



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

IDENTIFIKASI KEBERADAAN GEMINIVIRUS PADA KUTU KEBUL (Bemisiatabaci) MENGGUNAKAN TEKNIK PCR

SKRIPSI



**KAMELIA
07112049**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2015**

**IDENTIFIKASI KEBERADAAN GEMINIVIRUS PADA KUTU
KEBUL (*Bemisia tabaci*) MENGGUNAKAN TEKNIK PCR**

Oleh

**KAMELIA
07112049**

MENYETUJUI:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



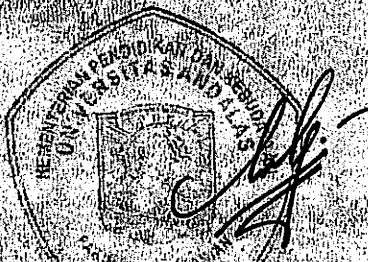
Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP
NIP: 196802021992031003



Dr. Yusniwati, SP, MP
NIP: 197012172000122001

**Dekan Fakultas pertanian
Universitas Andalas**

**Ketua Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**




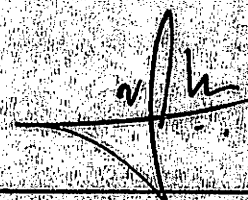


Prof. Ir. Ardi, MSc
NIP : 195312161980031004



Prof. Dr. Ir. Auzar Svarif, MS
NIP : 195908151986031004

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 14 Juli 2014.

No	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1.	Dr. Ir. Hamda Fauza, MP		Ketua
2.	Nurwanita Ekasariputri, SP, Msi		Sekretaris
3.	Dr. Ir. Benni Satria, MP		Anggota
4.	Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP		Anggota
5.	Dr. Yusniwati, SP, MP		Anggota



"Ananda persembahkan karya kecil ini kepada Ibunda Erni dan Ayahanda Arifin, juga kepada adik2 ku Peri, rian, lery, dan ridwan, untuk segala kasih sayang, kerja keras dan doa-doa mulia serta selalu memberikan dukungan, motivasi dan semangat kepada Ananda.

"Terima Kasih sebesar-besarnya ananda sampaikan kepada keluarga besar labor BIOTEKNOLOGI :"

Ibu Renfiyeni, Ibu Epi, Ibu Ida, Ibu Aisyah, Ibu Hasmiwati, Dila,eko, hafid, sulas dan mery

. We are family. I'm glad 'cause have so many Mom and many Sister...and it is not replaceable for me.

Juga tak lupa terima kasih kepada sahabat tersayang kuyak yang cerewet, mimin yang baik hati n cawik tukang galak'an...mkasi ya sahabat ku..dan terspesial buat seseorang yang memberi semangatku yang berinisial D..mkasi bnyak©

BIODATA

Penulis dilahirkan di Padang, Kecamatan Pauh, Sumatera Barat pada tanggal 15 Juni 1989 sebagai anak pertama dari lima orang bersaudara, dari pasangan Arifin dan Erni. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD Negeri 11 Padang dan lulus pada tahun 2001. Sekolah Menengah Pertama ditempuh di SMP14 Padang dan lulus pada tahun 2004. Sekolah Menengah Atas ditempuh di SMA 9 Padang dan lulus pada tahun 2007. Pada tahun 2007 penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas Program Studi Pemuliaan tanaman.

Padang, 27 Juli 2014

Kamelia

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian ini yang berjudul **“Identifikasi Keberadaan Geminivirus Pada Kutu Kebul (*Bemisia tabaci*) Menggunakan Teknik PCR“** yang telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang setulusnya kepada Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari MP dan Dr. Yusniwati SP. MP selaku dosen pembimbing yang telah memberi petunjuk, saran dan pengarahan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan. Ucapan terimakasih kepada Ketua dan Sekretaris Jurusan Budidaya Pertanian, seluruh dosen, karyawan Fakultas Pertanian yang telah memberikan dorongan, semangat dan bantuan yang berharga selama penulis menyelesaikan penelitian ini. Penghormatan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada kedua orang tua yang memberikan kekuatan, do'a dan semangat kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini. Dalam skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga sudilah kiranya para pembaca memberikan kritik dan sarannya demi perbaikan skripsi ini. Terimakasih.

Padang, Juli 2014

Kamelia

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	2
C. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
BAB III. METODE PELAKSANAAN	
A. Waktu dan Tempat	10
B. Bahan dan Alat	10
C. Metode Penelitian.....	10
D. Pelaksanaan Penelitian	10
E. Analisis Data	15
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Kondisi Geografis Lokasi Sampling	16
B. Hasil Isolasi DNA Kutu Kebul	18
C. Hasil Amplifikasi DNA Kutu Kebul	20
BAB V. Kesimpulan dan Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN.....	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Jumlah sampel kutu kebul.....	16
2. Kosentrasi DNA <i>Bemisia tabaci</i> yang digunakan.....	19
3. Hasil amplifikasi DNA <i>Bemisia tabaci</i>	21

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema alur penelitian.....	14
2. Skema isolasi dan amplifikasi DNA kutu kebul menggunakan metode PCR.....	14
3. Kutu kebul <i>Bemisia tabaci</i> yang terdapat pada tanaman cabai.....	16
4. Hasil isolasi DNA <i>Bemisia tabaci</i> pada ketiga lokasi.....	19
5. Hasil PCR DNA <i>Bemisia tabaci</i> pada ketiga lokasi.	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Jadwal kegiatan percobaan mulai bulan Juli sampai September 2013.....	27
2. Protokol isolasi DNA Saghai-Marooof <i>et al</i> (1984).....	28
3. Protokol isolasi DNA Dellaporta (1982)	29
4. Ciri-ciri tanaman cabai terserang <i>Geminivirus</i> dan kutu kebul.....	30

IDENTIFIKASI KEBERADAAN GEMINIVIRUS PADA KUTU KEBUL (*Bemisia tabaci*) MENGGUNAKAN TEKNIK PCR.

ABSTRAK

Penelitian dengan judul "Identifikasi Keberadaan Geminivirus pada Kutu kebul (*Bemisia tabaci*) Menggunakan Teknik PCR", telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas Padang dari bulan Juli sampai September 2013. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan Geminivirus pada DNA kutu kebul. Sampel material isolasi DNA dieksplorasi dari 3 Kecamatan yakni Kecamatan Padang Luar, Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan dengan total sampel berjumlah 30. Sampel DNA diisolasi dengan prosedur Sanghai Maroofet *al* (1984). Sampel positif diuji dengan PCR menggunakan primer spesifik CPC-*forward* (5' - CGA GGC ATT CTT AAT TTT GAA CAG AAT - 3') dan CpV-*reverse* (5' - TAA TTC TAG ATG TCG AAG CGA CCC GCC - 3') dengan produk estimasi adalah 1.600 bp. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa, pada Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan kutu kebul positif mengandung Geminivirus, sedangkan pada Kecamatan Padang Luar kutu kebulnya tidak mengandung Geminivirus.

Kata kunci : *Bemisiatabaci*, *Geminivirus*, *PCR*, *primer CPC-CpV*.

Identification of Geminivirus in Whiteflies (*Bemisia tabaci*) Using PCR

Abstract

Whitefly is a vector by which geminivirus infects chili plants. Symptoms of infection are leaf curl and yellowing, and decreased chili fruit development. PCR was used to detect the presence of geminivirus in whiteflies collected at three different locations (Padang Luar, Pauh and Lubuk Kilangan) between July and September 2013. DNA was extracted using the Saghai-Marooof method. PCR was performed using specific primer CPC-forward (5'-GGC CGA ATT CTT AAT TTT GAA CAG AAT-3') and CpV-reverse (5'-TAA TTC TAG ATG TCG AAG CGA CCC GCC-3'). The expected product size was 1600 bp. Geminivirus was detected in samples from Pauh and Lubuk Kilangan but not in any of the 6 samples from Padang Luar

Keyword : *Bemisia tabaci*, *Geminivirus*, *PCR*, *primer CPC-CpV*

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Cabai (*Capsicum annum* L) merupakan tanaman asli Amerika Tengah, tepatnya Bolivia. Diperkirakan, cabai di Indonesia pertama kali dibawa oleh bangsa Portugis bernama Ferdinand Magellan (1480-1521). Cabai adalah salah satu komoditas sayuran yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia karena memiliki harga jual yang tinggi dan cabai juga bermanfaat untuk kesehatan antara lain sebagai pembersih paru-paru, obat bronkitis, obat masuk angin, influenza, rematik dan asma (Pranjanta, 1999). Selain itu kandungan vitamin C yang cukup tinggi pada cabai dapat memenuhi kebutuhan harian setiap orang. Bahan cabai dapat digunakan sebagai bahan bumbu masak (rempah-rempah), bahan makanan, maupun sebagai bahan mentah.

Permintaan akan cabai selalu meningkat dari waktu ke waktu terutama tanaman cabai merah. Konsumen cabai segar terus meningkat seiring pertumbuhan populasi penduduk Indonesia, karena berbagai produk makanan banyak menggunakannya sebagai bahan baku. Sayangnya nilai ekonomi cabai yang tinggi tidak diikuti dengan peningkatan produktivitasnya. Menurut Badan Pusat Statistik (2013) produktivitas cabai Sumatera Barat tahun 2011 hanya mencapai 7,3 ton/ha. Purwati *et al.*, (2000) menyatakan produktivitas cabai dapat mencapai 12 ton/ha. Penurunan hasil cabai diakibatkan oleh serangan hama dan penyakit yang tinggi (Yudilastari *et al.*, 2009).

Salah satu kendala utama dalam sistem produksi cabai di Indonesia adalah serangan penyakit kuning keriting atau yang dikenal dengan *Pepper Yellow Leaf Curl Disease* (PepYLCD). Menurut Sudiono *et al.*, (2001), virus ini dapat ditularkan melalui teknik penyambungan dan melalui perantara kutu kebul. Secara mekanik virus ini tidak dapat ditularkan melalui biji. Masa inkubasi virus ini antara 15-29 hari setelah inokulasi. Tanaman cabai yang terinfeksi berat tidak dapat menghasilkan bunga dan buah. Bila serangan terjadi pada fase vegetatif jumlah tunas menjadi lebih banyak namun pertumbuhan tanaman kerdil.

Penyakit kuning keriting oleh *Geminivirus* sangat erat kaitannya dengan vektor kutu kebul. Semakin tinggi populasi kutu kebul maka semakin tinggi pula keterjadian penyakit kuning keriting. Kutu kebul dan hubungannya dengan virus kuning cabai ini

bersifat persisten dan kutu kebul memperoleh virus ketika dia mengambil makanan dari tanaman yang telah terinfeksi (akuisisi). Virus yang diambil dari tanaman sakit beredar melalui saluran pencernaan, menembus dinding usus, bersirkulasi dalam cairan tubuh serangga (*haemolymph*) dan selanjutnya kelenjar saliva. Pada saat dia menghisap makanan dari tanaman sehat, virus ikut masuk ke dalam tubuh tanaman bersama dengan cairan dari mulut serangga tersebut. Retensi virus ini di dalam tubuh serangga sangat lama bahkan bisa dipindahkan secara transovarial melalui telur ke tubuh progeni (Eastop, 1977).

Persentase tanaman terinfeksi 6 minggu setelah pindah tanam baru mencapai 5%, sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nuraeni (2007). Aktivitas kutu kebul baru meningkat setelah tanaman mulai berbunga hingga awal pengisian buah. Meningkatnya aktivitas vektor tersebut karena meningkatnya jumlah makanan yang tersedia (Hirano *et al.*, 1993).

Untuk membuktikan kebenaran peran bahwa kutu kebul merupakan vektor penyebab penyebaran *Geminivirus* maka perlu dibuktikan secara empiris. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan mengamplifikasi DNA *Bemisia tabaci* menggunakan teknik PCR. Teknik PCR merupakan suatu teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang pertama kali diperkenalkan oleh Karry Mullis pada pertengahan 1980-an, teknik ini dapat digunakan dalam mengidentifikasi klon-klon target dari suatu pustaka DNA. Prinsip identifikasi dengan menggunakan metode PCR adalah menggabungkan kemampuan hibridisasi yang dalam hal ini antara primer spesifik dengan sisi ikatan (*binding site*) yang terdapat pada DNA dengan kemampuan sintesis pita DNA baru dengan bantuan enzim DNA polymerase. Teknik PCR berkembang sangat cepat untuk mendeteksi berbagai virus tumbuhan. Deteksi virus secara PCR akan memberikan hasil yang akurat, cepat dan sangat peka (Trisno, 2010). Amplifikasi DNA *Bemisia tabaci* menggunakan primer spesifik CPCCvP, jika diperoleh fragmen dengan ukuran sekitar 1600 bp maka dapat dipastikan bahwa kutu kebul merupakan vektor dalam penyebaran penyakit kuning keriting.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis telah melakukan suatu penelitian yang berjudul “Identifikasi Keberadaan *Geminivirus* pada Kutu Kebul (*Bemisia tabaci*) Menggunakan Teknik PCR”.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis ada atau tidaknya DNA *Geminivirus* di dalam tubuh serangga *Bemisia tabaci* yang diduga sebagai vektor penyebaran *Geminivirus* pada pertanaman cabai.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan sumber informasi bagi peneliti selanjutnya, bahwa kutu kebul merupakan vektor penyebab penyakit kuning keriting pada tanaman cabai.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman cabai (*Capsicum annuum* L), merupakan tanaman dataran rendah maupun tinggi. Di Indonesia tanaman ini merupakan komoditi unggulan untuk usaha tani dan komoditi prioritas dalam pengembangan kebijakan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian Indonesia (Renstra Litbang Deptan, 2005).

Berdasarkan taksonominya cabai termasuk kingdom Plantae, divisio Spermatophyta, Sub-divisio Angiospermae, ordo Polemoniales, famili Solanaceae (suku terung-terungan), Genus *Capsicum*, spesies *Capsicum annuum* L. (Tindall, 1983). Genus *Capsicum* berasal dari dunia baru (Pickersgill, 1971) dan lebih dari 100 spesies tanaman ini telah diidentifikasi. Lima spesies diantaranya telah dibudidayakan diantaranya adalah *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. pubescens* (Pickersgill, 1988).

Buah cabai banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan sebagai penyedap dan penambah selera makan. Produksi cabai Indonesia masih rendah apabila dibandingkan dengan potensi produksi yang dapat mencapai 10 ton/Ha (Suandi *et al.*, 1989). Dari tahun ketahun tidak stabil dan mengalami ketidakpastian harga pada tanaman cabai. Rata-rata produksi nasional pada tahun 1992 baru mencapai 3,5 ton/Ha (Ditlinhorti, 1992), dan pada tahun 2003 6,35 ton/Ha (Ditlinhorti, 2003).

Organisme pengganggu tumbuhan (OPT) pada tanaman cabai, selalu menimbulkan masalah dalam budidaya tanaman. Sejalan dengan makin meningkatnya laju pembangunan pertanian, ternyata juga diikuti oleh semakin kompleksnya permasalahan, khususnya di bidang perlindungan tanaman. Hal ini ditandai dengan makin banyaknya permasalahan dalam penanganan OPT. Pada tanaman sayuran, misalnya cabai, bawang merah, kentang, kubis dan tomat, terdapat sekitar 98 jenis OPT yang penting, namun hanya sekitar 28 jenis yang berstatus sebagai hama/penyakit utama. Kehilangan hasil panen pada tanaman sayuran akibat serangan hama sekitar 46-100%, sedangkan oleh serangan penyakit berkisar antara 5-90% (Setiawati *et al.*, 2004).

Banyak faktor yang menyebabkan penurunan produksi cabai, salah satunya adalah serangan hama dan patogen penyebab penyakit. Diantara banyak patogen penyebab penyakit cabai ini, virus merupakan patogen yang banyak menyerang dan sangat merugikan pada tanaman cabai. Virus-virus yang pernah dilaporkan menyerang tanaman cabai di Indonesia, antara lain adalah *Cucumber mosaik virus* (CMP), *Tobacco mosaik virus* (TMV), *Potato virus Y* (PVY), *Tobacco etch virus* (TEV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV), *Potato virus X* (PVX). *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMP) (Semangun, 2001). CMV, ChiVMV merupakan jenis virus yang dapat berasosiasi dengan *Geminivirus* dalam menimbulkan penyakit kuning keriting pada cabai (Trisno, 2007).

Penyakit daun kuning keriting merupakan salah satu penyakit berbahaya yang menyerang tanaman cabai. Penyakit ini disebabkan oleh *Geminivirus* yang tergolong ke dalam genus Begomovirus. *Geminivirus* termasuk dalam virus tanaman yang unik dengan genom berupa DNA utas tunggal dan selalu berada dalam keadaan berpasangan (*geminata*) (Harrison, 1985; Rusli, 1999.). *Geminivirus* termasuk ke dalam kelompok virus yang banyak menimbulkan kerusakan di daerah tropik dan subtropik (Sukanto, 2005). Seperti yang dikemukakan Bisaro, pada tahun 2006 bahwa begomovirus merupakan virus fitopatogenik yang paling membinasakan dan menyebabkan kerugian hasil yang besar sepanjang tahun di seluruh dunia.

Serangan penyakit virus kuning keriting pada tanaman cabai telah menimbulkan kerugian besar bagi petani di daerah-daerah sentra cabai di Pulau Sumatera dan Jawa dalam 5 tahun terakhir ini, karena akibat serangan *Geminivirus* tersebut menurunkan produksi cabai hingga jauh dari produksi normal, yang kemudian berdampak melonjaknya harga cabai di pasaran.

Serangga vektor, seperti makhluk hidup lainnya, perkembangannya dipengaruhi oleh iklim baik secara langsung maupun tidak langsung. Temperatur, kelembaban udara relative dan curah hujan berpengaruh langsung terhadap siklus hidup, lama hidup serta kemampuan diapause serangga. Sebagai contoh hama kutu kebul (*Bemisia tabaci*) mempunyai suhu optimum 32,5°C untuk pertumbuhan populasinya (Bonaro *et al.*, 2007).

Vektor kutu kebul (*Bemisia tabaci*) dapat berkembang dengan baik di daerah persebaran yang luas terutama di daerah-daerah tropik dan subtropik. Di Indonesia kutu kebul juga berkembang dengan baik, mempunyai inang kurang lebih 600 spesies tanaman dari golongan dikotil, monokotil dan bahkan beberapa gulma. Gulma-gulma (*Ageratum conyzoides* / Babadotan dan *Helianthus annuus* l (bunga matahari) merupakan inang alternatif dari virus kuning keriting ini (Sulandari, 2004). Disamping itu Nooraidawati (2005) mengemukakan bahwa satu ekor kutu kebul yang *viruli ferus* sudah dapat menginfeksi dan menimbulkan kerugian. Penyakit-penyakit yang ditimbulkan oleh virus kelompok Gemini ini menjadi kendala yang penting bagi produksi tanaman (Boch, 1982).

Dalam keadaan populasi tinggi, serangan kutu kebul dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Embun madu yang dikeluarkan dapat menimbulkan serangan jamur jelaga berwarna hitam yang terjadi pada tanaman sayuran di Amerika dan Eropa dan menyebabkan kerugian sebesar US \$ 500 juta (Perring *et al.*, 1993).

Di Indonesia, awal mula serangan virus kuning terjadi pada 2003 terbatas di Magelang, Jateng, Sleman, DIY, dan setelah 5 tahun terakhir (2003 – 2007) perkembangan virus kuning makin bertambah hingga 14 provinsi, meliputi NAD, Sumut, Sumbar, Riau, Jambi, Sumsel, Bengkulu, Lampung, Jabar, Jateng, DIY, Jatim, Bali, Kaltim, Sulut, Maluku, Gorontalo, Ijabar. Luas tambah serangan virus kuning cabai pada tahun 2003 seluas 884 ha dan pada tahun 2007 meningkat tajam hingga mencapai 3.015,05 ha, terluas terjadi di Jateng 1.071,6 ha, NAD 404 ha dan Jabar 307 ha.

Geminivirus dapat dikelompokkan berdasarkan jenis tanaman inang, serangga vektor dan struktur genomnya. Kelompok pertama adalah *Geminivirus* yang menyerang tanaman monokotil, yang ditularkan wereng daun dengan struktur genom monopartite. Kelompok kedua merupakan *Geminivirus* yang menginfeksi tanaman dikotil, dan ditularkan oleh wereng daun dengan struktur genom monopartite. Sedangkan kelompok ketiga merupakan *Geminivirus* yang menginfeksi tanaman dikotil dengan vektor kutu kebul dan struktur genomnya bipartite (Matthew, 1991 *cit* Aidawati *et al.*, 2001). Sedangkan berdasarkan

penelitian yang dilakukan Jamsari *et al.*, (2009) ditemukan *Geminivirus* yang menyerang tanaman dikotil dengan genome monopartit.

Geminivirus memiliki dua kelompok genome yaitu monopartit dan bipartite. Sebagian besar dari *Geminivirus* termasuk ke dalam genome bipartite yang terdiri dari komponen DNA-A dan komponen DNA-B. Sedangkan kelompok genome monopartit hanya memiliki genom yang disebut dengan DNA-A. Begomovirus yang memiliki genom monopartit, sebagai pengganti komponen DNA-B ditemukan DNA satelit atau yang juga disebut sebagai DNA- β (beta). Komponen DNA-A pada bipartite mengkode protein yang diperlukan virus dalam kegiatan replikasi dan pembentukan kapsid, sedangkan DNA-B mengkode dua protein penting yang dibutuhkan dalam pergerakan sistemik virus (Saeed, 2006).

Meliansyah (2010), menjelaskan bahwa *Geminivirus* diklasifikasikan ke dalam famili *Geminiviridae* yang dibagi ke dalam tiga genus yaitu *Mastrevirus*, *Curtovirus*, dan *Begomovirus* yang didasarkan atas perbedaan kisaran inang, serangga vektor dan genomnya. *Mastrevirus* adalah *Geminivirus* yang menginfeksi tanaman inang monokotil, ditularkan oleh serangga vektor wereng daun dan memiliki struktur genom monopartit. *Curtovirus*, menginfeksi tanaman dikotil dengan vektor dan struktur genom sama dengan genus pertama. *Begomovirus*, menginfeksi tanaman dikotil dan ditularkan oleh kutu kebul (*B.tabaci*) memiliki struktur genom monopartit atau bipartit. Menurut Van Regenmortel tahun 2000 *cit* Meliansyah (2010) selain ketiga genus tersebut, ada satu genus lainnya yang termasuk ke dalam famili *Geminiviridae* yaitu *Topocuvirus* yang menginfeksi tanaman dikotil, ditularkan oleh wereng pohon dan memiliki genom monopartit.

Begomovirus ditularkan oleh serangga vektor kutu kebul (*Bemisia tabaci*, ordo Hemiptera, family Aleyrodidae) dengan cara persisten sirkulatif (Idris *et al.*, 2001 ; Brown and Czosnek, 2002). Periode makan akuisisi dan inokulasi minimumnya telah banyak dilaporkan untuk banyak begomovirus dan pada umumnya masing-masing adalah 10-60 menit dan 10-35 menit (Idris and Brown, 1998 ; Brown and Czosnek, 2002). Periode laten virus ini di dalam vektornya lebih dari 20 jam. Virus dapat bertahan di dalam vektor selama lebih dari 20 hari, namun tidak sepanjang masa hidup kutu kebul. Virus tersebut dapat dibawa oleh

serangga pada tahapan larva dan dewasa, namun tidak diturunkan kepada keturunannya.

Virus kelompok Gemini yang memiliki vektor *Bemisia tabaci* memiliki daerah penyebaran yang luas terutama di daerah-daerah tropik dan sub tropik tempat *B.tabaci* dapat berkembang dengan baik. Penyakit-penyakit yang ditimbulkan oleh virus kelompok Gemini ini menjadi kendala bagi produksi tanaman (Bock, 1982). Pada beberapa kasus, infeksi dari *Geminivirus* dapat sangat berat, sehingga tanaman tidak dapat tumbuh, contohnya *Africa Cassava Mosaic Geminivirus* (ACMV) dan *tomato yellow leaf curl Geminivirus* (TYLCV) di belahan dunia timur dan *Bean Golden Mosaic Geminivirus* (BGMV) di belahan dunia barat.

Bemisia tabaci pertama kali ditemukan sebagai hama tanaman tembakau pada tahun 1889, di Yunani (Hirano *et al.*, 2007). *B. Tabaci* juga mampu membentuk biotipe baru dan menyebarkan virus (Henneberry & Castel, 2001). Saat ini telah tercatat 24 biotip *B. Tabaci* yang tersebar di dunia (Carabali *et al.*, 2007). Lalan (2008) menyimpulkan bahwa terdapat dua jenis spesies kutu kebul yang ditemukan yaitu *Bemisia tabaci* dan *Trialeurodes vaporariorum* dengan derajat kemiripan inter spesies 62% dan intra spesies *B.tabaci* 96%. Dari prediksi jumlah titik potong enzim restriksi disimpulkan bahwa jenis biotipe *B.tabaci* yang ditemukan tersebut adalah biotipe M.

B. tabaci memiliki penyebaran yang luas di Asia tercatat *B. tabaci* tersebar di 37 negara, Afrika 39 negara, Eropa 26 negara, Amerika 30 negara dan Oceania 14 negara (Deptan, 2007). Serangga hama ini memiliki berbagai sebutan, di Inggris disebut *tobacco whitefly*, *sweet potato whitefly*, *cassava whitefly*, di Prancis disebut *Aleurode du cottonnier*, *Aleurode de la patate douce*, di Jerman disebut *weisse fliege*, *baumwoll-mottenchildlaus*, dan di Italia disebut *Aleirode delle solanacee* (Malumphy, 2007).

Serangan yang disebabkan oleh *Bemisia tabaci* dibagi atas 3 tipe: (1) kerusakan langsung, (2) kerusakan tidak langsung, dan (3) penularan virus (Berlinger, 1986). Kerusakan langsung pada tanaman disebabkan oleh imago dan nimfa yang menghisap cairan daun (Deptan, 2007) mengakibatkan daun tanaman mengalami klorosis, layu, gugur daun dan mati (Mau and Kessing, 2007).

Helai daun yang mengalami *vein clearing* mulai dari daun pucuk berkembang menjadi warna kuning yang jelas, tulang daun menebal dan daun menggulung ke atas (*cupping*). Infeksi lanjut mengakibatkan daun mengecil dan berwarna kuning terang tanaman kerdil dan tidak berubah (Deptan, 2007).

Bemisia tabaci menghasilkan ekskresi berupa madu yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan embun jelaga yang berwarna hitam (*Cladosporium sp.* dan *Alternaria sp.*) menyebabkan proses fotosintesis tidak berjalan dengan normal. Imago betina *Bemisia tabaci* menghasilkan embun jelaga lebih banyak selama siklus hidup mereka (Sanderson, 2007).

Proses makan imago dan nimfa *Bemisia tabaci* sangat berbahaya pada tanaman karena dapat bertindak sebagai vektor virus. *Bemisia tabaci* menularkan *Geminivirus* secara persisten yaitu sekali makan pada tanaman yang mengandung virus, selamanya sampai mati dapat ditularkan (Deptan, 2007).

Akhir-akhir ini untuk karakterisasi maupun deteksi *Geminivirus* tumbuhan banyak dikembangkan teknik molekuler. Teknik PCR merupakan suatu teknik amplifikasi DNA secara *in vitro* yang pertama kali diperkenalkan oleh Karry Mullis pada pertengahan 1980-an. Teknik ini dapat digunakan dalam mengidentifikasi klon-klon target dari suatu pustaka DNA. Prinsip identifikasi dengan menggunakan metode PCR adalah menggabungkan kemampuan hibridisasi yang dalam hal ini antara primer spesifik dengan sisi ikatan (*binding site*) yang terdapat pada DNA dengan kemampuan sintesis pita DNA baru dengan bantuan enzim DNA *polymerase*. Teknik PCR berkembang sangat cepat untuk mendeteksi berbagai virus tumbuhan. Deteksi virus secara PCR akan memberikan hasil yang akurat, cepat dan sangat peka (Trisno, 2010).

Pengujian dengan teknik PCR memerlukan sepasang primer yang spesifik yang akan menginduksi pembentukan dan perbanyakannya rangkaian asam nuklotida atau untai DNA tertentu dengan bantuan enzim *Taq polymerase* dalam mesin PCR atau *thermocycle*. Pemilihan primer yang tepat sangat menentukan keberhasilan identifikasi suatu virus. Pada *Geminivirus*, primer dapat dipilih pada bagian *common region* atau *intergenic region*, gen yang menyandikan protein selubung virus, maupun protein yang berasosiasi dengan proses replikasi virus (Polston dan Anderson, 1997).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Juli sampai September 2013. Lokasi penelitian adalah Laboratorium Bioteknologi Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas. Jadwal kegiatan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kutu kebul di lapangan ddH₂O, dNTP, *Taq polymerase*, BPB, 1x TE, *Ethidium bromide*, agarose, CPC *forward* (5'-GGC CGA ATT CTT AAT TTT GAA CAG AAT-3') dan CpV*reverse* (5'-TAA TTC TAG ATG TCG AAG CGA CCC GCC-3'). Sedangkan peralatan utama yang digunakan yaitu pipet mikro ukuran volume 0,2-1000 µl, elektroforesis, lemari es, mesin PCR (Biometra-Jerman), *microwave*, dan timbangan digital, *ependorf* 1,5 ml, *ependorf* 0.2 ml, *mikrotittle plate*, cetakan gel.

C. Metode Penelitian

Metode yang digunakan yaitu metode deskriptif. Tahapan penelitian isolasi DNA terdiri dari koleksi kutu kebul di lapangan dan amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan primer CPCCpV. Untuk lebih detail skema alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Isolasi DNA *Bemisia tabaci*

Kutu kebul yang sudah diambil di lapangan, yaitu pada Kecamatan Padang Luar, Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan dengan jumlah sampel 30 ekor, pengambilan sampel dilakukan secara acak. Teknik pengambilan sampel kutu kebul adalah dimana daun yang terserang penyakit *Geminivirus* dengan ciri daun menguning dan keriting atau buah yang kerdil lalu daun

disungkap kemudian dipatahkan, kutu kebul yang hinggap dibawah permukaan daun lalu masuk ke dalam plastik tersebut.

Setelah pengambilan sampel di lapangan kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk di isolasi. Tahap pertama sampel ditempatkan pada tabung eppendorf 1,5 ml dan ditambahkan kedalamnya 125 μ l *buffer* ekstraksi CTAB (CTAB 2%, NaCl 1,4 M, tris-HCL 100 mM, EDTA 20 mM dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP-40). Serangga digerus dengan pestel mikro plastik, divorteks dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 125 μ l kloroform : *isoamil alcohol* (24:1) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit sebelum disentrifugasi pada 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan pada tabung *ependorf* 1,5 ml yang baru dan steril dan ditambahkan ke dalamnya 10 μ l NaOAC (sodium acetat) 3 M (pH 5,2) dan 250 μ l etanol absolut dingin. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu -20°C. Supernatan dibuang setelah sentrifugasi pada kecepatan 11500 rpm selama 15 menit. Pelet dicuci dengan 200 μ l etanol 70% (-20°C) dan disentrifugasi pada 11500 rpm selama 2 menit. Etanol dibuang kemudian dikeringkan selama 10 menit pada suhu ruang. Pelet diresuspensi dengan 10 μ l H₂O steril.

2. Amplifikasi Isolat DNA *Bemisia tabaci* untuk Mendeteksi Keberadaan *Geminivirus*

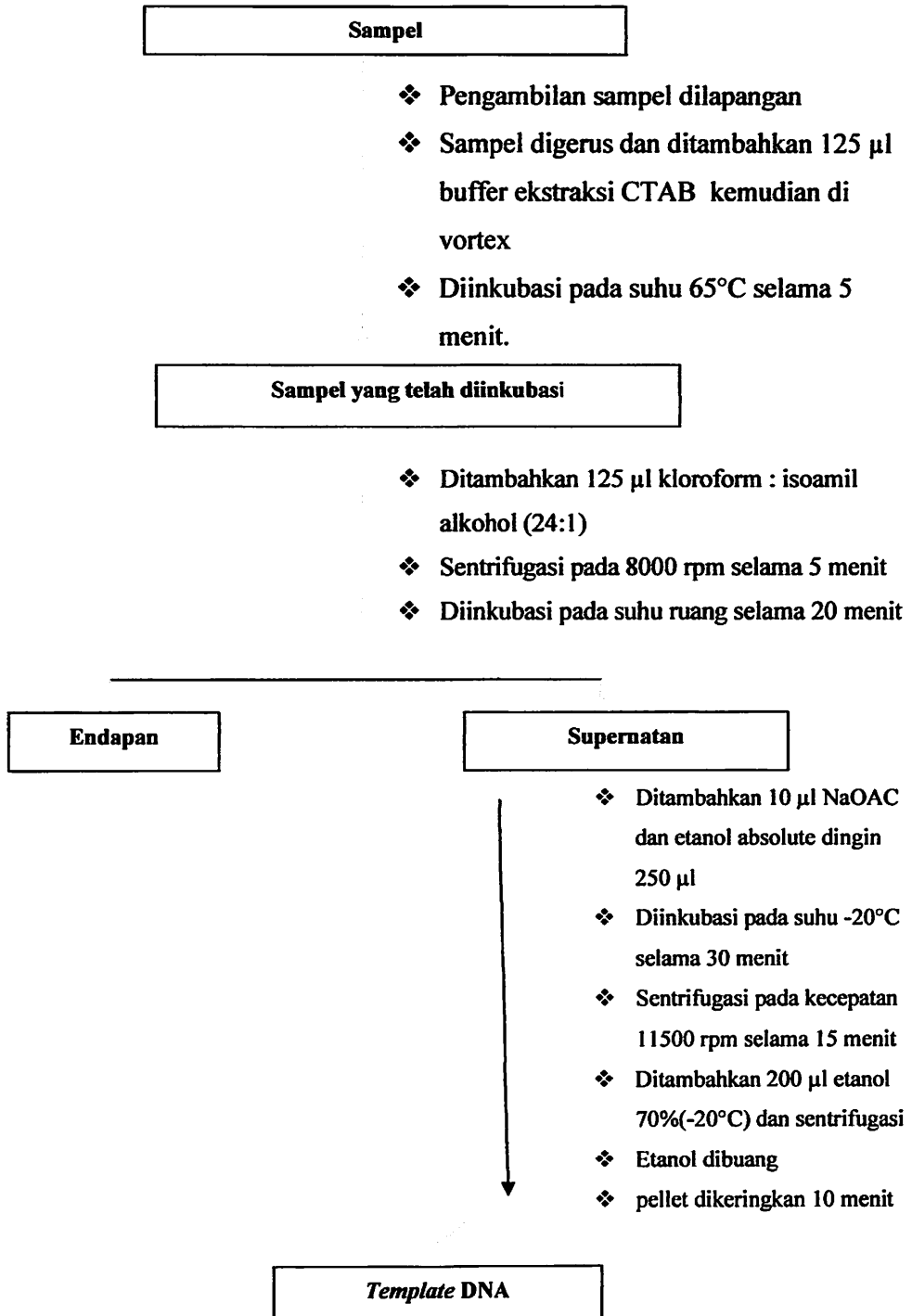
Deteksi keberadaan *Geminivirus* dalam DNA *Bemisia tabaci* adalah dengan menggunakan primer CPC *forward* yang dikombinasikan dengan CpV *reverse*. Proses perbanyakan DNA spesifik dilakukan dengan menggunakan komposisi *cocktail* :

DNA template	: 2 μ l
Primer	: 2 μ l
dNTP	: 2,5 μ l
Taq Polymerase	: 1 μ l
Taq buffer	: 2,5 μ l
ddH ₂ O	: 15 μ l

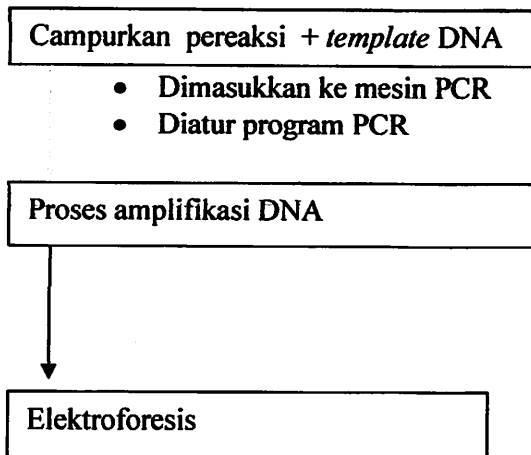
Setelah *Cocktail* selesai disiapkan maka proses selanjutnya adalah merunning *cocktail* tersebut menggunakan mesin PCR (Biometra/Jerman) dan

Dengan demikian akan bisa diamati kualitas DNA dengan pembanding λ DNA dan kuantitas DNA hasil amplifikasi dengan menggunakan pembanding *size marker* 1 kb *ladder*.

4. Skema alur penelitian

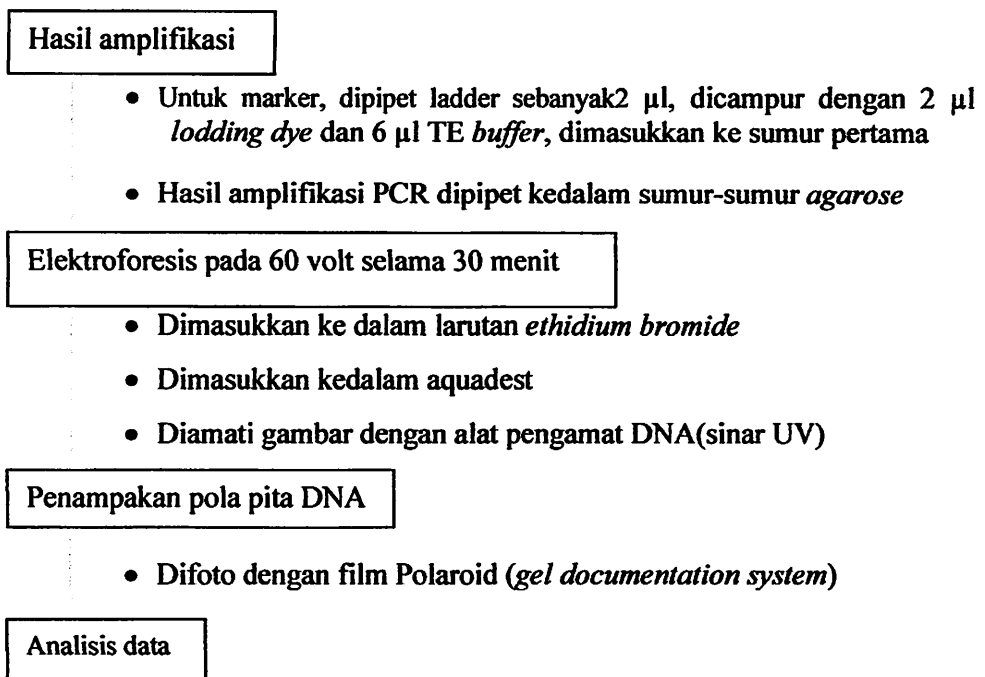


Skema isolasi DNA kutu kebul



Gambar 1. Skema alur penelitian

Skema amplifikasi DNA kutu kebul



Gambar 2. Skema isolasi dan amplifikasi DNA kutu kebul menggunakan metode PCR

5. Analisis data

Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif berupa foto gel. Pada foto dari alat *gel documentation system* dapat dilihat pola pemisahan pita-pita DNA yang ukurannya diketahui melalui perbandingan dengan ukuran pita-pita standar pada marker (*DNA ladder*), dimana ukuran pita DNA untuk *Geminivirus* adalah 1600 bp (Jamsari, *et al.*, 2009). Sampel positif mengandung *Geminivirus* jika terdapat pada ukuran pita DNA tersebut begitu juga sebaliknya.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kondisi Geografis Lokasi Sampling

Lokasi sampling yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari 3 Kecamatan yang berbeda dan dengan kondisi geografis yang berbeda-beda. Geografis dataran tinggi diwakili oleh Kecamatan Padang Luar, geografis dataran rendah diwakili oleh Kecamatan Pauh dan Lubuk Kilangan. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 sampel.

Tabel 1. Jumlah sampel kutu kebul

No	Kelompok Geografis	Kecamatan	Jumlah sampel
1	Dataran tinggi (>1000 m dpl)	Padang luar	6
2	Dataran rendah (<300 m dpl)	Pauh	15
3	Dataran rendah (<300 m dpl)	Lubuk kilangan	10
Jumlah			31

Sampel kutu kebul yang telah diambil, diamati morfologinya. Gambar 3 memperlihatkan penampilan *Bemisia tabaci* pada daun tanaman cabai yang terserang di Kecamatan Pauh.



Gambar 3. Kutu kebul (*Bemisia tabaci*) yang terdapat pada tanaman cabai

Gambar 3 adalah kutu kebul pada Kecamatan Pauh. Gambar menunjukkan struktur lengkap tubuh kutu kebul, berbentuk oval, agak pipih, berwarna hijau keputih-putihan sampai kekuning-kuningan. Pupa terdapat pada permukaan bawah daun. Serangga dewasa berukuran kecil, berwarna putih dan mudah

diamati karena pada bagian permukaan bawah daun ditutupi lapisan lilin yang bertepung. Ukuran tubuhnya berkisar 1-1,5 mm dan siklus hidupnya antara 7-21 hari. Serangga dewasa biasanya berkelompok dalam jumlah yang banyak. Bila tanaman tersentuh, serangga tersebut akan beterbangan seperti kabut atau kebul putih.

Biasanya pada tiap daun cabai tersebut terdapat 3-5 kutu kebul, waktu pengambilan yang tepat adalah pagi hari karena kutu kebul lebih banyak hinggap dan aktif di pagi hari sampai jam 10 pagi. Kutu kebul sendiri hidup secara berkelompok dan hidup pada tanaman inang untuk mengambil sari makanan di daun. Infeksi kutu kebul meliputi mengisap sari makanan tanaman inang melalui alat berupa *stylet* yang terletak dibagian mulutnya dan peletakan telur yang juga mengisap tanaman inangnya. Daur hidup dari kutu kebul meliputi telur, instar (sebanyak empat tahapan) dan dewasa yang kesemua itu dilakukan pada tanaman inangnya.

Kutu kebul termasuk serangga pengisap daun yang dapat menyerang lebih dari 600 spesies tumbuhan, dan merupakan hama utama pada tanaman tomat, cabai dan kedelai (Oliveira *et al.*, 2001). Hoddle (2003) mengatakan bahwa kerusakan yang diakibatkan serangan kutu kebul dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Kerusakan secara langsung terjadi jika kutu kebul menusuk dan mengisap cairan daun tanaman inang yang mengakibatkan tanaman inang mengalami klorosis, mudah mengering, gugur sebelum waktunya dan akhirnya tanaman mati. Kerusakan secara tidak langsung terjadi karena akumulasi embun madu yang diproduksi oleh nimfa maupun imagonya. Embun madu merupakan media bagi pertumbuhan cendawan jelaga.

Persentase tanaman terinfeksi 6 minggu setelah pindah tanam baru mencapai 5%, sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nur Aeni (2007). Aktivitas kutu kebul baru meningkat setelah tanaman mulai berbunga hingga awal pengisian buah. Meningkatnya aktivitas vektor tersebut karena meningkatnya jumlah makanan yang tersedia (Hirano *et al.*, 1993).

Setelah virus masuk ke dalam tanaman, maka hal pertama yang akan dilakukan adalah mereplikasi dirinya sehingga jumlah mereka mencukupi untuk menguasai tubuh tanaman. Menurut Te'csi, *et al.* (1996) virus yang sudah dapat masuk ke dalam tubuh tanaman akan melakukan replikasi dan pembentukan protein virus. Pada saat proses ini terjadi, tanaman akan mengalami peningkatan aktivitas protein anaplerotik, peningkatan laju fotosintesis dan peningkatan

kandungan pati. Setelah laju replikasi menurun maka laju fotosintesis pun akan menurun.

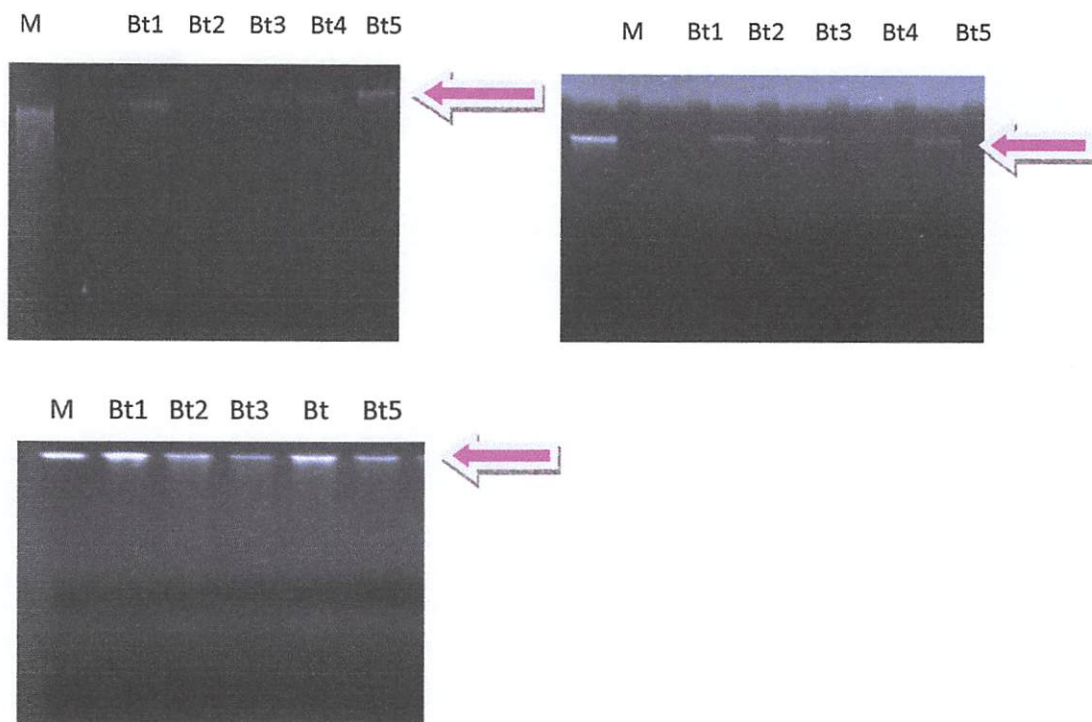
Fase selanjutnya virus bergerak dari sel ke sel yang lain hingga mencapai floem sehingga dapat bergerak cepat ke dalam daun-daun muda yang masih berkembang. Disinilah biasanya gejala daun berubah menjadi kuning, mengeriting dan menjadi kerdil akan tampak, sehingga penyakit kuning cabai ini sering juga disebut sebagai jambul amerika karena yang menguning hanya daun bagian atas atau daun muda saja (Dawson, 1999).

B. Hasil Isolasi DNA Kutu kebul

Total sampel yang diisolasi berjumlah 30 kutu kebul. Waktu yang diperlukan untuk mengisolasi \pm dua minggu. DNA kutu kebul yang telah diambil dari 3 lokasi yang berbeda dilakukan isolasi menggunakan metoda (Saghai Maroof *et al.*, 1984). Pada awalnya menggunakan metoda isolasi Dellaporta (1983). Namun hasil yang diperoleh sangat sedikit dibandingkan isolasi DNA menggunakan metoda Saghai Maroof (1984). Berdasarkan hal tersebut maka metoda yang digunakan selanjutnya adalah metoda Saghai Maroof (1984).

Semua isolat yang didapatkan dianalisis dengan elektroforesis untuk mengetahui kuantitas dan kualitas DNA yang terkandung dari 31 isolat. Pembanding yang digunakan untuk analisis kualitas dan kuantitas DNA adalah λ DNA 50 ng/ μ l. Hasil yang diperoleh pun berbeda beda tiap sampelnya. Hasil tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.

Gambar 4, menunjukkan isolasi DNA *Bemisia tabaci* berhasil dilakukan, namun konsentrasi yang didapat berbeda beda karena tergantung jumlah DNA kutu kebul tersebut. Dari 10 sampel yang digunakan, 5 diantaranya memperlihatkan adanya DNA pada lokasi Kecamatan Padang Luar. Lalu pada lokasi Kecamatan Pauh, keseluruhan sampel yakni 15 sampel terdapat DNA dan hal yang sama juga terjadi pada lokasi Kecamatan Lubuk Kilangan. Dimana 10 sampel keseluruhan menghasilkan DNA yang sejajar dengan marker yakni λ DNA. Secara keseluruhan hasil isolasi yang optimal terdapat pada lokasi III (Kecamatan Lubuk Kilangan) karena ketebalan fragment DNA yang lebih tebal dibandingkan lokasi lainnya.



Gambar 4. Hasil isolasi DNA *Bemisia tabaci* pada ketiga lokasi. A) Lokasi sampel di Kecamatan Padang Luar. B) Lokasi sampel di Kecamatan Pauh dan C) Lokasi sampel di Kecamatan Lubuk Kilangan. M= Marker (λ DNA 50 ng/ μ l)

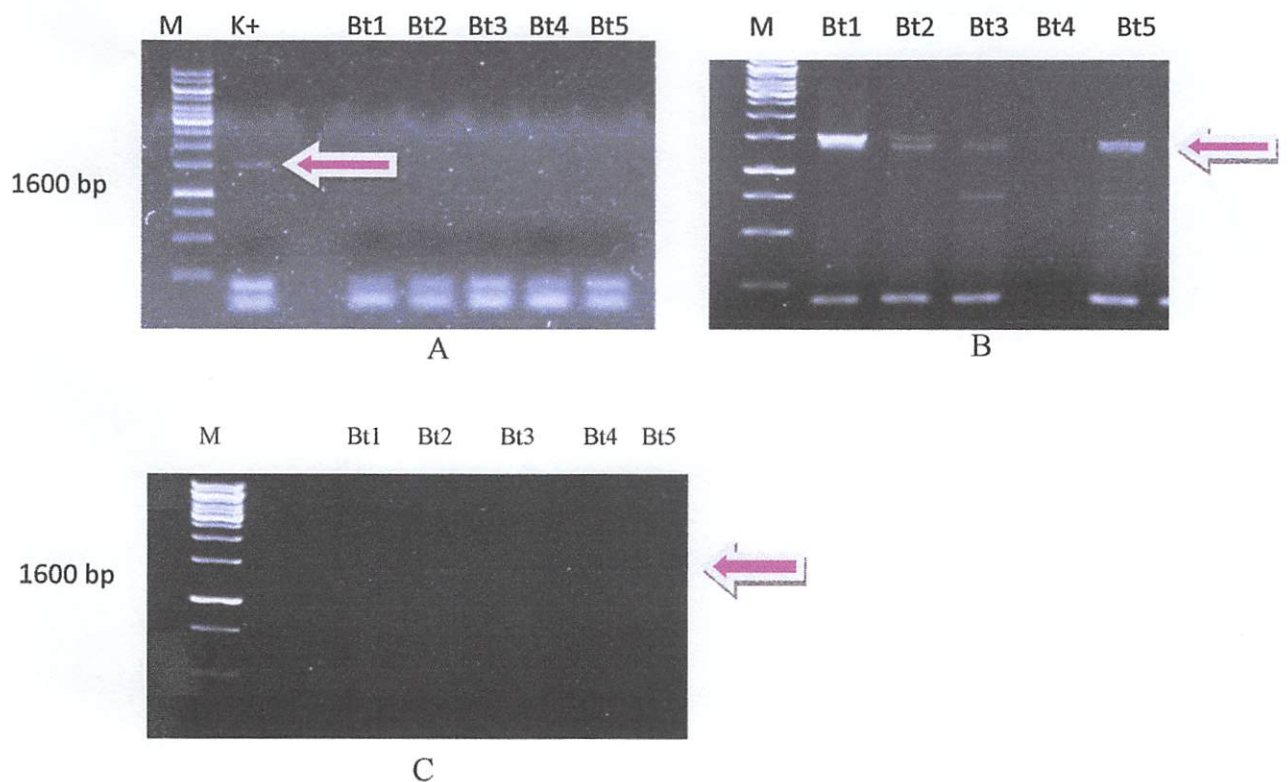
Tabel 2. Konsentrasi DNA *Bemisia tabaci* yang diperoleh dari tiga lokasi

No	Lokasi I Padang Luar		Lokasi II Pauh		Lokasi III Lubuk Kilangan	
	Sampe l	konsentr asi (ng/ μ l)	Samp el	konsentras i (ng/ μ l)	Samp el	Konsentrasi (ng/ μ l)
1	Bt1	33,4	Bt1	8,4	Bt1	100
2	Bt2	-	Bt2	16,7	Bt2	16,7
3	Bt3	16,7	Bt3	16,7	Bt3	16,7
4	Bt4	16,7	Bt4	8,4	Bt4	66,7
5	Bt5	33,4	Bt5	16,7	Bt5	16,7
6	Bt6	33,4	Bt6	16,7	Bt6	8,4
7			Bt7	8,4	Bt7	8,4
8			Bt8	16,7	Bt8	33,4
9			Bt9	8,4	Bt9	8,4
10			Bt10	8,4	Bt10	16,7
11			Bt11	16,7		
12			Bt12	16,7		
13			Bt13	16,7		
14			Bt14	8,4		
15			Bt15	8,4		

Tabel 2 menunjukkan pada Kecamatan Padang Luar konsentrasi paling tinggi terdapat pada sampel Bt1, Bt4, Bt5 dan yang terendah pada Bt3, sedangkan Bt2 tidak ada produk DNANYa. Konsentrasi DNA tertinggi dari lokasi Pauh adalah sampel dengan kode Bt2, Bt3, Bt5, dan Bt1, sedangkan Bt4 tidak ada produk DNANYa. Lokasi terakhir, yaitu di Kecamatan Lubuk Kilangan. Pada lokasi ini hasil isolasinya sangat bagus dibandingkan Kecamatan Padang Luar dan Kecamatan Pauh, hal itu terlihat pada Gambar 5, semua isolasi memiliki produk DNANYa.

C. Hasil Amplifikasi DNA

Hasil isolasi DNA *Geminivirus* dari 3 lokasi untuk identifikasi *Geminivirus* yang diuji ditampilkan pada Gambar 5. Proses amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik untuk mengidentifikasi keberadaan DNA *Geminivirus* pada kutu kebul.



Gambar 5. Hasil PCR DNA *Bemisia tabaci* pada ketiga lokasi. A) Lokasi sampel di Kecamatan Padang Luar. B) Lokasi sampel di Kecamatan Pauh dan C) Lokasi sampel di Kecamatan Lubuk Kilangan. M = Marker (1Kb Ladder) K+ = DNA *Geminivirus*

Hasil amplifikasi dari DNA lokasi I terlihat bahwa tidak ada produk yang mengandung *Geminivirus*, sedangkan kontrol positif yang dipakai hasil penelitian dari Pedri (2008) menghasilkan produk. Dengan dasar tersebut dapat disimpulkan bahwa, kutu kebul pada Lokasi Kecamatan Padang luar tidak mengandung *Geminivirus*.

Proses amplifikasi pada lokasi II yang optimal terlihat pada kode isolat Bt1, Bt2, Bt3 dan Bt5, Hal ini dapat dilihat pada keberadaan fragmen DNA hasil amplifikasi. Suhu *annealing* mempengaruhi terhadap optimalisasi proses amplifikasi. Suhu *annealing* yang terlalu rendah akan menyebabkan terjadinya ikatan non spesifik sehingga dihasilkan produk yang tidak dikehendaki. Sedangkan jika suhu *annealing* terlalu tinggi menyebabkan primer tidak dapat berikatan dengan DNA template sehingga tidak ada produk yang dihasilkan seperti yang terlihat pada Bt4 (Jamsari. 2007).

Hasil amplifikasi pada lokasi III mendapatkan produk sangat tipis yaitu pada isolate Bt1 dan Bt2, hasilnya cukup bagus tapi konsentrasi DNA *Geminivirus* sangat rendah hal itu terlihat dari ketebalan fragment DNANYA. Berdasarkan hasil analisis teknik PCR diketahui bahwa lokasi sampel di Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan positif mengandung *Geminivirus*.

Tabel 3. Hasil amplifikasi DNA *Bemisia tabaci*

No.	Lokasi	Jumlah sampel	Produk PCR
1	Kec. Padang Luar	6	Tidak ada
2	Kec. Pauh	15	Ada
3	Kec. Lubuk Kilangan	10	Ada

Berdasarkan hasil pada Tabel 2, terlihat bahwa sampel kutu kebul yang berasal dari Kecamatan Padang Luar tidak menghasilkan fragmen DNA. Sedangkan di kedua lokasi lainnya yakni di Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan keseluruhan sampel menghasilkan fragment DNA. Penyebaran penyakit kuning pada tanaman cabai tidak terlepas dari penyebaran penyakit ini yaitu *Geminivirus*. Penyebaran *Geminivirus* berkaitan dengan jumlah populasi kutu kebul yang merupakan vektor dari virus ini.

Peningkatan jumlah populasi kutu kebul akan meningkatkan penyebaran *Geminivirus* yang diikuti oleh meningkatnya keterjadian penyakit kuning. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Suhardjo (2001), keterjadian penyakit kuning yang disebabkan oleh *Geminivirus* mengalami peningkatan pada musim kemarau (curah hujan rendah) biasanya pada dataran rendah curah hujannya sedikit dan mengakibatkan populasi kutu kebul meningkat. Hal ini sesuai dengan pendapat Sudiono dan Purnomo (2009) yang menyatakan bahwa kutu kebul adaptif pada kondisi dataran rendah yang curah hujannya rendah.

Pada musim kemarau atau curah hujan rendah populasi *Bemisia tabaci* meningkat dan pada musim dingin populasi *Bemisia tabaci* rendah (menurun), hal ini menyimpulkan bahwa pengendalian kutu kebul di musim dingin (Februari-April) dan musim semi dapat memainkan peran penting untuk pengendalian hama kutu kebul (Lin *et al.*, 2007).

Pengaruh keadaan lingkungan terhadap penyebaran virus sebenarnya lebih tertuju kepada inangnya, mengingat virus tidak dapat mengadakan metabolisme sendiri sehingga kurang dapat dimodifikasi. Kondisi lingkungan tempat tanaman tumbuh sebelum inokulasi, saat inokulasi dan selama perkembangan penyebaran penyakit tergantung pada kondisi lingkungan. Hasil yang didapat pada penelitian ini menunjukkan bahwa makin tinggi curah hujan maka populasi kutu kebul makin menurun, sehingga dari hasil tersebut dapat diambil suatu rekomendasi yang dimanfaatkan oleh petani untuk mengatasi permasalahan yang menimbulkan kerugian pada tanaman cabai.

Upaya pengendalian yang dapat dilakukan dengan memberikan anjuran kepada petani bahwa pada musim penghujan merupakan waktu yang cocok untuk menanam cabai, sehingga kerugian produksi cabai yang diakibatkan penyakit kuning keriting dapat ditekan seminimal mungkin, karena pada musim penghujan vektor penyebab penyakit kuning dalam populasi yang rendah. Narajo *et al.*, (2005) melaporkan bahwa kematian kutu kebul dipengaruhi oleh curah hujan, angin dan kepadatan predator.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa, pada Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan kutu kebulnya positif mengandung *Geminivirus*, sedangkan pada Kecamatan Padang luar kutu kebulnya tidak mengandung *Geminivirus*. Hasil penelitian ini memperkuat dugaan bahwa kutu kebul merupakan vektor penularan *Geminivirus* pada tanaman cabai.

B. Saran

Untuk peneliti kedepannya, perlu dilakukan studi tentang kondisi optimum untuk perkembangan populasi *Bemisia tabaci* terutama pada dataran rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidawati, N.Yusriadi, S. H. Hidayat. 2001. Kisaran Inang Virus Gemini Asal Tanaman Cabai dari Guntung Payung Kalimantan Selatan. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia, Bogor, 22-24 Agustus 2001.
- Badan Pusat Statistik, 2010. Luas panen, produksi dan produktivitas cabai tahun 2009. <http://www.bps.go.id>. Diakses 28n September 2010.
- Bock, K.R. 1982. Geminivirus disease. *Plant Dis* 66: 266-270.
- Bonaro, O., A. Lurette, C.Vidal, and F. Jacques. 2007. *Modelling Temperature – dependent Bionomics of Bemisia tabaci (Q- biotype)*. *Physiological Entomology* 32 : 50-55.
- Dawson W., 1999. *Tobacco Mosaic Virus Virulence and Avirulence*. *Phil. Trans.* vol 354, p.645-651. The Royal Society, London.
- Delaporta, S. L, Wood J, Hicks J. B. 1983. Aplaund DNA minipreparation : Version II. *Plant Mol Biol Reprtr* 1(4) : 19 – 21.
- Eastop, V. F. 1977. *World Wide Importance of Aphids as Viruses Vectors*. In *Aphids as Viruse Vectors*. Kerry, F. H., Karl, M. Page 4-44. Academic Press. New York.
- Gilbertson, R. L, Hidayat S. H, Martinez R. T, Leong S. A, Faria J. C, Morale F, Maxwell D. P. 1991. *Differentiation of bean infecting geminiviruses by nucleic acid hybridization probes and aspects of bean golden mosaic in Brazil*.
- Harrison, B. D. 1985. *Advances in Gemini virus research Annu Rev of Phytopathol*.
- Hidayat, P., Dewi S., Sri H. 2004. Kajian Ciri Morfologi dan Molekuler Kutukebul (Homopetra : Aleyrodidae) Sebagai Dasar Pengendalian Penyakit Geminivirus pada Tanaman Sayuran Jurnal Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor. <http://web.ipb.ac.id/Elppm/index.php?view=download/index>.
- Hirano, K., E. Budiyanto, dan S. Winarni. 1993. *Biologocal Characteristics and Forecasting Outbreaks of The Whitefly, Bemisia tabaci, a vector of Virus Disease in Soybean Fields*. Food Fertilizer and Technology Center. <Http://www.ffc.agnet.org/library/abstract/tb135.html>.
- Idris AM. Brown JK. 1989. *Sinaloa tomato leaf curl geminivirus : biological and molecular evidence for a new subgroup III virus*. *Phytopathology* 88: 648-

- 657- X (azarowitz SG. 1987. The molecular characterization of geminiviruses. *Plat molec bio report* 4(4): 177-192.
- Jamsari. 2007. *Bioteknologi Pemula Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler*. Unri Press, Pekanbaru.
- Jamsari, 2009. *Pengembangan Metode Preparasi DNA Cepat, Hibridisasi DNA Genomik Produk PCR dari Visualisasi untuk Mendukung system Deteksi Dini Pathogen pada Pertanian Cabai*. Laporan Penelitian.
- Jamsari, I. Suliansyah., I. Manti., Nasrun, J. Trisno. 2008. *Keragaman Geminivirus pada Cabai, Serangga Vektor (*Bemisia tabaci*) (*Hemiptera; Aleyrodidae*) dan Inang Alternatifnya*. Laporan Perkembangan Penelitian Tahun Pertama Bidang KKP3T Balai Penelitian dan Perkembangan Pertanian Universitas Andalas Padang.
- Lalan, 2008. *Penggunaan Data Sekuens DNA Dalam Penentuan Variasi dan Kekerabatan Genetik Kutu Kebul (Homopter; Aleyrodidae)*.
- Lin., Y. Zhang, & Y. Guo. 2007. *Overwintering and population and population dynamics of Bemisia tabaci botypie B in greenhouse during the spring in northern China*. *J. Crop Protection* 26 (12): 1831-1838.
- Matthews, R. E. F. 1991. *Plants Virology*, 3rded, Academic Press. New York.
- Naranjo, S., E. Ellsworth, & C. Peter. 2005. *Mortality in Bemisia tabaci*, *J. Entomologia Experimentalis et Applicata* 166 (2): 93-108.
- Nur Aeni, A. 2007. *Kajian Kestabilan Produktivitas Cabai Keriting Di Daerah Endemis Virus Kuning dengan Optimalisasi Nutrisi Tanaman*. Tesis. UGM.
- Pedri, J. 2012. *Identifikasi DNA Beta Satelit Isolat Geminivirus penginfeksi Tanaman Cabai (*Capsicum annuum L*). di Provinsi Sumatera Barat Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang [Skripsi]*.
- Perring TM, C. A. D. Rodriguez, and R. J. Farrar. Bellow. 1993. *Identification of whitefly by genomic and behavioral studies*. *Sci.* 259:74-77.
- Pikergill, B. 1971. *Genetic resolves and breeding (*Capsicum sp*)*. *Ephytical* 96 : 129-133
- Pikergill, B. 1988. *The genus Capsicum: A Multidisiplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants biol*. Zentralbl.
- Polston J. E., and P. K. Anderson. 1997. *The emergence of whitefly-transmitted Geminiviruses in tomato in western Hemisphere*. *Plant Dis* 81: 1356-1369.

- Purwati, E., B. Jaya, A. S. Duriat. 2000. Penampilan Beberapa Varietas Cabai dan Uji Resistensi Terhadap Penyakit Virus Kerupuk. *J Hort.*
- Pranjnanta, F. 1999. *Agribisnis Cabai Hibrida*. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Saghai – Maroof, M A, K. M. Solimar, R. A, Jorgensen, and R.W. Allard, 1984. Ribosomal DNA Spacer- length Polymorphisms in Barley : Menderita Inheritance, Chromosomal Location and Population Dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*.81: 8014 – 8018.
- Setiawati,W., A. A. Asandhi, T. S. Uha, B. Marwoto, A. Somantri,dan Hermawan. Pengendalian Kutu Kebul dan Nematoda Parasitik Secara Kultur Tekni pada Tanaman Kentang.
- Sudiono, S. H Hidayat, R. Suseno dan S. Sosromarsono. 2001. Deteksi Molekuler dan Uji Kisaran Inang Virus Gemini Asal Tanaman Tomat. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah perhimpunan Fitopatologi Indonesia, Bogor, 22-24 Agustus
- Sudiono, Purnomo, 2009. Hubungan Antara Populasi Kutu Kebul (*Bemisia tabaci*) dan Penyakit Kuning Pada Cabai di Lampung Barat.
- Suhardjo, S.M. 2001. Kisaran Inang Virus Krupuk Tembakau. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sulandari, S. 2004. Karakterisasi Biologi, Serologi dan Analisis Sidik Jari DNA virus penyebab penyakit Daun Kuning Keriting Cabai [Disertai]. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Técsi, L. I., Smith, A. M., Maule, A. J. and Leegood, R. C. 1996. *A spatial analysis of physiological changes associated with infection of cotyledons of marrow plants with cucumber mosaic virus*. *Plant physiol.* 111, p.975-985.
- Tindal, H. D. 1983. *Vegetable in the Tropics*. Mac Milan Press Ltd. London.
- Trisno, J. 2010. Keanekaragaman Virus dan Peranan Rhizobacteria Indigenus dari Geografis Berbeda dalam Mempengaruhi Perkembangan Penyakit Daun Kuning Keriting Cabai. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang. 172 hal.
- Yudilastari, T., Sujibprihati, S., Syukur, M. 2009. Evaluasi Daya Hasil Cabai Hasil Persilangan Half Diallel dan Pendugaan Parameter Genetik Populasinya. *Jurnal Departemen Agronomi dan Hortikultura*. Fakultas Pertanian IPB

Lampiran 1. Jadwal kegiatan percobaan mulai bulan Juli sampai September 2013

No	Kegiatan	Minggu ke-											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Persiapan alat dan bahan	■	■										
2	Pengambilan Sampel	■	■										
3	Isolasi DNA kutu kebul	■	■										
4	Elektroforesis DNA kutu kebul			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
5	Amplifikasi DNA kutu kebul			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
6	Pengolahan Data											■	■

Lampiran 2. Protokol isolasi DNA Sanghai-Marroof *et al.*, (1984)

Protokol Isolasi DNA Sanghai-Marroof *et al* (1984) :

1. Pengambilan sampel dilapangan.
2. Sampel digerus digerus dan ditambahkan 125 μ l buffer ekstraksi CTAB kemudian di vortex sampai tercampur rata.
3. Inkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit sambil dibolak-balik untuk pencampuran.
4. Tambahkan 125 μ l *chloroform* : *isoamylalkohol* (21 : 1), kemudian tabung dibolak – balik untuk pencampuran.
5. Sentrifus dengan kecepatan 80000 rpm selama 5 menit.
6. Ambil supernatan, pindahkan ketabung ependorf 2 ml yang baru.
7. Tambahkan 10 μ l NaOAC dan etanol absolute dingin 250 μ l dan inkubasi 30 menit pada suhu -20 °C.
8. Sentrifugasi pada kecepatan 11500 rpm selama 15 menit, lalu supernatant dibuang.
9. Pellet dicuci dengan 200 μ letanol 70% (-20°C) dan sentrifugasi pada 11500 rpm selama 2 menit untuk mengendapkan pelet DNA didasar tabung.
10. Buang sisa larutan dengan hati-hati, pellet akan tampak melekat pada dasar tabung
11. Cuci pellet dengan alkohol.
12. Balikkan tabung di atas tisu untuk mengeringkan pellet atau dapat juga menggunakan oven pada suhu 65 °C selama 5 menit .
13. Larutkan kembali pellet dengan menggunakan 1 x TE (10 mMTris-Cl pH 8,0) ; 1 mM EDTA (pH 8,0).
14. Simpan sampel DNA pada suhu 4 °C untuk jangka pendek atau -20 °C untuk jangka waktu lama

Lampiran 3. Protokol isolasi DNA DellaPorta (1982)

1. Pengambilan sampel dilapangan.
2. Sampel sebanyak 100 gram dihaluskan dengan tabung mikro dan pistil plastik, lalu ditambahkan 1 mL buffer Tris dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit.
3. Potassium asetat 8 M sebanyak 35 μ L ditambahkan dan disimpan dalam selama 30 menit.
4. Kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 15 menit.
5. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke tabung baru, ditambah dengan phenol : *chloroform* (1 : 1) yang sudah dinaturasikan dengan TE sebanyak 500 μ L dan dilakukan di ruang asam.
6. Selanjutnya, di-tapping sebentar lalu disentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Kegiatan ini diulang sebanyak dua kali. Supernatannya diambil, dimasukkan kembali ke tabung baru dan ditambahkan etanol absolut.
7. Setelah penambahan tersebut, dilakukan inkubasi di dalam kulkas bersuhu -20°C selama 15 menit. Lalu disentrifugasi kembali untuk memperoleh pelletnya.
8. Endapan pellet tersebut kemudian dicuci dengan etanol 70%, dikeringkan, dan ditambahkan 1 x TE sebanyak 25 μ L.

Lampiran4. Ciri-ciri tanaman cabai terserang *Gemini virus* dan kutu kebul.

Ciri-ciri tanaman cabai yang terserang *Geminivirus* (Trisno, 2010) :

1. Daun cabai menguning.
2. Daun berubah menjadi keriting
3. Daun menjadi kecil
4. Tepi daun melengkung keatas
5. Dan penebalan anak tulang daun.

Ciri-ciri morfologi kutu kebul (Sudiono dan Yasin, 2006) :

Ada 2 tipe ciri morfologinya :

1. Tipe pertama: Imago berwarna putih dengan ukuran sayap belakang tidak lebar, corak sangat kekuningan dengan pergerakan imagonya yang lambat.
2. Tipe kedua : Imago berwarna putih dengan ukuran lebih besar dibandingkan tipe yang pertama, sayap bagian belakang lebih besar serta pergerakan imago sangat lincah.