

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Geminivirus merupakan fitopatogen destruktif dengan insidensi dan severitas semakin meningkat dalam dua dekade terakhir (Mansoor *et al.*, 2006; Navas-Castillo *et al.*, 2011). Hampir seluruh jenis tanaman dapat diinfeksi oleh virus ini termasuk tanaman hortikultura, pangan dan bahkan hias (Silva *et al.*, 2018). *Pepper Yellow Leaf Curl Virus (PepYLCV)* adalah jenis *Geminivirus* yang paling banyak menginfeksi tanaman cabai di Indonesia. Selanjutnya, PepYLCV Isolat Pesisir Selatan (PepYLCV PSWS) dilaporkan merupakan jenis PepYLCV dengan patogenesis terganas dibandingkan dengan isolat Tanah Datar (PepYLCV TDWS). Di Sumatera Barat insidensinya mencapai 97% hingga menjadi epidemi di sebagian besar daerah sentra produksi cabai (Jamsari dan Pedri, 2013; Trisno *et al.*, 2010). Sehingga dibutuhkan pemahaman yang komprehensif terkait mekanisme patogenesis virus tersebut dalam menginfeksi tanaman inang.

Infeksi virus diawali dengan gangguan sinyal hormonal yang menghalangi mekanisme pertahanan tanaman inang (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). Dalam tahapan ini, protein *Replicase (Rep)* berinteraksi dengan *Retinoblastoma-Related Protein* yang dapat mempengaruhi regulasi kematian Sel (Kittelmann *et al.*, 2009; Sánchez-Durán *et al.*, 2011). Selain itu virus dapat menginduksi replikasi dan memproduksi *Small Interfering RNA (siRNA)* yang menyebabkan terjadinya metilasi yang menekan mekanisme epigenetik dan diindikasikan oleh abnormalitas jaringan yang terinfeksi (Ramesh *et al.*, 2017). Dengan demikian maka dibutuhkan upaya peningkatan ketahanan tanaman terkait patogenesis virus tersebut. Renfiyeni (2015) telah melakukan upaya untuk merakit tanaman resisten virus melalui transformasi genetik. Hal ini merupakan upaya awal dalam menyelidiki mekanisme interaksi *Geminivirus* dengan sistem ketahanan tanaman secara molekuler.

Mekanisme *Systemic Acquired Resistance (SAR)* merupakan mekanisme ketahanan tanaman terpenting dalam tanaman. Selain itu jenis ketahanan ini mencakup ketahanan terhadap sebagian besar jenis patogen termasuk, jamur, virus,

bakteri (Pajerowska, 2011). Regulator kunci SAR adalah *Non-expressor of pathogenesis-related genes 1* (NPR1). Gen *NPR1* memiliki dua daerah domain lestari yaitu BTB/POZ dan domain *Ankyrin*. Nova *et al.*, (2017) telah berhasil mengidentifikasi fragmen domain gen *Ankyrin NPR1*. Hasil analisis bioinformatik menunjukkan, domain ini berfungsi sebagai faktor transkripsi gen-gen ketahanan (*PR gene*) di dalam tanaman. Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan adanya interaksi antara domain *Ankyrin NPR1* dengan protein Rep. Sehingga diprediksi interaksi antara protein Rep juga terjadi dengan Promotor gen *NPR1*. Apabila hal ini terbukti, maka akan membuka kemungkinan untuk dilakukan rekayasa terhadap fragmen promotor gen *NPR1*. Diharapkan upaya ini mampu memblokir infeksi *Geminivirus*, sehingga dapat mematahkan serangan dari virus tersebut.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk memprediksi interaksi Protein Rep dengan promotor gen *NPR1* adalah melalui analisis Protein-DNA *binding assay* yakni menggunakan metode EMSA (*Electrophoretic Mobility Shift Assay*). Menurut Unterholzner *et al.* (2017), teknik EMSA merupakan metode yang sederhana namun efektif untuk menyelidiki interaksi antara DNA dengan protein. Sehingga diperkirakan metoda ini efektif untuk memprediksi adanya interaksi promotor gen *NPR1* dengan Protein Rep *Geminivirus*. Untuk membuktikan hipotesis tersebut maka telah dilakukan studi tentang analisis interaksi antara promotor gen *NPR1* dengan protein Rep *Geminivirus* menggunakan teknik EMSA.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah: apakah protein Rep *Geminivirus* dapat berinteraksi dengan promotor gen *NPR1*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan apakah protein Rep dapat berinteraksi atau *binding* dengan promotor gen *NPR1*.

D. Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah: protein Rep *Geminivirus* memiliki kemampuan *binding* dengan sekuens promotor gen *NPR1*.

E. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan memberikan penjelasan tentang mekanisme tahapan interaksi protein Rep dari *Geminivirus* dengan molekul-molekul yang terdapat dalam *host* (tanaman). Dalam jangka panjang, pemahaman tentang tahapan mekanisme tersebut akan membuka peluang kemungkinan pengembangan strategi peningkatan resistensi genetik tanaman khususnya spesies *Capsicum annum* terhadap serangan *Geminivirus*.

