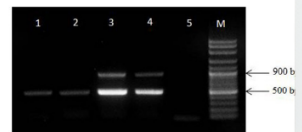




# BIOTEKNOLOGI TANAMAN: TEKNIK ELIMINASI VIRUS DAN DETEKSI MOLEKULER TANAMAN BEBAS VIRUS



- Parawita Dewanti
- Wina Dian Savitri

- Tri Handoyo
- Nurmalasari Darsono

# **BIOTEKNOLOGI TANAMAN : TEKNIK ELIMINASI VIRUS DAN DETEKSI MOLEKULER TANAMAN BEBAS VIRUS**

**Parawita Dewanti  
Tri Handoyo  
Nurmalasari Darsono  
Wina Dian Savitri**



**CV HEI PUBLISHING INDONESIA**

# **BIOTEKNOLOGI TANAMAN : TEKNIK ELIMINASI VIRUS DAN DETEKSI MOLEKULER TANAMAN BEBAS VIRUS**

**Penulis :**

Parawita Dewanti  
Tri Handoyo  
Nurmalasari Darsono  
Wina Dian Savitri

**ISBN:** 978-623-8722-84-6

**Editor :** Free Dirga Dwatra, S.Psi., M.A.

**Penyunting :** Atyka Trianisa, S.Pe

**Desain Sampul dan Tata Letak :** Ririn Novitasari SE

**Penerbit :** CV HEI PUBLISHING INDONESIA

Nomor IKAPI 043/SBA/2023

**Redaksi :**

Jl. Air Paku No.29 RSUD Rasidin, Kel. Sungai Sapih, Kec Kuranji

Kota Padang Sumatera Barat

Website : [www.HeiPublishing.id](http://www.HeiPublishing.id)

Email : [heipublishing.id@gmail.com](mailto:heipublishing.id@gmail.com)

Cetakan pertama, Oktober 2024

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk  
dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

## PRAKATA

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayahNya, sehingga penulisan Buku teks dengan judul Bioteknologi Tanaman : Teknik Eliminasi Virus dan Deteksi Molekuler Tanaman Bebas Virus dapat diselesaikan. Tujuan penulisan buku teks ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah dan sharing ilmu yang lebih luas bagi pembaca dan masyarakat umum serta kepada peneliti, dosen, teknisi dan mahasiswa tentang teknik eliminasi virus dan deteksi dini secara molekuler.

Buku ini membahas tentang bibit bermutu dalam industri pertanian, virus tanaman, kultur meristem, kemoterapi, termoterapi, elektroterapi, krioterapi, metode deteksi virus berbasis protein dan asam nukleat. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas yang telah memfasilitasi terselesaikannya buku ini melalui hibah buku teks dengan nomer SK 3250/UN25. 3.1/LT/2024 serta semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu terutama seluruh penulis yang telah membantu dalam proses penyelesaian buku ini.

Semoga buku ini dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan menjadi sumber referensi dan literatur bagi semua yang membutuhkan.

Jember, Oktober 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>PRAKATA</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Pengembangan produksi bibit bermutu .....	1
1.2 Penggunaan teknologi untuk eliminasi virus.....	2
1.3 Virus Tanaman .....	3
1.4 Upaya penyelamatan tanaman dari ancaman virus .....	4
<b>BAB 2 VIROLOGI TUMBUHAN</b> .....	<b>7</b>
2.1 Sejarah dan Perkembangan Virologi Tumbuhan.....	7
2.2 Definisi Virus Tumbuhan .....	9
2.3 Sifat dan ukuran virus .....	10
2.4 Mosaik Virus .....	11
2.4.1 Penyakit Virus Mosaik pada tebu.....	11
2.4.2 Mosaik virus daun kuning pada tomat.....	15
2.4.3 Mosaik pada tembakau.....	18
2.5 Klasifikasi virus tanaman dan organisasi genom.....	21
2.6 Mekanisme penyerangan virus ke tanaman.....	24
<b>BAB 3 JARINGAN DAN KULTUR JARINGAN TANAMAN</b> .....	<b>27</b>
3.1 Kultur jaringan tanaman .....	27
3.2 Jaringan tanaman .....	29
3.2.1 Jaringan dewasa .....	30
3.2.2 Jaringan Dasar .....	31
3.2.3 Jaringan Pengangkut .....	32
3.2.4 Jaringan Sekretori .....	36
3.2.5 Jaringan Muda.....	43
3.3 Kultur Meristem.....	47
3.4 Eliminasi Virus Melalui Kultur Meristem.....	50
<b>BAB 4 KEMOTERAPI</b> .....	<b>59</b>
4.1 Kemoterapi sebagai antiviral.....	59
4.1.1 Karakteristik Ribavirin.....	60
4.1.2 Karakteristik Acyclovir .....	61
4.1.3 Karakteristik Asam Salisilat dan Tiourasil .....	62
4.2 Biokimia senyawa antiviral.....	63

4.3 Cara kerja senyawa antiviral .....	64
4.3.1 Mekanisme Kerja Ribavirin .....	65
4.3.2 Mekanisme Kerja Acyclovir.....	67
4.3.3 Mekanisme kerja Asam Salisilat .....	68
4.4 Efek Antiviral pada tanaman.....	68
4.5 Penggunaan kemoterapi untuk mengatasi penyakit virus tanaman.....	71
<b>BAB 5 TERMOTERAPI .....</b>	<b>75</b>
5.1 Metode termoterapi .....	76
5.2 Termoterapi dan kombinasi terapi.....	78
5.3 Termoterapi suhu rendah .....	83
<b>BAB 6 ELEKTROTHERAPI .....</b>	<b>85</b>
<b>BAB 7 KRIOTERAPI .....</b>	<b>93</b>
<b>BAB 8 METODE DETEKSI VIRUS BERBASIS PROTEIN.....</b>	<b>101</b>
8.1 Uji presipitasi dan aglutinasi .....	102
8.2 ELISA ( <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> ) .....	103
8.3 Immunoblotting.....	107
8.3.1 Dot immunoblotting assay (DIBA).....	108
8.3.2 Tissue immunoblotting assay (TIBA).....	108
8.4 Mikroskop elektron serologi ( <i>Immunosorbent         electron microscopy = ISEM</i> ) .....	109
8.5 QCM ( <i>Quartz Crystal Microbalance Immunosensors</i> )....	109
8.6 Beberapa pengembangan teknik uji deteksi berbasis serologi.....	110
8.6.1 Uji imuno aliran lateral ( <i>Lateral Flow                 Immunoassay = LFIA</i> ).....	110
8.6.2 <i>Immunocapture Polymerase Chain Reactions                 (IC-PCR)</i> .....	111
<b>BAB 9 METODE DETEKSI VIRUS BERBASIS ASAM NUKLEAT .....</b>	<b>113</b>
9.1 Metode PCR dan berbagai variannya .....	113
9.2 Metode PCR dengan deteksi multipleks.....	114
9.3 Metode Next-Generation Sequencing (NGS) .....	120
9.3.1 Prinsip <i>Sequencing</i> .....	120
9.3.2 <i>Parallelism (Sequencing Paralel)</i> .....	120
9.3.3 Fragmentasi DNA.....	120
9.3.4 Adaptor dan Barcoding .....	121

9.3.5 Amplifikasi PCR.....	121
9.3.6 Flow Cell dan Sequencing Platforms .....	121
9.3.7 Pengolahan dan Analisis Data.....	121
9.3.8 Aplikasi NGS.....	122
9.3.9 Kelebihan dan Keterbatasan NGS .....	122
9.3.10 Perkembangan Teknologi NGS .....	123
9.3.11 Teori dasar tentang NGS.....	123
9.3.12 Metode NGS.....	124
9.4 Metode Berbasis CRISPR.....	127
9.4.1 Prinsip Dasar Deteksi .....	127
9.4.2 Langkah-langkah Deteksi Virus Tanaman Berbasis CRISPR.....	128
9.4.3 Metode Deteksi Berbasis Cas12 dan Cas13.....	128
9.4.4 Keunggulan Metode CRISPR untuk Deteksi Virus Tanaman .....	129
9.4.5 Aplikasi dalam Deteksi Virus Tanaman.....	129
9.4.6 Tantangan dan Pengembangan Masa Depan.....	129
9.4.7 Contoh Penggunaan.....	130
DAFTAR PUSTAKA.....	133
GLOSARIUM.....	168
INDEKS.....	178
BIODATA PENULIS .....	183

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1.</b> Klasifikasi virus .....	22
<b>Tabel 3.1.</b> Komposisi Media Murashige & Skoog dan vitamin basal .....	29
<b>Tabel 3.2.</b> Beberapa tanaman bebas virus hasil kultur meristem.....	52
<b>Tabel 4.1.</b> Aplikasi senyawa antivirus pada tebu dan krisan....	71
<b>Tabel 6.1.</b> Eliminasi Virus pada tanaman dengan elektroterapi .....	88
<b>Tabel 7.1.</b> Efikasi berbagai teknik krioterapi dengan tunas pucuk untuk penghilangan patogen .....	94
<b>Tabel 9.1.</b> Beberapa virus tanaman yang berhasil dideteksi dengan multipleks <i>real time</i> RT-PCR pada berbagai tanaman.....	115
<b>Tabel 9.2.</b> Beberapa virus tanaman yang berhasil dideteksi dengan multipleks IC RT-PCR pada berbagai tanaman .....	117
<b>Tabel 9.3.</b> Beberapa penelitian diagnostik penyakit virus pada tanaman menggunakan NGS .....	125
<b>Tabel 9.4.</b> Beberapa penelitian diagnostik penyakit virus tanaman menggunakan <i>system</i> CRISPR/Cas.....	130



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.1.</b> Konsep dasar kultur meristem untuk produksi tanaman bebas virus .....	5
<b>Gambar 2.1.</b> (A) Daun tebu yang terinfeksi menunjukkan gejala mosaik; (B) Daun tebu sehat.....	12
<b>Gambar 2.2.</b> Struktur virus mosaik (A) Coat protein tersusun heliks, dan (B) struktur virion lonjong.....	14
<b>Gambar 2.3.</b> Variasi gejala visual penyakit kuning pada tomat : daun sehat (A); klorosis, tulang daun berwarna hijau, tepi daun menggulung (B); klorosis fase lanjut (nekrosis), daun keriting (C); klorosis, pola mosaik dominan kuning (D); klorosis, pola mosaik dominan kuning dengan bercak keunguan (E); klorosis, pola mosaik berwarna ungu kecoklatan (F).....	16
<b>Gambar 2.4.</b> Organisasi genom TYLCV. <i>Open reading frame</i> berada di V ( <i>viral orientation</i> ) atau C ( <i>complimentary sense orientation</i> ) .....	17
<b>Gambar 2.5.</b> Skematik genom RNA TICV. Kotak sebelah kanan adalah Open reading Frame dengan protein putuatif yang diproduksi .....	18
<b>Gambar 2.6.</b> Struktur <i>Tobacco Mosaic Virus</i> (TMV) A. Heliks nucleoprotein TMV yang dirakit, dan B. Bentuk batang dari struktur TMV.....	19
<b>Gambar 2.7.</b> Representasi skematis replikasi RNA Virus.....	25
<b>Gambar 3.1.</b> Tipe-tipe penebalan dinding sekunder pada trakeid. ....	33
<b>Gambar 3.2.</b> Tipe-tipe sel pada xilem.....	34
<b>Gambar 3.3.</b> Proto dan Metaxilem pada batang tanaman dikotil (A) dan monokotil (B).....	34
<b>Gambar 3.4.</b> Potongan melintang batang tanaman dikotil yang menunjukkan daerah floem primer.....	35
<b>Gambar 3.5.</b> Trikoma glandular pada walnut hitam ( <i>Juglans nigra</i> ).....	37
<b>Gambar 3.6.</b> Koleter pada tanaman <i>Simira glaziovii</i> . A, Pada tahapan awal; B, Pada tahapan akhir .....	38

<b>Gambar 3.7.</b> Struktur rambut penyengat pada <i>Urticadioica</i> .....	39
<b>Gambar 3.8.</b> <i>Extrafloral nectaries</i> pada berbagai spesies tanaman. A, <i>Prunus avium</i> , <i>Crematogaster scutellaris</i> , B, <i>Vicia sativa</i> , <i>Lasius emarginatus</i> , C, <i>Pteridium aquilinum</i> , <i>Temnothorax parvulus</i> , D, <i>Acacia dealbata</i> , <i>Camponotus truncatus</i> .....	40
<b>Gambar 3.9.</b> Peristiwa Gutasi.....	41
<b>Gambar 3.10.</b> Struktur Hidatoda .....	42
<b>Gambar 3.11.</b> Sekresi garam pada permukaan daun <i>Avicennia marina</i> .....	43
<b>Gambar 3.12.</b> Kelenjar garam (tampak atas) pada <i>Avicennia officinalis</i> .....	43
<b>Gambar 3.13.</b> Meristem Apikal. A, Meristem apikal tunas; B, Meristem apikal akar .....	44
<b>Gambar 3.14.</b> Arah pembelahan xilem dan floem sekunder.....	45
<b>Gambar 3.15.</b> Pembelahan pada kambium gabus membentuk epidermis baru.....	46
<b>Gambar 3.16.</b> Meristem interkalar .....	46
<b>Gambar 3.17.</b> Jaringan meristem tumbuhan.....	47
<b>Gambar 3.18.</b> Skema jaringan meristematik A. Jaringan meristem, B. Jaringan meristem apikal tunas, C. Jaringan meristem apikal akar, D. Jaringan meristem interkalar, dan E. Jaringan meristem lateral .....	49
<b>Gambar 3.19.</b> Isolasi dan penanaman SAM krisan (tanpa primordia daun) di atas RAM kubis. ....	51
<b>Gambar 4.1.</b> Struktur Molekul Ribavirin.....	60
<b>Gambar 4.2.</b> Ribavirin tersusun dari dua ribonukleosida alami.....	61
<b>Gambar 4.3.</b> Gugus kimia acyclovir.....	62
<b>Gambar 4.4.</b> Bangun molekuler acyclovir (2D, 3D dan kristal) .....	62
<b>Gambar 4.5.</b> Mekanisme antiviral ribavirin pada sintesis nukleotida purin <i>de novo</i> . ....	66
<b>Gambar 5.1.</b> Metode <i>in vitro</i> berbasis termoterapi untuk memperoleh tanaman bebas virus.....	79

<b>Gambar 6.1.</b> Peralatan elektroterapi untuk menghasilkan tanaman bebas virus .....	86
<b>Gambar 6.2.</b> Diagram skematik elektroterapi dengan metode langsung dan tidak langsung .....	87
<b>Gambar 7.1.</b> Diagram skematis dari tiga metode vitrifikasi berbeda berdasarkan teknik pembekuan satu langkah : krioterapi, vitrifikasi, enkapsulasi-vitrifikasi, dan vitrifikasi droplet .....	97
<b>Gambar 8.1.</b> <i>Double Antibody Sandwich</i> ELISA.....	105
<b>Gambar 8.2.</b> ELISA tidak langsung.....	106
<b>Gambar 8.3.</b> (kiri) TAS-ELISA, (kanan) PAS-ELISA.....	107