**REVIEW JURNAL**

DETEKSI KERAGAMAN VIRUS TUNGRO DARI BEBERAPA DAERAH ENDEMIS DI INDONESIA DENGAN TEKNIK PCR-RFLP

(DETECTION OF VARIABILITY IN RICE TUNGRO VIRUS FROM SEVERAL ENDEMIC AREAS IN INDONESIA BY PCR-RFLP TECHNIQUE)



 Kelompok 7

Nita Widyaningsih (1811201016)

Ahmadi (1811201020)

Nanda Putri IK (1811201026)

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ‘AISYIYAH YOGYAKARTA**

**2018/201**

BAGIAN I

IDENTITAS JURNAL

1. Judul

DETEKSI KERAGAMAN VIRUS TUNGRO DARI BEBERAPA DAERAH ENDEMIS DI INDONESIA DENGAN TEKNIK PCR-RFLP

(DETECTION OF VARIABILITY IN RICE TUNGRO VIRUS FROM SEVERAL ENDEMIC AREAS IN INDONESIA BY PCR-RFLP TECHNIQUE)

1. Jenis Jurnal

Jurnal ini termasuk dalam bidang pertanian.

1. Volume dan Halaman

Jurnal ini dalam Vol. 15, No. 1, halaman: 29 – 38.

1. Tahun

Jurnal ini dibuat pada tahun 2009.

1. Penulis

Jurnal ini dibuat oleh R. Heru Praptana\*, YB. Sumardiyono, Sedyo Hartono, I Nyoman Widiarta, dan Muhammad Muhsin.

1. Reviewer

Nita Widyaningsih, Nanda Putri IK, dan Ahmadi.

BAGIAN II

ISI

1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk untuk mencegah tanaman dari serangan tungro (escape strategy) dengan komponen utama waktu tanam tepat, penggunaan varietas tahan dan pergiliran varietas tahan

1. Subyek penelitian

Subyek penelitian ini adalah dua jenis virus tungro dengan genom yang berbeda dari penyakit tungro. Survei dan koleksi sampel tanaman dilakukan di beberapa daerah endemis tungro yaitu Jawa Barat, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY), Bali, Nusa Tenggara Barat (NTB), Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, dan Sulawesi Tengah.

1. Metode Penelitian
2. Koleksi Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa daun yang dikoleksi dari rumpun tanaman padi terinfeksi.

1. Ekstraksi DNA dan RNA Total

Ekstraksi DNA total ditujukan untuk memperoleh double stranded DNA (dsDNA) RTBV dan DNA tanaman karena RTBV mempunyai genom DNA. Ekstraksi dilakukan sesuai dengan metode CTAB (Deng et al., 1995) yang dimodifikasi. Lalu dilakukan ekstraksi RNA total bertujuan untuk memperoleh single stranded RNA (ssRNA) RTSV (RTSV mempunyai genom RNA). Ekstraksi dilakukan menggunakan Isogen RNA Extraction Kit (Amersham Pharmacia) dengan sedikit dimodifikasi.

1. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Analisis PCR dilakukan untuk mendeteksi keberadaan virus baik RTBV maupun RTSV di dalam tanaman terinfeksi. PCR dilakukan menggunakan dua pasang primer yang didesain berdasarkan sekuen genom RTBV dan RTSV yang telah ada di GenBank Database. Hasil PCR divisualisasi pada polyacrylamide (PAGE 6%) dan dielektroforesis di dalam buffer tris-boricacidEDTA (TBE). Hasil elektroforesis diwarnai dengan etidium bromide dan divisualisasi pada UV transilluminator.

1. Analisis Keragaman RTV

Analisis keragaman RTSV dilakukan dengan metode Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Analisis RFLP dilakukan terhadap DNA RTSV hasil PCR. Enzim restriksi yang digunakan adalah BstYI dan HindIII. Hasil RFLP divisualisasi pada PAGE 6% dan dielektroforesis di dalam buffer TBE. Hasil elektroforesis kemudian diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasi pada UV transilluminator. Pita-pita DNA yang terbentuk dari hasil analisis RFLP diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan nilai 1 untuk adanya pita pada satu posisi yang sama. Deteksi Keragaman Virus Tungro dari Beberapa Daerah Endemis di Indonesia 31 beberapa isolat yang dibandingkan. Keragaman genetik dinilai dari posisi isolat pada dendogram yang dihasilkan dari analisis program NTSYS-pc 2.1 dan pengelompokan berdasarkan analisis the unweighted pairgroup mean arithmetic (UPGMA).

1. Hasil dan Pembahasan

Gejala penyakit tungro di masing-masing daerah endemis berupa daun yang berwarna kuning oranye dan terpelintir, tanaman kerdil dan kurang anakan. Gejala serangan virus tungro sangat jelas terlihat karena pertanaman masih dalam fase vegetatif antara 20 sampai dengan 45 hari setelah tanam. Gejala tungro di pertanaman mulai terlihat pada 21–30 hari setelah tanam. Peningkatan intensitas penyakit tungro terjadi sejak tiga minggu pertama yang merupakan hasil penularan dari persemaian dan satu atau dua minggu berikutnya akan tetap atau sedikit meningkat setelah terjadi penularan sekunder dan pada minggu-minggu selanjutnya akan terjadi peningkatan lagi.

Diketahui bahwa wereng hijau sangat mudah beradaptasi terhadap varietas tahan apabila berhasil terbentuk hingga enam generasi. Durabilitas ketahanan varietas terhadap wereng hijau secara bertahap akan menurun karena intensitas dan frekuensi interaksi wereng hijau dengan varietas tersebut di lapangan dan ada indikasi bahwa terdapat variasi virulensi virus tungro terhadap varietas tahan. Di dalam satu wilayah terserang, ada kemungkinan terdapat variasi biologi dan genetik virus tungro, sehingga suatu varietas yang ditanam secara seragam dan terusmenerus menyebabkan durabilitas ketahanan varietas terhadap virus lebih cepat menurun.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata intensitas penyakit tungro baik di Jawa maupun luar Jawa berkisar antara 40% hingga 100% (Tabel 1). Intensitas penyakit tungro di Jabar merupakan hasil penularan buatan dengan metode test tube pada varietas IR 64 dan Cisadane menggunakan wereng hijau hasil perbanyakan di rumah kaca sedangkan intensitas penyakit tungro di Sulsel merupakan serangan tungro pada pertanaman bulanan di kebun. Penyebaran serangan tungro di lapangan sangat dipengaruhi oleh kepadatan populasi vektor, keberagaman varietas dan waktu tanam.

Analisis PCR untuk Deteksi RTBV dan RTSV Optimasi ekstraksi DNA total telah berhasil dilakukan dengan metode CTAB yang dimodifikasi yang ditunjukkan oleh intensitas pita DNA dari masing-masing sampel. Optimasi ekstraksi RNA total juga telah berhasil dilakukan menggunakan Isogen RNA Extraction Kit dari masing-masing sampel. Analisis PCR untuk deteksi RTBV dari tanaman terinfeksi telah banyak dilakukan karena genom RTBV adalah DNA, sehingga DNA total hasil ekstraksi dapat langsung digunakan sebagai template. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan teknik PCR telah berhasil dideteksi adanya RTBV pada semua tanaman padi terinfeksi yang dikoleksi dari beberapa daerah endemis tungro di Indonesia. Hal tersebut sesuai dengan kondisi pertanaman di lapangan bahwa gejala tanaman padi terinfeksi oleh RTBV berupa daun menguning hingga oranye. RTBV merupakan virus yang berperan dalam kemunculan gejala, sedangkan RTSV berperan dalam penularan. Hasil PCR ditunjukkan dengan adanya satu pita DNA yang sangat jelas dengan ukuran sekitar 430 bp yang secara konsisten teramplifikasi dari semua sampel.

Analisis Keragaman RTV Teknik molekuler telah banyak dimanfaatkan d alam analisis keragaman genetik organisme karena lebih efisien, ketepatannya tinggi dan lebih terpercaya. Keragaman strain virus tungro dapat teridentifikasi berdasarkan perbedaan sekuen DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik RFLP dapat digunakan untuk membedakan adanya empat strain RTBV di Filipina. Strain G1,G2,Ic,dan L dapat dibedakan berdasarkan pola potongan pita DNA setelah dianalisis dengan enzim restriksi EcoRI dan EcoRV.

Analisi RFLP dilakukan dengan isolat Magelang(Jateng), Sidrap(Sulsel), dan Tabanan( Bali). Hal tersebut untuk mengetahui secara garis besar adanya keragaman RTSV di Jawa dan luar Jawa. Hasil analisis RFLP menggunakan enzim B stYI menunjukkan bahwa ketiga isolat dapat dipotong dan menghasilkan pita DNA dengan jumlah dan ukuran yang berbeda. Demikian juga hasil analisis RFLP menggunakan enzim HindIII.

Penggunaan teknik PCR dengan primer spesifik untuk virus tungro akan mempercepat dalam deteksi penyakit tungro serta menghasilkan data yang lebih akurat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa deteksi virus tungro pada persemaian dan wereng hijau yang dilakukan menggunakan teknik PCR dengan primer spesifik untuk virus tungro terutama RTBV menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan deteksi menggunakan teknik enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Berdasarkan intensitas penyakit yang ditimbulkan telah diketahui adanya variasi virulensi virus tungro dan koloni wereng hijau dari berbagai daerah endemis diIndonesia. Variasi virulensi virus tungro dan tekanan seleksi koloni wereng hijau merupakan kompleksitas penyebab terjadinya epidemi penyakit tungro.

1. Kesimpulan

Simpulkan bahwa keberadaan RTBV dan RTSV didalam tanaman terinfeksi telah berhasil dideteksi dengan teknik PCR. Keragaman genetik RTSV dapat diketahui dengan teknik RFLP terhadap DNA hasil PCR. Dengan adanya keragaman genetik tersebut, diduga terdapat perbedaan strain RTSV. Berdasarkan adanya variasi strain virus tungro, keberadaan varietas padi berdasarkan sifat ketahanan terhadap virus tungro sangat berperan dalam perkembangan epidemi penyakit tungro. Epidemi akan terjadi apabila penanaman suatu varietas tidak sesuai dengan strain virus daerah setempat.