selaku penguji yang telah berkenan menguji dan memberikan banyak masukan yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Dr. Ir. Witjaksono, M.Sc selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.
5. Prof. Dr. Ir. Triwidodo Arwiyanto, M.Sc selaku Komisi Sarjana Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian.
6. Seluruh tenaga pendidik, kependidikan serta laboran Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.
7. Bapak Tri Supriyanto, Ibu Mutiyatun Tri Lestari, Meida Kurniawati, Muhammad Taufik Adha dan Nabila Nur Afyah serta sanak keluarga lain yang senantiasa memberikan dukungan dan doanya pada saat pelaksanaan dan penulisan skripsi ini.
8. Teman- teman yang melakukan penelitian di Laboratorium Virologi mbak Resti, mbak Tyas, April, Gede, mbak Anggi, mbak Sista, mbak Jatu, mbak Rahma, Pak Suprihanto, mas Erwin dan mas Putra yang telah memberikan motivasi dan banyak membantu saat penelitian skripsi ini.
9. Teman- teman Jurusan HPT 2010, Yani, Ovi, Dian, Novira, Vivi, dan Nur dan lainnya yang telah memberi motivasi dan membantu dalam penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini.



10. Kepada pihak- pihak lain yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Kekurangan adalah milik manusia dan kesempurnaan adalah milik Allah SWT. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu kritik dan saran penulis harapkan demi kesempurnaan karya selanjutnya. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang berkaitan.

Yogyakarta, Januari 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT.....	xii
I. PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang	1
2. Tujuan Penelitian	3
3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
1. Tanaman Krisan	4
2. Virus pada Tanaman Krisan	5
a. <i>Chrysanthemum virus B</i> (CVB)	5
b. <i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	7
c. <i>Begomovirus</i>	8
3. Deteksi Molekuler Virus	10
III. HIPOTESIS	12
IV. METODE PENELITIAN	13
1. Tempat dan Waktu Kegiatan	13
2. Alat dan Bahan	13
3. Tata Laksana Penelitian	13
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
1. Hasil Pengamatan Lapangan	20
2. Hasil Pengamatan Laboratorium	27
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	32
1. Kesimpulan	33
2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1	Komposisi readymix PCR dengan Kappa <i>Kit</i> 16
Tabel 3.2	Jenis primer yang digunakan dan urutan biasanya 17
Tabel 3.3	Program PCR dan primer yang digunakan 17
Tabel 4.1	Gejala penyakit pada varietas-varietas krisan 22
Tabel 4.2	Kejadian penyakit yang disebabkan oleh virus 23
Tabel 4.3	Pengamatan gejala yang timbul dari penanaman tanaman sehat 24
Tabel 4.4	Hasil deteksi dengan PCR 30



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 (A)Tanaman krisan yang tidak bergejala namun dideteksi dengan ELISA positif CVB dan (B) krisan yang bergejala <i>mild mottling</i>	6
Gambar 4.1 Pertanaman krisan di Pakem	21
Gambar 4.2 Gejala menguning dan <i>mosaic</i> pada bibit tanaman krisan	22
Gambar 4.3 Variasi gejala pada tanaman krisan (A) <i>vein clearing</i> , (B) <i>mosaic</i> , (C) <i>vein banding</i> dan (D) kerdil.....	22
Gambar 4.4 Hasil amplifikasi berbagai varietas krisan menggunakan primer Sprimer dan M4	27
Gambar 4.5 Hasil amplifikasi berbagai varietas krisan menggunakan primer Sprimer dan M4 serta Krusty dan Homer	27
Gambar 4.6 Hasil amplifikasi berbagai varietas krisan menggunakan primer Krusty dan Homer	28
Gambar 4.7 Hasil amplifikasi berbagai varietas krisan dengan menggunakan primer CMV-P1 dan CMV-P2	29



DAFTAR SINGKATAN

bp	<i>base pairs</i>
cDNA	<i>complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
CMV	<i>Cucumber mosaic virus</i>
CVB	<i>Chrysanthemum virus B</i>
DEPC	Diethylpyrocarbonate
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptions Polymerase Chain Reactions</i>
TYLCV	<i>Tomato Yellow Leaf Curl Virus</i>



Intisari

Krisan adalah tanaman hias komersial yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai dekorasi pernikahan dan upacara adat. Virus merupakan salah satu kendala dalam budidaya krisan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi gejala, kejadian penyakit dan mendeteksi keberadaan virus pada tanaman krisan yang bergejala atau tidak secara PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Sampel yang diuji yaitu Puspita Nusantara, Sena, Puspita pelangi, Stalkon, Feeling Green, Kusumapatria, Kusumasakti, Lokon, Euro, Salju dan Deco. Sampel yang bergejala dan tidak bergejala diekstraksi menggunakan *RNeasy RNA extraction kit* (Qiagen). Hasil ekstraksi RNA digunakan sebagai *template* sintesis cDNA dan dilanjutkan PCR. Untuk mendeteksi keberadaan *Begomovirus* yang menginfeksi chrysanthemum, DNA total diekstraksi dari tanaman krisan yang bergejala menguning menggunakan *Phytopure Extraction Kit*. Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan kejadian penyakit pada varietas Puspita Nusantara 52%, Puspita pelangi 62%, Euro 45%, Aster 73%, Sena 21% dan Stalkon 67%. Variasi gejala yang ditemukan di lapangan yaitu menguning, *vein clearing*, *vein banding*, *mosaic* dan kerdil. Hasil RT-PCR menunjukkan bahwa terdeteksi adanya CVB dengan primer Sprimer dan M4 (120 pita DNA) dari varietas Salju, Aster ungu, Deco, Puspita pelangi, Puspita nusantara, Sena, Stalkon, Sillion, Kusumapatria, Kusumasakti dan Feeling green. Hasil RT-PCR menggunakan primer CMV-P1 dan CMV-P2 mengamplifikasi pita DNA dari varietas Salju, Aster ungu, Deco, Puspita Nusantara, Puspita Pelangi, Sena, Stalkon, Sillion, Kusumapatria, Kusumasakti dan Feeling Green teramplifikasi produk DNA yang berukuran 422 bp. Pada varietas Salju, Aster Ungu, Deco, Euro, Lokon, Sena dan Stalkon tidak terdeteksi adanya *Begomovirus* menggunakan primer Krusty dan Homer.

Kata kunci: krisan, CVB, CMV, PCR dan virus



Abstract

Chrysanthemum is one of the commercial plants that is widely used by the public as wedding decorations and ceremonies. The virus is one of obstacles in the cultivation of chrysanthemum. This study aims to determine the symptom variations, disease incidence to detect the presence of viruses on symptomatic and asymptomatic chrysanthemum plant. The samples for PCR test is Puspita Nusantara, Sena, Puspita Pelangi, Stalkon, Feeling Green, Kusumapatria, Kusumasakti, Lokon, Euro, Salju and Deco. Symptomatic and asymptomatic plant samples were used for RNA extraction using RNeasy RNA extraction kit (Qiagen). RNA preparations were used as template for cDNA synthesis and then PCR. To detect *Begomovirus* infecting chrysanthemum plants, total DNA was extracted from plant showing yellowing symptoms using *Phytopure Extraction Kit*. Field survey showed that the disease incidence among varieties observed were 52% on Puspita Nusantara, 62% on Puspita Pelangi, 45% on Euro, 73% on Aster, 21%, on Sena and 67% on Stalkon. The symptom variations were found in the field that are yellowing, vein clearing, vein banding, mosaic and dwarf. The RT-PCR test showed that CVB was detected by primers Sprimer and M4 (120 bp DNA band) from varieties of Salju, Aster ungu, Deco, Puspita pelangi, Puspita Nusantara, Sena, Stalkon, Sillion, Kusumapatria, Kusumasakti and Feeling green. RT-PCR using primers CMV-P1 and CMVP-2 amplified 422 bp DNA products from the varieties of Salju, Aster Ungu, Deco, Puspita pelangi, Puspita nusantara, Sena, Stalkon, Sillion, Kusumapatria, Kusumasakti and Feeling green. No virus detected from varieties tested Salju, Aster Ungu, Deco, Euro, Lokon, Sena and Stalkon tested by PCR using primers for *Begomovirus*, Krusty and Homer.

Keywords: Chrysanthemum, CVB, CMV, PCR and viruses.