

Studi Molekuler *Rice tungro bacilliform virus* pada Ratoon Padi di Sidrap, Sulawesi Selatan melalui Pendekatan PCR

Molecular Study of Rice tungro bacilliform virus on Rice Ratoons in Sidrap, South Sulawesi through a PCR Approach

Effi Alfiani Sidik^{*)}, E. Ibrahim, F. Firmansyah, K. Khaerana

Pusat Riset Tanaman Pangan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan
Inovasi Nasional, Jl. Raya Bogor-Jakarta, Cibinong Bogor, Jawa Barat 16911, Indonesia

^{*)}Penulis untuk korespondensi: effi.alfiani.s@gmail.com

Sitasi: Sidik, E.A., Ibrahim, E., Firmansyah, F. & Khaerana, K. (2024). Molecular study of rice tungro bacilliform virus on rice ratoons in Sidrap, South Sulawesi through a PCR Approach. *In: Herlinda S et al. (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-12 Tahun 2024, Palembang 21 Oktober 2024.* (pp. 836–842). Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

ABSTRACT

Rice tungro bacilliform virus (RTBV) is a primary causes of tungro disease, which poses a significant threat to rice production in South Sulawesi. This study was conducted to identify the infection symptoms and presence of RTBV in rice ratoon in Sidrap, South Sulawesi. Samples were collected using purposive sampling in area suspected of tungro virus infection, and symptom identification was performed. RTBV detection was carried out using Polymerase Chain Reaction (PCR). Symptoms observed included yellow to orange discoloration of leaves, leaf shortening, and narrowing of leaf blades. PCR results confirmed that the ratoon rice was infected by RTBV. These findings indicated ratoons may serve as a potential inoculum source for virus spread in the next planting season, thus prolonging the infection cycle. Early detection of RTBV infection in the ratooning phase through molecular approaches is crucial to minimizing the risk of tungro disease spread.

Keywords: endemic area, identification, inoculum, RTBV, tungro

ABSTRAK

Rice tungro bacilliform virus (RTBV) merupakan penyebab utama penyakit tungro yang mengancam produksi padi di Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi gejala infeksi dan keberadaan RTBV pada ratoon padi di Sidrap, Sulawesi Selatan. Sampel diambil menggunakan metode *purposive sampling* di lokasi yang diduga terinfeksi virus tungro dan dilakukan identifikasi gejala. Deteksi RTBV menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Gejala infeksi yang diamati meliputi daun berwarna kuning hingga orange-jingga, terjadi pemendekan dan penyempitan helai daun. Hasil PCR mengkonfirmasi bahwa ratoon padi positif terinfeksi RTBV. Penemuan tersebut mengindikasikan bahwa ratoon yang terinfeksi dapat berpotensi menjadi sumber inokulum bagi penyebaran virus di musim tanam berikutnya dan memperpanjang siklus infeksi. Deteksi dini infeksi RTBV pada fase ratoon melalui pendekatan molekuler sangat diperlukan untuk meminimalkan resiko penyebaran penyakit tungro.

Kata kunci: daerah endemis, identifikasi, inokulum, RTBV, tungro

PENDAHULUAN

Penyakit tungro termasuk salah satu penyakit padi terpenting secara ekonomi di negara-negara Asia Selatan dan Asia Tenggara, yang mampu menyebabkan penurunan hasil panen yang signifikan (Dey *et al.*, 2024; Pangga & Cruz, 2024; Rosida *et al.*, 2020). Ancaman penyakit tungro terlebih dirasakan di daerah penghasil padi seperti di Sulawesi Selatan terutama di daerah yang endemis. Beberapa peneliti yang melaporkan kejadian penyakit tungro di berbagai wilayah Indonesia seperti di Tomohon Barat, Sulawesi Utara (Tamuntuan *et al.*, 2015), di Taba Penanjung, Bengkulu Tengah (Fiddin *et al.*, 2021), dan di Papua Barat (Hamdayanty *et al.*, 2021).

Tungro disebabkan oleh infeksi ganda dua jenis virus yang berbeda yaitu *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) dan *Rice tungro spherical virus* (RTSV), yang hanya ditularkan oleh wereng hijau (*Nephotettix virescens*) (Dey *et al.*, 2024; Hull, 1996). RTBV sebagai salah satu jenis virus penyebab penyakit tungro yang memiliki peran penting dalam perkembangan gejala penyakit. Virus ini bersifat sistemik dan menginfeksi tanaman hingga menyebabkan timbulnya gejala khas seperti daun menguning hingga orange, tanaman kerdil, dan produksi anakan berkurang (Azzam & Chancellor, 2002). Penyebaran penyakit tungro melalui wereng hijau sebagai vektor tersebut berperan dalam penularan virus dari tanaman yang terinfeksi ke tanaman yang sehat. Siklus hidup wereng hijau yang pendek dan mobilitasnya yang tinggi akan memungkinkan penyebaran virus menjadi cepat dan meluas pada areal pertanaman padi maupun di musim berikutnya.

Kesulitan dalam meramalkan kejadian dan penyebaran penyakit tungro yang seiring dengan berkembangnya epidemi merupakan tantangan besar dalam pengendaliannya. Walaupun daerah endemik tungro terkonsentrasi di beberapa titik lokasi tertentu, namun daerah tersebut seringkali menjadi sumber penyebaran ke wilayah lain. Dinamika penyebaran penyakit sangat kompleks, dipengaruhi oleh berbagai faktor iklim, varietas, populasi vektor, dan keberadaan inang alternatif sehingga membuat prediksi terhadap kejadian penyakit tungro menjadi sulit (Azzam & Chancellor, 2002).

Salah satu inang alternatif yang sering ditemui di areal pertanaman adalah ratun padi. Ratun padi merupakan tanaman padi yang tumbuh kembali setelah panen dan umumnya dibiarkan tumbuh begitu saja oleh petani hingga dilakukan pengolahan lahan untuk musim tanam selanjutnya. Kondisi fisiologis ratun yang berbeda dengan tanaman padi dapat membuatnya lebih rentan terhadap serangan wereng hijau dan infeksi virus tungro. Kehadiran ratun di areal pertanaman memberikan kesempatan bagi wereng hijau untuk berkembang dan menjadikannya sumber inokulum virus. Penanganan ratun merupakan salah satu upaya penting dalam mencegah penyebaran virus tungro pada tahap pratanam untuk menekan sumber infeksi awal virus (Rosida *et al.*, 2023).

Meskipun beberapa penelitian telah dilakukan mengenai deteksi keberadaan virus tungro, namun masih terfokus pada tanaman dan gulma. Informasi mengenai infeksi virus tungro pada ratun sangat diperlukan mengingat fungsinya sebagai inang alternatif. Pengamatan gejala saja tidak cukup untuk membuktikan keberadaan infeksi virus tungro, maka perlu diidentifikasi secara molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gejala infeksi dan keberadaan virus tungro pada ratun melalui pendekatan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

BAHAN DAN METODE

Lokasi Penelitian dan Koleksi Sampel

Penelitian dilakukan pada lahan pertanaman padi di Lanrang, Sidrap, Sulawesi Selatan tahun 2021. Pemilihan lokasi pengambilan sampel ditentukan berdasarkan kondisi lahan padi telah dipanen dan menyisakan ratun. Pengamatan dan pengambilan sampel dilakukan pada ratun setelah 7-14 hari dan dipastikan tunas baru telah muncul. Koleksi sampel untuk identifikasi molekuler menggunakan metode *purposive sample* (sampel terpilih) dengan memilih sampel daun ratun yang diduga terinfeksi penyakit tungro. Sampel daun yang diambil dimasukkan dalam plastik klip kedap udara, selanjutnya disimpan di dalam *deep freezer* (80°C).

Ekstraksi DNA Total

Ekstraksi DNA total sampel daun ratun padi menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) (Doyle & Doyle, 1990). Dilakukan sedikit modifikasi pada volume penggunaan CTAB dan chloroform:isoamyl alcohol sebanyak 750 µl, serta dilakukan tiga kali pencucian menggunakan 200 µl etanol 70%. Hasil ekstraksi dilarutkan dalam 25-30 µl TE Buffer dan disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi DNA RTBV Menggunakan PCR

Amplifikasi DNA hasil ekstraksi menggunakan sepasang primer spesifik DAF (5'-GGAATTCGGCCCTCAAAAACCTAGAAG-3') dan DAR (5'GGGGGTACCCCCCTC CGATTTCCCATGTATG-3') dengan produk amplifikasi 1.400 bp (Ladjah *et al.*, 2016). Total volume master mix PCR adalah 12.5 µl dengan komposisi 4.25 µl nuclease free water, 6.25 µl DreamTaq Green PCR master mix (2X), 0.5 µl setiap primer DAR dan DAR, dan 1 µl templat/DNA. Profil PCR melalui tahapan denaturasi awal 94°C selama 5 menit, 34 siklus pada tahap denaturasi 94°C selama 1 menit, aneling 62.2°C selama 1 menit, dan ekstensi 72°C selama 2 menit, terakhir tahap final ekstensi 72°C selama 10 menit menggunakan mesin Thermal Cycle Bio-Rad.

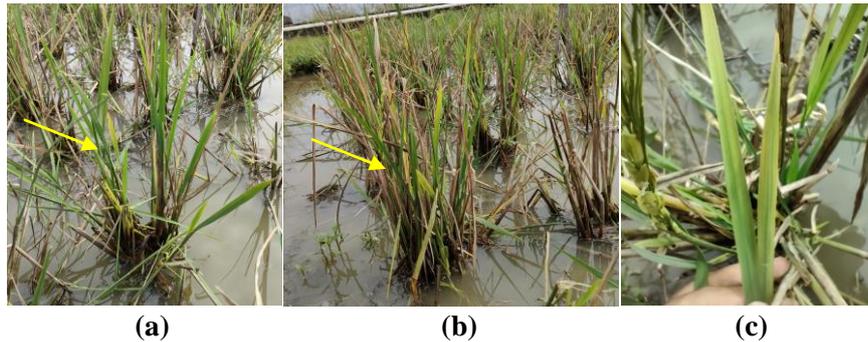
Visualisasi Produk PCR

Produk PCR selanjutnya divisualisasikan menggunakan elektroforesis (Bio-Rad) pada 1% gel agaros dalam 0.5X TBE. Sebanyak 5 µl dari masing-masing produk PCR diambil dan dimasukkan dalam sumuran gel agaros dan ditambahkan 2.5 µl peqGreen. Elektroforesis dihidupkan pada tenggangan 100 volt selama 30 menit dan didokumentasikan menggunakan geldoc Bio-Rad.

HASIL

Pengamatan Visual Gejala

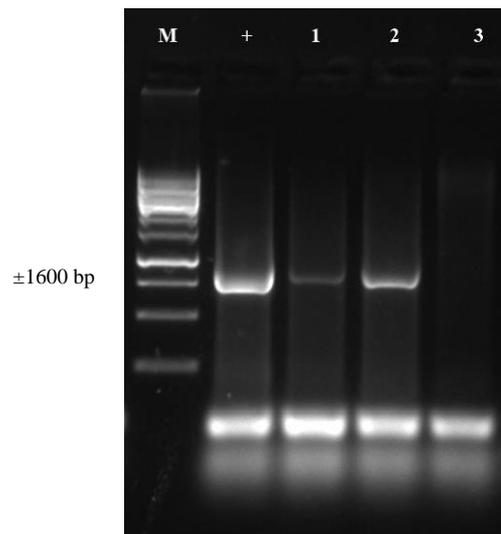
Gejala penyakit yang ditemukan pada ratun yaitu daun berwarna kuning hingga orange-jingga, terjadi pemendekan dan penyempitan helai daun (Gambar 1). Gejala tersebut merupakan gejala khas dari infeksi virus tungro. Gejala tersebut ditemukan hampir di setiap ratun pada area pengamatan, untuk gejala yang umum ditemukan adalah menguning dan penyempitan helai daun.



Gambar 1. Penampakan gejala penyakit tungro pada ratun padi. (a-b) daun menguning hingga orange-jingga, terjadi pemendekan dan penyempitan helai daun, (c) daun menguning.

Deteksi Molekuler RTBV

Sampel daun untuk identifikasi secara molekuler diambil sebanyak tiga sampel dengan gejala yang hampir sama sesuai kriteria khas gejala yang telah disebutkan sebelumnya. Fragmen pita DNA RTBV berhasil teramplifikasi oleh primer spesifik DAF/DAR pada kedua sampel ratun (sampel satu dan dua) dengan ukuran ± 1600 bp (Gambar 2). Hasil amplifikasi tersebut menunjukkan bahwa ratun padi yang diamati terbukti terinfeksi oleh virus tungro yaitu RTBV karena menunjukkan hasil positif PCR. Sampel ratun tiga tidak menunjukkan hasil positif PCR, sehingga sampel tersebut tidak terinfeksi oleh RTBV.



Gambar 2. Hasil amplifikasi sampel daun ratun padi menggunakan sepasang primer spesifik DAF/DAR. (M) Marker 1 kb, (+) Kontrol positif, (1) Ratun sampel 1, (2) Ratun sampel 2, (3) Ratun sampel 3.

PEMBAHASAN

Umumnya ratun tidak terlalu diperhatikan karena hanya ditemukan pada tahap akhir setelah panen selesai dan dianggap bagian yang tidak penting dalam siklus hidup padi terutama jika tidak menunjukkan adanya gejala infeksi virus yang jelas. Namun, ratun terkadang menunjukkan gejala infeksi virus tungro terutama jika sebelumnya tanaman tersebut telah terinfeksi dan terdapat populasi wereng hijau. Sehingga dapat menjadi indikator adanya infeksi virus tungro pada ratun. Tanaman ratun yang terserang wereng dapat dimungkinkan memiliki infeksi virus setelahnya, menjadi ancaman dalam budidaya

tanaman padi (Mew & Fabellar, 1986; Negalur *et al.*, 2017). Identifikasi penyakit tungro pada ratun menjadi penting untuk dilakukan.

Tantangan terbesar dalam identifikasi penyakit tungro adalah melalui pengamatan secara visual pada gejala yang muncul. Seringkali terjadi gejala yang tumpang tindih dengan gejala virus lain ataupun faktor abiotik lainnya (Dey *et al.*, 2024). Walaupun gejala umum penyakit tungro yang sering ditemukan adalah kerdil, menguning atau kuning jingga, dan berkurangnya jumlah anakan namum, masih diperlukan kepastian apakah benar virus tungro yang telah menginfeksi. Gejala visual penyakit tungro memang dapat memberikan petunjuk awal adanya infeksi tetapi gejala ini tidak selalu spesifik pada masing-masing ratun yang teramati. Walaupun gejala hampir sama tetapi warna daun yang menguning tidak selalu disertai oleh penyempitan helai daunnya. Begitupun sebaliknya terjadi penyepitan daun namum tidak disertai gejala daun yang menguning. Beberapa faktor lain seperti kekurangan nutrisi atau serangan hama juga dapat menimbulkan gejala yang mirip, selain itu penampakan fisiologis ratun berbeda dengan tanaman padi sehingga perlu juga menjadi perhatian. Penggunaan metode deteksi PCR menjadi alternatif baru untuk identifikasi infeksi virus tungro.

Keberadaan virus tungro yang menginfeksi ratun dapat dibuktikan secara langsung pada tingkat molekuler, hasil yang diperoleh lebih akurat dan spesifik dibandingkan dengan hanya mengamati gejala visual. Hasil positif PCR pada sampel yang diuji, dengan munculnya pita DNA berukuran ± 1600 bp memberikan informasi yang akurat bahwa ratun di lokasi pengamatan telah terinfeksi oleh RTBV. Penggunaan pendekatan gabungan antara metode pengamatan gejala visual dan deteksi molekuler dalam penelitian ini memberikan hasil yang lebih komprehensif. Gejala visual memberikan petunjuk awal tentang kemungkinan adanya infeksi, sedangkan deteksi molekuler memberikan konfirmasi yang lebih akurat mengenai virus tungro yang menginfeksi. Pendekatan gabungan ini sangat berguna dalam diagnosis penyakit yang disebabkan oleh virus tungro, dan juga untuk penyakit virus berbeda yang memiliki gejala yang mirip dengan penyakit lainnya.

Ratun yang telah terbukti secara molekuler terinfeksi RTBV dan dapat berpotensi menjadi sumber inokulum utama bagi penyebaran virus ke tanaman padi pada musim berikutnya. Hal ini memberikan gambaran akan potensi terjadinya siklus hidup virus tungro dapat diperpanjang dan selalu berada di area pertanaman padi melalui keberadaan ratun. Dengan demikian, pengendalian ratun menjadi salah satu upaya penting dalam memutus siklus penyakit tungro dan mencegah terjadinya infeksi baru ke tanaman selanjutnya. Menurut Shiba *et al.* (2016) penularan secara horizontal sering terjadi dari tanaman yang terinfeksi virus melalui vektor yang kemudian menularkannya ke ratun, selanjutnya menularkan virus ke musim selanjutnya.

Pertumbuhan ratun yang tidak seragam dan tersebar di area persawahan menyulitkan tindakan pengendalian secara efektif. Siklus hidup wereng hijau yang pendek dan kemampuannya untuk terbang jauh memungkinkan terjadinya reinvasi wereng hijau dari lahan yang terdapat ratun ke lahan yang telah dilakukan pengendalian ratun. Yuliani (2014) telah melakukan pengujian terkait potensi stadia vegetatif dan ratun padi sebagai sumber inokulum penularan penyakit tungro. Inokulum tersebut diambil dari gejala yang muncul di lapang dengan menularkan ke tanaman yang baru. Hasilnya menunjukkan bahwa ratun sama efektifnya dengan stadia vegetatif dalam menularkan penyakit tungro ke tanaman yang sehat melalui vektor wereng hijau. Menurut Dey *et al.* (2024) penyebaran penyakit tungro dapat terjadi karena ketersediaan inokulum virus, populasi wereng hijau yang tinggi, tanaman rentan dan berumur muda. Keberadaan ratun yang positif terinfeksi virus tungro, jika bersama dengan adanya gulma di sekitar pertanaman berpotensi memperpanjang siklus penularan penyakit tungro sehingga berdampak pada upaya

pengendalian. Untuk memutus siklus penularan tersebut perlu dilakukan eliminasi sumber inokulum yang berada di lapang. Menurut Widiarta (2002) salah satu cara menekan penyebaran virus tungro dengan cara menghilangkan sumber infeksi misalnya yang berasal dari ratun atau singgang.

KESIMPULAN

Gejala infeksi yang ditemukan pada ratun yaitu daun berwarna kuning hingga orange-jingga, terjadi pemendekan dan penyempitan helai daun. Hasil amplifikasi positif fragmen DNA RTBV melalui PCR pada dua dari tiga sampel membuktikan adanya infeksi virus tungro pada ratun. Ratun yang terinfeksi virus tungro dapat berpotensi menjadi sumber inokulum. Identifikasi dini infeksi RTBV pada fase ratun melalui pendekatan molekuler sangat diperlukan untuk meminimalkan resiko penyebaran penyakit tungro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan ini disampaikan kepada Loka Pengujian Standar Intrumen Tanaman Aneka Umbi atas dukungan fasilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Azzam, O., & Chancellor, T. C. B. (2002). The biology, epidemiology, and management of rice tungro disease in Asia. *Plant Disease*, 86(2), 88–100. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.2.88>
- Dey, S. R., Das, R., & De, M. (2024). A brief review on present status of rice tungro disease: types of viruses, vectors, occurrence, symptoms, control and resistant rice varieties. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*, 7(3), 15–23. <https://doi.org/10.31632/ijalsr.2024.v07i03.002>
- Doyle, J., & Doyle, J. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12, 13–15.
- Fiddin, A., Sutrawati, M., Bustamam, H., Ganefianti, D. W., & Sipriyadi. (2021). Penyakit tungro pada tanaman padi (*Oryza sativa*) di Kecamatan Taba Penanjung: insidensi penyakit dan deteksi virus secara molekuler. *Jurnal Imu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 23(1), 37–45. <https://doi.org/10.31186/jipi.23.1.37-45>
- Hamdayanty, H., Ladja, F. T., & Mansur. (2021). Molecular detection of tungro virus on Mekongga and Inpari 4 rice varieties in West Papua. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 022088. <https://doi.org/doi:10.1088/1755-1315/807/2/022088>
- Hull, R. (1996). Molecular biology of rice tungro viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 43(1), 275–297.
- Ladjah, F. T., Hidayat, S. H., Damayanti, T. A., & Rauf, A. (2016). Deteksi virus tungro pada gulma padi sawah menggunakan teknik PCR. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 35(1), 39–44.
- Mew, T. W., & Fabellar, N. G. (1986). Diseases and disease management in rice ratoon crops. In *Rice Ratooning* (p. 209). International Rice Research Institute.
- Negalur, R. B., Yadahalli, G. S., Chittapur, B. M., Guruprasad, G. S., & Narappa, G. (2017). Ratoon rice: a climate and resource smart technology. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 1638–1653. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.179>
- Pangga, I. B., & Cruz, F. C. S. (2024). Rice tungro disease. In *viral diseases of field and* Editor: Siti Herlinda et. al.

- horticultural crops, *Academic Press*. 81-86. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90899-3.00071-9>
- Rosida, N., Kuswinanti, T., Amin, N., & Nasruddin, A. (2020). Resistance durability of several rice cultivars against rice tungro disease in South Sulawesi, Indonesia. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 32(2), 203–211. <https://doi.org/10.33866/PHYTOPATHOL.030.02.0594>
- Rosida, N., Senoaji, W., Ibrahim, E., & Kuswinanti, T. (2023). Molecular detection of *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) on weed host in South Sulawesi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1160, 012054. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1160/1/012054>
- Shiba, T., Hirae, M., Hayano-Saito, Y., Uematsu, H., Sasaya, T., Higuchi, H., Ohto, Y., & Okuda, M. (2016). Seasonal changes in the percentage of *Rice stripe virus* viruliferous *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) in Paddy Fields in Japan. *Journal of Economic Entomology*, 109(3), 1041–1046. <https://doi.org/10.1093/jee/tow061>
- Tamuntuan, L. C., Manengkey, G. S. J., Makal, H. V. G., & Ratulangi, M. M. (2015). Insidensi penyakit tungro pada tanaman padi sawah di Kecamatan Tomohon Barat Kota Tomohon. *COCOS*, 6(6), 10. <https://doi.org/10.35791/cocos.v6i6.8039>
- Widiarta, I. N. (2002). Strategi pengendalian penyakit tungro pada ekosistem pertanaman tidak serempak dari segi dinamika populasi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 6(1), 6–11.
- Yuliani, D. (2014). Kelimpahan wereng hijau, insiden penyakit tungro, dan efektivitas sumber inokulum pada ketinggian tempat berbeda. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 19(3), 125–129.