

## **Asosiasi Begomovirus dan Betasatelit dalam Pengendalian Penyakit Kuning melalui Pendekatan Bioteknologi**

### *Association of Begomoviruses and Betasatellit in Controlling Yellow Disease through a Biotechnological Approach*

**Effi Alfiani Sidik**<sup>1\*)</sup>, Putri Laeshita<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Riset Tanaman Pangan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong Bogor 16911, Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Tidar, Magelang 56116, Jawa Tengah, Indonesia

\*)Penulis untuk korespondensi: effi.alfiani.s@gmail.com

**Sitasi:** Sidik, E.A., Laeshita, P. (2023). Association of begomoviruses and betasatellit in controlling yellow disease through a biotechnological approach. *In: Herlinda S et al. (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-11 Tahun 2023, Palembang 21 Oktober 2023.* (pp. 660-672). Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

### **ABSTRACT**

Begomovirus belongs to the Geminivirus family, which is the largest genus that causes disease in many plants. Begomovirus genomes are monopartite and bipartite. In recent years it has been known that monopartite and bipartite begomoviruses associate with ssDNA satellit (betasatellit). Recombination that occurs between begomoviruses and betasatellit can trigger the emergence of new species and play a role in spread. The goal of this article is to describe the association between begomoviruses and betasatellit and their role in control using biotechnological approaches. This article was studied applying a scientific literature review process. This association plays a role in triggering the emergence of symptoms in the pathogenicity process. The betasatellit region contains a single open reading frame (ORFs) ( $\beta$ C1 gene) as a determinant of pathogenicity. Begomoviruses and betasatellit contain ORFs that encode replication, transcription, and RNA silencing (suppressing gene silencing) activities. The existence of this association can be an alternative control that utilizes the application of RNA interference (RNAi) to control begomovirus infection. Implemented by producing transgenic plants that harbor two different RNAi hairpin intron constructs using conserved regions from the viral genome and ORFs  $\beta$ C1 from the betasatellit genome. The multifunctional nature of the encoded protein may be a promising alternative in the development of resistance against begomovirus infection. In the end, transgenic plants were produced with milder symptoms and less viral DNA accumulation.

---

Keywords: betasatellites, Genom, ORFs, RNA silencing, virus interactions

### **ABSTRAK**

Begomovirus termasuk dalam famili Geminivirus, merupakan genus terbesar penyebab penyakit pada banyak tanaman. Genom begomovirus berupa monopartit dan bipartit. Beberapa tahun terakhir telah diketahui bahwa begomovirus monopartit maupun bipartit berasosiasi dengan satelit ssDNA (betasatelit). Rekombinasi yang terjadi antara begomovirus dan betasatelit dapat memicu timbulnya spesies baru dan berperan dalam penyebaran. Artikel ini bertujuan untuk menggambarkan asosiasi begomovirus dan

betasatelit beserta peranannya dalam pengendalian melalui pendekatan bioteknologi. Artikel ini dikaji melalui pendekatan studi literatur ilmiah. Asosiasi tersebut berperan memicu timbulnya gejala dalam proses patogenesitas. Wilayah betasatelit mengandung open reading frame tunggal (ORFs) (gen  $\beta$ C1) sebagai penentu patogenesitas. Begomovirus dan betasatelit mengandung ORFs yang mengkodekan aktifitas replikasi, transkripsi, dan RNA silencing (menekan pembungkaman gen). Adanya asosiasi tersebut dapat menjadi alternatif pengendalian yang memanfaatkan penerapan interferensi RNA (RNAi) untuk mengontrol infeksi begomovirus. Diterapkan dengan cara menghasilkan tanaman transgenik yang menyimpan konstruksi dua intron hairpin RNAi berbeda menggunakan wilayah lestari (*conserved regions*) dari genom virus dan ORFs  $\beta$ C1 dari genom betasatelit. Sifat multifungsi protein yang dikodekan dapat menjadi alternatif yang menjanjikan dalam pengembangan perlawanan terhadap infeksi begomovirus. Pada akhirnya dihasilkan tanaman transgenik dengan gejala yang lebih ringan dan akumulasi DNA virus lebih sedikit.

---

Kata kunci: betasatelit, Genom, interaksi virus, ORF, RNA silencing

## PENDAHULUAN

Begomovirus telah banyak menyebabkan penyakit pada berbagai tanaman di daerah tropis maupun subtropis di seluruh dunia (Kesumawati *et al.*, 2020), dan menyebar luas dengan cepat melalui *Bemisia tabaci* (kutu kebul) yang merupakan serangga vektor yang polifag (Barboza *et al.*, 2018). Penyakit daun keriting kuning dilaporkan di Thailand tahun 1996 (Sukanto *et al.*, 2005), di Amerika Serikat tahun 1977, dan dilaporkan kembali tahun 1981 di Meksiko (Flock & Mayhew, 1981), hingga kini terus dilaporkan juga di berbagai wilayah (Lavanya & Arun, 2021; Sidik, 2021; Siregar, 2023). Begomovirus memiliki genom bipartit atau monopartit tergantung pada kehadiran satu atau dua komponen genom (Melgarejo *et al.*, 2013). Begomovirus monopartit dan bipartit sama-sama memiliki komponen genom DNA-A, selain itu bipartit juga memiliki genom DNA-B yang membedakan antar keduanya (Pei *et al.*, 2020).

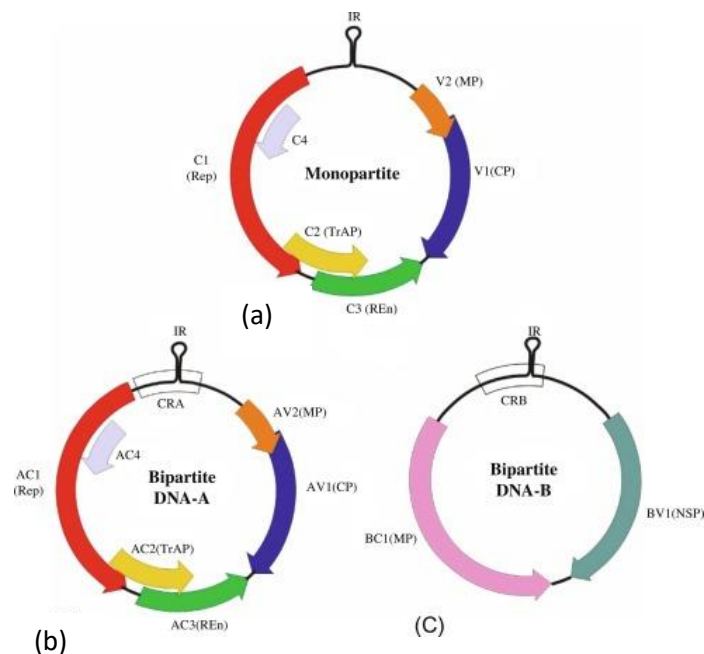
Kisaran inang begomovirus sangat luas mencakup berbagai komoditas pertanian, dan menyebabkan kompleks penyakit di pertanaman (Septariani *et al.*, 2014). Sejak tahun 1960 terdapat banyak satelit yang berasosiasi dengan virus tanaman, baru di tahun 1997 satelit DNA yang berasosiasi dengan virus dari genus Begomovirus berhasil dideskripsikan (Fiallo-Olivé *et al.*, 2012). Hingga beberapa tahun terakhir telah banyak dilakukan penelitian tentang begomovirus monopartit maupun bipartit yang berasosiasi dengan satelit ssDNA dikenal sebagai betasatelit. Begomovirus yang berasosiasi dengan betasatelit dilaporkan mampu menginduksi gejala yang khas pada tanaman inang serta mengakibatkan kompleks penyakit daripada yang tidak berasosiasi (Akhtar *et al.*, 2014; Cui *et al.*, 2004). Dengan adanya asosiasi tersebut, penelitian dilakukan lebih dalam untuk mendorong perkembangan strategi melawan infeksi begomovirus.

Munculnya strain begomovirus yang baru tentunya memberi dampak penyebab epidemi di lapang. Tekanan seleksi alam dan rekombinasi atau mutasi begomovirus lapang dapat menyebabkan strain virus baru yang lebih virulen muncul, yang dapat mengganggu ketahanan tanaman inang. Rekombinasi begomovirus dan betasatelit dapat menyebabkan spesies baru dengan virulensi lebih tinggi muncul dan membantu penyebaran penyakit di seluruh dunia (Akhtar *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2015). Disebabkan pengendalian konvensional dirasa kurang efektif melawan infeksi begomovirus terutama yang telah masuk ke dalam jaringan tanaman inang, maka perlu dikembangkan strategi pengendalian melalui pendekatan bioteknologi. Ditemukannya peran aktif  $\beta$ C1 yang dimiliki betasatelit

ternyata mampu membungkam ekspresi gen melalui *transcriptional gene silencing* (TGS) atau *gene silencing* (Rishishwar & Dasgupta, 2019). Alternatif pengendalian tersebut memanfaatkan penerapan interferensi RNA (RNAi) untuk mengganggu ekspresi gen begomovirus, sehingga penerapannya dalam alternatif mengendalikan infeksi begomovirus pada tanaman menjadi suatu pilihan yang bagus. Tujuan utama penulisan artikel ini adalah untuk menggambarkan peran asosiasi begomovirus dan betasatelit dalam prospek pengendalian penyakit kuning melalui pendekatan bioteknologi.

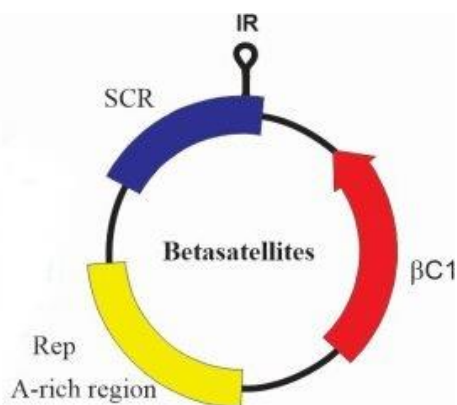
## KARAKTER UMUM BEGOMOVIRUS DAN BETASATELIT

DNA A dari begomovirus memiliki enam ORFs atau open reading frame tunggal, berupa AC1, AC2, AC3, AC4, AV1, dan AV2, yang mengkode protein terkait dengan replikasi, coat protein/matel protein virus, dan penekanan pembungkaman gen pasca-transkripsi (PTGS); DNA B memiliki dua ORFs, BC1 dan BV1, yang mengkode protein untuk pergerakan (MP) dan translokasi dari sel ke sel (NSP) (Amin *et al.*, 2021; Briddon *et al.*, 2010; Chakraborty *et al.*, 2022; Melgarejo *et al.*, 2013). Mulai dari genom begomovirus monopartit hingga bipartit begomovirus yang mengandung DNA-A dan DNA-B diilustrasikan pada Gambar 1. Kedua komponen genom berupa DNA A dan DNA B dari begomovirus bipartit telah terbukti berperan penting menginduksi infeksi atau gejala sistemik pada tanaman inang (Yang *et al.*, 2011). Sedangkan monopartit begomovirus hanya memiliki komponen genom tunggal yang menyebabkan penyakit pada tanaman inang (Chatchawankaphanich & Maxwell, 2002). Namun, betasatelit juga telah terbukti berperan penting untuk virulensi dari beberapa begomovirus monopartit seperti *Ageratum yellow vein virus* (AYVV), *Bhendi yellow vein mosaic virus* (BYVMV), dan *Cotton leaf curl Multan virus* (CLCuMV) (Jose & Usha, 2003; Radhakrishnan *et al.*, 2004; Saunders *et al.*, 2008).



Gambar 1. Peta genom Begomovirus (a) genom begomovirus monopartit (b) genom begomovirus bipartit pada DNA-A (c) genom begomovirus bipartit pada DNA-B (Amin *et al.*, 2021)

Berdasarkan hasil penelitian Saunders *et al.* (2008), diduga terdapat faktor lain yang mempengaruhi timbulnya gejala khas berupa menguningnya vena daun pada tanaman bebandotan (*Ageratum conyzoides*), karena ketika mereinokulasi AYVV tidak dihasilkannya gejala yang. Sejumlah molekul rekombinan kemudian diidentifikasi, selanjutnya ditemukan molekul rekombinan ssDNA yaitu sekitar setengah ukuran helper begomovirus, dimana diisolasi dari bebandotan yang mampu menimbulkan gejala khas berupa menguningnya vena daun pada tanaman inang. Molekul tersebut bernama DNA- $\beta$  dan kemudian dinamai betasatelit (Saunders *et al.*, 2000). Keberadaan betasatelit di alam sangat beragam dan berhubungan dengan begomovirus sebagai helper virusnya. Betasatelit merupakan molekul ssDNA dengan ukuran hampir setengah ukuran helper begomovirus atau sekitar (~1350 nt) tanpa sekuen homolog dengan helper virus, kecuali adanya struktur stem loop yang mengandung urutan nanonukleotida ‘TAATATTAC’ (Akhtar *et al.*, 2014; Sharma *et al.*, 2015). Betasatelit mengandung daerah yang lestari/*conserved* dengan ukuran sekitar (~100 nt) yang dikenal sebagai *satellite conserved region* (SCR), dan bersifat *conserved* atau lestari pada semua betasatelit dan berisi stem loop. Selain itu, wilayah betasatelit banyak mengandung adenin (*A-rich*) dan *open reading frame* tunggal (ORFs) gen  $\beta$ C1 atau disebut juga ORF tunggal (wilayah coding yang diduga gen  $\beta$ C1) (Amin *et al.*, 2021; Chakraborty *et al.*, 2022) yang diilustrasikan melalui Gambar 2.



Gambar 2. Peta genom betasatelit yang mengandung SCR, wilayah *A-rich*, dan  $\beta$ C1 (Amin *et al.*, 2021)

Semua fungsi dari betasatelit dimediasi oleh protein yang dikodekan  $\beta$ C1, protein tersebut memiliki beberapa fungsi yaitu penentu patogenisitas (menentukan timbulnya gejala infeksi), supresor dari PTGS untuk mengatasi pertahanan tanaman inang, pergerakan virus di tanaman inang (Saeed *et al.*, 2007), peningkatan regulasi DNA virus (Amin *et al.*, 2021), potential binding DNA/RNA (Cui *et al.*, 2005), serta interaksi dengan berbagai faktor dari inang dan CP/mantel protein helper virus (Chakraborty *et al.*, 2022). Selain itu, protein  $\beta$ C1 yang dikode oleh betasatelit juga membentuk multimer kompleks, yang penting untuk induksi gejala khas pada tanaman yang terinfeksi, sedangkan wilayah *A-rich* diduga memiliki fungsi dalam replikasi DNA komplementer (Akhtar *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2011).

Betasatelit bergantung sepenuhnya pada helper begomovirus mereka untuk bereplikasi, transmisi, dan pergerakan dalam tanaman, melalui trans-enkapsidasi di mantel protein (CP) helper virus (Satya *et al.*, 2022; Saunders *et al.*, 2008). Ukuran betasatelit yang terisolasi dari lokasi geografis berbeda dapat menunjukkan adanya variasi 1353-1424 nt (nukleotida), dalam analisis filogenetik, betasatelit lebih dikelompokkan berdasarkan lokasi geografis daripada spesies inang (Jose & Usha, 2003).

## **HUBUNGAN BEGOMOVIRUS DAN BETASATELIT**

Rekombinan merupakan proses dimana terjadi pertukaran segmen antara dua untai DNA atau RNA selama proses replikasi terjadi (Sharma *et al.*, 2015). Interspesifik rekombinan yang homolog merupakan faktor pendorong aktif untuk keragaman genetik begomovirus dan memberikan kontribusi terhadap evolusinya (Saeed *et al.*, 2007), yang kemudian menjadi sumber utama munculnya strain yang baru (Akhtar *et al.*, 2014). Banyak epidemi begomovirus yang dilaporkan berkaitan dengan virus rekombinan (Crespo-Bellido *et al.*, 2021; Kenyon *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2013). Munculnya begomovirus baru tergantung pada seberapa sering terjadinya rekombinan antar begomovirus dan akhirnya begomovirus akan cenderung dapat memperoleh molekul satelit sehingga mengakibatkan penyakit yang lebih kompleks (Kenyon *et al.*, 2014; Zaffalon *et al.*, 2012).

Begomovirus tidak hanya berekombinasi antar spesies, tetapi dapat pula mengalami rekombinasi dengan molekul satelit (Kenyon *et al.*, 2014). Rekombinasi begomovirus dan betasatelit telah diidentifikasi, contohnya betasatelit berasosiasi dengan *Pepper yellow leaf curl virus* DNA-B (Huang *et al.*, 2013; Kandito *et al.*, 2020). Bagian CR dari begomovirus merupakan titik mula untuk terjadinya rekombinan, dan terjadi akibat adanya pertukaran antara SCR betasatelit dengan CR dari begomovirus (Saunders *et al.*, 2001), dan dengan  $\beta$ C1 yang kemungkinan mengakibatkan pembentukan betasatelit baru dengan virulensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang sudah ada. Selain itu, kehadiran bentuk betasatelit yang tidak sempurna (cacat) melalui penghapusan (delesi)  $\beta$ C1 atau SCR yang digantikan oleh CR dari begomovirus mungkin dapat menjelaskan hubungan evolusi antara begomovirus dan betasatelit (Nawaz-ul-Rehman & Fauquet, 2009), serta dimungkinkan memainkan peran dalam diversifikasi dan adaptasi terhadap tanaman inang dan lingkungan yang baru (Akhtar *et al.*, 2014).

Molekul betasatelit telah banyak ditemukan secara luas di Old World, di mana begomovirus monopartit berada (Briddon *et al.*, 2003). Telah disebutkan sebelumnya bahwa begomovirus bipartit maupun monopartit dapat berasosiasi dengan betasatelit pada beragam tanaman inang, berikut contohnya di India, betasatelit telah ditemukan berasosiasi dengan *Tomato leaf curl disease* (ToLCD) (Sivalingam *et al.*, 2010), *Wheat Dwarf India Virus* (WDIV) berasosiasi dengan *Ageratum yellow leaf curl betasatellite* (AYLCB), bahkan disertai asosiasi dengan dua spesies alfasatelit (Kumar *et al.*, 2014). Komplek mix infeksi begomovirus menyerang tanaman lobak yang merupakan tanaman penting di India, disebabkan oleh asosiasi dari dua begomovirus yaitu *Radish leaf curl virus* (RaLCV) dan *Croton yellow vein mosaic virus India* (CYVMV-IN), serta dua molekul betasatelit yaitu *Tobacco leaf curl betasatellite* (TbLCB) dan *Croton yellow vein mosaic betasatellite* (CroYVMB). Gejala awal yang timbul berupa daun muda melengkung/menggulung ke bawah sekitar 3-4 minggu setelah grafting, selanjutnya berkembang menjadi gejala yang khas berupa daun melengkung/menggulung ke atas dan ke bawah, terjadi enasi pada bawah daun, kerdil, malformasi, serta gagal berbunga (Singh *et al.*, 2012). Komponen spesies yang berasosiasi antar spesies begomovirus dan betasatelit tidak selalu sama pada berbagai inang, misalnya RaLCV dapat berasosiasi dengan TbLCB, CroYVMB, atau *Chilli leaf curl betasatellite* (ChLCB), tanaman tembakau di India terdeteksi diakibatkan oleh asosiasi begomovirus-betasatelit yaitu RaLCV dan *Chilli leaf curl betasatellite* (ChLCB) (Singh *et al.*, 2012). Contoh lainnya spesies bipartit begomovirus *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) berasosiasi dengan *Cotton leaf curl Multan betasatellite* (CLCuMuB) (Sivalingam & Varma, 2012). Beberapa begomovirus ada yang memiliki hubungan fakultatif dengan komponen betasatelit, sehingga menghasilkan infeksi yang

lebih parah tapi tidak terjadi peningkatan titer DNA virus) serta mendorong timbulnya infeksi laten (tanpa gejala) tanpa adanya satelit (Li *et al.*, 2005).

Sivalingam & Varma (2012) melakukan studi tentang peran betasatelit dalam patogenesis *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) yang merupakan begomovirus bipartit yang menginfeksi tomat di India. Infeksi menggunakan genom DNA-A dan DNA-B dari ToLCNDV, serta DNA dari CLCuMuB. Hasil penelitian menunjukkan bagaimana peran ketiga komponen terhadap timbulnya gejala pada tanaman tembakau dan tomat: (a) kedua tanaman tidak akan menimbulkan gejala jika hanya diinokulasi menggunakan komponen DNA B, CLCuMuB, atau DNA-B + CLCuMuB, (b) gejala sangat ringan akan timbul jika komponen DNA-A yang diinokulasikan, (c) gejala ringan dihasilkan jika diinokulasi dengan komponen DNA-A + CLCuMuB, (d) gejala parah akan timbul jika komponen DNA-A + DNA-B diinokulasikan, (e) sedangkan jika semua komponen inokulum (DNA-A + DNA-B + CLCuMuB) diinokulasi akan mengakibatkan gejala yang sangat parah. Gejala yang semakin parah tersebut, menunjukkan peran betasatelit dalam patogenesis ToLCNDV.

### **Penamaan Betasatelit**

Penamaan virus penting karena memberikan label yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi virus dengan cara singkat dan jelas. Agar lebih praktis, setiap sistem penamaan memerlukan keseragaman didasarkan pada seperangkat aturan bahwa semua orang dapat menerapkan dengan cara yang sama. Selama beberapa tahun terakhir telah banyak terdeteksi kemunculan DNA- $\beta$  sehingga dibutuhkan suatu standar penamaan untuk satelit begomovirus. Sebagai contoh yaitu penamaan berdasarkan *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) menggunakan bahasa Inggris untuk menggambarkan spesies begomovirus, selain itu jika diperlukan dapat pula disertakan deskripsi geografisnya. Dengan demikian, bentuk penamaan spesies berupa "inang-gejala penyakit-asal-virus", misalnya *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus*, meskipun ada pula penamaan lain seperti *African cassava mosaic virus* (Brown *et al.*, 2015; Fauquet *et al.*, 2003). Penggunaan nama deskriptif dapat digunakan untuk satelit DNA- $\beta$  yang diinginkan, berkaitan dengan asosiasinya dengan gejala penyakit, karena kebanyakan satelit DNA- $\beta$  memainkan peran utama dalam penentuan gejala. Dengan demikian penamaannya secara sederhana dapat menggunakan nama virus untuk mendapatkan nama satelit, untuk mencirikan satelit maka digunakan penamaan "beta" bukan memakai simbol " $\beta$ ". Misalnya, komponen DNA- $\beta$  yang berasosiasi dengan *Croton yellow vein mosaic* akan menjadi *Croton yellow vein mosaic betasatellite*, komponen DNA- $\beta$  yang berasosiasi dengan *Tomato leaf curl virus* akan mejadi *Tomato leaf curl betasatellite* (ICTV, 2023).

## **PEMANFAATAN BETASATELIT UNTUK PENGENDALIAN BEGOMOVIRUS**

Peranan dalam keberlangsungan fungsi kehidupan suatu makhluk hidup tidak hanya melalui peranan gen tetapi peran protein pun ikut menyumbang. Suatu gen berfungsi dalam menyandi atau mengkode protein tertentu yang dibutuhkan, misalnya pada alur informasi genetik yaitu dengan permulaan DNA ditranskripsikan menjadi RNA/mRNA selanjutnya ditranslasikan untuk menjadi protein tertentu yang nantinya akan mengkode terjadinya replikasi, pergerakan/movemen, perkembangbiakan, dan lainnya. Terganggunya proses traslasasi protein dapat disebut dengan gen silensing, dimana terjadi suatu proses pembungkaman ekspresi gen dan merupakan bentuk dari sebuah mekanisme pertahanan alami suatu tanaman ataupun virus. Jika terjadi rekayasa atau dilakukan perubahan sesuai keinginan pada mRNA, akan mengganggu proses traslasasi protein, protein yang dihasilkan

tidak sesuai bahkan tidak terbentuk maka akhirnya tidak dapat bereplikasi dan berkembangbiak.

*Pathogen-derived resistance* (PDR) melibatkan penggunaan gen, komponen genetik, faktor turunan/bagian dari suatu patogen dan dilakukan dengan tujuan melawan balik atau melindungi tanaman dari infeksi patogen yang sama (Sharma *et al.*, 2015). Strategi dari PDR melibatkan ekspresi berbagai faktor turunan atau bagian dari patogen yang nantinya merupakan cara yang lebih efektif untuk mengendalikan virus. Pendekatan PDR yang didasarkan pada PTGS atau RNA silencing (RNAi) telah berhasil digunakan untuk virus DNA dan RNA (Bonfim *et al.*, 2007; Ntui *et al.*, 2014). PTGS merupakan mekanisme pertahanan antivirus alami yang dipicu oleh RNA untai ganda (dsRNA) dan melibatkan degradasi sekuen spesifik RNA. RNA silencing diketahui sebagai salah satu metode bertahan alami dalam hal melawan infeksi virus maupun kerusakan gen pada saat terjadi penyisipan materi genetik yang tidak dikenal dari luar sel (Rishishwar & Dasgupta, 2019). Saat ini RNA interference (RNAi) telah muncul sebagai alternatif pengendalian yang ampuh dalam membungkam gen pada level transkripsi dan pasca transkripsi (translasi) (Sharma *et al.*, 2015). RNAi diadopsi dari eukariota lebih dari satu miliar tahun yang lalu (Ghildiyal & Zamore, 2009), di mana ia berperan penting untuk mengendalikan ekspresi gen, stabilitas genom, pembangunan, respon stres, dan pertahanan terhadap gangguan organisme lain (Bonfim *et al.*, 2007; Ntui *et al.*, 2014). Suatu enzim Dicer memotong dsRNA dengan sekuen/nukleotida panjang menjadi *small interfering RNA* (siRNA), selanjutnya sistem akan memungkinkan siRNA mendegradasi mRNA target dan mengintegrasinya sehingga terjadi pembungkaman gen, degradasi tersebut melibatkan kompleks ribonuklease, yang menandakan adanya RNA silencing (Ntui *et al.*, 2014). Ribonuklease tersebut berfungsi memberikan determinan spesifik yang mengarahkan suatu nuklease memotong mRNA yang berpadanan dengan siRNA menjadi untai tunggal, selanjutnya dilakukan pembungkaman gen (Ghildiyal & Zamore, 2009; Sharma *et al.*, 2015). Fenomena tersebut mendasari awal pengembangan berbagai teknik terkait aplikasi dalam menghadirkan/menyisipkan suatu siRNA ke dalam wilayah seluler target yang diinginkan sehingga mampu untuk meningkatkan efek dari siRNA dalam proses pembungkaman mRNA sasaran (Sharma *et al.*, 2015).

Penggunaan PDR melibatkan beberapa langkah berupa identifikasi gen relevan yang akan digunakan misalnya pada gen maupun komponen genetik dari patogen yang berperan penting untuk virulensi, patogenesis, maupun mampu menekan pembungkaman gen. Konstruksi hairpin RNA (hpRNA) yang berasal dari komponen turunan genetik dari virus telah terbukti efisien dalam membungkam gen dan resistensi terhadap virus dibandingkan dengan penggunaan konstruksi sense/antisense (Sharma *et al.*, 2015). Penelitian terkait eksplorasi fungsi gen dan rekayasa gen umumnya menggunakan hpRNA. Dalam konstruksi hpRNA biasanya digunakan untuk menginduksi degradasi gen target melalui mekanisme RNAi, hpRNA mengandung intron yang dirakit secara paralel (Yan *et al.*, 2009, 2012). Pada tumbuhan, intron mengandung hairpin RNA (hpRNA) dengan intron menunjukkan pembungkaman gen tertinggi yang efisien. Oleh karena itu, hpRNA konstruksi telah banyak digunakan untuk membungkam gen pada tanaman (Yan *et al.*, 2012).

Untuk meningkatkan potensi pembungkaman gen, langkah penting yang dilakukan adalah dengan mendesain hairpin RNAi dari genom virus, yang didasarkan pada sifat multifungsi dari konservasi sekuen virus target (wilayah yang lestari), protein virus, dan potensinya untuk menjadi siRNA (Sharma *et al.*, 2015; Yan *et al.*, 2009). Begomovirus mengkode berbagai macam protein yang melakukan beberapa fungsi dalam kesuksesan patogenesis pada tanaman inang, gen AC1 memainkan peran penting dalam replikasi virus;

sedangkan gen AC2 berperan sebagai aktivator transkripsional dari begomovirus dan juga sebagai penekan membungkaman gen pada tahap transkripsi (Islam & Bhor, 2022). Betasatelit mengkode protein  $\beta C1$  yang memiliki sifat multifungsi, seperti faktor patogenesis, penekanan aktivitas RNA silencing sehingga dapat digunakan untuk menghalangi sinyal pembungkam gejala sistemik (Rishishwar & Dasgupta, 2019; Yang *et al.*, 2011). Interaksinya dengan tanaman inang untuk menciptakan kondisi yang menguntungkan bagi helper virus dan replikasi genom betasatelit, maka ORFs yang mengkode berbagai protein yang multitasking merupakan target potensial bagi RNAi untuk menekan infeksi begomovirus (Sharma *et al.*, 2015).

Berikut dijabarkan tentang contoh penerapan penggunaan betasatelit untuk mengendalikan infeksi begomovirus pada tanaman cabai yang menyebabkan penyakit kuning. Menurut Sharma *et al.* (2015) penyakit kuning pada cabai di India merupakan salah satu penyakit yang paling merusak pada tanaman cabai, tingkat insidensi dan keparahannya tinggi akibat munculnya begomovirus baru dengan virulensi lebih tinggi. Sehingga pengendaliannya dikembangkan melalui pendekatan bioteknologi dengan memanfaatkan PDR yang dimediasi RNAi, dalam prosesnya digunakan tanaman model berupa tembakau (*Nicotiana bethaiiana*) agar lebih mudah dalam evaluasi ekspresi transgenik dari konstruksi hpRNA.

Konstruksi hpRNA dimungkinkan agar dapat mengandung intron yang sederhana namun efisien dalam menekan infeksi begomovirus. Sharma *et al.* (2015) telah menghasilkan tanaman transgenik tembakau (*N. benthamiana*) yang menyimpan konstruksi dua intron hairpin RNAi yang berbeda yaitu wilayah target (TR/*target region*) pertama [TR1 (AC1/AC2)] dan kedua [TR2 (AC1/AC2/ $\beta C1$ )] yang menggunakan wilayah lestari (*conserved regions*) dari genom virus dan betasatelit. Vektor konstruksi RNAi dipilih dari wilayah lestari dengan ukuran sebesar 417 bp (AC1/AC2) dari begomovirus yang menginfeksi tanaman cabai dan sebesar 193 bp ( $\beta C1$ ) dari betasatelit yang telah diamplifikasi menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Isolat tersebut berasal dari hasil infeksi klon *Chilli leaf curl virus-Pakistan* (ChiLCV-PK) dan *Tomato leaf curl Bangladesh betasatellite* (ToLCBDB). Konstruksi ini kemudian dimobilisasi dalam *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105 melalui metode freeze dan thaw (guna meningkatkan mobilitas).

Penelitian Sharma *et al.* (2015) menggunakan wilayah lestari yang sesuai untuk AC1 (mengkode protein yang terkait replikasi), AC2 (mengkode protein yang terkait aktivator transkripsi) ORFs dari genom begomovirus dan ORF  $\beta C1$  (penentu patogenisitas) dari genom betasatelit. Protein-protein tersebut dikodekan oleh tiga ORFs yang memainkan peran penting dalam pergerakan virus, replikasi, patogenesis, dan menekan membungkam gen. Wilayah target (TR) hpRNA diklon sebagai sense dan antisense yang dipisahkan oleh gen intron PDS, digunakan pula *Cauliflower mosaic virus 35S* sebagai promoter; dan PACaMV Cauliflower mosaic virus sebagai terminator.

Proses pembungkaman gen yang dimediasi melalui RNAi sering menghasilkan efek ketidaksesuaian target (*off target*). Efek ini terjadi ketika siRNA yang diturunkan transgen dapat membungkam transkrip gen inang yang berbeda daripada yang ditargetkan, yang menyebabkan fenotip yang tidak biasa atau abnormal (Rishishwar & Dasgupta, 2019). Sehingga dilakukan analisis komputasi sekuen virus untuk menganalisis fungsi potensi target RNAi dan untuk meminimalkan efek ‘*off target*’ dari target sekuen turunan siRNA (Sharma *et al.*, 2015).

*N. benthamiana* diketahui dapat menyediakan sistem yang sangat baik dalam hal transformasi genetik dan untuk mempelajari infeksi virus sehingga Sharma *et al.* (2015) memilihnya sebagai tanaman model. Tanaman tembakau transgenik yang



mengekspresikan hairpin RNAi menunjukkan fenotipe yang normal sama dengan tembakau yang bukan transgenik, hal ini menunjukkan tidak adanya efek ‘off target’ dari target sekuen turunan siRNA.

Berdasarkan hasil penelitian Sharma *et al.* (2015), tanaman transgenik tembakau telah menunjukkan resistensinya terhadap beberapa spesies begomovirus yang telah diinokulasikan yaitu *Chilli leaf curl virus-Pakistan* isolat Varanasi (ChiLCV-PK) monopartit, *Chilli leaf curl Vellanad virus* (ChiLCVeV) monopartit, dan *Tomato leaf curl New Delhi virus-isolat chilli* (ToLCNDV-Chilli) bipartit. Galur tembakau transgenik yang menggunakan TR1 lebih menunjukkan resistensinya terhadap spesies begomovirus bipartit, sedangkan TR2 resisten terhadap spesies begomovirus bipartit dan monopartit. Diduga TR1 hanya berisi gen dari genom begomovirus (DNA-A) sehingga hanya efektif pada target begomovirus bipartit. Sedangkan TR2 berisi gen dari genom begomovirus dan betasatelit, sehingga memiliki kemampuan efektif pengendalian pada begomovirus bipartit maupun monopartit.

Menurut Sharma *et al.* (2015) sifat resistensi pada galur transgenik dibuktikan melalui gejala yang melemah/tertunda serta penurunan titer virus dibandingkan dengan tanaman yang bukan transgenik. Hal tersebut ditandai dengan adanya degradasi transkrip begomovirus berupa jumlah siRNA yang dihasilkan, termediasi oleh RNAi sehingga mengganggu proses replikasi. siRNA terlibat dalam PTGS yang berhubungan dengan pembungkaman gen, melalui tahapan metilasi DNA. Menurut Yang *et al.* (2011) metilasi DNA salah satu aktivitas genetik dalam menekan virus melalui penghambatan akses faktor transkripsi dan enzim yang diperlukan untuk transkripsi, mengikat protein pengikat metilasi yang dapat menghalangi aktivitas gen, mampu berinteraksi dengan mRNA dan mengganggu proses transasi protein. Selain itu gen  $\beta C1$  dapat berinteraksi dengan *S-adenosyl homocysteine hydrolase* (SAHH) yang merupakan enzim siklus metilase yang dibutuhkan dalam pembungkaman gen (TGS). Dengan begitu dapat diketahui bahwa penggunaan gen betasatelit yaitu  $\beta C1$  dapat memberikan dampak efektif dan perluasan dalam kisaran pengendalian untuk begomovirus bipartit maupun monopartit. Penelitian betasatelit terus berlanjut hingga saat ini, di Indonesia baru-baru ini telah dilaporkan adanya asosiasi molekul satelit dengan spesies begomovirus yaitu *Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus* yang menginfeksi tanaman terung (Kandito *et al.*, 2020), dan *Pepper yellow leaf curl Indonesia virus* pada tanaman kacang panjang (Pertiwi *et al.*, 2021). Hasil penemuan tersebut dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pengembangan riset di Indonesia terkait pengendalian begomovirus yang memanfaatkan asosiasinya dengan betasatelit melalui pendekatan bioteknologi.

## KESIMPULAN

Asosiasi begomovirus monopartit dan bipartit dengan betasatelit dapat menimbulkan gejala lebih kompleks yang berkaitan dengan peranan gen  $\beta C1$ . Adanya asosiasi tersebut dapat dijadikan alternatif pengendalian dengan memanfaatkan penerapan RNAi untuk mengontrol infeksi begomovirus. Diterapkan dengan cara menghasilkan tanaman transgenik yang menyimpan konstruksi dua intron hairpin RNAi yang berbeda dengan menggunakan wilayah lestari dari genom virus dan genom betasatelit. Tanaman transgenik yang dihasilkan mampu menekan infeksi begomovirus monopartit dan bipartit. Pengendalian melalui pendekatan bioteknologi ini dapat menjadi bahan pertimbangan dalam pengembangan resistensi terhadap begomovirus lainnya yang juga berinteraksi dengan betasatelit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan pada pihak yang telah memberikan dukungan dalam penulisan makalah, baik sebagai mitra konsultasi dan/atau penyandang dana.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, S., Khan, A. J., Singh, A. S., & Briddon, R. W. (2014). Identification of a Disease Complex Involving a Novel Monopartite Begomovirus with Beta- and Alphasatellites Associated with Okra Leaf Curl Disease in Oman. *Archives of Virology*, *159*(5), 1199–1205. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1926-x>
- Amin, I., Ahmed, N., Kamal, H., & Mansoor, S. (2021). Chapter 7 - Geminiviruses and their interaction with host proteins. In Rajarshi Kumar Gaur, S. M. P. Khurana, P. Sharma, & T. Hohn (Eds.), *Plant Virus-Host Interaction (Second Edition)* (Second Edi, pp. 191–229). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821629-3.00024-5>
- Barboza, N., Blanco-Meneses, M., Esker, P., Moriones, E., & Inoue-Nagata, A. K. (2018). Distribution and diversity of begomoviruses in tomato and sweet pepper plants in Costa Rica. *Annals of Applied Biology*, *172*(1). <https://doi.org/10.1111/aab.12398>
- Bonfim, K., Faria, J. C., Nogueira, E. O. P. L., Mendes, É. A., & Aragão, F. J. L. (2007). RNAi-Mediated Resistance to Bean golden mosaic virus in Genetically Engineered Common Bean (*Phaseolus vulgaris*). *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, *20*(6), 717–726. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-6-0717>
- Briddon, R. W., Bull, S. E., Amin, I., Idris, A. M., Mansoor, S., Bedford, I. D., Dhawan, P., Rishi, N., Siwatch, S. S., Abdel-Salam, A. M., Brown, J. K., Zafar, Y., & Markham, P. G. (2003). Diversity of DNA beta, a Satellite Molecule Associated with Some Monopartite Begomoviruses. *Virology*, *312*(1), 106–121. [https://doi.org/10.1016/s0042-6822\(03\)00200-9](https://doi.org/10.1016/s0042-6822(03)00200-9)
- Briddon, R. W., Patil, B. L., Bagewadi, B., Nawaz-Ul-Rehman, M. S., & Fauquet, C. M. (2010). Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-97>
- Brown, J. K., Zerbini, F. M., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Ramos-Sobrinho, R., Silva, J. C. F., Fiallo-Olivé, E., Briddon, R. W., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., Malathi, V. G., Martin, D. P., Rivera-Bustamante, R., Ueda, S., & Varsani, A. (2015). Revision of Begomovirus Taxonomy Based on Pairwise Sequence Comparisons. *Archives of Virology*, *160*(6), 1593–1619. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2398-y>
- Chakraborty, S., Dutta, S., Samanta, S., Das, S., Barman, M., & Tarafdar, J. (2022). Chapter 14 - Characterization of begomoviruses and DNA satellites associated with tomato. In R K Gaur, P. Sharma, & H. Czosnek (Eds.), *Geminivirus: Detection, Diagnosis and Management* (pp. 217–236). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90587-9.00010-9>
- Chatchawankaphanich, O., & Maxwell, D. (2002). *Tomato leaf curl Karnataka virus* from Bangalore India Appears to be a Recombinant Begomovirus. *Phytopathology*, *12*, 637–645.
- Cheng, X., Wang, X., Wu, J., Briddon, R. W., & Zhou, X. (2011).  $\beta$ C1 Encoded by Tomato yellow leaf curl China betasatellite Forms Multimeric Komplexes in Vitro and in Vivo. *Virology*, *409*(2), 156–162.
- Crespo-Bellido, A., Hoyer, J. S., Dubey, D., Jeannot, R. B., & Duffy, S. (2021). Interspecies Recombination Has Driven the Macroevolution of Cassava Mosaic

- Begomoviruses. *Journal of Virology*, 95(17), e0054121. <https://doi.org/10.1128/JVI.00541-21>
- Cui, X., Li, G., Wang, D., Hu, D., & Zhou, X. (2005). A Begomovirus DNA $\beta$ -encoded Protein Binds DNA, Functions as a Suppressor of RNA Silencing, and Targets the Cell Nucleus. *Journal of Virology*, 79(16), 10764–10775. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.16.10764-10775.2005>
- Cui, X., Tao, X., Xie, Y., Fauquet, C. M., & Zhou, X. (2004). A DNA $\beta$  Associated with *Tomato yellow leaf curl China virus* is Required for Symptom Induction. *Journal of Virology*, 78(24), 13966–13974. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.24.13966-13974.2004>
- Fauquet, C. M., Bisaro, D. M., Briddon, R. W., Brown, J. K., Harrison, B. D., Rybicki, E. P., Stenger, D. C., & Stanley, J. (2003). Revision of Taxonomic Criteria for Species Demarcation in the Family Geminiviridae, and an Updated List of Begomovirus Species. In *Archives of virology*, 148(2), 405–421. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0957-5>
- Fiallo-Olivé, E., Martínez-Zubiaur, Y., Moriones, E., & Navas-Castillo, J. (2012). A Novel Class of DNA Satellites Associated with New World Begomoviruses. *Virology*, 426(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.01.024>
- Flock, R., & Mayhew, D. . (1981). Squash Leaf Curl, a New Disease of Cucurbits in California. *Plant Disease*, 65–75. <https://doi.org/10.1094/PD-65-75>
- Ghildiyal, M., & Zamore, P. D. (2009). Small Silencing RNAs: an Expanding Universe. *Nature Reviews. Genetics*, 10(2), 94–108. <https://doi.org/10.1038/nrg2504>
- Huang, C., Xie, Y., Zhao, L., Ren, H., & Li, Z. (2013). A Naturally Occurring Defective DNA Satellite Associated with a Monopartite Begomovirus: Evidence for Recombination between Alphasatellite and Betasatellite. *Viruses*, 5(9), 2116–2128. <https://doi.org/10.3390/v5092116>
- ICTV. (2023). *Satellites and Other Virus-dependent Nucleic Acids*. [https://ictv.global/report\\_9th/subviral/Satellites-introduction](https://ictv.global/report_9th/subviral/Satellites-introduction).
- Islam, S., & Bhor, S. A. (2022). Chapter 29 - Molecular arms race between geminiviruses and host plants during infection cycle—a transcriptomics overview. In R K Gaur, P. Sharma, & H. Czosnek (Eds.), *Geminivirus : Detection, Diagnosis and Management* (pp. 471–483). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90587-9.00005-5>
- Jose, J., & Usha, R. (2003). Bhendi yellow vein mosaic Disease in India is Caused by Association of a DNA  $\beta$  Satellite with a Begomovirus. *Virology*, 305, 310–317.
- Kandito, A., Hartono, S., Sulandari, S. R. I., Somowiyarjo, S., & Widyasari, Y. A. (2020). First Report of Naturally Occurring Recombinant Non-coding DNA Satellite Associated with Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus on Eggplant in Indonesia. *Biodiversitas*, 21(1), 129–136. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210117>
- Kenyon, L., Tsai, W.-S., Shih, S.-L., & Lee, L.-M. (2014). Emergence and Diversity of Begomoviruses Infecting Solanaceous Crops in East and Southeast Asia. *Virus Research*, 186, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.026>
- Kesumawati, E., Okabe, S., Khalil, M., Alfian, G., Bahagia, P., Pohan, N., Zakaria, S., & Koeda, S. (2020). Molecular characterization of begomoviruses associated with yellow leaf curl disease in solanaceae and cucurbitaceae crops from Northern Sumatra, Indonesia. *Horticulture Journal*, 89(4). <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-175>
- Kumar, J., Kumar, J., Singh, S. P., & Tuli, R. (2014). Association of Satellites with a Mastrevirus in Natural Infection: Complexity of *Wheat dwarf India virus* Disease. *Journal of Virology*, 88(12), 7093–7104. <https://doi.org/10.1128/JVI.02911-13>
- Lavanya, R., & Arun, V. (2021). Detection of Begomovirus in Chilli and Tomato Plants using Functionalized Gold Nanoparticles. *Scientific Reports*, 11(1), 14203.

- <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93615-9>
- Li, Z., Xie, Y., & Zhou, X. (2005). *Tobacco curly shoot virus* DNA-beta Is Not Necessary for Infection but Intensifies Symptoms in a Host-Dependent Manner. *Phytopathology*, 95(8), 902–908. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0902>
- Melgarejo, T. A., Kon, T., Rojas, M. R., Paz-Carrasco, L., Zerbini, F. M., & Gilbertson, R. L. (2013). Characterization of a New World Monopartite Begomovirus Causing Leaf Curl Disease of Tomato in Ecuador and Peru Reveals a New Direction in Geminivirus Evolution. *Journal of Virology*, 87(10), 5397–5413. <https://doi.org/10.1128/jvi.00234-13>
- Nawaz-ul-Rehman, M. S., & Fauquet, C. M. (2009). Evolution of Geminiviruses and Their Satellites. *FEBS Letters*, 583(12), 1825–1832. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.05.045>
- Ntui, V. O., Kong, K., Azadi, P., Khan, R. S., Chin, D. P., Igawa, T., Mii, M., & Nakamura, I. (2014). RNAi-Mediated Resistance to *Cucumber mosaic virus* (CMV) in Genetically Engineered Tomato. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 554–572. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.55071>
- Pei, S., Dong, R., Bao, Y., He, R. L., & Yau, S. S. T. (2020). Classification of genomic components and prediction of genes of Begomovirus based on subsequence natural vector and support vector machine. *PeerJ*, 8(e9625), 1–15. <https://doi.org/10.7717/peerj.9625>
- Pertiwi, M. A. K. P., Hartono, S., Somowiyarjo, S., Sulandari, S., & Kandito, A. (2021). Molecular Identification of Mungbean yellow mosaic India virus and its Betasatellite Associated with Yellow Mosaic on Yardlong Bean in Sleman, Yogyakarta. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 17(6), 251–260. <https://doi.org/10.14692/jfi.17.6>
- Radhakrishnan, G., Malathi, V. G., & Varma, A. (2004). Detection of DNA A and DNA B Associated with Cotton leaf curl and Some other Plant Diseases Caused by Whitefly Transmitted Geminiviruses. *Indian Phytopathology*, 57, 53–60.
- Rishishwar, R., & Dasgupta, I. (2019). Suppressors of RNA Silencing Encoded by Geminiviruses and Associated DNA Satellites. *Virusdisease*, 30(1), 58–65. <https://doi.org/10.1007/s13337-018-0418-8>
- Saeed, S., Zafar, Y., Randles, J. W., & Rezaian, M. A. (2007). A Monopartite Begomovirus-Associated DNA  $\beta$  Satellite Substitutes for the DNA B of a Bipartite Begomovirus to Permit Systemic Infection. *Journal of General Virology*, 88(10), 2881–2889.
- Satya, V. K., Malathi, V. G., Renukadevi, P., & Sangeetha, B. (2022). Chapter 26 - Role of plant viral satellites association in geminivirus infection. In R K Gaur, P. Sharma, & H. Czosnek (Eds.), *Geminivirus : Detection, Diagnosis and Management* (pp. 421–442). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90587-9.00027-4>
- Saunders, K., Bedford, I. D., Briddon, R. W., Markham, P. G., Wong, S. M., & Stanley, J. (2000). A Unique Virus Complex Causes *Ageratum* Yellow Vein Disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97(12), 6890–6895.
- Saunders, K., Bedford, I., & Stanley, J. (2001). Pathogenicity of a Natural Recombinant Associated with *Ageratum* Yellow Vein Disease: Implications for Geminivirus Evolution and Disease Aetiology. *Virology*, 282, 38–47. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0832>
- Saunders, K., Briddon, R., & Stanley, J. (2008). Replication Promiscuity of DNA- $\beta$  Satellites Associated with Monopartite Begomoviruses; Deletion Mutagenesis of the *Ageratum yellow vein virus* DNA- $\beta$  Satellite Localises Sequences Involved in Replication. *Journal of General Virology*, 89(12), 3165–3172.

- Septariani, D. N., Hidayat, S. H., & Nurhayati, E. (2014). Identifikasi penyebab penyakit daun keriting kuning pada tanaman mentimun. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 14(1), 80–86. <https://doi.org/10.23960/j.hppt.11480-86>
- Sharma, V. K., Basu, S., & Chakraborty, S. (2015). RNAi Mediated Broad-spectrum Transgenic Resistance in *Nicotiana benthamiana* to Chilli-infecting Begomoviruses. *Plant Cell Reports*, 34(8), 1389–1399. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1795-8>
- Sidik, E. A. (2021). Deteksi molekuler asosiasi begomovirus dengan penyakit keriting kuning cabai di Pakis dan Banyuurip, Magelang Indonesia. *Vigor: Jurnal Ilmu Pertanian Tropika Dan Subtropika*, 6(1), 1–6. <https://doi.org/10.31002/vigor.v6i1.3794>
- Singh, A. K., Chattopadhyay, B., & Chakraborty, S. (2012). Biology and Interactions of Two Distinct Monopartite Begomoviruses and Betasatellites Associated with Radish Leaf Curl Disease in India. *Virology Journal*, 9, 43. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-43>
- Siregar, V. (2023). *Deteksi Simultan Berbagai Virus yang Menginfeksi Tanaman Cabai Rawit (Capsicum frutescens L.) di Kabupaten Pringsewu dan Tanggamus*. Universitas Lampung.
- Sivalingam, P. N., Malathi, V. G., & Varma, A. (2010). Molecular Diversity of the DNA-beta Satellites Associated with Tomato leaf curl Disease in India. *Archives of Virology*, 155(5), 757–764. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0634-z>
- Sivalingam, P. N., & Varma, A. (2012). Role of Betasatellite in the Pathogenesis of a Bipartite Begomovirus Affecting Tomato in India. *Archives of Virology*, 157(6), 1081–1092. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1261-7>
- Sukanto, Kon, T., Hidayat, S. H., Ito, K., Hase, S., Takahashi, H., & Ikegami, M. (2005). Begomoviruses associated with leaf curl disease of tomato in Java, Indonesia. *Journal of Phytopathology*, 153(9). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01020.x>
- Xie, Y., Zhao, L., Jiao, X., Jiang, T., Gong, H., Wang, B., Briddon, R. W., & Zhou, X. (2013). A Recombinant Begomovirus Resulting from Exchange of the C4 Gene. *Journal of General Virology*, 94(8), 1896–1907. <https://doi.org/10.1099/vir.0.053181-0>
- Yan, P., Shen, W., Gao, X., Duan, J., & Zhou, P. (2009). Rapid One-step Construction of Hairpin RNA. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 383(4), 464–468. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.036>
- Yan, P., Shen, W., Gao, X., Li, X., Zhou, P., & Duan, J. (2012). High-throughput Construction of Intron-containing Hairpin RNA Vectors for RNAi in Plants. *PLoS One*, 7(5), e38186. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038186>
- Yang, X., Xie, Y., Raja, P., Li, S., Wolf, J. N., Shen, Q., Bisaro, D. M., & Zhou, X. (2011). Suppression of Methylation-Mediated Transcriptional Gene Silencing by  $\beta$ C1-SAHH Protein Interaction during Geminivirus-Betasatellite Infection. *PLoS Pathogens*, 7(10), e1002329. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002329>
- Zaffalon, V., Mukherjee, S. K., Reddy, V. S., Thompson, J. R., & Tepfer, M. (2012). A Survey of Geminiviruses and Associated Satellite DNAs in the Cotton-growing Areas of Northwestern India. *Archives of Virology*, 157(3), 483–495. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1201-y>