

TANAMAN TOMAT YANG TERINFEKSI *TOMATO INFECTIOUS CHLOROSIS VIRUS* (TICV) DENGAN BERBAGAI METODE DETEKSI

Ni Nengah Putri Adnyani

Program Studi Agribisnis, Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Dwijendra

E-mail : nengahputri@gmail.com

Abstrak

Penyebaran *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) yang terbatas pada jaringan floem ini menyebabkan TICV sangat sukar dipurifikasi untuk mendapatkan virus murni dalam jumlah yang memadai sebagai antigen. Mungkin karena alasan ini maka belum ada antiserum komersial yang tersedia untuk mendeteksi TICV sehingga sampai saat ini deteksi TICV dilakukan hanya melalui *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Kemajuan teknologi di bidang biologi molekuler telah menyediakan metode untuk mengekspresikan suatu gen tertentu, dengan menyisipkannya dalam vektor ekspresi (plasmid) pada *Escherichia coli*. Antiserum poliklonal disiapkan untuk selubung protein (*coat protein*) (TICV) yang diekspresikan dalam *Escherichia coli* yang dievaluasi berdasarkan reaksinya terhadap keberadaan partikel virus dalam jaringan tanaman tomat. Evaluasi berdasarkan kekhususan reaksi antiserum dan tingkat titer antiserum dengan menggunakan 3 macam uji serologi yang berbeda, yaitu *agarose gel precipitation test* (AGPT), *dot blot immunobinding assay* (DIBA), dan *indirect enzyme-linked immunosorbent assay* (I-ELISA). Antiserum memberikan sinyal positif yang jelas pada semua uji serologi yang menggunakan cairan perasan tanaman tomat yang terinfeksi TICV, tetapi tidak ada sinyal positif yang terdapat dalam uji reaksi antiserum dan cairan perasan tanaman tomat sehat. Hal ini yang menunjukkan kekhususan dari antiserum tersebut.

Kata kunci : *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV), tomat, deteksi

Abstract

The spread of *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) which is limited to the phloem tissue makes TICV very difficult to purify to obtain pure virus in sufficient quantities as antigens. Perhaps for this reason, there is no commercial antiserum available to detect TICV so that until now the detection of TICV has been done only by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Technological advances in the field of molecular biology have provided a method for expressing a particular gene, by inserting it in an expression vector (plasmid) in *Escherichia coli*. Polyclonal antiserum was prepared for the coat protein (TICV) expressed in *Escherichia coli* which was evaluated based on its reaction to the presence of virus particles in tomato plant tissue. Evaluation is based on the specificity of the antiserum reaction and the level of antiserum titer using 3 different serological tests, namely agarose gel precipitation test (AGPT), dot blot immunobinding assay (DIBA), and indirect enzyme-linked immunosorbent assay (I-ELISA). Antiserum gave a clear positive signal in all serological tests using juice from tomato plants

infected with TICV, but there was no positive signal in the antiserum reaction test and juice from healthy tomato plants. This shows the specificity of the antiserum.

Keywords : Tomato infectious chlorosis virus (TICV), tomato, detection

I. PENDAHULUAN

Tomato infectious chlorosis virus (TICV) adalah salah satu virus yang menyebabkan penyakit pada tanaman tomat (Tsai *et al.* 2004). Virus pada tanaman tomat ini pertama kali ditemukan di California pada tahun 1993 (Duffus *et al.* 1996). Setelah itu, TICV dilaporkan telah menyebar ke wilayah penanaman tomat dunia terutama di berbagai negara di Asia maupun Eropa (Vaira *et al.* 2002; Tsai *et al.* 2004; Dalmon *et al.* 2005). Di Indonesia, virus ini telah ditemukan di beberapa sentra produksi tomat seperti di Garut, Cianjur, Bogor, Magelang, dan Yogyakarta (Hartono dan Wijonarko 2007; Fitriasari 2010).

Infeksi TICV pada tanaman tomat mengakibatkan gejala klorosis yang sangat parah pada seluruh daun sehingga tanaman tampak

kuning, penyakit yang ditimbulkan ini disebut klorosis atau kuning (Vaira *et al.* 2002). Gejala khas dari penyakit ini adalah terjadinya klorosis pada bagian antara tulang daun (*interveinal chlorosis*), dan jika penyakit sudah lanjut beberapa bagian daun mengalami nekrosis dan menjadi rapuh. Buah tomat yang dihasilkan dari tanaman sakit berukuran jauh lebih kecil dari normal dan proses pemasakannya terganggu sehingga hasil panen sangat menurun (Tsai *et al.* 2004). TICV merupakan salah satu anggota dari genus *Crinivirus*, famili *Closteroviridae* (Wisler *et al.* 1996), yang dapat ditularkan melalui serangga vektor kutukebul *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) secara semipersisten (Duffus *et al.* 1994). Salah satu ciri dari anggota *Crinivirus* yang ditularkan kutukebul adalah

bahwa partikel virus hanya ditemukan pada jaringan floem sehingga konsentrasi partikel virus pada keseluruhan jaringan tanaman inang sangat rendah (Wisler *et al.* 1998).

Rendahnya konsentrasi partikel virus ini (pada jaringan tanaman inang) mempunyai implikasi pada proses deteksinya terutama yang berbasis antiserum. Penyebarannya yang terbatas pada jaringan floem ini menyebabkan TICV sangat sukar dipurifikasi untuk mendapatkan virus murni dalam jumlah yang memadai sebagai antigen (Jacquemon *et al.* 2008). Mungkin karena alasan ini maka belum ada antiserum komersial yang tersedia untuk mendeteksi TICV (Suastika 2012 Agustus 19, komunikasi pribadi) sehingga sampai saat ini deteksi TICV dilakukan hanya melalui *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) (Andriani 2011; Nurulita 2011).

Kemajuan teknologi di bidang biologi molekuler telah menyediakan metode untuk

mengekspresikan suatu gen tertentu, dengan menyisipkannya dalam vektor ekspresi (plasmid) pada *Escherichia coli* (Abouزيد *et al.* 2002; Cotillon *et al.* 2005). Kurniawati (2012) telah berhasil mengekspresikan gen protein mantel (*coat protein/CP*) dari TICV dalam *E. coli*. Protein ini juga telah berhasil dipurifikasi dari biakan sel bakteri dan mencukupi untuk digunakan sebagai antigen dalam immunisasi kelinci dalam rangka memproduksi antiserum.

Reaksi antiserum (yang telah diproduksi ini) terhadap TICV yang terdapat dalam jaringan tanaman tomat belum pernah dilakukan. Untuk mengetahui terjadinya reaksi serologi tersebut, berbagai metode serologi telah tersedia saat ini seperti *agarose gel precipitation test* (AGPT) (Noordam 1973), *dot blot immunobinding assay* (DIBA) (Kubota *et al.* 2011), dan *indirect-enzyme linked immunosorbent assay* (I-ELISA) (Nickel *et al.* 2004), sehingga penelitian ini bertujuan menguji reaksi antiserum TICV yang telah diproduksi pada penelitian sebelumnya dan mengukur titer

antiserum tersebut melalui metode serologi.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji reaksi antiserum TICV yang telah diproduksi pada penelitian sebelumnya dan mengukur titer antiserum tersebut melalui metode serologi.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dasar tentang deteksi *Tomato infectious chlorosis virus* pada tanaman tomat dengan tiga metode serologi pada titer antiserum yang berbeda.

II. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian dan Bisnis, Universitas Dwijendra. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2020 sampai Februari 2021.

Metode Serologi yang Digunakan dalam Pengujian Antiserum TICV

Pengujian serologi untuk antiserum TICV ini dilakukan menggunakan 3 metode yaitu

AGPT, DIBA, dan I-ELISA. AGPT merupakan teknik imunopresipitasi dan banyak dipakai untuk mengukur titer antigen atau antibodi. Walaupun uji ini kurang peka dibanding dengan uji pengikatan primer namun relatif mudah dilakukan. Pada uji ini digunakan selapis media agar yang dilubangi. Kemudian ke dalam sumur-sumur tersebut masing-masing diisi dengan antigen dan antiserum yang telah mengandung antibodi pereaksi (Haryadi 2006). Metode ini menggunakan sampel daun tomat terinfeksi TICV yang digerus dengan bufer, antiserum TICV dengan titer 1/1 sampai 1/64 serta kaca preparat dan 1% gel agarosa (Sigma, USA) sebagai media untuk mendeteksi TICV. DIBA merupakan uji serologi menggunakan membran nitroselulosa yang sangat efektif mendeteksi dan mendiagnosa virus tanaman. Teknik ini menggunakan gerusan tanaman segar dan di *blot* pada kertas membran (Lin *et al.* 1990). Metode ini mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi, prosedur yang digunakan sangat sederhana dan dapat digunakan

untuk deteksi rutin dengan jumlah sampel yang banyak (Djiksa and De Jager 1998). DIBA dilakukan pada kertas membran nitroselulosa (Sigma, USA) yang ukurannya dapat disesuaikan dengan jumlah sampel yang ada kemudian antiserum yang digunakan yaitu titer 1/100 sampai 1/1000, plastik gerus sebagai media untuk merendam kertas membran, *skim milk*, enzim konjugat, dan substrat untuk setiap tahapan. ELISA telah banyak mengalami modifikasi sejak pertama kali teknik ini diperkenalkan. Ciri utama ELISA adalah digunakannya enzim (alkalin fosfatase atau peroksidase) untuk reaksi imunologi. Uji ini memiliki beberapa keunggulan seperti teknik pengerjaan yang relatif sederhana, ekonomis, dan memiliki sensitivitas yang cukup tinggi. Metode menggunakan bufer ekstraksi untuk menggerus sampel daun yang terinfeksi TICV, pelat mikrotiter ELISA sebagai media deteksi, titer antiserum yang digunakan 1/100 sampai 1/1000, *skim milk*, enzim konjugat, substrat, dan ELISA *reader* sebagai deteksi secara kuantitatif. Reaksi antigen-

antibodi pada AGPT dilakukan pada media 1% gel agarosa (Sigma, USA). Gel dibuat dengan melarutkan 0.1 g agarosa, 0.01 g natrium azida dalam 5 ml *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.2 dan 5 ml akuabides yang dipanaskan dalam *microwave* selama 1 menit. Agar cair tersebut kemudian dituangkan di atas kaca preparat setebal sekitar 2 mm dan dibiarkan pada suhu ruang sampai membeku. Pada agar beku tersebut dibuat 2 lubang berdiameter 4 mm dengan jarak 4 mm untuk diisi dengan reaktan yang berbeda yaitu antigen dan antibodi masing-masing sebanyak 20 µl. Antigen adalah cairan perasan tanaman tomat yang positif terserang TICV dan yang sehat masing-masing sebanyak 0.1 g yang telah dilumatkan dalam 1x PBS dengan perbandingan 1:10 (b/v). Antibodi berupa antiserum TICV yang telah tersedia di Laboratorium yaitu hasil immunisasi kelinci dengan protein produk ekspresi gen CP TICV pada *E. coli* (Kurniawati 2012). Untuk pengukuran titer antiserum, dilakukan reaksi antara antigen tanpa pengenceran

(siapan cairan perasan tanaman tomat) dan antiserum dengan seri pengenceran dupleks mulai 1/1 sampai 1/64. Pengamatan terhadap terbentuknya garis presipitasi reaksi antigen-antibodi pada media agarosa diamati setiap hari dan didokumentasikan. Metode ini dilakukan berdasarkan prosedur dari Noordam (1973). diinkubasi dalam 1x bufer *kalium phosphate* salin *tween* (KPST) [0.02 M K_2HPO_4 , 0.15 M NaCl, pH 7.4 yang di dalamnya mengandung 0.05% Tween 20] selama 20 menit; (3) diinkubasi dalam antiserum + konjugat (1 ml KPS 1x ditambah dengan 0.4 g *skim milk*, 0.2 μ l enzim konjugat (*Goat anti rabbit-IgG alkaline phosphatase*) dan antiserum TICV) selama 90 menit; (4) dicuci 3 kali masing-masing dalam 1x *tris buffer saline tween* dengan 0.05% Tween 20 (TBST) [Tris-HCl 0.02 M, NaCl 0.15 M, pH 7.5 dan Tween 20] selama 10, 5 dan 5 menit; dan (6) diinkubasi dalam substrat (20 μ l *nitro blue tetrazolium + bromochloroindolil phosphate*) (NBT+BCIP) (Sigma, USA) dilarutkan dalam 1 ml bufer alkalin fosfatase). Untuk

pengukuran titer antiserum, dilakukan reaksi antara antigen tanpa pengenceran dan antiserum dengan seri pengenceran 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/600, sampai 1/1000. Pengamatan dilakukan terhadap adanya perubahan warna membran menjadi ungu pada tempat antigen ditetaskan dimulai beberapa menit setelah inkubasi dalam substrat. Reaksi antigen-antibodi pada ELISA menurut prosedur dari Nickel *et al.* (2004) dilakukan dalam sumuran pelat mikrotiter ELISA. Antigen dan antibodi disiapkan sama seperti pada AGPT kecuali cairan perasan tanaman dibuat dalam bufer ekstraksi pH 9.6 [Na_2CO_3 1.59 g, $NaHCO_3$ 0.293 g, NaN_3 0.20 g yang dilarutkan dalam 1 L akuades steril] dengan perbandingan 1:100 (b/v). Pada sumuran pelat mikrotiter ELISA dimasukkan reaktan 100 μ l yang dilakukan berturut-turut sebagai berikut: (1) inkubasi cairan perasan tanaman pada suhu 4°C semalam; (2) pencucian dengan 1 x PBST) [NaCl 8 g, Na_2HPO_4 1.15 g, KH_2PO_4 0.2 g, KCl 0.2 g, Tween 20 0.5 ml, dan dilarutkan dalam 1 L akuades steril, pH 7.4]

sebanyak 5 kali; (3) inkubasi dengan *blocking solution* (*skim milk* 0.2 g dalam 10 ml 1x PBST) pada suhu ruang selama 30 menit; (4) pencucian dengan 1x PBST sebanyak 5 kali; (5) inkubasi dengan enzim konjugat *Goat anti rabbit-IgG alkaline phosphatase* (Sigma, USA) yang diencerkan 1:2000 dalam bufer konjugat pada suhu 37°C selama 2 jam; (6) pencucian dengan 1x PBST sebanyak 5 kali; (7) inkubasi substrat (5 mg p-nitrofenil fosfat (Sigma, USA) yang dilarutkan dalam 5 ml bufer substrat [*diethanolamine* 97 ml, H₂O 600 ml, NaN₃ 0.2 g, pH 9.8 dilarutkan dalam 1 L *aquades* steril]) pada suhu ruang selama 15 menit - 60 menit. Pembacaan nilai absorbans dilakukan dengan mesin ELISA reader (Biorad model 550) pada panjang gelombang 405 nm.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Reaksi Antiserum terhadap TICV pada Jaringan Tanaman Tomat

Reaksi antiserum TICV terhadap partikel virus yang terdapat di dalam jaringan tanaman tomat telah berhasil diamati melalui 3 metode uji serologi yaitu AGPT, DIBA, dan

I-ELISA. Melalui AGPT, terjadinya reaksi (pengenalan) antibodi (antiserum) terhadap antigen (partikel TICV dalam cairan perasan tanaman tomat) ditandai dengan terbentuknya garis presipitasi berwarna putih pada gel agarosa di antara lubang yang diberi cairan antiserum dan yang diberi cairan perasan tanaman. Terbentuknya garis presipitasi ini membutuhkan waktu 2 hari setelah dimasukkannya antiserum dan cairan perasan tanaman dalam masing-masing lubang gel. Tampaknya difusi antibodi maupun antigen (partikel TICV) dalam gel agarosa berjalan lambat sampai kedua komponen tersebut bertemu dan saling berikatan membentuk kompleks antigen-antibodi (Ag-Ab). Kompleks Ag-Ab terjadi sedikit demi sedikit dan terakumulasi dalam jumlah yang memadai sampai dapat terlihat dengan mata telanjang (Nickel *et al.* 2004). Pada sampel cairan perasan tanaman yang tidak mengandung TICV (cairan perasan tanaman tomat sehat) tidak terbentuk (terlihat) adanya garis presipitasi. Hal ini menandakan bahwa antibodi

yang terkandung di dalam antiserum tersebut hanya mengenali protein CP TICV (dalam bentuk partikel virus) dan tidak mengenali protein lain seperti protein komponen tanaman misalnya. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa antiserum yang diproduksi dari antigen CP TICV dengan spesifik dapat bereaksi dengan partikel TICV. Pada DIBA, perubahan warna membran menjadi ungu terjadi pada tempat cairan perasan tanaman terinfeksi TICV diteteskan, sedangkan pada tempat cairan perasan tanaman sehat diteteskan tidak terlihat adanya perubahan warna menjadi ungu. Perubahan warna menjadi ungu terjadi karena perubahan substrat NBT+BCIP oleh enzim yang terdapat pada konjugat (Kubota *et al.* 2011). Konjugat tersebut telah berikatan pada antiserum TICV yang juga telah berikatan dengan partikel TICV yang terdapat pada membran (di tempat cairan perasan tanaman terinfeksi TICV diteteskan). Hal ini membuktikan perubahan warna menjadi ungu merupakan sinyal terdapatnya ikatan antibodi

(antiserum TICV) dengan antigen (TICV dalam cairan perasan tanaman sakit). Bila dilihat pada daerah membran yang ditetesi cairan perasan tanaman sehat, ditemukan bahwa tidak terjadinya perubahan warna menjadi ungu di tempat tersebut. Seperti yang terjadi pada AGPT, peristiwa ini menandakan bahwa antiserum TICV hanya dapat berikatan dengan CP TICV (dalam bentuk partikel virus) dan tidak dengan protein lain. Kemampuan membedakan antara partikel TICV dengan komponen tanaman mencerminkan kespesifikan dari antiserum ini.

Pada I-ELISA, sinyal positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna substrat menjadi kuning. Substrat p-nitrofenil fosfat yang awalnya bening karena adanya enzim alkalin fosfatase pada konjugat, maka sedikit demi sedikit berubah warna menjadi kuning (Nickel *et al.* 2004) dan dalam jangka waktu 30 menit, setelah mulai terjadinya reaksi enzimatik tersebut, intensitas warna kuning sudah cukup teramati dengan mata telanjang. Kecepatan perubahan dan

intensitas warna kuning yang terjadi pada substrat sangat bergantung pada jumlah enzim (konjugat) yang berikatan dengan antiserum TICV, sedangkan jumlah antiserum yang ada bergantung pada jumlah partikel TICV yang terdapat pada cairan perasan tanaman tomat (menempel pada dinding sumuran pelat mikrotiter ELISA). Ketiadaan enzim (konjugat) menyebabkan substrat tetap bening seperti terlihat pada sumuran pelat mikrotiter ELISA yang diberi cairan perasan tanaman sehat, dan ini merupakan sinyal negatif atau menandakan tidak terdapatnya partikel TICV yang menempel pada dinding sumuran pelat mikrotiter (cairan perasan tanaman tomat). Hasil yang disajikan juga memperlihatkan kespesifikan antiserum TICV melalui I-ELISA, sinyal positif hanya terjadi pada sampel cairan perasan dari tanaman terinfeksi TICV dan tidak terjadi pada tanaman sehat. Dengan demikian, antiserum ini sangat potensial digunakan sebagai sarana deteksi TICV pada jaringan tanaman tomat.

Titer Antiserum TICV

Titer antiserum adalah tingkat pengenceran tertinggi dari antiserum yang masih memberikan sinyal positif terhadap adanya kompleks Ag-Ab pada uji serologi tertentu (Noordam 1973). Oleh karena itu, titer suatu antiserum sangat ditentukan oleh kesensitifan metode serologi yang digunakan. Pada penelitian ini, untuk menentukan titer antiserum TICV digunakan 3 metode serologi yaitu AGPT, DIBA dan I-ELISA. Hasil titer antiserum TICV yang digunakan.

Pada penelitian ini, antigen yang digunakan adalah partikel TICV pada tingkat konsentrasi sesuai dengan yang terdapat pada siapan cairan perasan tanaman terinfeksi TICV yang tidak diencerkan. Pereaksi antiserum terhadap antigen ini pada tingkat konsentrasi (pengenceran) yang berbeda diamati dengan melihat intensitas sinyal yang terjadi. Seperti yang disajikan pada Tabel 1 terlihat bahwa titer antiserum berbeda untuk ketiga metode serologi yang digunakan: titer pada AGPT hanya 1/4, sedangkan pada DIBA adalah

1/200 dan I-ELISA mencapai 1/500. Perbedaan titer antiserum pada ketiga metode ini terjadi karena beberapa hal. Pada AGPT, sinyal yang terlihat merupakan presipitasi molekul kompleks Ag-Ab yang terakumulasi. Untuk dapat teramati dengan mata telanjang diperlukan tingkat konsentrasi molekul kompleks Ag-Ab yang cukup tinggi, sedangkan tingkat akumulasi kompleks Ag-Ab tersebut ditentukan oleh jumlah antibodi yang terkandung dalam siapan antiserum. Pada pengujian ini, siapan antiserum dengan pengenceran 1/4 masih memberikan tingkat akumulasi kompleks Ag-Ab yang masih dapat teramati, namun pada pengenceran antiserum 1/8 sudah tidak terlihat walaupun mungkin akumulasi kompleks Ag-Ab masih terjadi.

Berbeda dengan AGPT, pada DIBA sinyal positif masih terjadi pada tingkat pengenceran antiserum yang jauh lebih tinggi yaitu 1/200. Tingkat sensitivitas DIBA yang jauh melebihi AGPT karena penggunaan substrat. Seperti sudah dijelaskan di atas bahwa akan terjadi perubahan warna membran menjadi ungu

apabila substrat tersebut bertemu dengan enzim yang terdapat pada konjugat. Jadi dengan jumlah enzim yang tidak terlalu banyak akan menghasilkan perubahan warna yang signifikan (dapat disaksikan dengan mata telanjang) jauh melampaui batas yang diperlukan agar terlihatnya akumulasi kompleks Ag-Ab secara langsung (dalam bentuk garis presipitasi) pada AGPT. Dengan demikian, diperlukan jumlah molekul antibodi (antiserum TICV) sebagai cerminan jumlah konjugat yang terikat lebih sedikit agar sinyal positif terjadi. Atau dengan kata lain, pada pengenceran antiserum yang lebih tinggi (1/200) DIBA masih dapat memberikan sinyal positif.

Pada I-ELISA, titer antiserum TICV ditemukan lebih tinggi lagi (1/500) dibandingkan dengan pada DIBA. Di samping menggunakan substrat sebagai sarana penguat sinyal, pada ELISA juga dibantu dengan alat pembaca intensitas perubahan warna kuning substrat (ELISA *reader*) yang disajikan dalam bentuk angka. Dengan ELISA *reader*, perubahan warna menjadi kuning dari substrat

yang tidak dapat diamati dengan mata telanjang masih dapat dikuantifikasi. Sinyal dikatakan positif apabila nilai absorbans(pada panjang gelombang 405 nm) sampel (cairan perasan tanaman terinfeksi TICV) mencapai 1.5 kali dari nilai absorbans kontrol negatif (cairan perasan tanaman sehat) (Dijkstra and De Jager 1998).

Walaupun ELISA mempunyai sensitivitas yang paling tinggi dari ketiga metode serologi ini, namun tidak berarti harus meninggalkan kedua metode lainnya. DIBA masih mempunyai keunggulan lainya yaitu lebih sederhana dalam pelaksanaannya dan sampel bisa langsung diaplikasikan pada membran saat di lapangan. Namun AGPT adalah satu-satunya metode serologi yang dapat membedakan isolat virus yang berbeda tipe serologi (*serotype*)nya.

IV. KESIMPULAN

Antiserum hasil immunisasi kelinci dengan protein produk ekspresi gen CP TICV pada *Escherichia coli* (Kurniawati 2012), dapat secara spesifik bereaksi dengan partikel

TICV yang terdapat pada jaringan tanaman tomat. Sinyal positif (adanya garis presipitasi pada AGPT, perubahan warna membran menjadi ungu pada DIBA dan perubahan warna substrat menjadi kuning pada ELISA) sangat jelas terlihat pada sampel tanaman terinfeksi TICV dan tidak terjadi pada sampel tanaman sehat. Antiserum ini mempunyai titer yang cukup memadai pada AGPT (1/4), DIBA (1/200) maupun I-ELISA (1/500) sehingga sangat potensial digunakan sebagai sarana deteksi TICV. I-ELISA merupakan metode yang terbaik dilihat dari sisi penggunaan antiserum TICV, pengenceran yang lebih tinggi pada I-ELISA (jumlah antiserum yang sedikit) masih mampu mendeteksi TICV yang terdapat pada cairan perasan tanaman tomat.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan pendeteksian TICV pada sampel tanaman tomat dari berbagai daerah atau wilayah dengan antiserum yang sama sehingga semakin banyaknya data maka akan terlihat hasil

yang lebih konsisten dan akurat dari antiserum tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abouzid AM, Astua JF, Purcifull DE, Beckam KA, Crawford WE *et al.* 2002. Serological studies using polyclonal antisera prepared against the viral coat protein of four *Begomovirus* expressed in *Escherichia coli*. *Plant Dis.* 86(10):1109-1114.
- Andriani A. 2011. Deteksi diferensial *Tomato chlorosis virus* (ToCV) dan *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) dengan *reverse transcription- polymerase chain reaction* (RT-PCR) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Cotillon AC, Desbiez C, Bouyer S, Scheibel CW, Gros C, Delecolle B, Lecoq H. 2005. Production of a polyclonal antiserum against the *coat* protein of Cucurbit yellow stunting disorder crinivirus expressed in *Escherichia coli*. *EPPO Bull.* 3(5): 99-103.
- Fitriasari ED. 2010. Keefektifan kutu kebul dalam menularkan virus penyebab penyakit kuning pada tanaman tomat [tesis]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hartono S, Wijonarko A. 2007. Karakterisasi biologi molekuler *Tomato infectious chlorosis virus* penyebab penyakit kuning pada tanaman tomat di Indonesia. *J Akta Agros.* 2: 139-146.
- Jacquemond M, Verdin E, Dalmon A, Guilbaud L, Gognalons P. 2008. Serological and molecular detection of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in tomato. *Plant Pathol.* 58(2): 210-220.
- Kurniawati F. 2012. Ekspresi *coat* protein *Tomato infectious chlorosis virus* pada *Escherichia coli* untuk antigen dalam produksi antiserum [tesis]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Nurulita S. 2011. Identifikasi *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV) dan *Tomato chlorosis virus* (ToCV) melalui *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) dan sikuen nukleotida [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tsai WS, Shih SL, Green SK, Hanson P, Liu HY. 2004. First report of the occurrence of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato infectious chlorosis virus* in Taiwan. *Plant Dis.* 8(8): 311.
- Wisler GC, Duffus JE, Liu HY, Li RH. 1998a. Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted *Closteroviruses*. *Plant Dis.* 82(3): 270-280.