

Pola pita protein total wereng hijau (*Nephotettix virescens*) dan daun tanaman padi (*Oryza sativa*) yang terinfeksi virus tungro

ANI SULISTYARSI, SURANTO[♥], SUPRIYADI

Sulistyarsi A, Suranto, Supriyadi. 2012. The total protein band pattern of the green leafhoppers (Nephotettix virescens) and the leaves of rice (Oryza sativa) infected by tungro virus.

Tungro virus is one of most important diseases of rice plants caused by double infection with RTBV and RTSV which is transmitted by *Nephotettix virescens* Distant. The interaction between host and virus-vector are still quitted difficult to understand. The aims of this study were: (i) to know the character of the total protein band pattern of rice plants infected with tungro virus compared to the health one, (ii) to look at the different between the band profiles of total protein of *N. virescens* that consume the host rice plants infected by tungro virus and that of the healthy rice plants. Total protein band profiles of rice plants were identified using SDS-PAGE. To extract the leaves, buffer merchapto-ethanol was used, while the sample extraction of green leafhoppers employed buffer PBS IX, and for staining the protein *coomassie brilliant blue* was used. Data were analyzed descriptively based on the score of the migration of the band (Rf). The results showed that the protein contains of every 0.5 g of healthy leaves and the infected by the virus were 0.567 g and 1.011 g respectively. Clear difference of the protein pattern was found in the healthy plant and the infected one. In general, the entire band in the infected plant was much thicker compared to the infected leaves. Protein bands with a higher quantity were expressed by the protein on the molecular weight of 108, and 117 kDa. These proteins are presumably from the group of β -galactosidase and bovine serum albumin. The function of such proteins is still unknown, but it may be related to the plant's responses to virus infection, because the protein did not appear in the healthy plants. The total protein content of both *N. virescens* which acquired the healthy leaves and the infected one were 0.1395 g and 0.1546 g respectively. Qualitatively, there was no significant difference of the protein expression in those vectors, but slightly thicker band were observed in the infected leaves.

Key words: rice, tungro, *Nephotettix virescens*, protein banding

Sulistyarsi A, Suranto, Supriyadi. 2012. Pola pita protein total wereng hijau (Nephotettix virescens) dan daun tanaman padi (Oryza sativa) yang terinfeksi virus tungro.

Virus tungro merupakan salah satu penyakit penting tanaman padi disebabkan oleh infeksi ganda RTBV dan RTSV, yang disebarkan oleh *Nephotettix virescens* Distant. Interaksi antara inang dan vektor virus masih sulit dipahami. Penelitian ini bertujuan: (i) mengetahui karakter pola pita protein total tanaman padi yang terinfeksi virus tungro dan tanaman padi sehat, (ii) mengetahui karakter pola pita protein total *N. virescens* yang mengkonsumsi inang tanaman padi terinfeksi virus tungro dan tanaman padi sehat. Pola pita protein total tanaman padi diidentifikasi menggunakan metode elektroforesis dengan SDS-PAGE. Sampel daun diekstraks menggunakan buffer mercapto ethanol, sedangkan sampel wereng hijau diekstraks menggunakan buffer PBS IX; dan pewarnaan pita protein menggunakan *coomassie brilliant blue*. Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan nilai migrasi pita (Rf). Hasil penelitian menunjukkan kadar protein 0,5 g daun tanaman padi sehat dan daun tanaman padi terinfeksi virus tungro masing-masing sebesar 0,567 μ g dan 1,011 μ g. Perbedaan pola pita protein secara jelas ditemukan di antara tanaman padi sehat dan terinfeksi. Pada umumnya, pola pita protein pada tanaman padi yang terinfeksi virus tungro lebih tebal dari pada tanaman padi sehat. Pita protein dengan kuantitas lebih tinggi diekspresikan pada protein dengan berat molekul 108, dan 117 kDa. Diduga protein ini dari kelompok β -galaktosidase dan bovine serum albumin. Fungsi protein tersebut belum diketahui, namun diduga berkaitan dengan respon tanaman terhadap infeksi virus, karena protein tersebut tidak muncul pada tanaman sehat. Kadar protein total wereng hijau yang mengkonsumsi daun tanaman padi sehat dan terinfeksi virus tungro masing-masing sebesar 0,1395 μ g dan 0,1546 μ g. Secara kualitatif, tidak terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi protein pada inang, tetapi pada daun yang terinfeksi cenderung lebih tebal.

Kata kunci: padi, virus tungro, wereng hijau, *Nephotettix virescens*, profil protein

♥ Alamat korespondensi:

¹ Program Studi Biosains, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta 57126, Jawa Tengah, Indonesia

Manuskrip diterima: 2 Februari 2012.
Revisi disetujui: 8 Maret 2012.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari:
Sulistyarsi A, Suranto, Supriyadi.
2012. The total protein band profile of the green leafhopper (*Nephotettix virescens*) and the leaves of rice (*Oryza sativa*) infected by tungro virus. *Nusantara Bioscience* 4: 32-35

PENDAHULUAN

Virus tungro merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi karena memiliki

potensi kerusakan tinggi. Penyakit ini disebabkan infeksi ganda dari *rice virus tungro bacilliform virus* (RTBV) dan *rice virus tungro spherical virus* (RTSV), dengan petrantara wereng

hijau (*Nephotettix virescens* Distant) secara semipersisten (Cabunagan dan Hibino 1986). Penyakit ini disebabkan oleh wereng hijau sebagai vektor utama yang paling efektif, monophagus pada tanaman padi dan spesies dominan di daerah tropis (Rachim 2000). Tanaman padi sehat yang tidak terinfeksi virus tungro banyak mengandung khlorofil yang digunakan untuk fotosintesis dan menghasilkan makanan bagi tumbuhan. Daun tanaman padi tidak banyak mengandung protein sehingga kandungan asam aminonya rendah. Pada tanaman padi yang sakit atau terinfeksi virus tungro maka DNA dari virus akan menginfeksi sel tanaman dan mengambil alih fungsi DNA tanaman dalam melakukan sintesis protein, yakni digunakan virus untuk mereplikasi bagian DNA virus. Untuk itulah maka perlu dilakukan pengujian terhadap profil pita protein tanaman padi yang sehat dan tanaman padi yang terinfeksi virus tungro. Partikel RTSV sendiri tidak berperan dalam menularkan RTBV, tetapi yang berperan adalah faktor pembantu, yaitu suatu protein yang merupakan produk interaksi antara RSV dengan tanaman inang yang diinfeksi (Cabauatan dan Hibino 1986).

Proses penularan virus tungro oleh vektor telah diketahui melibatkan komponen pembantu (*helper component*) yang berfungsi mengikat partikel virus pada alat mulut vektor. Komponen pembantu diduga merupakan protein spesifik yang penting untuk adsorpsi virus pada alat mulut vektor (Supriyadi et.al. 2004). Menurut Hibino (1996) protein sebagai komponen pembantu tersebut dihasilkan dalam tubuh vektor yang disekresikan ke dinding alat mulut. Protein pembantu pada vektor *N. virescens* banyak dihasilkan oleh alat mulutnya sendiri (stylet) atau bagian thorax yang disekresikan ke alat mulut, sehingga diperlukan identifikasi terhadap protein totalnya.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti mengangkat beberapa masalah penelitian yaitu tentang profil protein total inang tanaman padi terinfeksi virus tungro dan profil protein total individu *N. virescens*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Pencandraan tanaman padi terinfeksi virus tungro dilakukan di Laboratorium Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta,

sedangkan analisis profil pita protein total inang tanaman padi terinfeksi virus tungro dan profil pita protein total wereng hijau *N. virescens* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, PAU, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian dilakukan bulan Februari sampai Juli 2010.

Cara kerja

Kultivar padi yang diuji dalam penelitian ini jenis ciherang. Sampel tanaman padi diambil dari daerah endemik di Yogyakarta, Indonesia. Padi ditanam dalam pot yang ditempatkan di rumah kaca. Sampel wereng hijau dari lapangan dibiakkan pada tanaman padi persemaian di kotak penangkaran. Penularan virus tungro dilakukan di rumah kaca. Sampel untuk elektroforesis profil protein total menggunakan daun padi baik pada tanaman padi sehat maupun terinfeksi virus tungro. Sedangkan untuk analisis profil protein total wereng hijau diambil pada bagian kepala dan thoraxnya baik pada wereng hijau yang mengakuisisi tanaman padi sehat maupun tanaman padi terinfeksi virus tungro. Pengamatan terhadap tanaman padi diuraikan secara deskriptif untuk mengidentifikasi tanaman padi sehat dan tanaman padi terinfeksi virus tungro.

Analisis profil protein total dilakukan untuk mengidentifikasi perbedaan dan/atau kesamaan profil pita protein total antara tanaman padi yang terinfeksi virus tungro dan tanaman padi sehat dan juga antara wereng hijau yang mengakuisisi tanaman padi sehat dan tanaman padi terinfeksi virus tungro. Analisis profil pita protein total dikerjakan dengan teknik elektroforesis pada SDS-PAGE dengan beberapa tahap mengadopsi metode Coats et al. (1990) dan Wongsosupantio (1992). Sampel daun tanaman padi dengan buffer ekstrak merchapto-ethanol, sedangkan sampel wereng hijau dengan buffer ekstrak PBS IX. Setiap prosedur memerlukan 0,5 g sampel. Konsentrasi *acrylamide* untuk *stacking gel* 3%, sedangkan *gradien gel* 10%. Elektroforesis dijalankan pada tegangan konstan 100 VA, sampai penanda (*bromphenol blue*) mendekati batas bawah gel. Gel difiksasi kemudian dilakukan pengecatan (*staining*) selama satu malam dengan larutan *coomassie brilliant blue-R-250*. Proses pengecatan dilanjutkan dengan pelunturan cat (*destaining*) menggunakan larutan yang terdiri atas metanol, asam asetat, dan akuades sambil digojok hingga pita-pita protein muncul. Hasil elektroforesis protein total didokumentasi dengan foto digital.

Data profil pita protein total tanaman padi dan *N. virescens* dianalisis dengan zimogram untuk mengamati kemiripan atau perbedaan profil pita protein totalnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deskripsi tanaman padi terinfeksi virus tungro

Tanaman padi yang tidak terinfeksi virus tungro tumbuh dengan baik, warna daun hijau dan tanamannya relatif tinggi dan rata. Tanaman padi yang terinfeksi virus tungro tumbuh agak kerdil, daun muda warna kekuningan dari ujung daun, dan daun yang kuning tersebut nampak agak melintir, daun yang agak tua warna kuning hingga orange-kuning, anakannya lebih sedikit, dan tinggi tanaman tidak merata. Pada persemaian, penularan virus tungro terlihat daun ketiga yang berwarna kekuningan dan agak melintir (Gambar 1).

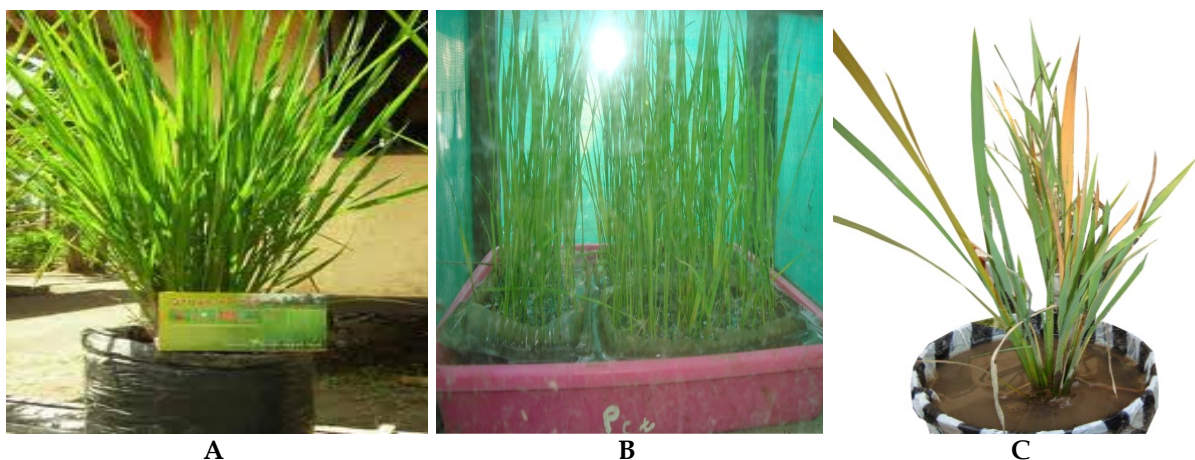
Profil pita protein total tanaman padi sehat dan terinfeksi virus tungro

Hasil pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) = 595 nm, menunjukkan bahwa kadar protein tanaman padi sehat sebesar 0,567 μg sedangkan kadar protein tanaman padi terinfeksi virus tungro sebesar 1,011 μg . Kadar protein digunakan untuk menentukan konsentrasi sampel yang digunakan pada proses running.

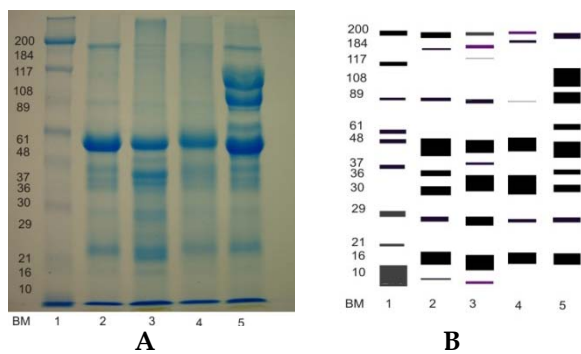
Hasil elektroforesis profil pita protein tanaman padi sehat dan tanaman padi terinfeksi wereng hijau pada kisaran berat molekul tertentu menunjukkan ekspresi gen yang sangat tebal yang tidak diekspresikan pada tanaman padi

sehat (Gambar 2). Profil pita protein yang muncul pada BM (16, 30, 47, 61, 89 dan 200) kDa diekspresikan oleh tanaman padi sehat maupun tanaman padi yang terinfeksi virus tungro, yang berarti baik tanaman padi sehat maupun yang terinfeksi virus tungro mengekspresikan profil pita protein yang sama, yang berdasarkan penanda terdiri dari protein glutamate dehydrogenase, ovalbumin, carbonic anhydrase, myoglobin, lysozyme dan aprotinin. Pada tanaman yang terinfeksi virus tungro kuantitas protein yang diekspresikan lebih banyak terlihat pada pita proteinnya yang lebih tebal.

Tanaman padi terinfeksi virus tungro menunjukkan adanya profil pita protein yang spesifik yaitu pada pita protein dengan kisaran BM mendekati 108 dan 117 kDa ditampilkan dengan pita yang tebal. Pita protein pada kisaran berat molekul tersebut merupakan protein yang khas pada tanaman padi terinfeksi virus tungro. Berdasarkan penanda, kedua protein tersebut diduga β -galactosidase dan bovine serum albumin yang diekspresikan tanaman padi karena adanya infeksi virus. Fungsi dari kedua jenis protein tersebut belum diketahui secara pasti, namun diduga berkaitan dengan respon tanaman terhadap infeksi virus sebagai bentuk pertahanan diri, karena kedua jenis protein tersebut tidak diekspresikan pada tanaman padi sehat, sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut. Menurut Sereikaite et al. (2005) bovine serum albumin biasanya berfungsi sebagai nutrisi dalam sel mikroba, dan mendukung pertumbuhan sel dan digunakan sebagai immunoblots dan terkait immunosorbent tes-enzim.



Gambar 1. Tanaman padi. a. Tanaman sehat, b. Persemaian terinfeksi virus tungro, c. Tanaman dewasa terinfeksi virus tungro



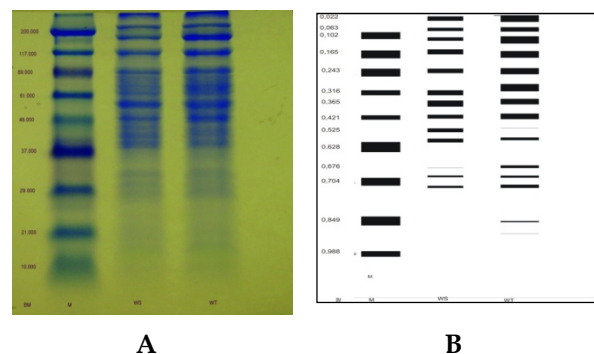
Gambar 2. Hasil profil pita protein total sampel daun padi dengan elektroforesis SDS-PAGE. A. Profil pola pita protein, B. Zimogram, 1 = Penanda, 2 = Daun tanaman padi sehat 30 µg (12 µL), 3 = Daun tanaman padi sehat 40 µg (16 µL), 4 = Daun tanaman padi sehat 20 µg (8 µL), 5 = Daun tanaman padi terinfeksi virus tungro 40 µg (6,6 µL)

Ekspresi profil protein total pada tanaman padi terinfeksi virus tungro sulit dibedakan antara protein virus dengan protein tanaman padi. Penambahan SDS pada elektroforesis, protein tanaman dan protein virus akan terpotong menjadi rantai-rantai polipeptida. Diduga polipeptida dari protein virus mempunyai berat molekul yang sama dengan polipeptida tanaman sehingga mengendap pada lokasi yang sama, atau kadar dan jenis polipeptida virus relatif sedikit dibandingkan polipeptida tanaman sehingga sulit dikenali.

Profil pita protein wereng hijau pada tanaman padi terinfeksi virus tungro

Hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) = 595 nm, menunjukkan bahwa kadar protein wereng hijau yang mengakuisisi daun tanaman padi sehat sebesar 1,395 µg sedangkan kadar protein wereng hijau yang mengakuisisi daun tanaman padi terinfeksi virus tungro sebesar 1,546 µg. Konsentrasi protein ini digunakan untuk menentukan konsentrasi supernatant yang akan digunakan untuk elektroforesis.

Profil pita protein (BM \geq 200, 117, 89, 61, 48, 23, 29) ditampilkan oleh wereng hijau yang mengakuisisi tanaman padi sehat maupun tanaman padi yang terinfeksi virus tungro. Pada wereng hijau yang mengakuisisi tanaman padi terinfeksi virus tungro profil pita protein yang muncul lebih tebal menunjukkan kadar proteinnya lebih banyak, yang merupakan akumulasi dari protein tanaman terinfeksi virus tungro yang ikut terakuisisi. Sedangkan pada berat molekul yang lebih rendah, pola pita protein yang muncul tidak menunjukkan adanya perbedaan.



Gambar 3. Hasil profil pita protein total wereng hijau dengan elektroforesis SDS-PAGE. A. Profil pola pita protein, B. Zimogram, M = Penanda, WS= Wereng hijau pada tanaman sehat, WT= Wereng hijau pada tanaman terinfeksi virus tungro

KESIMPULAN

Profil pita protein total pada tanaman padi terinfeksi virus tungro berbeda dengan profil protein tanaman sehat pada pita yang mempunyai berat molekul 108 dan 117 kDa. Hasil pengamatan profil pola pita protein *N. virescens* yang mengakuisisi tanaman padi sehat dengan *N. virescens* yang mengakuisisi tanaman padi terinfeksi virus tungro menunjukkan adanya perbedaan secara kuantitas yang ditunjukkan pada tebal-tipisnya profil pita protein pada 200, 117, 89, 61, 48, 23, 29 kDa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Rahim. 2000. Upaya meredam tungro di Bali. Agriteks No. 113/32 Seri: 05/Tanaman/2000/September 2000
- Coats SA, Wicker L. 1990. Protein variation among Fuller Rose case population (*Coleoptera: Curculionidae*). Ann Entomol 83 (6): 1054-1062.
- Hibino H. 1996. Biology and epidemiology of rice viruses. Annual Review of Phytopathology. 34: 249-274.
- Hibino H, Cabunagan rc. 1986. Rice tungro associated viruses and their relation to host plants and vector leafhopper. Phytopatology 19: 173-182.
- Rachim, A. 2000. Upaya Meredam Tungro Bali. Laporan Hasil Kajian Adaptasi Padi Sawah Tahan Tungro di Daerah Bali Kerjasama Distan Propinsi Bali dengan IP2TP Denpasar, Puslitbangtan, Bogor
- Supriyadi, Kasumbogo Untung, Andi Trisyono dan Triwibowo Yuwono. 2004. Karakter Populasi Wereng Hijau, *Nephotettix virescens* (Hemiptera : Cicadellidae) di Wilayah Endemi dan Non Endemi Penyakit Tungro Padi. Jogyakarta. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia Vol. 10 Nomor 2, hal 112-120.
- Wongsosupantio, S. 1992. Elektroforesis Gel Protein. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.