

**ISOLASI GEN *REPLICASE* (C1) DARI *PEPPER YELLOW LEAF*  
*CURL VIRUS* (PepYLCV) PADA BEBERAPA TANAMAN  
CABAI MERAH (*Capsicum annuum* L.) VARIETAS  
LOKAL DI KABUPATEN KARO  
SUMATERA UTARA**

**SKRIPSI**

**OLEH**  
**ATIKAH FADILLA HARAHAP**  
**208210058**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS MEDAN AREA  
MEDAN  
2024**

**UNIVERSITAS MEDAN AREA**

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 2/12/24

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)2/12/24

**ISOLASI GEN *REPLICASE* (C1) DARI *PEPPER YELLOW LEAF*  
*CURL VIRUS* (PepYLCV) PADA BEBERAPA TANAMAN  
CABAI MERAH (*Capsicum annum* L.) VARIETAS  
LOKAL DI KABUPATEN KARO  
SUMATERA UTARA**

**SKRIPSI**

**OLEH :**

**ATIKAH FADILLA HARAHAP**  
**208210058**

*Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana di Program Studi Agroteknologi  
Fakultas Pertanian Universitas Medan Area*

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS MEDAN AREA  
MEDAN  
2024**

**UNIVERSITAS MEDAN AREA**

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 2/12/24

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)2/12/24

**LEMBAR PENGESAHAN**

JUDUL SKRIPSI : ISOLASI GEN *REPLICASE* (C1) DARI *PEPPER YELLOW LEAF CURL VIRUS* (PepYLCV) PADA BEBERAPA TANAMAN CABAI MERAH (*Capsicum annuum* L.) VARIETAS LOKAL DI KABUPATEN KARO SUMATERA UTARA

NAMA : ATIKAH FADILLA HARAHAP

NPM : 208210058

FAKULTAS : PERTANIAN

DISETUJUI OLEH :

DOSEN PEMBIMBING



Ifan Aulia Candra, SP. M.Biotek  
Pembimbing

Diketahui oleh :



Siswa Panjang Hernosa, SP., M.Si  
Dekan Fakultas Pertanian



Angga Ade Sahfitra, SP., M.Sc  
Ketua Program Studi Agroteknologi

**Tanggal Lulus : 27 Agustus 2024**

### HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa yang saya susun ini, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapaun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan yang berlaku, apabila dalam dikemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.



Medan, 10 Oktober 2024

Atikah Fadilla Harahap  
208210058

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai civitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Atikah Fadilla Harahap  
NPM : 208210058  
Program Studi : Agroteknologi  
Fakultas : Pertanian  
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (Non-Exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul “Isolasi Gen *Replicase (C1)* Dari *Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV)* Pada Beberapa Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum L.*) Varietas Lokal Di Kabupaten Karo Sumatera Utara” Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan hak bebas royalti noneklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalih media atau formatkan, mengola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan Skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan  
Pada Tanggal : 10 Oktober 2024  
Yang menyatakan



Atikah Fadilla Harahap

## ABSTRAK

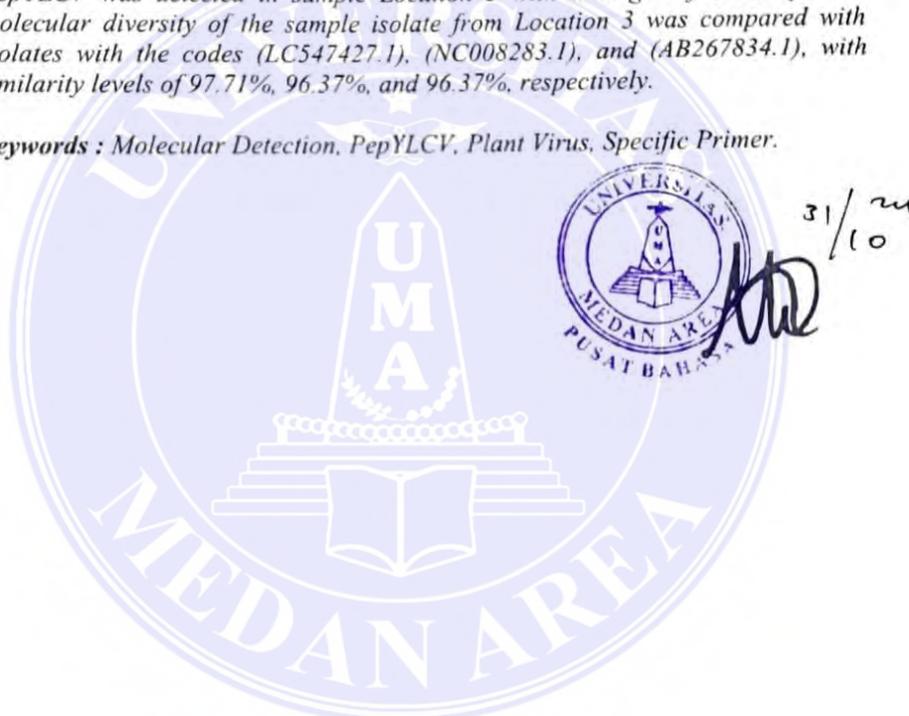
Salah satu patogen utama yang menyebabkan penurunan produksi tanaman cabai ialah *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (PepYLCV). Penyakit kuning keriting ini disebabkan oleh *begomovirus* (genus: *Geminivirus*) yang ditularkan melalui serangga vektor kutu kebul (*B. tabaci*). Salah satu komponen gen pengkode protein fungsional yang berperan penting dalam penyebaran partikel virus adalah gen Rep (C1), Gen Rep (C1) adalah elemen pengatur replikasi dan transkripsi pada geminivirus. Adanya infeksi dari virus PepYLCV ini mengakibatkan penurunan produksi tanaman cabai di Kabupaten Karo, Sumatera Utara. Oleh karena itu Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa DNA Virus PepYLCV yang sudah terintegrasi oleh PCR dengan menggunakan primer spesifik C1-TD21BamHi-NT dan C1-TD22SmaI-N ke dalam genom tanaman cabai di Kabupaten Karo, Sumatera Utara. Hasil penelitian menunjukkan PepYLCV pada sampel Lokasi 3 dengan panjang 1070 Bp. Isolat sampel lokasi 3 memiliki keragaman molekuler dengan isolat kode (LC547427.1), (NC008283.1) dan (AB267834.1), dengan tingkat kemiripan masing-masing 97,71%, 96,37% dan 96,37%.

**Kata Kunci :** Deteksi Molekuler, PepYLCV, Virus Tanaman, Primer spesifik.

## ABSTRACT

One of the main pathogens causing reduced chili plant production is the Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV). This yellow leaf curl disease is caused by begomovirus (genus: Geminivirus), which is transmitted through the whitefly vector (*B. tabaci*). One of the functional protein-coding gene components that plays an important role in the spread of viral particles is the Rep (C1) gene. The Rep (C1) gene is a regulatory element for replication and transcription in geminiviruses. Infection by the PepYLCV virus has caused a decline in chili plant production in Karo Regency, North Sumatra. Therefore, the purpose of this study was to analyze the DNA of the PepYLCV virus, which had been integrated using PCR with specific primers C1-TD21BamHi-NT and C1-TD22SmaI-N into the genome of chili plants in Karo Regency, North Sumatra. The results showed that PepYLCV was detected in sample Location 3 with a length of 1070 bp. The molecular diversity of the sample isolate from Location 3 was compared with isolates with the codes (LC547427.1), (NC008283.1), and (AB267834.1), with similarity levels of 97.71%, 96.37%, and 96.37%, respectively.

**Keywords :** Molecular Detection, PepYLCV, Plant Virus, Specific Primer.



## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Atikah Fadilla Harahap dilahirkan di Kota Medan, Provinsi Sumatra Utara pada tanggal 05 Februari 2002. Penulis lahir dari orang tua Tengku Farida Hanim (Ibu) dan Alm. Syarifuddin Harahap (Ayah). Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Swasta Madrasah Ibtidaiyah Islamiyah Guppi Medan pada tahun 2014. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Swasta Madrasah Tsanawiyah Islamiyah Guppi Medan dan menyelesaikan pendidikan pada tahun 2017. Selanjutnya penulis menyelesaikan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 2 Medan pada tahun 2017. Pada tahun 2020, penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Pertanian Universitas Medan Area pada Program Studi Agroteknologi.

Selama menjalani perkuliahan, penulis pernah mendapatkan Piagam Penghargaan sebagai mahasiswa berprestasi dengan lolos pendanaan pada Program Pembinaan Mahasiswa Wirausaha (P2MW) tahun 2023. Pada tahun 2023, penulis melaksanakan kegiatan praktik kerja lapangan (PKL) yang dilaksanakan di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) dan ditempatkan di Kebun Sei Aek Pancur. Kegiatan PKL dilaksanakan selama 6 minggu dimulai pada tanggal 31 Juli sampai dengan 09 September 2023 yang merupakan syarat kelulusan.

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah Swt. yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“ISOLASI GEN *REPLICASE* (C1) DARI *PEPPER YELLOW LEAF CURL VIRUS* (PepYLCV) PADA BEBERAPA TANAMAN CABAI MERAH (*Capsicum annuum* L.) VARIETAS LOKAL DI KABUPATEN KARO SUMATERA UTARA”**.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan srata satu pada program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Medan Area. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan rasa hormat kepada:

1. Kepada ketua Yayasan Pendidikan H. Agus Salim untuk pendanaan penelitian skema Diya UMA tahun anggaran 2022.
2. Bapak Dr. Siswa Panjang Hernosa, SP, M.Si ,selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.
3. Bapak Angga Ade Sahfitra, S.P., M.Sc ,selaku ketua prodi Agroteknologi Universitas Medan Area
4. Bapak Ifan Aulia Candra, S.P.,M.Biotek, selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, motivasi, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Para dosen, staff, dan seluruh civitas akademika FP UMA yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan bantuan selama penulis menempuh studi.

6. Kedua orang tua tercinta, terutama kepada almarhum ayah saya dan ibu saya yang selalu mendukung dan selalu mendoakan serta dukungan yang tak terhingga selama masa pendidikan di program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.
7. Saudara kandung saya, Rizki Aulia Harahap, S.Kom. Yang telah memberikan doa, dan dukungan material yang sangat berarti.
8. Bapak Eko Prasetya, S.PD., M.Sc. yang telah membantu terkait proses penelitian skripsi ini.
9. Sahabat tersayang Fita Tiara Murdela, A.Md.T. terimakasih telah berkontribusi banyak dalam penyusunan skripsi ini. Meluangkan waktu, tenaga, serta memberikan semangat untuk terus maju tanpa mengenal kata menyerah.
10. Teman- teman seperjuangan di program studi Agroteknologi 2020 yang telah menyemangati dan mendukung dalam setiap langkah pada proses penyelesaian skripsi ini.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu

Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Medan, 10 Oktober 2024



Atikah Fadilla Harahap

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Cabai Merah ( <i>Capsicum annum</i> L.) .....	6
2.2 <i>Bemisia tabaci</i> .....	6
2.3 Hubungan Geminivirus dengan Begomovirus .....	7
2.4 <i>Pepper Yellow Leaf Curl Virus</i> (PepYLCV).....	9
2.5 Gen <i>Replicase</i> (C1) .....	10
2.6 Identifikasi Molekuler melalui Teknologi PCR .....	11
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>13</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	13
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	13
3.3 Metode Penelitian.....	13

3.4 Metode Analisis Data Penelitian .....	14
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	14
3.5.1 Pengambilan Sampel.....	14
3.5.2 Desain Primer .....	15
3.5.3 Isolasi DNA .....	17
3.5.4 Analisis PCR.....	19
3.5.5 PCR-Sekuensing Gen <i>Replicase</i> .....	20
3.5.6 Analisa Bioinformatika.....	20
3.6 Parameter Penelitian.....	21
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>22</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	22
4.1.1 Desain Primer .....	22
4.1.2 Isolasi DNA .....	22
4.1.3 Analisis PCR.....	24
4.1.4 Sekuensing .....	25
4.1.5 Bioinformatika (BLAST).....	25
4.2 Pembahasan.....	27
4.2.1 Desain Primer .....	27
4.2.2 Isolasi DNA .....	30
4.2.3 Analisis PCR.....	32
4.2.4 Sekuensing .....	35
4.2.5 Bioinformatika (BLAST).....	36
<b>V. PENUTUP.....</b>	<b>39</b>
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>

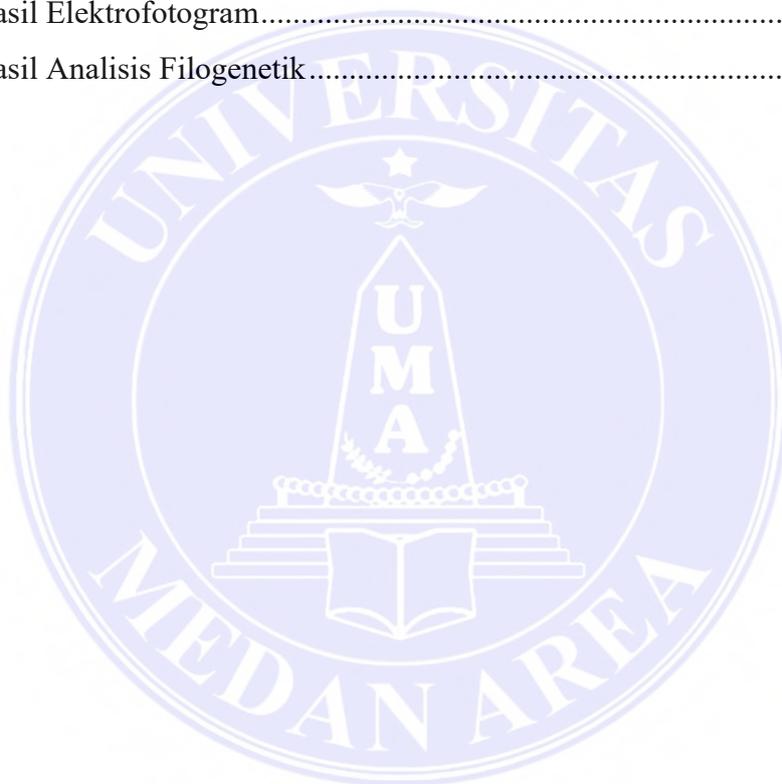
## DAFTAR TABEL

No	Keterangan	Halaman
1.	Komposisi reagen PCR untuk satu kali reaksi .....	19
2.	Program PCR untuk amplifikasi DNA .....	19
3.	Hasil desain primer .....	22
4.	Hasil Prediksi Konsentrasi DNA .....	23
5.	Hasil analisis PCR .....	24
6.	Identifikasi Kesamaan Isolat PepYLCV .....	25



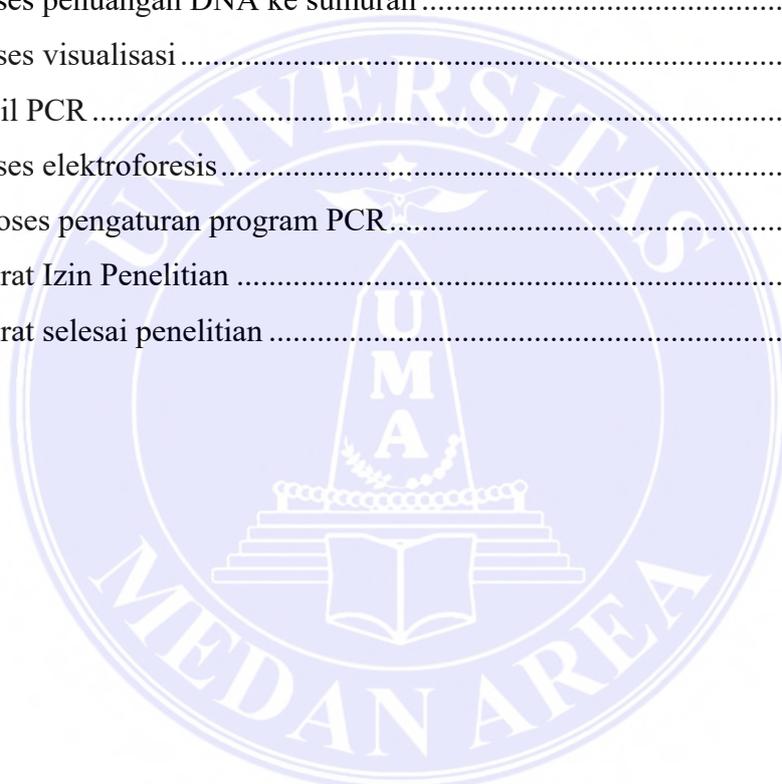
## DAFTAR GAMBAR

No	Keterangan	Halaman
1.	Tanaman Cabai Yang Terserang PepYLCV .....	2
2.	Roadmap Penelitian .....	14
3.	Tahapan Pendesainan Primer .....	15
4.	Sekuens Gen <i>Pepper Yellow Leaf Curl Virus</i> .....	16
5.	Visualisasi Hasil Isolasi DNA .....	23
6.	Hasil Amplifikasi PCR .....	24
7.	Hasil Elektrofotogram.....	25
8.	Hasil Analisis Filogenetik.....	26



## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Keterangan	Halaman
1.	Sterilisasi alat.....	44
2.	Penimbangan sampel .....	44
3.	Proses penggerusan daun.....	44
4.	Proses Isolasi DNA.....	44
5.	Hasil isolasi DNA.....	45
6.	Proses penuangan DNA ke sumuran .....	45
7.	Proses visualisasi .....	45
8.	Hasil PCR .....	45
9.	Proses elektroforesis.....	46
10.	Proses pengaturan program PCR.....	46
11.	Surat Izin Penelitian .....	47
12.	Surat selesai penelitian .....	48



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang bernilai ekonomi tinggi. Permintaan pasar terhadap komoditas cabai terus meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan kebutuhan industri. Akan tetapi produksi cabai di Indonesia dilaporkan cenderung menurun. Salah satu patogen utama yang menyebabkan penurunan produksi tanaman cabai ialah *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (PepYLCV). Virus ini dapat menyebabkan kerugian produksi yang sangat besar (Ashwathappa *et al.* 2020).

PepYLCV telah menyebar di berbagai daerah di Indonesia, seperti disentra produksi sayuran di Sumatra Utara, Bengkulu, Sumatra Barat (Trisno *et al.* 2021). Penyakit kuning keriting ini disebabkan oleh *begomovirus* (genus: *Geminivirus*) yang ditularkan melalui serangga vektor kutu kebul (*B. tabaci*). Virus yang ditularkan oleh kutu kebul ini berkembang biak di dalam inti sel dan berpindah dari sel ke sel melalui plasmodesmata. Menurut informasi yang diperoleh dari petani lokal beberapa lahan budidaya tanaman cabai di Sumatera Utara memiliki serangan penyakit yang bersifat persisten dengan serangan yang sangat cepat dan tingkat kerusakan yang tinggi.

Tanaman yang terserang PepYLCV menunjukkan gejala yang bervariasi namun secara umum menunjukkan gejala seperti, daun kusut keriting, vena dan interveinal menguning, bercak kuning pada daun, kerdil dan distorsi daun serta beberapa kombinasi mosaik atau belang berwarna keemasan, dan hijau-kuning (Gambar 1). Infeksi pada fase generatif menyebabkan kegagalan pembentukan buah cabai (Jamsari *et al.*,2015). Gejala ini ditimbulkan karena virus dapat

menginduksi replikasi dan memproduksi *Small Interfering* RNA (siRNA) yang dapat merubah metilasi sehingga menyebabkan abnormalitas jaringan tanaman yang terinfeksi (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).



**Gambar 1. Tanaman Cabai Yang Terserang PepYLCV**

*Sumber : Dokumentasi Pribadi*

Pengendalian virus PepYLCV dengan menggunakan varietas unggul, rotasi tanaman, penanaman tanaman pagar, penggunaan musuh alami, dan penggunaan insektisida alami dan sintetis untuk mengendalikan virus ini. Menurut penelitian sebelumnya, strategi ini tidak efektif terutama karena virus bermutasi sangat cepat sehingga antivirus belum tersedia hingga saat ini (Cania *et al.*, 2021) dan akan berdampak terjadinya resistensi hama, resurgensi hama, resiko kesehatan dan tidak aman bagi lingkungan. Mutasi ini disebabkan *B. tabaci* yang dapat membawa lebih dari satu virus. Hal ini mengakibatkan munculnya berbagai macam gejala di lapangan dan juga keragaman molekuler dari PepYLCV. Untuk itu diperlukan informasi sequens genom tanaman cabai yang telah terinfeksi dengan PepYLCV dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

PepYLCV mempunyai enam gen penyandi protein yaitu C1 yang mengkode protein inisiasi *replicase* (Rep), C2 yang mengkode protein aktivator transkripsi, C3 yang mengkode protein penambah replikasi, protein penyandi C4 yang diperlukan untuk penentuan kisaran inang, keparahan gejala, dan pergerakan virus V1, dan protein penyandi V2 yang diperlukan untuk pergerakan virus, jangkauan inang, dan patogenisitas (Cania *et al.*, 2021). Salah satu komponen gen pengkode protein fungsional yang berperan penting dalam penyebaran partikel virus adalah gen Rep (C1), Gen Rep (C1) adalah elemen pengatur replikasi dan transkripsi pada geminivirus.

Gen C1 menghasilkan protein yang berkaitan *Retinoblastoma-related protein* (RBR) dan *Rolling circle replication* (RCR). Interaksi protein Rep dengan RBR melepaskan faktor transkripsi sehingga mengaktifkan ekspresi *Proflerating Cell Nuclear Antigen* (PCNA) untuk menghasilkan DNA polimerase dan faktor yang dibutuhkan untuk replikasi virus (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). Gen C1 memiliki peran penting pada awal replikasi virus tersebut dan menginisiasi replikasi DNA serta mengatur proses ekspresi gen. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Candra *et. Al* (2019) Gen Rep telah dilaporkan sebagai kunci determinan keparahan penyakit yang disebabkan oleh patogenitas PepYLCV. Gen ini berukuran ~1.200 bp dan menunjukkan keanekaragaman urutan yang tinggi. Besarnya kemampuan gen C1 dalam mereplikasi serta dapat mengalami mutasi yang cepat sehingga dapat membuat variasi virus yang baru maka, perlu dilakukan isolasi pada gen C1 tersebut.

Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan Rahmi (2018) menunjukkan bahwa begomovirus (kelompok dari *Geminivirus*) merupakan salah

satu virus penyebab penyakit yang banyak menimbulkan kerusakan pada tanaman cabai di Tanah Karo. Identifikasi *begomovirus* hanya berdasarkan gejala morfologi saja tidak dapat memberikan hasil yang akurat, karena gejala begomovirus hampir sama dengan penyakit yang disebabkan oleh virus lainnya. Oleh karena itu, dilakukan penelitian deteksi molekuler Begomovirus menggunakan teknologi PCR. Sebanyak 20 sampel daun cabai yang bergejala virus dikumpulkan dari 20 desa di Tanah Karo. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa seluruh sampel DNA tanaman cabai positif terserang *Begomovirus* dengan fragmen DNA berukuran 1500bp.

Berdasarkan dari latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk membandingkan sekuens DNA virus PepYLCV serta sekuens (C1) yang terdapat pada beberapa varietas lokal cabai merah di kabupaten Karo dengan menggunakan metode molekuler sehingga, dapat melihat pohon filogenetik dari representasi grafis dari hubungan kekerabatan antara organisme virus tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: Apakah terdapat perbedaan sekuens DNA dari gen C1 yang terdapat pada beberapa varietas lokal cabai merah dengan menggunakan metode PCR-Sekuensing

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa DNA Virus PepYLCV yang sudah terintegrasi oleh PCR ke dalam genom tanaman cabai di Sumatera Utara.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan memberikan penjelasan sebagai berikut:

1. Sebagai bahan acuan penelitian lebih lanjut dalam bidang bioteknologi yang berkaitan dengan membandingkan sekuens gen C1 dari virus PepYLCV
2. Dapat memberikan informasi kepada petani, masyarakat dan pemerintah



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.)

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan komoditas utama yang diproduksi di Indonesia dan dunia. Genus *Capsicum* terdiri dari sekitar 38 spesies dengan keanekaragaman ciri tumbuhan yang memiliki bunga dan buah (Khoury *et al.*, 2020). Adapun klasifikasi dari Cabai (*Capsicum annuum* L.) sebagai berikut: tanaman cabai merah termasuk dalam Kingdom: *Plantae* yang memiliki dinding sel yang terdiri dari selulosa, Divisi: *Spermatophyta*, Sub Divisi: *Angiospermae*, Kelas: *Magnoliopsida*, Sub Kelas: *Asteridae*, Ordo: *Solanales*, Famili: *Solanaceae*, Genus: *Capsicum*, Spesies: *Capsicum annuum* L.

Cabai merupakan tanaman yang cukup populer di masyarakat, hal ini dibuktikan dengan produksi tanaman cabai di Indonesia yang terus meningkat. Badan Pusat Statistik (BPS) (2022), mencatat luas panen tanaman cabai pada tahun 2021 mencapai 141 ribu ha dengan hasil panen 1,36 juta ton. Hasil panen cabai 5 tahun terakhir menunjukkan nilai yang terus meningkat, tahun 2017, 2018, 2019, dan 2020 produksi cabai secara terus.menerus adalah 1,202 juta ton, 1,206 juta ton, 1,214 juta ton, dan 1,264 juta ton. Walaupun produksi cabai terus meningkat, tetapi masih terdapat permasalahan yang sering mengganggu proses budidaya tanaman cabai diantaranya adalah serangan OPT dan perubahan iklim (Rifki dkk., 2024).

### 2.2 *Bemisia tabaci*

*Bemisia tabaci* merupakan hama polifag yang menyerang kurang lebih 600 jenis tanaman inang yang berbeda dengan kisaran inang yang luas. Siklus hidup hama kutu kebul (*B. tabaci*) kurang lebih 24-25 hari. Serangga ini sepanjang

hidupnya memakan getah floem tumbuhan, masuk ke dalam mulutnya dan menghisapnya, yang secara langsung dapat membahayakan tanaman. Kutu kebul dapat merusak tanaman, dan daun yang terinfeksi menunjukkan gejala seperti bintik nekrotik akibat kerusakan sel dan jaringan daun.

*B. tabaci* dapat menyebabkan kerusakan langsung dan tidak langsung. Kerusakan langsung meliputi pembentukan embun madu, yang mendorong pertumbuhan jamur jelaga dan menghambat fotosintesis normal. Kerusakan langsung merupakan bagian dari aktivitas makan. Artinya, (1) stomata ditutup oleh embun madu yang dikeluarkan nimfa dan embun jelaga yang tumbuh pada lapisan embun madu; (2) Atrofi makula terbentuk pada daun akibat kerusakan jaringan lokal akibat tusukan stilet. (3) Pembentukan pigmen antosianin. (4) Daun bisa rontok dan pertumbuhan tanaman terhambat (Setiawati dkk., 2007). Kerusakan tidak langsung yang ditimbulkan oleh hama kutu kebul berkaitan dengan peran *B. tabaci* sebagai vektor virus pada tanaman dan dapat menyebabkan kerusakan kurang lebih 20% hingga 100%. Sejauh ini, diketahui ada 60 virus berbeda yang ditularkan oleh kutu kebul, antara lain penyakit keriting daun cabai, penyakit mosaik, dan berbagai penyakit virus lainnya yang menyerang tanaman. Beberapa tanaman budidaya yang sudah tercatat mengalami serangan parasit kutu kebul diantaranya kentang, mentimun, melon, labu, terong, cabai, *lettuce* dan brokoli (Meilin, 2014).

### 2.3 Hubungan Geminivirus dengan Begomovirus

Geminivirus (*Geminiviridae*) adalah virus tanaman yang ditularkan oleh kutu kebul (*Bemisia tabaci*) dengan genom DNA beruntai tunggal melingkar yang menyebabkan penyakit mematikan ini pada tanaman penting diseluruh dunia.

Famili *Geminiviridae* terdiri lebih dari 450 spesies yang terbagi dalam 9 genera menurut pengelompokan genom, vektor serangga: *begomovirus*, *mastrevirus*, *curtovirus*, *becurtovirus*, *topocuvirus*, *turncurtovirus*, *capulavirus*, *gablovirus* dan *eragrovirus* (Zerbini *et al.*,2017).

Geminivirus merupakan aktivator dan sebagai penekan respon pertahanan tanaman, dan dapat memodulasi proses perkembangan tanaman (Hanley *et al*, 2013). Infeksi Geminivirus terutama dimulai pada sel yang berdiferensiasi akhir, yaitu sel tumbuhan yang berada pada fase G1 dari siklus sel mitosis atau fase G dari endosiklus-variasi siklus sel yang ditandai dengan peningkatan tingkat ploidi dan ekspansi sel tanpa pembelahan sel. Untuk mengatur replikasi genom virusnya, virus perlu memprogram ulang siklus sel inang untuk mendorong perkembangan ke fase S dari siklus sel (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

Geminivirus mereplikasi genom DNA mereka di dalam nukleus dengan menggunakan mesin replikasi DNA tanaman kemudian pada genom geminivirus membentuk minikromosom yang telah mengalami modifikasi *epigenetic*, geminivirus merupakan *activator* dan sebagai penekan respon pertahanan tanaman serta dapat memodulasi proses perkembangan tanaman (Hanley- Bowdoin *et al.*,2013).

Sebagai parasit intraseluler, geminivirus harus secara efektif memanipulasi fungsi sel tumbuhan untuk bereplikasi, menekan pertahanan anti-virus, dan berpindah ke seluruh tumbuhan, yang pada akhirnya menimbulkan infeksi sistemik. kapasitas mereka yang berkembang untuk mengkooptasi dan memodulasi proses ditanaman inang tertentu akan menentukan hasil interaksi virus tanaman.

Genom begomovirus terdiri dari DNA beruntai tunggal yang terdiri dari satu (monopartit) atau dua (bipartit) komponen berukuran 2,5~3 kb, yang dikenal sebagai DNA-A dan DNA-B (sakata *et al.*, 2008; Zerbini *et al.*, 2017). Secara umum, DNA-A mengkodekan enam *Open Reading Frame* (ORF) yang diperlukan untuk replikasi virus, transkripsi, aktivasi, dan enkapsidasi. Komponen DNA-B memfasilitasi transpor genom virus dari sel ke sel dan nukleositoplasma (Kumar *et al.*, 2015). Pada spesies monopartit, pergerakan intraseluler diatur oleh komponen mirip DNA-A (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). Kedua komponen genom bipartit berbagi wilayah yang sama, *Origin of Replication* (ORI) sekitar 200 nt (Brown *et al.*, 2012).

Penularan Begomovirus secara alami terjadi melalui serangga vektor *B. tabaci* yang bersifat sirkulasi persisten (Czosnek *et al.* 2017). Begomovirus termasuk dalam genera dari geminivirus, diketahui menyebabkan penyakit tanaman menguning dan keriting, sehingga mempengaruhi pertumbuhan dan warna daun. Begomovirus dilaporkan telah menginfeksi tanaman cabai di Asia secara meningkat pesat, hingga saat ini mencakup 409 spesies yang berbeda (Zhao *et al.*, 2019). Peningkatan ini sebagian besar disebabkan karena evolusi dan rekombinasi yang cepat antar virus tersebut. Tingginya tingkat mutasi dan seringnya rekombinasi merupakan penyebab utama cepatnya evolusi dan variabilitas genetik pada populasi begomovirus (Lima *et al.*, 2013).

#### **2.4 *Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV)***

Penyakit kuning di Indonesia diketahui disebabkan oleh infeksi *begomovirus*, *Pepper yellow leaf curl virus (PepYLCV)*, family *Geminiviridae*, genus *Begomovirus* yang ditularkan oleh serangga *Bemisia tabaci* yang

menularkan virus secara persisten artinya satu kali kutu kebul mengambil makanan dari tanaman yang mengandung virus maka selama hidupnya dapat menularkan virus. selain dapat ditularkan melalui *Bemisia tabaci*, PepYLCV dilaporkan juga dapat bersifat tular benih (Fadhila *et al.*, 2020). Gejala tanaman terserang penyakit virus ini dimulai dengan daun muda/pucuk cekung dan mengerut dengan warna mosaik ringan, setelah itu gejala berlanjut dengan seluruh daun berwarna kuning cerah, bentuk daun berkerut, dan cekung dengan ukuran lebih kecil, dan pertumbuhan terhambat (Sipriyadi 2022). Setelah infeksi parah, tanaman menunjukkan terhambatnya perkembangan serbuk sari dan jatuhnya kuncup bunga, sehingga menyebabkan tidak adanya pembentukan buah. Gejala-gejala ini mempersulit penerapan tindakan pencegahan yang tepat pada tahap awal. Kendala dari penyakit kuning keriting ini adalah sulitnya pengendalian dan perkembangan penyakit yang sangat cepat sehingga petani sering terlambat dalam menanganinya. Penularan partikel virus yang cepat meningkatkan tingkat serangan di suatu lahan. Kendala dari penyakit kuning keriting ini adalah sulitnya pengendalian dan perkembangan penyakit yang sangat cepat sehingga petani sering terlambat dalam menanganinya. Penularan partikel virus yang cepat meningkatkan tingkat serangan di suatu lahan.

## 2.5 Gen *Replicase* (C1)

Gen *replicase* (C1) menghasilkan protein replikasi (Rep) yang berinteraksi dengan *Retinoblastoma-related protein* (RBR) pada tanaman saat terjadi infeksi Geminivirus. Interaksi tersebut mengganggu fungsi RBR pada saat proses transkripsi. Salah satu komponen genetik penyandi protein fungsional yang berperan penting dalam penyebaran partikel virus adalah (C1). Gen C1 merupakan

gen yang mengontrol replikasi dan transkripsi geminivirus yang memiliki karakter multifungsional diantaranya, berperan dalam mekanisme *Rolling Circle Replication* (RCR) dan berinteraksi dengan protein retinoblastoma (Elma, 2018). *Retinoblastoma-related* protein (RBR) berperan dalam meregulasi sel (Desvoyes *et al.*, 2014). RBR menekan proliferasi atau perkembangan sel yang pesat pada jaringan dewasa (Elma, 2018). Gen C1 memfasilitasi replikasi genom virus pada semua spesies yang diketahui dengan cara memprogram ulang siklus sel dan memediasi inisiasi, pemanjangan, dan penghentian DNA virus (Hanley *et al.*, 2013). Gen C1 dapat mendorong transkripsi virus (kushwaha *et al.*, 2017) dan sebagai penekan keduanya dari *transcriptional gene silencing* (TGS) atau PTGS pada spesies tertentu (Rodriguez *et al.*, 2013). Gen C1 juga menghambat siklus metilasi DNA tanaman dengan bekerja bersama dengan *adenosine kinase* (ADK) dan *S-adenosylmethionine decarboxylase 1* (SAMDC1) (Candra, 2020).

## 2.6 Identifikasi Molekuler melalui Teknologi PCR

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik perbanyakan (amplifikasi) potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vitro* yang bersifat semi konservatif. PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (*annealing*) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan (*extension*) primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA *polymerase*.

Teknologi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1985 telah memegang peran yang sangat penting dalam menunjang kegiatan penelitian di bidang biologi molekuler. Teknik ini 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 (Nugroho *et al.*, 2021).

Identifikasi gen dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis PCR antara lain *Real Time PCR* (Q-PCR), *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), dan *Touchdown PCR*. Real-time PCR juga dikenal sebagai *Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction* (Q-PCR). Karena teknologi PCR sangat berguna untuk menentukan urutan basa DNA pada tanaman, teknologi ini dapat berhasil diterapkan dalam waktu yang relatif singkat dan memberikan dampak yang besar di bidang pertanian. Kemajuan molekuler telah memunculkan beberapa teknik yang dapat digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi virus, salah satunya *polymerase chain reaction* (PCR). Teknik ini sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi dan mengidentifikasi patogen tanaman. Teknik PCR digunakan untuk mengetahui susunan populasi patogen dan keanekaragaman genetik virus.

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada 6 Maret sampai 28 Mei 2024, dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Medan.

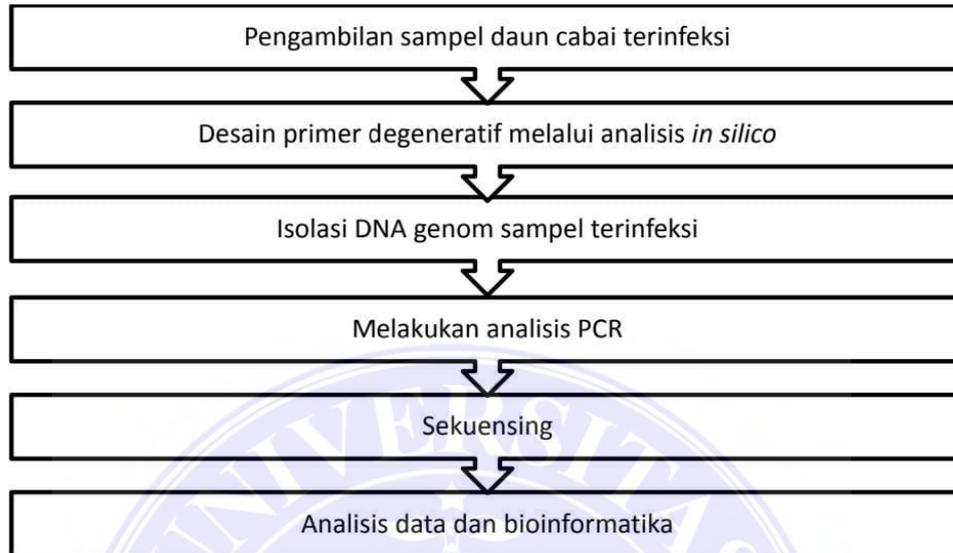
#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari, Kit DNA *Thermo Scientific™ GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit*, *Ethanol 96%*, DNA *marker*, Produk DNA, *Invitrogen SYBR Safe DNA*, *Gel Agarose*, nitrogen cair, *Loading dye*, *Buffer Tris-borate EDTA (TBE)*, *My Taq HS Red Mix 2x*, Akuades, akuabidest dan masing-masing sample daun cabai yang terinfeksi virus PepYLCV dari Kabupaten Karo sebanyak 2 lembar dengan umur tanaman 3 bulan HST. Sedangkan alat-alat yang digunakan adalah PCR konvensional, *microcentrifuge*, *thermomixer*, vortex, mikropipet dan tip, sarung tangan, mortal dan pistil, *Gel Doc, tube*, dan elektroforesis horizontal.

#### 3.3 Metode Penelitian

Adapun metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dan deskriptif. Metode eksperimental dilakukan untuk mengamplifikasi Gen Rep (C1) dari seluruh sampel. Eksperimental yang dilakukan berhubungan dengan perhitungan atau penentuan *annealing* suhu atau konfigurasi program PCR dan kandungan serta volume senyawa yang digunakan saat ekstraksi dan amplifikasi yang akan dilakukan. Metode deskriptif dilakukan untuk menganalisis dan mendiskripsikan hasil dari setiap tahap penelitian. Deskriptif yang dilakukan

untuk menarasikan dan menganalisis hasil visual dari setiap tahap penelitian yang dilaksanakan.



**Gambar 2. Roadmap Penelitian**

### 3.4 Metode Analisis Data Penelitian

Hasil amplifikasi DNA virus PepYLCV kemudian dianalisis dengan menggunakan elektroforesis pada *agarose* dengan konsentrasi 1% pada 100 volt selama 30 menit dalam buffer TBE 1% (pH 8), kemudian pewarnaan gel *agarose* menggunakan 10 mg/ml *Etidium bromida* selama 15 menit lalu di *destaining* dengan akuades selama 3 menit. Pita yang diamplifikasi diamati menggunakan *UV-transimulator* dan dilihat ada tidaknya pita dari gen pepYLCV.

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Pengambilan Sampel

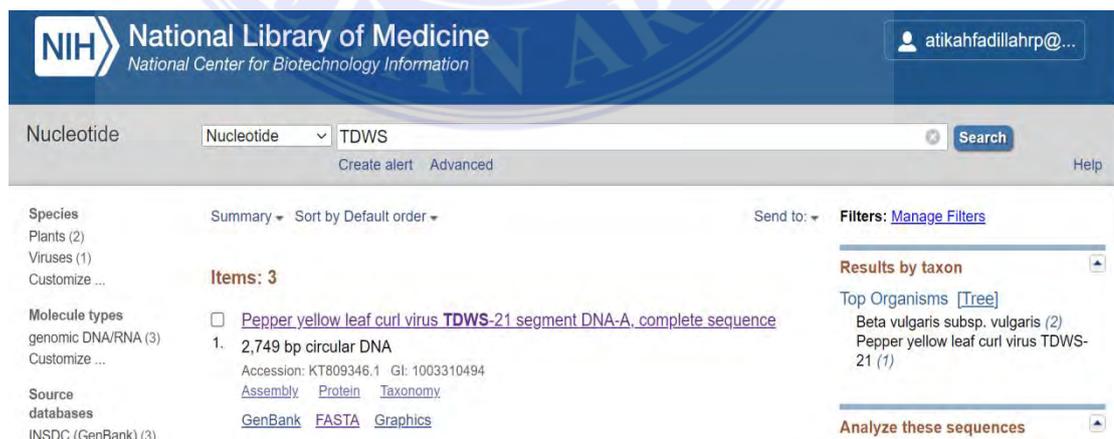
Sampel tanaman yang dianalisis adalah tanaman cabai merah varietas lokal, daun yang digunakan adalah daun muda yang memiliki gejala infeksi virus PepYLCV dengan gejala tulang daun menebal, tepi daun menggulung ke atas, helai daun berwarna kuning cerah dan adanya *vein clearing* yang diambil dari

beberapa pertanaman cabai masyarakat yang ada di Tanah Karo. Sampel diambil secara acak (*random sampling*) sebanyak 2 helai daun cabai dari setiap sampel yang terinfeksi. kemudian dikumpulkan dan disimpan di *freezer* pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk preservasi. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisis.

### 3.5.2 Desain Primer

Desain Primer merupakan langkah awal yang menentukan keberhasilan dalam proses amplifikasi dengan menggunakan metode PCR (Suparman *et al.*, 2016). Spesifisitas primer harus dipertimbangkan sehingga primer dapat mengenali dan menempel pada gen yang diinginkan. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan primer diantaranya adalah panjang primer, bentuk primer, suhu leleh primer (TM), suhu *annealing* primer ( $T_a$ ), kandungan GC dan stabilitas ujung 3'.

Pada tahapan pendesainan primer spesifik menggunakan data yang terdapat pada NCBI (*National for Biotechnology Information*), dilakukan dengan cara pencarian gen TDWS dari situs [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) sebagai cetakan untuk mendesain gen *Pepper yellow leaf curl virus* (kode genebank KT809346.1).



The screenshot shows the NCBI website interface. At the top, there is a search bar with 'Nucleotide' selected and 'TDWS' entered. Below the search bar, there are navigation options like 'Create alert' and 'Advanced'. The main content area displays search results for 'Pepper yellow leaf curl virus TDWS-21 segment DNA-A, complete sequence'. The results list includes the accession number 'KT809346.1' and 'GI: 1003310494'. There are links for 'Assembly', 'Protein', 'Taxonomy', 'GenBank', 'FASTA', and 'Graphics'. On the right side, there are filters and a 'Results by taxon' section showing 'Beta vulgaris subsp. vulgaris (2)' and 'Pepper yellow leaf curl virus TDWS-21 (1)'. The bottom of the screenshot shows a link to 'Analyze these sequences'.

Gambar 3. Tahapan pendesainan primer

## Pepper yellow leaf curl virus TDWS-21 segment DNA-A, complete sequence

GenBank: KT809346.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>KT809346.1 Pepper yellow leaf curl virus TDWS-21 segment DNA-A, complete sequence
TATTACCGAGTGCCTCGAAAATTTTTAAAGTGGTCCCACGACCAACCTTCTGACTGACCAATCACGT
TGCTTTCGCAAAAGCTTAATTAGTGGGTCGCCACTATAAAGATAGGGACCACTCCACTATCCAAAGGAT
GTGGGATCCGCTTATTCATCCCTTTCTGAAACCTACACGGGTTTCGATGATGTTGGCTATCAAGTAT
CTGCAAAAGCTTAGAGGCTACGTATTCTCTGATACGGTGGAGGTAATTCTGAGGGATTTAATTTGTC
TGTTGCGGTGTAATAAATATGCCGAAGCGTTCCATCGATACAGTGTCTGTTGCCAATGCTATAACAC
GCCGAGACTAAACTACGCGAGTCAGTACAGTCTCCCTGCTGCTGCCCACTGCCCAAGGATGTCGTA
CAAACGAAGAGCATGGGTAATCGGCCATGAATCGGAAACCCAGATTCTACAGGGGTCGAAGGAGCAGT
GATGTTCCGCGGGTGTGGAAGGACCTTGAAGGTC CAATCTTTGAACAGCGACATGACATAACACATA
CTGGGAAGGCCCTTTGCGTTCGATGTCACAAGAGGTAATGGTATTACGCACAGAGTTGGTAAAAGATT
CTGTGTGAAATCTGTATATATTATAGGCAAAGTTGGATGGACAAAACATCAAGTGAAGAACCACACT
AACAAATGTCATGTTCTGGCTGGTTCGTGACCGGCACCTGTTACTACGCGTATGGCTTCGGAGAGTTGT
TCAACATGATGATAAATGAACCCAGTACAGCAACTATCAAGAACGATCTTCGTGATCGTGCAGGTGTT
ACACCGTTTTTACGTACAGTCACTGGTGGTCACTACGCAAGCAAGGAACAAGCAATCGTGAAGAGATTT
TTTAGAGTTAAACAACTATGTTGTTTATAATCATCAGGAAGCAGCAAAATAGAAAATCACACTGAAAATG
CATTATGTTGTATAGCATGTACTCATGATCCAATCTGTATACGCGACATGAAAATTCGTATTTA
CTTCTACGACAAATGTAACAAATTAATAAGCTTGAATTTTATTATGTGCAACTGTTTTCGCTACACAGTC
TGTTCAAGTACATCCACAAAACATAAATTTACTGCTCAATTACATGTTTATGACACGACGCCAAAT
TGGACAGATATCTAATTTACATTGTTCTTAAATACTCTTAAGAAATGCCAAATCTGAGGACGTAACGAGT
CCAGATGTGGAAGATTAAGAAACACTTGTGAATCCCAGCGCTTCTCAGGTTGTGGTTGAACTGGATT
TGACTTCCATGTAGTCCATGTCGGTGTGTACCTCTGCTGCTGCTCAGCACCTTGAATAGAGGG
GATTTGGAACCTTCCAAATATAGACGCCATCTGCGCTGAGCTGCAAGTGTACTCCCGGTGCGAAA
ATCCATGCCCATGACAGTGTGACTGAGGTAATATGAGCAACCGCAGTCTAAGTCAATACGCTCCCTGCG
GATTATTTTCTTCCGAATTTGGTGCAGTATCTCTGTGGAACCTGAGTAGAGTGGCCGCTGATGGT
GACCAAGGTCGATTTTTACTGCCAAGATTTCAATGCAATATTTTTGCTCGTCAAGGTAATCTTTA
TATGACAGGTTAGGACAGGATGTCAGAGGAAGATAGTGGAAATTCGCTTTAATTTGAATTTGGCTTTC
CGTACTTAGTGTGCTTTGCGAGTTCGCTGGGCCCCATAAACTCTTAAAATGCTTAGATAGTGGGG
GTCGACGTCATCGATGACGTTGACAGGCGTGTGTTGTATACCTTGGGGCTCAAGTCAAGATGTCGG
CAGAGATAAATTTGGGGGCCAATGACCTAGCCACATGTTTGGCCGACGACTCTCACCTTCTATGA
CAATGCTAATGGGCTCCATGGCCGCGCAGCGGCATC CACATTTTACGACGCCAATTTGCTGATGTT
CTCTGGAACCTTGGTCAAACGACGACGACGGATGTTGAAACAAATGTATCTACAGTTTAGCAATATT
TTATCGAAATTAACACTTAAATTTGGTACTGTAGAACATAGTCTTTCGGAGCAAGCTCTTAAATCAATC
GAAGAGCATCGGACTTACTTCCACAATTTAGGGCTGCGCGTAAACATCGTTTACTGCTGCGGACACC
TCGTGCAGATCGGCCATCTATCTGAAATCTCCCATTCGGTGGTATCACCTCTTGTCCATGTACGCC
TTGACATCGGAACCTTGATTTAGCTCCCTGAATGTTCCGATGGAAATGCTGACCTGGTTGGGGATACCA
GGTCCAAGAATCTGTTGTTGCTGACAGCGTATTTCCCTCGAAATGATGAGCACATGGAAGATGAGGGCT
CCCATCTCGTGAAGTCTCTACAGATCTTGACAAACAGCTTGTGACAGGAGTGTGATGGATTTAAT
TGTTGAGTGCCTTCTTCTTGGTTAGAGAACAGTGGGATATGTTAAGAAATAGTTTTTACTGTAACT
TAAAACGACGTTGGGAGGCATTTGGAGTGTCTGTTTGTATTGGAGACAATCTTCTATCCCATATATT
GGAGACAGGAGACAATATACATAAGTTCTATAAGGGCTTCTAGGTAATTTGTACACCTTGAATGAT
TAAAGCGGCACTCGTATAA
```

Gambar 4. Sekuens gen *pepper yellow leaf curl virus* TDWS-21

Pada sekuen gen TDWS-21 yang diinginkan (Gambar 4.) dipilih untuk didesain, kemudian di klik pick primers, disimpan dalam bentuk FASTA dan Desain primer degeneratif dapat dilakukan dengan menggunakan situs <https://bio.tools/primer3> dan juga dapat dilakukan secara manual dengan terlebih dahulu mencari data sekuensnya di situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Jamsari, 2013). pada pemilihan sekuen di pilih dengan kandungan GC 50-60% dan temperatur yang berdekatan dengan forward dan reverse, kemudian suhu *annealing* untuk primer degeneratif ditentukan dengan menggunakan website <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html>.

Selain pendesainan secara manual, desain primer juga dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa software. Pada pendekatan ini digunakan beberapa software diantaranya Bioedit, Mega X Kedua software ini digunakan dalam pensejajaran sekuen yang dibandingkan. Disamping itu software tersebut digunakan dalam menentukan posisi sekuen yang lestari untuk dijadikan sebagai konsensus. Selain itu juga digunakan dalam menentukan persentase kemiripan beberapa aksesi, sehingga keberhasilan desain primer dapat ditaksir melalui persentase tersebut. Disamping itu juga software tersebut berfungsi dalam pengeditan sekuen sehingga sekuen yang dibandingkan memiliki ukuran yang sama. (Candra, 2016)

### 3.5.3 Isolasi DNA

Isolasi DNA pada sampel daun cabai merah bergejala PepYLCV dilakukan mengikuti protokol *Thermo Scientific™ GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit*. Proses isolasi dilakukan dengan cara setiap sampel daun diberi label dan ditimbang sebanyak 100 mg. Kemudian daun tersebut digerus dan ditambahkan nitrogen cair dengan kecepatan konstan menggunakan mortal dan pistil hingga halus.

Pindahkan jaringan tanaman tersebut ke mikrosentrifuge 1,5 mL. Kemudian ditambahkan 350 µl larutan *Lysis Buffer A* ke mikrosentrifuge tadi. Setelah itu, di vortex selama minimal 20 detik untuk mencampurkan seluruh komponen tadi.

Tambahkan 50 µl *Lysis Buffer B* dan 20 µl RNASE A dan di vortex selama 20 detik. Setelah itu, sampel di inkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C dan di vortex selama berkala. Tambahkan 130 µl *Precipitation Solution* dan di

bolak balik 2-3 kali, kemudian di inkubasi 5 menit di atas es gel dan *centrifuge* selama 5 menit  $\geq 20.000$  xg ( $\geq 14.000$  rpm).

Ambil Supernatant sebanyak 500  $\mu$ l dan pindahkan ke mikrosentrifuge yang baru, kemudian tambahkan 400  $\mu$ l larutan *Binding Solution* dan Etanol 96% sebanyak 400  $\mu$ l lalu di vortex selama 20 detik. Kemudian pindahkan 600-700  $\mu$ l campuran yang tadi ke *spin column*, lalu di *centrifuge* selama 1 menit pada 6.000 x g (8.000 rpm). Apabila ada cairan di larutan paling bawah muncul lagi maka larutan paling bawah di buang kembali. Setelah itu ditambahkan 500  $\mu$ l *Wash Buffer I* ke dalam *column* tadi, kemudian di *centrifuge* selama 1 menit 8.000 x g (10.000 rpm) dan di buang larutan paling bawah. Tambahkan *Wash Buffer II* sebanyak 500  $\mu$ l ke *column* yang tadi, kemudian di *centrifuge* selama 3 menit dengan kecepatan  $\geq 20.000$  x g ( $\geq 14.000$  rpm) . rekomendasi : buang kembali larutan *collection tube*, kemudian tempatkan kembali ke *column* tadi dan di *centrifuge* selama 1 menit pada kecepatan maksimum  $\geq 20.000$  x g ( $\geq 14.000$  rpm).

Buang *collection tube* pindahkan *column* ke mikrosentrifuge 1,5 mL yang baru. Tambahkan 100 $\mu$ l Elution Buffer ke filter *column* yang tadi, lalu di inkubasi selama 5 menit pada suhu ruangan, kemudian di sentrifuge selama 1 menit pada kecepatan 8.000 x g (10.000 rpm). Lakukan langkah kedua dengan menggunakan filter *column* yang tadi lalu tambahkan *Elution Buffer* 100 $\mu$ l dengan menggunakan *collection tube* yang baru agar menghasilkan sebanyak 2 sampel dan setelah itu DNA disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk menghindari kerusakan sehingga dapat digunakan di proses selanjutnya.

Hasil isolasi DNA dilihat kualitas nya dengan menggunakan elektroforesis gel *agarose* 1%. Sampel yang dituang ke sumuran adalah 5  $\mu$ L DNA ditambah 5

$\mu\text{L}$  *loading dye*. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 V selama 30 menit. Analisis data dilakukan berdasarkan elektrofotogram dan di visualisasikan dengan UV-Transiluminator.

### 3.5.4 Analisis PCR

Pada deteksi sampel yang terinfeksi dilakukan dengan menggunakan DNA yang diekstraksi sebelumnya, kemudian diamplifikasi menggunakan program PCR yang telah dijelaskan sebelumnya untuk mendeteksi keberadaan partikel PepYLCV (Jamsari *et al.*, 2015). Tahapan pada PCR terdiri dari 5 tahapan yaitu, *Pra-Denaturasi* DNA, *denaturasi* DNA, *annealing* atau penempelan primer, polimerasi atau *extention* DNA dan polimerase akhir atau *past extention* (Bangola *et al.*, 2014).

**Tabel 1. Komposisi reagen PCR untuk satu kali reaksi**

Komposisi	Volume
DNA Template	2,5 $\mu\text{L}$
Primer <i>C1-TD21BamHi-NT</i>	2,5 $\mu\text{L}$
Primer <i>C1-TD22Smal-N</i>	2,5 $\mu\text{L}$
My Taq HS Red Mix, 2x	12,5 $\mu\text{L}$
Aquabidest	5 $\mu\text{L}$
<b>Total volume</b>	<b>25 <math>\mu\text{L}</math></b>

**Tabel 2. Program PCR untuk amplifikasi DNA**

Tahapan	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Durasi
Pra denaturasi	95	3 menit
Denaturasi	95	15 detik
<i>Annealing</i>	60	30 detik
Exkstensi	72	1 menit
Exkstensi akhir	72	5 menit
<i>Pause</i>	8	$\infty$

} 35 Siklus

Penelitian ini menggunakan gel *agarose* dengan konsentrasi 1%. Hasil PCR di visualisasi dengan menggunakan UV-Transimulator. Reaksi amplifikasi visualisasi dilakukan dengan menyiapkan terlebih dahulu pembuatan gel *agarose* dengan konsentrasi 1% *agarose* sebanyak 1 gram kemudian di tuang ke Erlenmeyer 500 ml, lalu ditambahkan 10 ml TBE. Kemudian campuran tersebut dipanaskan dengan menggunakan hotplate sampai *agarose* larut. Larutan agar di dinginkan hingga suhu 60°C selama 15 menit, lalu ditambahkan *SYBR Safe DNA gel stain* sebanyak 5 µl. selanjutnya, gel *agarose* dituangkan ke dalam cetakan. Gel didiamkan sampai mengeras (35-50 menit). Setelah mengeras, gel diambil dan diletakkan ke dalam tangki elektroforesis yang berisi buffer TBE. Pada sumuran gel elektroforesis yang berada di posisi sebelah kiri dimasukkan 5 µl *marker ladder*, lalu ditambahkan dengan campuran dari 2 µl *loading dye* dan 2,5µl sampel DNA. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 100 volt selama 30 menit.

### 3.5.5 PCR-Sekuensing Gen *Replicase*

*Sekuensing Gen Replicase* dilakukan dengan cara seluruh DNA genom sampel yang positif terinfeksi virus PepYLCV diamplifikasi dengan program PCR kemudian, pita yang diamati divisualisasikan dengan *UV-Transimulator*. Setelah itu ampikon yang telah diperoleh disekuensing dengan menggunakan jasa *sekuensing* IDT/ Genetika Science.

### 3.5.6 Analisa Bioinformatika

Elektrofotogram yang dikirimkan oleh data *sekuensing* dianalisis menggunakan *software* Bioedit 7.2.5. Kemudian data sekuens dianalisis dan

dibandingkan dengan data yang tersedia di database *genebank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). BLAST berfungsi untuk menganalisis spesifisitas dari primer yang telah dirancang, menggunakan data *GeneBank DNA database* (Muhsinin *et al.*, 2018). Konstruksi dari beberapa sekuens yang berhasil diidentifikasi dilakukan dengan menggunakan Software MEGA X. untuk menganalisis filogenetik dari PepYLCV yang dibandingkan dengan sekuens di *database*.

### 3.6 Parameter Penelitian

Langkah pertama untuk melihat virus PePYLCV ini adalah perlu pemetaan varian genetik virus dengan menggunakan pohon filogenetik agar lebih bersifat spesifik. Jadi perlu dilakukan identifikasi sekuens gen *replicase* (Rep) virus pepYLCV dengan menggunakan teknologi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Sekuensing.

## V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Primer spesifik dapat mengamplifikasi gen C1 pada tanaman cabai yang terinfeksi virus PepYLCV pada beberapa lokasi di Kabupaten Karo.
2. Pada penelitian ini telah berhasil dilakukan proses identifikasi kode genetik dari gen C1 (*Replicase*) pada sampel lokasi 3 dengan ukuran gen 1070 bp.
3. Pada sampel lokasi 3 berada di klad yang sama dengan isolat kode aksesori (LC547427.1), isolat (NC008283.1) dan isolat dengan kode aksesori (AB267834.1). Sampel lokasi 3 terpisah dengan PepYLCV yang berada di Sumatera Utara dengan kode aksesori (LC051112.1) yang menandakan adanya perubahan urutan basa nukleotida.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka saran yang dapat disampaikan adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pengujian dengan menggunakan beberapa primer spesifik virus yang menyerang tanaman cabai di Kabupaten Karo untuk mengetahui terkait varian penyakit lain yang menyerang tanaman cabai di Daerah Kabupaten Karo Sumatera Utara, disertai melakukan optimasi kondisi PCR.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ashwathappa, K. V., Venkataravanappa, V., Reddy, C. L., & Reddy, M. K. (2020). Association of Tomato leaf curl New Delhi virus with mosaic and leaf curl disease of Chrysanthemum and its whitefly cryptic species. *Indian Phytopathology*, 73, 533-542.
- Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113-119.
- BPS. (2022). Produksi Tanaman Cabai. <https://www.bps.go.id>
- Borah, P. (2011). Primer Designing for PCR. *Science Vision*, vol. 11(3): 134-136.
- Brown, J. K. (2012). Family geminiviridae. *Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*, 351-373.
- Cania, D., Nova, B., Runifah, T., Hidayati, R., Anwar, A., & Jamsari, J. (2021, May). Molecular diversity of Pepper yellow leaf curl virus (PepYLCV) infecting *Capsicum annum* in West Sumatra. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 741, No. 1, p. 012038). IOP Publishing.
- Czosnek, H., Hariton-Shalev, A., Sobol, I., Gorovits, R., & Ghanim, M. (2017). The incredible journey of begomoviruses in their whitefly vector. *Viruses*, 9(10), 273.
- Desvoyes, B., de Mendoza, A., Ruiz-Trillo, I., & Gutierrez, C. (2014). Novel roles of plant RETINOBLASTOMA-RELATED (RBR) protein in cell proliferation and asymmetric cell division. *Journal of experimental botany*, 65(10), 2657-2666.
- ELMA, N. G. (2018). *KONSTRUKSI PLASMID REKOMBINAN pET-REP DAN EKSPRESI GEN REP (C1) GEMINIVIRUS KE DALAM Escherichia coli STRAIN BL21* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).
- Fadhila, C., Lal, A., Vo, T. T., Ho, P. T., Hidayat, S. H., Lee, J., ... & Lee, S. (2020). The threat of seed-transmissible pepper yellow leaf curl Indonesia virus in chili pepper. *Microbial pathogenesis*, 143, 104132.
- Fraige, K., Travensolo, R. F., & Carrilho, E. (2013). Analysis of seven STRhumanloci for paternity testing by microchip electrophoresis. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 213-221.
- Gaswanto, R., Syukur, M., Hidayat, S. H., & Gunaeni, N. (2016). Identifikasi Gejala Dan Kisaran inang enam isolat Begomovirus Cabai Di Indonesia (symptom and host range identification of six Chilli Begomovirus isolate in Indonesia). *J. Hort*, 26(2), 223-234.
- Green, MR, & Sambrook, J. (2018). Mengoptimalkan Konsentrasi Primer dan Probe untuk Digunakan dalam Pengujian Polymerase Chain Reaction (PCR) Real-Time. *Protokol Cold Spring Harbor*, 2018 (10), pdb.prot095018. <https://doi.org/10.1101/PDB.PROT095018>
- Hanley-Bowdoin, L., Bejarano, E. R., Robertson, D., & Mansoor, S. (2013). Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 777-788.

- Ifan Aulia Candra et al., "Interaksi Tanaman Pasca Infeksi Geminivirus Berdasarkan Perspektif Molekuler," (2020). [Online]. Available: <http://ejournal.unisbablitar.ac.id/index.php/viabel>
- Ifan Aulia Candra. (2016). *KLONNG GEN MAJOR AMPULLATE SPIDROIN 1 (MaSp-1) PADA Nephila sp.(Araneae: Araneidae)* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas).
- Jamsari, J., & Pedri, J. (2013). Complete Nucleotide Sequence of DNA A-like Genome and DNA-B of Monopartite Pepper Yellow Leaf Curl Virus, A Dominant Begomovirus Infecting Capsicum annum in West Sumatera. *Asian Journal of Plant Pathology*, 7(1), 1-14.
- Jamsari, J., Ferita, I., Noverta, A., Husada, E. D., Herberg, F. W., Nellen, W., & Syukriani, L. (2015). A pathogenic isolate of monopartite PepYLCV DNA A-like genome differs significantly in C1 gene and CR sequence, but not in their other genes.
- Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., van Zonneveld, M., Jarret, R., ... & Greene, S. L. (2020). Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (Capsicum L.). *Diversity and Distributions*, 26(2), 209-225.
- Kumar, R. V., Singh, A. K., Singh, A. K., Yadav, T., Basu, S., Kushwaha, N., ... & Chakraborty, S. (2015). Complexity of begomovirus and betasatellite populations associated with chilli leaf curl disease in India. *Journal of General Virology*, 96(10), 3143-3158.
- Kushwaha, N. K., Bhardwaj, M., & Chakraborty, S. (2017). The replication initiator protein of a geminivirus interacts with host monoubiquitination machinery and stimulates transcription of the viral genome. *PLoS pathogens*, 13(8), e1006587.
- Lima, A. T., Sobrinho, R. R., Gonzalez-Aguilera, J., Rocha, C. S., Silva, S. J., Xavier, C. A., & Zerbini, F. M. (2013). Synonymous site variation due to recombination explains higher genetic variability in begomovirus populations infecting non-cultivated hosts. *Journal of General Virology*, 94(2), 418-431.
- Meilin, A. (2014). Hama dan penyakit pada tanaman cabai serta pengendaliannya. *Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jambi*, 26.
- Muhsinin, S., Sulastri, M. M., & Dadih, S. (2018). Deteksi Cepat Gen InvA pada Salmonella spp. dengan Metode PCRm. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5 (3): 23 – 26
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). Molecular evolution and phylogenetics. Oxford university press.
- Nova, B., Wardi, E. S., Rahmi, M., & Zikri, F. (2024). Desain Primer dan Deteksi Gen CHS (Chalcone Synthase) pada Tanaman Gambir (Uncaria gambir (Hunter) Roxb.) Tipe Riau Mancik. *Baselang*, 4(1), 1-12.
- Nugroho, K., Widyajayantie, D., Ishthifaiyyah, S. A., & Apriliani, E. (2021). Pemanfaatan teknologi droplet digital PCR (ddPCR) dalam kegiatan analisis molekuler tanaman. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 28-40.
- Oktafia, R. E., & Badruzsaufari, B. (2021). Analisis Filogenetik Garcinia Spp. Berdasarkan Sekuens Gen Rrna. *Ziraa'ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 46(2), 259-264.

- Pertiwi, N. P. D., Mahardika, I. G. N. K., & Watiniasih, N. L. (2015). Optimasi amplifikasi DNA menggunakan metode PCR (polymerase chain reaction) pada ikan karang anggota famili Pseudochromidae (Dottyback) untuk identifikasi spesies secara molekular. *Jurnal Biologi*, 19(2), 1-5.
- Popp, J. and M. Bauer. (2015). Modern Techniques for Pathogen Detection. Pp. 60-62
- Putri, M. A. (2015). Variasi Genetik Rotan Berdasarkan Penanda DNA Barcode matK, rbcL dan ITS Pada Pangkalan Data GenBank.
- Putri, D. H., & Wahyuni, W. (2019). Primer Design For Identification Of Beta-Carotene Encoding Genes In Cassava. *Serambi Biologi*, 4
- Rahayu, F. N. (2024). Identifikasi jamur endofit sebagai agen pengendali hayati jamur patogen antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) pada apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang).
- Rahmi, Maulidiyah. Aceh. (2018). Deteksi Begomovirus Pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum L.*) Berpenyakit Di Daerah Tanah Karo Sumatera Utara Dengan Teknik PCR. Skripsi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Rasyid, B., Karta, I. W., Sari, N. L. P. E. K., & Putra, I. G. N. D. (2020). Identifikasi GEN Penyandi Protein Transport Sebagai Kandidat Vaksin Subunit Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Wisatawan. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 9(1), 47-57.
- Rifki, M., Sabaruddin, S., & Kesumawati, E. (2024). Identifikasi Karakter Morfologi Tanaman Cabai (*Capsicum annum L.*) F6 Hasil Persilangan Perintis dan Kencana di Dataran Menengah. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 9(1).
- Rodríguez-Negrete, E., Lozano-Durán, R., Piedra-Aguilera, A., Cruzado, L., Bejarano, E. R., & Castillo, A. G. (2013). Geminivirus R ep protein interferes with the plant DNA methylation machinery and suppresses transcriptional gene silencing. *New Phytologist*, 199(2), 464-475.
- Sakata, J. J., Shibuya, Y., Sharma, P., & Ikegami, M. (2008). Strains of a new bipartite begomovirus, pepper yellow leaf curl Indonesia virus, in leaf-curl-diseased tomato and yellow-vein-diseased ageratum in Indonesia. *Archives of virology*, 153, 2307-2313.
- Seprianto, S. (2017). Modul mata kuliah bioinformatika. Program Studi Bioteknologi Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan. Universitas Esa Unggul. 86 Hal. Jakarta.
- Setiawati, W., Budiarto, B. K., & Soetiarso, T. A. (2007). Selektivitas Beberapa Insektisida terhadap Hama Kutu Kebul (*Bemisia tabaci* Genn.) dan Predator *Menochilus sexmaculatus* Fabr. *Jurnal Hortikultura*, 17(2), 819-21.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi konsentrasi primer dan suhu annealing dalam mendeteksi gen leptin pada sapi peranakan ongole (PO) menggunakan polymerase chain reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36-40.

- Sipriyadi, S., Rahman, A. N. A., Darwis, W. D. W., Wibowo, R. H., Sutrawati, M., Hutasoit, C. M., ... & Setiawan, R. (2022). Pencirian Genetik Pepper Yellow Leaf Curl Virus pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum*) di Bengkulu. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 27(4), 574-581.
- Sundari, S., & Priadi, B. (2020). Teknik isolasi dan elektroforesis DNA ikan tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), 87-90.
- Suparman, S. (2016). Desain primer PCR secara in silico untuk amplifikasi gen COI pada kupu-kupu *Papilio ulysses* Linnaeus dari Pulau Bacan. *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*, 7(1), 14-24.
- Syafaruddin & Santoso, T.J. (2011) Optimasi teknik isolasi dan purifikasi DNA yang efisien dan efektif pada kemiri sunan (*Reutalis trisperma* [Blanco] Airy Shaw). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17 (1), 11–17.
- Thermo Scientific. (2016). Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit K0721, K0722.6-3, Diakses 25 juni 2022 dari [https://assets.thermofisher.com/TFSAassets/LSG/manuals/MAN0012663\\_GeneJET\\_Genomic\\_DNA\\_Purification\\_Kit\\_UG.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFSAassets/LSG/manuals/MAN0012663_GeneJET_Genomic_DNA_Purification_Kit_UG.pdf)
- Tortajada-Genaro, L. A. (2022). Design of Oligonucleotides for allele-specific amplification based on PCR and isothermal techniques. *PCR Primer Design*, 35-51.
- Trisno, J., Jamsari, S. H., & Hidayat, S. H. (2021). Infeksi ganda pepper yellow leaf curl virus dan chilli veinal mottle virus dalam menimbulkan penyakit daun kuning keriting cabai. *Jurnal Proteksi Tanaman*, 5(2), 77-88.
- Utomo, D. H., Ichsan, M., & Putri, J. F. (2019). Prinsip Dasar Desain Primer dengan Bioinformatika. Global Science.
- Varma, A., Padh, H., & Shrivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: an art or a science. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 2(3), 386-392.
- Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., & Narayani, I. (2018). Teknik perancangan primer untuk sekuen gen MDR-1 varian 1199 pada sampel buffy coat pasien anak dengan LLA. *Jurnal metamorfosa*, 5(1), 105-111.
- Zerbini, F. M., Briddon, R. W., Idris, A., Martin, D. P., Moriones, E., Navas-Castillo, J., ... & ICTV Report Consortium. (2017). ICTV virus taxonomy profile: Geminiviridae. *Journal of general virology*, 98(2), 131-133.
- Zhao, L., Rosario, K., Breitbart, M., & Duffy, S. (2019). Eukaryotic circular re-encoding single-stranded DNA (CRESS DNA) viruses: ubiquitous viruses with small genomes and a diverse host range. *Advances in virus research*, 103, 71-133.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1. Sterilisasi alat sampel**



**Lampiran 2. Penimbangan**



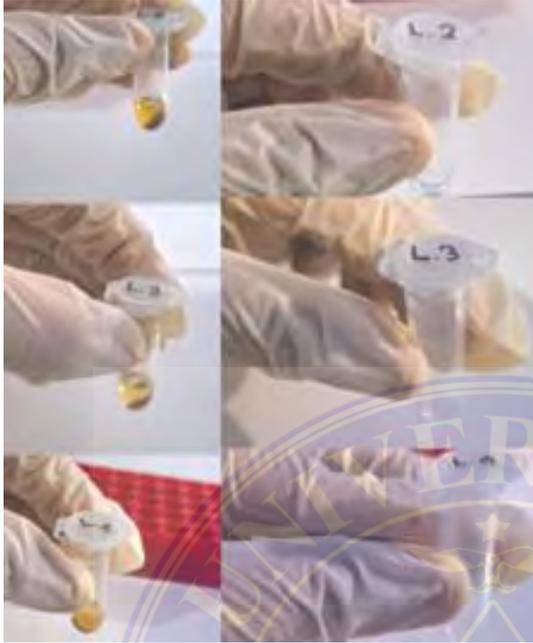
**Lampiran 3. Proses penggerusan daun DNA**



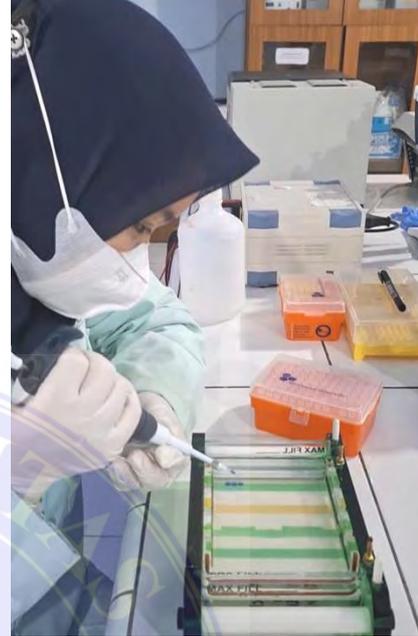
**Lampiran 4. Proses Isolasi**



**Lampiran 5. Hasil isolasi DNA**



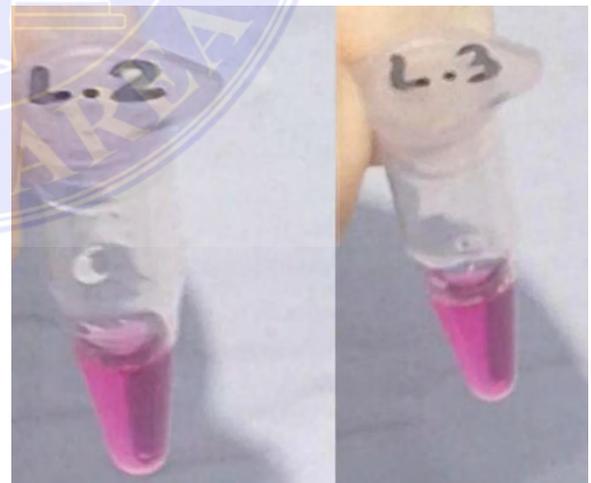
**Lampiran 6. Proses penuangan DNA ke sumuran gel**



**Lampiran 7. Proses visualisasi dengan UV-Transiluminator.**



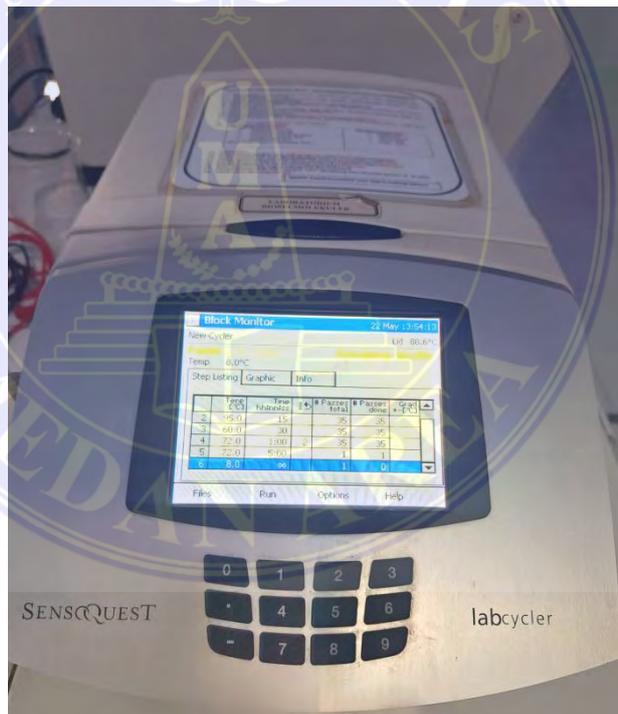
**Lampiran 8. Hasil PCR**



### Lampiran 9. Proses elektroforesis



### Lampiran 10. Proses pengaturan program PCR



## Lampiran 11. Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
Jalan Willem Iskandar Psr. V – Kotak Pos No. 1589 – Medan 20221  
Laman : [www.fmipa.unimed.ac.id](http://www.fmipa.unimed.ac.id)

Nomor : 1505 /UN33.4.1/PG/2024  
Lampiran : -  
Perihal : Izin Penelitian

05 Maret 2024

Kepada Yth.  
Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Medan Area  
di  
Tempat

Sehubungan dengan surat Saudara nomor : 618/FP.2/01.10/II/2024 tanggal 27 Februari 2024 perihal Pengambilan Data / Riset, bersama ini dengan hormat kami sampaikan bahwa mahasiswa berikut ini :

Nama : **Atikah Fadilla Harahap**  
NIM : **208210058**  
Program Studi : **Agroteknologi**

Kami beri izin untuk melaksanakan penelitian atau pengambilan data dalam rangka penyusunan skripsi dengan judul "*Isolasi Gen Replicase (C1) dari Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV) pada Beberapa Varietas Lokal Tanaman Cabai Merah (Capsicum annum L.) di Sumatera Utara*", sepanjang penelitian tersebut tidak mengganggu kegiatan pembelajaran di FMIPA.

Untuk tertib administrasi dan pelaksanaan, kami harapkan mahasiswa peneliti memperhatikan hal-hal berikut :

- 1) Berkoordinasi dengan Ketua Jurusan dan Kepala Laboratorium yang bersesuaian selama pelaksanaan penelitian.
- 2) Mengikuti ketentuan yang berlaku di FMIPA.
- 3) Menyerahkan 1 (satu) *copy* Skripsi ke FMIPA setelah sidang Skripsi.

Demikian hal ini disampaikan, atas perhatian dan kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.



an Dekan  
Wakil Dekan Bidang Akademik

Dr. Jamalun Purba, M.Si.  
NIP. 196412071991031002

Tembusan :

1. Jurusan Biologi FMIPA
2. Kepala Laboratorium Biologi FMIPA
3. Arsip

## Lampiran 12. Surat selesai penelitian



LABORATORIUM BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN

Jl. Willem Iskandar Pasar V Medan Estate Kotak Pos 1589 Medan 20221

### SURAT KETERANGAN

No. 136 /UN33.4.8.3/LB/SE/2024

Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, menerangkan bahwa :

Nama : Atikah Fadilla harahap  
NIM : 208210058  
Program Studi : Agroteknologi  
Judul Penelitian : "Isolasi Gen Replicase (C1) dari Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV) pada Beberapa Varietas Lokal Tanaman Cabai Merah (Capsicum annum L.) di Sumatera Utara"

Benar telah selesai melakukan penelitian sesuai dengan judul penelitian mahasiswa tersebut dari tanggal 6 Maret 2024 s/d 28 Mei 2024.

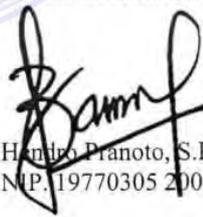
Demikian Surat Keterangan ini dibuat dengan sebenarnya untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



Mengetahui  
Wakil Dekan Bidang Akademik,

Dr. Jamalum Furba, M.Si  
NIP. 19641207 199103 1 002

Medan, 07 Juni 2024  
Kepala Laboratorium,

  
Hendro Pranoto, S.Pd., M.Si  
NIP. 19770305 200112 1 002