

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman cabai memiliki respon pertahanan *Systemic Acquired Resistance* (SAR) yang melibatkan peran gen *Non-expressor of Pathogenesis Related* (NPR1) (Nova *et al.*, 2017). Mou *et al.* (2003) melaporkan bahwa protein NPR1 merupakan regulator utama dalam ekspresi gen *Pathogen Related* (PR) yang dimediasi oleh asam salisilat di dalam SAR. NPR1 juga terlibat dalam resistensi basal atau saat terinfeksi, *Induced Systemic Resistance* (ISR) dan *Pto mediated resistance* (Dong, 2004). NPR1 mengekspresikan gen PR1 sebagai respon terhadap infeksi patogen. Secara struktur, NPR1 terdiri dari domain BTB/POZ, ankyrin dan *transactivation* (Kuai *et al.*, 2015).

Saat ini tanaman cabai masih memiliki permasalahan dengan adanya penyakit kuning keriting. Penyakit tersebut merupakan penyakit epidemik pada tanaman cabai di Sumatera Barat, Indonesia. Penyakit kuning keriting disebabkan oleh serangan Geminivirus. Genus Geminivirus yang menyebabkan tanaman cabai terjangkit penyakit tersebut adalah *Begomovirus*. Salah satu virus utama dari genus *Begomovirus* yang menginfeksi tanaman cabai di Indonesia dan menyebabkan penurunan produktifitas hingga 100% yakni *Pepper Yellow Leaf Curl Virus* (PepYLCV) (Jamsari dan Pedri, 2013). Virus ini memiliki komponen gen penyandi protein fungsional diantaranya *coat protein* (CP), *movement protein* (MP), replikasi (C1) dan beta satelit (β) (Jamsari *et al.*, 2009).

Salah satu komponen gen penyandi protein fungsional yang sangat berperan dalam penyebaran partikel virus adalah gen *Rep* (C1). Gen *Rep* (C1) merupakan gen pengatur replikasi dan transkripsi pada geminivirus. Gen tersebut berfungsi pada permulaan replikasi dan menginisiasi replikasi DNA (Laufs *et al.*, 1995). Gen *Rep* (C1) memiliki karakter multifungsional diantaranya penting dalam mekanisme *rolling circle replication* (RCR) dan berinteraksi dengan protein retinoblastoma (Hull, 2002). *Retinoblastoma-related protein* (RBR) berperan dalam regulasi sel (Desvoyes *et al.*, 2014). RBR menekan proliferasi atau perkembangan sel yang pesat pada jaringan dewasa (Egelkrout *et al.*, 2002). Protein *Rep* yang berinteraksi dengan RBR mengganggu fungsi RBR dan faktor

transkripsi. Interaksi protein *Rep* dengan RBR melepaskan faktor transkripsi sehingga mengaktifkan ekspresi *Profliering Cell Nuclear Antigen* (PCNA) untuk menghasilkan DNA polimerase dan faktor yang dibutuhkan untuk replikasi virus (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

Gen NPR1 merupakan salah satu koaktivator transkripsi pada tanaman cabai. Gen NPR1 pada tanaman cabai di Sumatera Barat telah diisolasi (Nova *et al.*, 2017). Namun, mekanisme molekuler antara gen NPR1 dengan protein *Rep* sebagai respon terhadap serangan geminivirus pada tanaman cabai perlu dibuktikan secara *in vitro*. Interaksi protein *Rep* dengan gen NPR1 mengakibatkan represi fungsi dari NPR1. Mukhtar *et al.* (2013) menyatakan bahwa represi terhadap fungsional NPR1 mengganggu kemampuannya dalam ekspresi gen ketahanan (gen PR) pada tanaman. Sehingga perlu diketahui mekanisme interaksi gen NPR1 dengan protein *Rep*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian yang berjudul “**Konstruksi Plasmid Rekombinan pET-*Rep* dan Ekspresi Gen *Rep* (C1) Geminivirus ke dalam *Escherichia coli* Strain BL21**”. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan konstruksi plasmid rekombinan pET-*Rep* sehingga mengekspresikan protein *Rep* yang dapat digunakan pada studi-studi interaksinya terhadap koaktivator transkripsi gen NPR1 pada tanaman cabai. Vektor ekspresi yang digunakan adalah plasmid pET-28a(+). Plasmid ini merupakan vektor ekspresi yang memiliki *His-tag* di posisi sebelum dan sesudah gen *insert*. Adanya *His-tag* ini memudahkan tahap purifikasi protein *Rep*. Sedangkan *E.coli* Strain BL21 digunakan sebagai *host* karena memiliki kemampuan ekspresi gen yang tinggi. *E.coli* BL21 juga memiliki T7 RNA polimerase yang sesuai dengan T7 promotor pada plasmid pET-28a(+).

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konstruksi plasmid pET-28a(+) rekombinan gen *Rep* (C1). Sehingga protein *Rep* dapat diekspresikan di dalam *E.coli* BL21.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memperoleh protein *Rep* yang dapat digunakan pada studi interaksinya dengan koaktivator transkripsi gen NPR1 pada tanaman cabai.

